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

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

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

BULLETIN OF VETERINARY PHARMACOLOGY

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

FOUNDER AND PUBLISHER

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

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

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

ISSN 2541-8203

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.

№ 3 (32) • 2025

СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ, ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

BULLETIN OF VETERINARY PHARMACOLOGY

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

Established in June, 2017

Published 4 times a year

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

No. 3 (32) • 2025

AGENTS FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION, DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION

PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY AND EXPERIMENTAL THERAPY

Научная статья
УДК 636.09
DOI: 000

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ ПАТОЛОГИИ, ФАРМАКОЛОГИИ И ТЕРАПИИ: 55 ЛЕТ СЛУЖЕНИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ НАУКЕ

Сергей Викторович Шабунин, Павел Андреевич Паршин✉, Галина Анатольевна Востроилова, Татьяна Игоревна Ермакова

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, doctor.57@mail.ru✉

29 сентября 2025 года Всероссийскому научно-исследовательскому ветеринарному институту патологии, фармакологии и терапии исполняется 55 лет.

Юбилей — это важная веха в истории, становлении и прогрессе любой организации. Сегодня Институт является головной научно-исследовательской организацией по разработке теоретических основ и практических методов борьбы с незаразными болезнями сельскохозяйственных животных, координирует научную тематику научных учреждений и институтов, систематически проводит конференции, симпозиумы, выпускает научные труды, готовит научные кадры.

Необходимость создания НИИ для решения задач по борьбе с болезнями незаразной природы была вызвана непростой ситуацией, которая сложилась в животноводческой отрасли на рубеже 50—60 годов, в связи с массовой заболеваемостью сельскохозяйственных животных внутренними незаразными болезнями, нарушающими нормальное функционирование организма и недополучению качественной продукции.

Опыт ведущих стран и практики передовых хозяйств показывал, что переход животноводческих и птицеводческих отраслей на современные промышленные технологии способствует более быстрому производству необходимых объемов мяса, молока и яиц.

В рамках указанных организационно-технологических форм производства продуктов животноводства, как продемонстрировала первоначальная практика, требуется надежная защита животных от заболеваний. Особенно остро стояла проблема, так называемых «незаразных» болезней.

Научное ветеринарное сообщество предпринимало шаги для сокращения данной проблемы. Однако, из-за разрозненности этих мер в различных природно-климатических зонах обширной страны, результаты оказались недостаточно эффективными. В этой связи, возникла необходимость создания специализированного научного центра, посвященного борьбе с незаразными заболеваниями животных. Инициатива была поддержана правительственными органами. Однако, к удивлению, московские ветеринарные ученые настаивали на размещении научного центра в столице или ее окрестностях. Это привело к многолетним задержкам в создании института [1].

П. И. Гончаров, руководитель ветеринарной службы Воронежской области, понимая, что существующие методы защиты животных от болезней в новых производственных условиях не имеют достаточной научной поддержки, выступил с инициативой создания общесоюзного научного центра по изучению и борьбе с незаразными заболеваниями животных на базе Воронежской научно-исследовательской ветеринарной станции. Это предложение было озвучено начальнику Главного ветеринарного управления Минсельхоза СССР А. Д. Третьякову 18 января 1968 года.

В качестве ответной меры, в мае 1968 года, в Воронеж прибыла комиссия из специалистов Министерства сельского хозяйства СССР и РСФСР. После изучения ситуации на месте, комиссия пришла к выводу, что Воронеж является подходящим

местом для создания научного центра. Это решение было обусловлено тем, что Воронеж расположен в европейской части СССР, где производилось около 70 % животноводческой продукции, и активно внедрялись современные агропромышленные технологии. Существующая научно-производственная база Воронежской научно-исследовательской ветеринарной станции (НИВС) позволяла оперативно приступить к необходимым научным исследованиям [4].

Комиссия представила своё заключение руководству области, которое одобрило создание института по незаразным болезням животных. Единственным условием было предусмотреть в его структуре отдел по инфекционным болезням животных, ориентированный на нужды Воронежской области.

Тем не менее, Госкомитет по науке и технике при Совете Министров СССР своим решением прекратил дальнейшее рассмотрение этого вопроса, ссылаясь на отсутствие необходимой научно-производственной базы (протокол коллегии от 24 июня 1969 г. № 38).

Потребовалось искать новые пути. В связи с этим, глава Главного управления ветеринарии Минсельхоза СССР А. Д. Третьяков, обратился к заместителю начальника Воронежского облсельхозуправления П. И. Гончарову с предложением рассмотреть возможность создания Всесоюзного научно-исследовательского института незаразных болезней животных в Воронежской области. Тот, в свою очередь, оперативно обсудил эту инициативу с первым секретарем обкома КПСС Н. М. Мирошниченко.

В ходе обсуждения были проанализированы ключевые аспекты: сфера деятельности, кадровое обеспечение и создание научно-производственной базы. Проект привлек особое внимание Н. М. Мирошниченко, чье высшее ветеринарное образование и успешный опыт восстановления здания Воронежской НИВС в 1946 году сделали его заинтересованным лицом. Он незамедлительно обратился к председателю ГКНТ при Совмине СССР Л. Н. Ефремову, изложил возникшие сложности и заручился его поддержкой. Впоследствии, от имени первого секретаря обкома КПСС Н. М. Мирошниченко и председателя облисполкома Н. А. Евсигнеева, было направлено официальное письмо в Минсельхоз СССР. В нем областное руководство гарантировало всестороннюю поддержку новому институту на этапе его становления и обустройства [6, 7].

В мае 1970 года Государственный комитет по науке и технике (ГКНТ) направил в Воронеж комиссию. После детального анализа ситуации комиссия пришла к выводу, что создание нового института на базе Воронежской научно-исследовательской ветеринарной станции является целесообразным и осуществимым.

В соответствии с результатами работы комиссии Госкомитет науки и техники при Совете Министров СССР принял решение об организации Всесоюзного научно-исследовательского института незаразных болезней животных на базе Воронежской научно-исследовательской ветеринарной станции (протокол заседания Коллегии Комитета от 28 июля 1970 г. № 38).

Это решение было реализовано путем передачи Воронежской научно-исследовательской ветеринарной станции из ведения Минсельхоза РСФСР в непосредственное подчинение Минсельхозу СССР (согласно распоряжению Совета Министров СССР от 10 сентября 1970 г. № 1896р). Окончательное оформление создания института произошло 29 сентября 1970 года, когда Минсельхозом СССР был издан приказ № 294 [1].

Таким образом — 29 сентября 1970 года можно взять за точку отсчета, с которой началась история Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии.

Изменения в организационной структуре института произошли в 1989 году: приказом Государственного Агропромышленного комитета СССР от 30 мая № 14-ЛК-2, а также приказами и распоряжением ВАСХНИЛ от 25 мая (№ 83, № 29) и последующим приказом от 20 июня, он был поставлен под непосредственное руководство Президиума ВАСХНИЛ. Далее, в 1991 году, институт был переименован во Всесоюзный научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, что было закреплено приказом Государственной Комиссии Совета Министров СССР по продовольствию и закупкам от 14 января № 9 и приказом ВАСХНИЛ от 25 февраля № 10.

На основании Указа Президента Российской Федерации от 30 января 1992 года № 84 «О Российской академии сельскохозяйственных наук» на базе Российской академии сельскохозяйственных наук и Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук создана Российская академия сельскохозяйственных наук (далее — Россельхозакадемия). Согласно этому Указу институт был передан

в Россельхозакадемию. И в соответствии с приказом Россельхозакадемии от 20 мая 1992 года № 48 переименован в Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии. В 2013 году, в связи с реорганизацией системы государственных академий наук (РАН, РАМН, РАСХН), институт был интегрирован в структуру Федерального агентства научных организаций (ФАНО) и получил статус федерального государственного бюджетного научного учреждения. В соответствии с Указом Президента Российской Федерации № 215 от 15 мая 2018 года и распоряжением Правительства Российской Федерации № 1293-р от 27 июня 2018 года, институт был передан в ведение Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Еще до официального основания института, с начала 1970 года, Воронежская НИВС под руководством Н. Д. Михайлюкова активно привлекала молодых и перспективных ученых. С 24 декабря 1969 года отделом болезней свиней руководил А. Г. Шахов. К началу 1970 года в Воронежской НИВС уже трудились старшими научными сотрудниками С. М. Сулейманов, Н. И. Кузнецов, А. Г. Нежданов и Г. Н. Кузьмин. К сентябрю того же года штат Воронежской НИВС насчитывал 42 человека, включая одного доктора и двенадцать кандидатов ветеринарных наук. Именно эти специалисты сформировали основу Всесоюзного НИИ незаразных болезней животных.

В 1971 году институт провел свой первый конкурс, по итогам которого были приняты на работу четыре заведующих лабораториями: к. в. н. Анохин Б. М. (Барнаул), к. в. н. Бузлама В. С. (Новосибирск), к. в. н. Петров П. Е. (Боровск) и к. в. н. Ивашура А. И. (Белгород). Этот год ознаменовал начало первого этапа формирования Всесоюзного НИИ незаразных болезней животных, продлившегося до начала 1980-х годов.

Развитие института после 21 мая 1972 года было омрачено трагической гибелью его первого директора, талантливого ученого и организатора Н. Д. Михайлюкова. Вскоре после этого институт покинул и его заместитель по научной работе, И. П. Кондрахин, внесший значительный вклад в его создание [6, 7].

Руководство институтом с конца июня 1972 года осуществлял В. Т. Самохин, впоследствии ставший академиком РАСХН.

В течение первых десяти лет своего существования институт заложил фундамент для исследований незаразных заболеваний животных, сформировав научные школы под руководством молодых, энергичных и одаренных ученых в возрасте 32—35 лет. Знаковым событием стала Первая Всесоюзная конференция по проблемам незаразных болезней животных, прошедшая в институте 22—25 октября 1974 года. Это мероприятие, собравшее ведущих специалистов страны, дало мощный импульс развитию научно-исследовательской работы и определило ключевые направления исследований для молодых ученых. На конференции с докладами выступили выдающиеся деятели науки, включая академиков В. П. Шишкова и И. Е. Мозгова, начальника Главного управления ветеринарии МСХ СССР А. Д. Третьякова, член-корреспондентов ВАСХНИЛ Г. В. Зверьеву и Р. Г. Мустакимова, а также ряд известных профессоров и доцентов.

Ученые, выступившие на мероприятии, выразили высокую оценку потенциалу института и его 20 научных подразделений в решении главной задачи: разработке теоретических и практических подходов к борьбе с незаразными заболеваниями сельскохозяйственных животных и птиц, а также зоогигиенических норм для интенсивного животноводства. Была отмечена лидирующая роль института в координации научных исследований по данным направлениям, проводимых другими учреждениями, организациями и предприятиями агропромышленного комплекса.

Благодаря модернизации подразделений института передовым оборудованием в области световой, люминесцентной и электронной микроскопии, хроматографии, спектрофотометрии и других направлений, научно-методический уровень исследований значительно повысился. Это способствовало становлению к концу 70-х — середине 80-х годов ведущих научных школ в таких областях, как акушерство, гинекология и биотехника размножения животных, биохимия, ветеринарная фармакология и токсикология, диагностика и терапия заболеваний животных, а также патология, онкология и морфология животных. Руководителями этих школ были выдающиеся ученые института, в числе которых В. Т. Самохин, Г. А. Черемисинов, А. Г. Шахов, Б. М. Анохин, В. С. Бузлама, М. И. Немченко, Н. И. Кузнецов, В. Д. Мисайлов, В. А. Париков, А. Г. Нежданов, С. М. Сулейманов и другие.

Под руководством профессора Г. А. Черемисинова и его команды были исследованы гормональные и структурно-функциональные аспекты регуляции половой системы. Результатом этой

работы стало создание и внедрение в производство гонадотропинов и простагландинов, за что коллектив был удостоен Государственной премии Российской Федерации. В области ветеринарного акушерства институт обладал уникальным для России докторским диссертационным советом, где защищали свои работы ведущие специалисты со всего Советского Союза. Из числа сотрудников института вышли пять профессоров (Г. А. Черемисинов, А. Г. Нежданов, В. А. Париков, В. Д. Мисайлов, В. И. Слободяник) и пять докторов ветеринарных наук (Власов С. А., Шумский Н. И., Коцарев В. Н., Климов Н. Т., Михалев В. И.). Трое из профессоров-акушеров (А. Г. Нежданов, В. А. Париков, В. Д. Мисайлов) впоследствии получили почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации».

В настоящий момент в результате исследований докторами наук Михалёвым В. И., Коцаревым В. Н. и кандидатами наук Зимниковым В. И., Скориковым В. Н. достигнуты значительные результаты в области репродукции крупного рогатого скота: углублено понимание механизмов развития овариальной недостаточности у коров в период после отела, предложены новые подходы и препараты для лечения нарушений функции яичников и восстановления репродуктивной способности коров, изучена эффективность новых методов профилактики и лечения заболеваний матки и эмбрионов у коров, с использованием препаратов, регулирующих иммунитет и функцию желтого тела. В области свиноводства разработаны методики профилактики и лечения иммунодефицитных состояний у свиней в критические периоды роста с использованием препаратов на основе рекомбинантных интерферонов, создан новый препарат для регулирования репродуктивной функции свиноматок, основанный на технологиях рекомбинантных белков и криофракционирования.

Академик В. Т. Самохин сыграл ключевую роль в становлении института как ведущего научного центра. Его более чем 30-летняя работа в учреждении, включая 23 года на посту бессменного директора (с 1972 по 1995 год), позволила подготовить множество докторов и кандидатов наук. Под его руководством была сформирована школа патобиохимиков, а также опубликованы монографии, посвященные профилактике нарушений обмена микроэлементов у животных. Впоследствии, направление патобиохимии в институте развивал доктор биологических наук, профессор Рецкий М. И., основные направления научной деятельности которого были связаны с изучением процессов свободнорадикального окисления липидов, системы антиоксидантной защиты и оксида азота в онтогенезе, механизмах стресса, адаптации, формирования резистентности, возникновения и развития патологии у животных, а также с изучением физиолого-биохимических механизмов действия и разработкой новых фармакологических препаратов для регуляции стресса. Профессором Рецким М. И. опубликовано более 250 печатных работ, в т. ч. 21 патент РФ на изобретение и подготовлено 16 кандидатов и 5 докторов наук.

Профессор В. С. Бузлама и его научная школа, разработав общую теорию патологии и защиты здоровья продуктивных животных, сформулировали концепцию стрессовых дезадаптаций. Исследования показали, что эти дезадаптации являются ключевым фактором в развитии таких заболеваний, как гепатодистрофия, кетоз и иммунодефициты, а также повышенной заболеваемости молодняка и маточного поголовья. Было выявлено, что стрессовые дезадаптации снижают эффективность стандартных методов профилактики и лечения.

Под руководством В. С. Бузламы были созданы и внедрены эффективные препараты для борьбы со стрессом и повышения устойчивости сельскохозяйственных животных, а также комплексные средства для лечения их заболеваний. Его вклад в развитие ветеринарной фармакологии России значителен, включая создание нового направления — ветеринарной экологической фармакологии.

Многолетняя деятельность В. С. Бузламы отмечена защитой 45 диссертаций, разработкой 50 изобретений, 7 медалями выставок, 8 монографиями, 9 лекарственными препаратами и более 500 научными публикациями. Заслуги профессора В. С. Бузламы в подготовке кадров отмечены Почетным званием «Заслуженный деятель науки Российской Федерации» [3].

Доктор биологических наук Беляев В. И., который явился пионером в области выявления генетических маркеров устойчивости и предрасположенности сельскохозяйственных животных к незаразным заболеваниям начал работу в институте с сентября 1975 г. Совместно с сотрудниками он обосновал и впервые применил в практике методы отбора животных, наследственно устойчивых к акушерским заболеваниям, препараты для борьбы с арахноэнтомозами и корреляции иммунодефицитов. Он является автором более 250 научных публикаций, включая монографии, брошюры, патенты, изобретения, методические пособия по ве-

теринарии, биохимии и зоотехнии и наставления по применению лекарственных препаратов [5].

Развитие ветеринарной фармакологии в институте на современном этапе связано с исследованиями академика С. В. Шабунина и доктора биологических наук Г. А. Востроиловой. Академик Шабунин С. В. выдающийся специалист в ветеринарной патологии, фармакологии и терапии, возглавлял Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии на протяжении 15 лет (с 2005 года). Он основал новое направление — криофармакология. Его научные работы направлены на создание комплексных систем ветеринарного благополучия животноводства, разработку ветеринарных препаратов и контроль качества лекарств. Около 130 его научных разработок были утверждены ведущими ветеринарными службами СССР и России и нашли широкое применение на практике. Шабунину С. В., в составе коллектива авторов, распоряжением Правительства Российской Федерации за № 146-р от 06.02.2012 г. была присуждена премия Правительства Российской Федерации в области науки и техники [2].

Доктор биологических наук Востроилова Г. А. специализируется на изучении и разработке органопрепаратов и методов тканевой терапии. Ее исследования охватывают видоспецифичные рекомбинантные интерфероны, включая их скрининг, фармацевтическую разработку и изучение механизмов действия на различных биологических моделях (животные, органы, ткани, клеточные культуры), включая исследование острых и хронических эффектов, специфических видов токсичности и нежелательных побочных реакций.

Отдел патологической морфологии, основанный первым директором института Н. Д. Михайлюковым, стал центром развития передового научного направления в ветеринарной морфологии. Впоследствии, под руководством профессора С. М. Сулейманова здесь изучалась ультраструктурная организация органов животных при патологических состояниях, охватывая эндокринную, иммунную, пищеварительную, дыхательную и другие системы. Морфологические исследования всегда были неотъемлемой частью научной деятельности института. На базе лаборатории успешно защищено более 40 кандидатских и 20 докторских диссертаций, основанных на морфологических данных. Кроме того, отдел дважды принимал международные конференции по морфологии (в 1993 и 2006 годах). В настоящее время лаборатория под руководством к. в.н. Михайлова Е. В. занимается активным исследованием патоморфологии крупного рогатого скота, свиней, рыбы и птицы.

Под руководством член-корреспондента А. Г. Шахова, который возглавлял институт с 1995 по 2005 год, коллектив разработал ключевые концепции: эколого-адаптационную теорию возникновения и развития массовых заболеваний животных в сельском хозяйстве, а также комплексную, экологически безопасную систему ветеринарной защиты. А. Г. Шахов внес значительный вклад в российскую ветеринарную эпизоотологию, микробиологию и вирусологию, участвовал в разработке системы ведения агропромышленного производства Воронежской области до 2010 года. Его научное наследие включает более 500 работ. Он соавтор множества методических указаний по диагностике, профилактике и лечению распространенных заболеваний свиней и телят, 45 авторских свидетельств на изобретения, а также наставлений по применению различных ветеринарных препаратов.

А. Г. Шахов — Заслуженный деятель науки, награжденный знаком «Изобретатель СССР» и медалями СССР и ВДНХ. Под его руководством защитили диссертации более 40 кандидатов и 12 докторов наук [4].

За полвека существования институт внес существенный вклад в развитие науки и практики благодаря работе своих сотрудников:

- Создано более 75 комплексных систем, методических указаний и рекомендаций, повышающих эффективность работы.
- Разработано свыше 100 новых химиотерапевтических препаратов, премиксов и добавок, расширяющих арсенал средств.
- Защищено более 200 изобретений, подтвержденных авторскими свидетельствами и патентами.
- Сформирована научная школа: подготовлено более 40 докторов и 120 кандидатов наук.

Подразделения института стали площадкой для выполнения и защиты докторских диссертаций целым рядом ученых, включая Алтухова Н. М., Антипова В. А., Аргунова М. Н., Беляева В. И., Бригадирова Ю. Н., Бузламу В. С., Бузламу С. В., Власова С. А., Востроилову Г. А., Гончарова П. И., Еремина С. П., Кожевникова Е. М., Коняева М. Т., Костыну М. А., Коцарева В. Н., Кузнецова Н. И., Кузьмина Г. Н., Матюшевского Л. А., Мещерякова Н. П., Мисайлова В. Д., Михалева В. И., Наумова М. М., Нежданова А. Г., Парикова В. А., Паршина П. А.,

Ракову Т. Н., Рецкого М. И., Самотина А. М., Слободяника В. И., Слободяник В. С., Сулейманова С. М., Черемисинова Г. А., Шабунина С. В., Шахова А. Г., Шумского Н. И., Алехина Ю. Н., Близнецову Г. Н., Сашнину Л. Ю., Ческидову Л. В., Шапошникова И. Т. и других.

На данный момент в институте проводится подготовка кадров высшей квалификации в аспирантуре, функционирует диссертационный совет по защите докторских и кандидатских диссертаций, координируется научная тематика многих НИУ и ВУЗов РФ, систематически проводятся научно-практические конференции, симпозиумы, семинары с участием ведущих ученых и практических зооветеринарных специалистов.

ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» активно взаимодействует с ведущими образовательными учреждениями как в России, так и за рубежом. Среди российских партнеров — Московский государственный университет; МГАВМиБ — МВА имени К. И. Скрябина; Воронежский государственный университет инженерных технологий; Воронежский ГАУ имени императора Петра I; Воронежский государственный университет; Кубанский ГАУ, Краснодарский НИВИ, обособленное структурное подразделение ФГБНУ КНЦЗВ; Российский университет дружбы народов и Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины.

Международное сотрудничество также включает партнерство с Казахским агротехническим университетом им. С. Сейфулина, Белорусским государственным университетом; Витебской государственной академией ветеринарной медицины, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им.С.Н. Вышелесского», а также с Европейской ассоциацией ветеринарной фармакологии и токсикологии (EAVPT)

В настоящее время в институте работает 142 человека, в том числе 68 научных сотрудника, в числе которых 1 академик, 2 член-корреспондента РАН, 19 докторов, из них 10 имеют ученое звание профессора, 34 кандидатов наук. Средний возраст исследователей составляет — 46 лет.

Институтом ведется работа в пяти научных отделах, включающих восемь лабораторий и секторов, а также обеспечивается функционирование хозяйственного отдела и вивария.

Ученые института активно работают над решением актуальных проблем ветеринарии. Их исследования направлены на глубокое понимание причин и механизмов возникновения болезней сельскохозяйственных и других животных, связанных с неинфекционными агентами и условно-патогенными микроорганизмами. Изучаются все уровни — от молекулярного до системного. Важной задачей является установление взаимосвязи между состоянием окружающей среды и здоровьем животных. Исследуется, как иммунитет и обмен веществ влияют на развитие и исход заболеваний. На основе полученных данных разрабатываются инновационные методы прогнозирования, оценки течения и исхода болезней, а также создаются комплексные системы для обеспечения ветеринарного благополучия. Институт также играет ключевую роль в формировании ветеринарной фармакологической политики, разрабатывая эффективные препараты и биологически активные вещества для профилактики, лечения и повышения продуктивности животных. Деятельность института включает в себя обучение и аттестацию специалистов, а также активное сотрудничество с другими научными и производственными организациями, как в России, так и за рубежом, и координацию научных исследований в области ветеринарной патологии, фармакологии и терапии.

Создание института было продиктовано временем и полностью себя оправдало. Несмотря на существующие сложности, институт продолжает свою деятельность, внося значительный вклад в развитие ветеринарной науки, предоставляя практикам эффективные инструменты и методы для борьбы с болезнями животных.

Юбилей для нас — это стимул к дальнейшему развитию. Мы не намерены останавливаться на достигнутом, а стремимся к новым вершинам. Наша задача реагировать на самые смелые и неожиданные вызовы, проявлять инициативу, лидировать в исследовательских открытиях.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Гончаров П. И.* Ветеринарная служба Воронежской области XX век/ П. И. Гончаров. — Воронеж: Центрально-Черноземное изд-во, 2001. — 176 с.

2. *Паршин П. А.* К 60-летию академика С. В. Шабунина / П. А. Паршин, Т. И. Ермакова, В. И. Котарев // Ветеринарный фармакологический вестник — 2020. — № 4. — С. 10—12.

3. *Сулейманов С. М.* К 75-летию профессора Бузламы В. С. / С. М. Сулейманов, П. А. Паршин// Ветеринарная патология — 2015. — № 3. — С. 81—82.

4. *Шабунин С. В.* К 80-летию профессора Шахова А. Г. / С. В. Шабунин, П. А. Паршин, А. Г. Нежданов // Ветеринарный фармакологический вестник — 2018. — № 1. — С. 6—8.

5. *Шабунин С. В.* К 90-летнему юбилею Беляева Василия Ивановича / С. В. Шабунин, П. А. Паршин, Т. И. Ермакова // Ветеринарный фармакологический вестник — 2021. — № 3. — С. 8.

6. *Шабунин С. В.* Организация и научная деятельность Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии за 40-летний период/ С. В. Шабунин // В сборнике: Актуальные проблемы болезней обмена веществ у сельскохозяйственных животных в современных условиях. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 40-летию ГНУ ВНИВИПФиТ. — Воронеж: Истоки, 2010. — 304 с.

7. *Шахов А. Г.* Всероссийскому НИВИ патологии, фармакологии и терапии 30 лет (Итоги и перспективы) / А. Г. Шахов, В. Т. Самохин, В. С. Бузлама // В сборнике: Теоретические и практические аспекты возникновения и развития болезней животных и защита их здоровья в современных условиях. Материалы конференции, посвященные 30-летию ВНИВИПФиТ. — Воронеж, 2000. — 203 с.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

С. В. Шабунин — академик РАН, профессор, доктор ветеринарных наук, научный руководитель ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»;

П. А. Паршин — доктор ветеринарных наук, профессор, директор ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»;

Г. А. Востроилова — доктор биологических наук, главный научный сотрудник;

Т. И. Ермакова — кандидат биологических наук.

Статья поступила в редакцию 28.08.2025.

Origninal article
UDC 636.09

ALL-RUSSIAN VETERINARY RESEARCH INSTITUTE OF PATHOLOGY, PHARMACOLOGY AND THERAPY: 55 YEARS OF SERVICE TO VETERINARY SCIENCE

Sergey Viktorovich Shabunin, Pavel Andreevich Parshin✉, Galina Anatolyevna Vostroilova, Tatyana Igorevna Ermakova

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, doctor.57@mail.ru✉

On September 29, 2025, the All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy turns 55 years old.

An anniversary is an important milestone in the history, development and progress of any organization. Today, the Institute is the leading research organization for the development of theoretical foundations and practical methods for combating noncontagious diseases of farm animals, coordinates the research topics of scientific institutions and institutes, regularly holds conferences, symposia, publishes research papers and trains scientific personnel.

The need for the foundation of SSI to solve problems in combating noncontagious diseases was caused by the difficult situation that developed in the livestock industry at the turn of the 50s and 60s, due to the mass incidence of farm animals with internal noncontagious diseases that disrupted the normal functioning of the body and led to the lack of quality products.

The experience of leading countries and the practices of advanced farms has shown that the transition of livestock and poultry industries to modern industrial technologies contributes to faster production of the necessary volumes of meat, milk and eggs.

Within the framework of the specified organizational and technological forms of production of livestock products, as demonstrated by the initial practice, reliable protection of animals from diseases is required. The problem of so-called noncontagious diseases was especially acute.

The scientific veterinary community took steps to reduce this problem. However, due to the disunity of these measures in various natural and climatic zones of the vast country, the results were not effective enough. In this regard, there was a need to establish a specialized scientific center dedicated to the fight against noncontagious animal diseases. The initiative was supported by government authorities. However, surprisingly, Moscow veterinary scientists insisted on placing the scientific center in the capital or its suburbs. This led to many years of delays in the foundation of the institute [1].

P. I. Goncharov, the Head of the Veterinary Service of Voronezh region, realizing that the existing methods of protecting animals from diseases in the new production conditions did not have sufficient scientific support, came up with the initiative to establish an All-Union Scientific Center for the study and fight against noncontagious animal diseases based on Voronezh Research Veterinary Station. This proposal was voiced to the Head of the Main Veterinary Department of the USSR Ministry of Agriculture A. D. Tretyakov on January 18, 1968.

In response, in May 1968, a commission of specialists from the USSR and RSFSR Ministries of Agriculture arrived in Voronezh. After studying the situation on the spot, the commission came to the conclusion that Voronezh was a suitable place to establish a scientific center. This decision was due to the fact that Voronezh was located in the European part of the USSR, where about 70 % of livestock products were produced, and modern agroindustrial technologies were actively introduced. The existing scientific and production base of Voronezh Research Veterinary Station (RVS) made it possible to quickly begin the necessary research [4].

The commission presented its conclusion to the regional leadership, which approved the foundation of the Institute for noncontagious animal diseases. The only condition was to include in its structure a department for infectious animal diseases focused on the needs of Voronezh region.

However, the State Committee for Science and Technology under the Council of Ministers of the USSR by its decision stopped further consideration of this issue, citing the lack of the necessary scientific and production base (minutes of the board dtd. June 24, 1969, No. 38). It was necessary to look for new ways. In this regard, the Head of the Main Veterinary Department of the USSR Ministry of Agriculture A. D. Tretyakov, addressed the Deputy Head of Voronezh Regional Agricultural Administration P. I. Goncharov with a proposal to consider the possibility of establishing an All-Union Scientific Research Institute of Noncontagious Animal Diseases in Voronezh region. He, in turn, promptly discussed this initiative with the first secretary of the regional committee of the CPSU N. M. Miroshnichenko.

During the discussion, key aspects were analyzed: the scope of activities, personnel provision and the formation of a scientific and production base. The project attracted the special attention of N. M. Miroshnichenko, whose higher veterinary education and successful experience in restoring the building of Voronezh RVS in 1946 made him an interested party. He immediately contacted the Chairman of the State Committee for Science and Technology under the Council of Ministers of the USSR L. N. Efremov, outlined the difficulties that had arisen and secured his support. Subsequently, on behalf of the First Secretary of the Regional Committee of the CPSU N. M. Miroshnichenko and the Chairman of the Regional Executive Committee N. A. Evsigneev, an official letter was sent to the USSR Ministry of Agriculture. In it, the regional leadership guaranteed comprehensive support for the new institute at the stage of its foundation and development. [6, 7].

In May 1970, the State Committee for Science and Technology (SCST) sent a commission to Voronezh. After a detailed analysis of the situation, the commission came to the conclusion that the foundation of a new institute on the basis of Voronezh RVS was appropriate and feasible.

In accordance with the results of the commission's work, the State Committee for Science and Technology under the Council of Ministers of the USSR made a decision to organize the All-Union Scientific Research Institute of Noncontagious Animal Diseases on the basis of Voronezh RVS (minutes of the meeting of the Board of the Committee dtd. July 28, 1970, No. 38).

This decision was implemented by transferring Voronezh RVS from the jurisdiction of the Ministry of Agriculture of the RSFSR to the direct subordination of the USSR Ministry of Agriculture (in accordance with the order of the Council of Ministers of the USSR dtd. September 10, 1970, No. 1896r). The final formalization of the establishment of the institute took place on September 29, 1970, when the USSR Ministry of Agriculture issued the order No. 294 [1].

Thus, September 29, 1970 can be taken as the starting point from which the history of the All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy began.

The changes in the organizational structure of the institute took place in 1989: by the order of the State Agroindustrial Committee of the USSR dtd. May 30, No. 14-LK-2, as well as the orders and instructions of the All-Union Academy of Agricultural Sciences named after Lenin (AUAAS named after V. I. Lenin/ VASKhNIL) dtd. May 25 (No. 83, No. 29) and a subsequent order dtd. June 20, it was placed under the direct management of the Presidium of VASKhNIL. Later, in 1991, the institute was renamed the All-Union Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, which was confirmed by the order of the State Commission of the Council of Ministers of the USSR on Food and Procurement dtd. January 14, No. 9, and the order of VASKhNIL dtd. February 25, No. 10.

Based on the Decree of the President of the Russian Federation dtd. January 30, 1992, No. 84 On the Russian Academy of Agricultural Sciences, the Russian Academy of Agricultural Sciences (hereinafter referred to as the RAAS) was established on the basis of the Russian Academy of Agricultural Sciences and the All-Union Academy of Agricultural Sciences. According to this Decree, the institute was transferred to the RAAS. And in accordance with the order of the RAAS dtd. May 20, 1992 No. 48, it was renamed State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy. In 2013, in connection with the reorganization of the system of state academies of sciences (RAS, RAMS, RAAS), the institute was integrated into the structure of the Federal Agency for Scientific Organizations (FASO) and received the status of a Federal State Budgetary Scientific Institution. In accordance with the Decree of the President of the Russian Federation No. 215 dtd. May 15, 2018 and the Order of the Government of the Russian Federation No. 1293-r dtd. June 27, 2018, the institute was transferred to the jurisdiction of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

Even before the official foundation of the institute, since the beginning of 1970, Voronezh RVS of Noncontagious Animal Diseases under the su-

pervision of N. D. Mikhaylyukov actively attracted young and promising scientists. Since December 24, 1969, the Department of Swine Diseases was headed by A. G. Shakhov. By the beginning of 1970, S. M. Suleymanov, N. I. Kuznetsov, A. G. Nezhdanov and G. N. Kuzmin were already working at Voronezh RVS as Senior Scientific Associates. By September of the same year, the staff of Voronezh RVS of Noncontagious Animal Diseases numbered 42 people, including one Doctor and twelve Candidates of Veterinary Sciences. It was these specialists who formed the basis of the All-Union SRI of Noncontagious Animal Diseases.

In 1971, the institute held its first competition, following which four Heads of Laboratories were hired: Candidate of Veterinary Sciences Anokhin B. M. (Barnaul), Candidate of Veterinary Sciences Buzlama V. S. (Novosibirsk), Candidate of Veterinary Sciences Petrov P. E. (Borovsk) and Candidate of Veterinary Sciences Ivashura A. I. (Belgorod). This year marked the beginning of the first stage of the formation of the All-Union SRI of Noncontagious Animal Diseases, which lasted until the early 1980s. The development of the institute after May 21, 1972 was overshadowed by the tragic death of its first director, the talented scientist and organizer N. D. Mikhaylyukov. Soon after, his Deputy for Research, I. P. Kondrakhin, who made a significant contribution to its foundation, also left the institute [6, 7].

From the end of June 1972, the Institute was headed by V. T. Samokhin, who later became an Academician of the RAAS.

During the first ten years of its existence, the Institute laid the foundation for research of noncontagious animal diseases, forming scientific schools under the guidance of young, energetic and gifted scientists aged 32—35. A landmark event was the First All-Union Conference on Noncontagious Animal Diseases, held at the Institute on October 22—25, 1974. This event, which brought together the country's leading specialists, gave a powerful impetus to the development of research and determined the key areas of research for young scientists. Outstanding scientists presented reports at the conference, including the Academicians V. P. Shishkov and I. E. Mozgov, Head of the Main Veterinary Directorate of the USSR Ministry of Agriculture A. D. Tretyakov, Corresponding Members of VASKhNIL G. V. Zverev and R. G. Mustakimov, as well as a number of famous professors and associate professors.

The scientists who spoke at the event highly appreciated the potential of the institute and its 20 research departments in solving the main task: developing theoretical and practical approaches to combating noncontagious diseases of farm animals and poultry, as well as zoohygienic standards for intensive livestock farming. The leading role of the institute in coordinating research in these areas conducted by other institutions, organizations and enterprises of the agroindustrial complex was noted.

Thanks to the modernization of the institute's departments with advanced equipment in the field of light, luminescent and electron microscopy, chromatography, spectrophotometry and other areas, the scientific and methodological level of research has increased significantly. By the end of the 70s — mid-80s, this contributed to the formation of leading scientific schools in such areas as obstetrics, gynecology and biotechnics of animal reproduction, biochemistry, veterinary pharmacology and toxicology, diagnosis and therapy of animal diseases, as well as pathology, oncology and morphology of animals. The leaders of these schools were outstanding scientists of the institute, including V. T. Samokhin, G. A. Cheremisinov, A. G. Shakhov, B. M. Anokhin, V. S. Buzlama, M. I. Nemchenko, N. I. Kuznetsov, V. D. Misaylov, V. A. Parikov, A. G. Nezhdanov, S. M. Suleymanov et al.

Under the supervision of Professor G. A. Cheremisinov and his team, hormonal and structural-functional aspects of regulation of the reproductive system were studied. The result of this work was the design and introduction into production of gonadotropins and prostaglandins, for which the team was awarded the State Prize of the Russian Federation. In the field of veterinary obstetrics, the institute had a unique doctoral dissertation council for Russia, where leading specialists from all over the Soviet Union defended their works. Five professors (G. A. Cheremisinov, A. G. Nezhdanov, V. A. Parikov, V. D. Misaylov, V. I. Slobodyanik) and five doctors of veterinary sciences (Vlasov S. A., Shumskiy N. I., Kotsarev V. N., Klimov N. T., Mikhalev V. I.) came from among the employees of the institute. Three of the obstetrician professors (A. G. Nezhdanov, V. A. Parikov, V. D. Misaylov) subsequently received the honorary title of the Honored Scientist of the Russian Federation.

At present, as a result of research by Doctors of Sciences Mikhalev V. I., Kotsarev V. N. and Candidates of Sciences Zimnikov V. I., Skorikov V. N., significant results have been achieved in the field of cattle reproduction: the understanding of the mechanisms of ovarian insufficiency development in cows in the period after calving has been deepened, new approach-

es and drugs for the treatment of ovarian dysfunction and restoration of the reproductive capacity of cows have been proposed, the efficacy of new methods for the prevention and treatment of uterine and embryonic diseases in cows has been studied, using drugs that regulate immunity and the function of the corpus luteum. In the field of pig breeding, methods have been developed for the prevention and treatment of immunodeficiency states in pigs during critical periods of growth using preparations based on recombinant interferons; a new preparation has been designed to regulate the reproductive function of sows, based on recombinant protein and cryofractionation technologies.

The Academician V. T. Samokhin played a key role in the development of the Institute as a leading scientific center. His more than 30 years of work at the institution, including 23 years as its permanent Director (from 1972 to 1995), allowed him to prepare many Doctors and Candidates of Sciences. Under his leadership, a school of pathobiochemists was formed, and monographs were published on the prevention of microelement metabolism disorders in animals. Subsequently, the direction of pathobiochemistry at the Institute was developed by Doctor of Biological Sciences,

Professor M. I. Retskiy, whose main areas of research activity were related to the study of free-radical lipid oxidation processes, the antioxidant defense system and nitric oxide in ontogenesis, stress mechanisms, adaptation, resistance formation, the occurrence and development of pathology in animals, as well as the study of physiological and biochemical mechanisms of action and the development of new pharmacological drugs for stress regulation. Professor M. I. Retskiy published more than 250 printed works, including 21 Russian patents for inventions, and trained 16 Candidates and 5 Doctors of Sciences.

Professor V. S. Buzlama and his scientific school, having developed a general theory of pathology and health protection of productive animals, formulated the concept of stress maladaptations. Research has shown that these maladaptations are a key factor in the development of diseases such as hepatodystrophy, ketosis and immunodeficiencies, as well as increased morbidity in young animals and breeding stock. It has been found that stress maladaptations reduce the efficacy of standard methods for prevention and treatment.

Under the leadership of V. S. Buzlama, effective drugs for combating stress and increasing the resistance of farm animals, as well as complex means for treating their diseases, were designed and introduced into practice. His contribution to the development of veterinary pharmacology in Russia is significant, including the creation of a new direction — veterinary environmental pharmacology. The long-term activity of V. S. Buzlama is noted for the defense of 45 dissertations (theses), the development of 50 inventions, 7 exhibition medals, 8 monographs, 9 medicinal preparations and more than 500 scientific publications. The merits of Professor V. S. Buzlama in training personnel were noted by the Honorary Title the Honored Scientist of the Russian Federation [3].

Doctor of Biological Sciences Belyaev V. I., who was a pioneer in the field of identifying genetic markers of resistance and predisposition of farm animals to noncontagious diseases, began working at the institute in September 1975. Together with his colleagues, he substantiated and first applied in practice methods for selecting animals that are hereditarily resistant to obstetric diseases, drugs for combating arachnoentomoses and correlating immunodeficiencies. He is the author of more than 250 scientific publications, including monographs, brochures, patents, inventions, methodological manuals on veterinary medicine, biochemistry and zootechnics, and instructions for the use of drugs [5].

The development of veterinary pharmacology at the institute at the present stage is associated with the research of the Academician S. V. Shabunin and Doctor of Biological Sciences G. A. Vostroilova. The Academician Shabunin S. V. is an outstanding specialist in veterinary pathology, pharmacology and therapy, headed the All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy for 15 years (since 2005). He founded a new field — cryopharmacology. His research works are aimed at creating complex systems of veterinary welfare of animal husbandry, designing veterinary drugs and quality control of medicines. About 130 of his scientific developments were approved by leading veterinary services of the USSR and Russia and found wide application in practice. Shabunin S. V., as part of a team of authors, was awarded the Russian Government Prize in Science and Technology by the order of the Government of the Russian Federation No. 146-r dtd. 06.02.2012 [2].

Doctor of Biological Sciences Vostroilova G. A. specializes in the study and design of organ preparations and tissue therapy methods. Her research covers species-specific recombinant interferons, including their screening, pharmaceutical development and study of the mechanisms of action on various biological models (animals, organs, tissues, cell cultures), including the study of acute and chronic effects, specific types of toxicity and undesirable side reactions.

The Department of Pathological Morphology, founded by the first director of the institute

N. D. Mikhaylyukov, became the center for the development of an advanced scientific direction in veterinary morphology. Subsequently, under the supervision of Professor S. M. Suleymanov, the ultrastructural organization of animal organs in case of pathological conditions was studied here, covering the endocrine, immune, digestive, respiratory and other systems. Morphological studies have always been an integral part of the scientific activities of the institute. More than 40 candidate and 20 doctoral dissertations based on morphological data have been successfully defended on the basis of the laboratory. In addition, the department has twice hosted international conferences on morphology (in 1993 and 2006). Currently, the laboratory under the head of Candidate of Veterinary Sciences Mikhaylov E. V. is actively engaged in the study of the pathomorphology of cattle, pigs, fish and poultry.

Under the leadership of the Corresponding Member A. G. Shakhov, who headed the institute from 1995 to 2005, the team developed key concepts: an ecological-adaptation theory of the emergence and development of mass animal diseases in agriculture, as well as a comprehensive, environmentally safe system of veterinary protection.

A. G. Shakhov made a significant contribution to Russian veterinary epizootology, microbiology and virology, participated in the development of a system for managing agroindustrial production in Voronezh Region until 2010.

His scientific legacy includes more than 500 works. He is a co-author of many guidelines for the diagnosis, prevention and treatment of common diseases of pigs and calves, 45 inventor's certificates, as well as instructions for the use of various veterinary drugs.

A. G. Shakhov is an Honored Scientist, awarded the badge the Inventor of the USSR and medals of the USSR and VDNKh. Under his supervision, more than 40 Candidates and 12 Doctors of Sciences defended their dissertations [4].

Over the half-century of its existence, the Institute has made a significant contribution to the development of science and practice thanks to the work of its employees.

- More than 75 complex systems, guidelines and recommendations have been created, increasing the efficacy of work.
- More than 100 new chemotherapeutic drugs, premixes and additives have been designed, expanding the arsenal of means.
- More than 200 inventions have been protected, confirmed by inventor's certificates and patents.
- A scientific school has been formed: more than 40 Doctors and 120 Candidates of Sciences have been trained.

The divisions of the institute have become a platform for the execution and defense of doctoral dissertations by a number of scientists, including Altukhov N. M., Antipov V. A., Argunov M. N., Belyaev V. I., Brigadirov Yu.N., Buzlama V. S., Buzlama S. V., Vlasov S. A., Vostroilova G. A., Goncharov P. I., Eremin S. P., Kozhevnikov E. M., Konyaev M. T., Kostyna M. A., Kotsarev V. N., Kuznetsov N. I., Kuzmin G. N., Matyushevskiy L. A., Meshcheryakov N. P., Misaylov V. D., Mikhalev V. I., Naumov M. M., Nezhdanov A. G., Parikov V. A., Parshin P. A., Rakova T. N., Retskiy M. I., Samotin A. M., Slobodyanik V. I., Slobodyanik V. S., Suleymanov S. M., Cheremisinov G. A., Shabunin S. V., Shakhov A. G., Shumskiy N. I., Alekhin Yu.N., Bliznetsova G. N., Sashnina L. Yu., Cheskidova L. V., Shaposhnikov I. T. et al.

At the moment, the institute trains highly qualified personnel in postgraduate studies, has a Dissertation Council for the defense of doctoral and candidate dissertations, coordinates scientific topics of many national research universities and higher education institutions of the Russian Federation, systematically holds scientific and practical conferences, symposia, seminars with the participation of leading scientists and practicing veterinary specialists.

FSBSI ARVRIPP&T actively cooperates with leading educational institutions both in Russia and abroad. Among the Russian partners are Moscow State University, MSAVM&B — MVA named after K. I. Skryabin, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Voronezh State University, Kuban State Agrarian University, Krasnodar Research Institute of Veterinary Medicine — a separate structural division of FSBSI KRCZVM, Peoples' Friendship University of Russia and St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine. International cooperation also includes partnerships with Kazakh Agrotechnical University named after S. Seyfulin, Belarusian State University; Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, RUE "Institute of Experimental Veterinary Medicine named after S. N. Vyshelessky", as well as the European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT).

Currently, the Institute employs 142 people, including 68 Scientific Associates, 1 Academician, 2 Corresponding Members of the RAS, 19 Doctors

of Sciences, 10 of whom have the academic title of Professor, 34 Candidates of Sciences. The average age of researchers is 46 years.

The Institute has five research departments, including eight laboratories and sectors, and also ensures the functioning of the economic department and vivarium.

The Institute's scientists are actively working on solving urgent problems of veterinary science. Their research is aimed at a deep understanding of the causes and mechanisms of diseases of farm and other animals associated with non-infectious agents and opportunistic microorganisms. All levels are studied — from molecular to systemic. An important task is to establish the relationship between the state of the environment and animal health. The effect of immunity and metabolism on the development and outcome of diseases is studied. Based on the data obtained, innovative methods of forecasting, assessing the course and outcome of diseases are developed, and complex systems for ensuring veterinary well-being are created. The Institute also plays a key role in the formation of veterinary pharmacological policy, designing effective drugs and biologically active substances for the prevention, treatment and improvement of animal productivity. The Institute's activities include training and certification of specialists, as well as active cooperation with other scientific and industrial organizations, both in Russia and abroad, and coordination of research in the field of veterinary pathology, pharmacology and therapy.

The foundation of the Institute was dictated by the times and has fully justified itself. Despite the existing difficulties, the Institute continues its activities, making a significant contribution to the development of veterinary science, providing practitioners with effective tools and methods for combating animal diseases.

For us, the anniversary is an incentive for further development. We do not intend to stop at what has been achieved, but strive for new heights. Our task is to respond to the boldest and most unexpected challenges, to show initiative, to lead in research discoveries.

REFERENCES

1. *Goncharov P. I.* Veterinary service of Voronezh region in the twentieth century / P. I. Goncharov. — Voronezh: Central Black Earth Publishing House, 2001. — 176 p.

2. *Parshin P. A.* On the occasion of the 60th anniversary since the birth of the academician S. V. Shabunin / P. A. Parshin, T. I. Ermakova, V. I. Kotarev // Bulletin of Veterinary Pharmacology — 2020. — No. 4. — P. 10—12.

3. *Suleymanov S. M.* On the occasion of the 75th anniversary since the birth of professor Buzlama V. S. / S. M. Suleymanov, P. A. Parshin // Veterinarnaya patologiya (Veterinary pathology) — 2015. — No. 3. — P. 81—82.

4. *Shabunin S. V.* On the occasion of the 80th anniversary since the birth of professor Shakhov A. G. / S. V. Shabunin, P. A. Parshin, A. G. Nezhdanov // Bulletin of Veterinary Pharmacology — 2018. — No. 1. — P. 6—8.

5. *Shabunin S. V.* On the occasion of the 90th anniversary since the birth Vasiliy Ivanovich Belyaev / S. V. Shabunin, P. A. Parshin, T. I. Ermakova // Bulletin of Veterinary Pharmacology — 2021. — No. 3. — P. 8.

6. *Shabunin S. V.* Organization and scientific activities of the All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Agricultural Academy over a 40-year period / S. V. Shabunin // In the collection of papers: Actual problems of metabolic diseases in farm animals in modern conditions. Proceedings of the International scientific and practical conference dedicated to the 40th anniversary of SSI ARVRIPP&T. — Voronezh: Istoki, 2010. — 304 p.

7. *Shakhov A. G.* All-Russian VRI of Pathology, Pharmacology and Therapy is 30 years old (Results and Prospects) / A. G. Shakhov, V. T. Samokhin, V. S. Buzlama // In the collection of papers: Theoretical and practical aspects of the emergence and development of animal diseases and protection of their health in modern conditions. Proceedings of the conference dedicated to the 30th anniversary of ARVRIPP&T. — Voronezh, 2000. — 203 p.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

S. V. Shabunin — Academician of the RAS, Professor, Doctor of Veterinary Sciences, Academic Director of FSBSI "ARVRIPP&T";

P. A. Parshin — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Director of FSBSI "ARVRIPP&T".

The article was submitted 28.08.2025.

Научная статья
УДК 619:618.2/7
DOI: 000

ВОРОНЕЖСКАЯ ШКОЛА ВЕТЕРИНАРНЫХ АКУШЕРОВ

Сергей Викторович Шабунин, Павел Андреевич Паршин, Виталий Иванович Михалёв✉

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

Начало формирования Воронежской научной школы ветеринарных акушеров связано с именем Почётного гражданина г. Воронежа, заслуженного деятеля науки Российской Федерации, доктора ветеринарных наук, профессора Акатова Василия Алексеевича, возглавлявшего в 60-х годах кафедру акушерства Воронежского сельскохозяйственного института. В 1962 году на базе этой кафедры была открыта аспирантура. Это время можно считать историческим моментом зарождения научной школы. Одними из первых представителей Воронежской школы ветеринарных акушеров являются доктора наук Черемисинов Г. А., Мисайлов В. Д., Париков В. А., Нежданов А. Г. и другие. Они вместе с профессором Акатовым В. А. создали крупнейшую школу ветеринарных акушеров, получившую всемирное признание.

Черемисинов Григорий Андрианович, 1927 года рождения — первый ученик профессора Акатова В. А., Лауреат государственной премии РФ, доктор ветеринарных наук, профессор. Григорий Андрианович являлся выходцем многодетной крестьянской семьи Курской области. Его детство пришлось на голодные годы начала 30-х годов, в 1942—1943 гг. — находился на оккупированной немцами территории, в 1944—1946 гг. — служил в рядах Советской армии, в 1946—1948 гг. — заканчивал обучение в школе, после окончания которой, поступил в Воронежский зооветеринарный институт. В 1953 году Григорий Андрианович окончил институт.

Обучаясь в институте он проявил склонность к познанию нового, результатом которого стали восемь опубликованных научных статей. После учёбы в ВУЗе Г. А. Черемисинов 9 лет работал практическим ветеринарным врачом в Курской области, а в 1965 году — окончил аспирантуру при кафедре акушерства и гинекологии Воронежского СХИ и посвятил себя научной работе сначала в Воронежской НИВС, а с 1970 года — в НИИ незаразных болезней животных.

Научная деятельность Черемисинова Г. А. характеризовалась широким диапазоном интересов теоретической и практической направленности. Он внедрил в акушерскую науку современные методы гистоморфологии и биохимии, выполнил фундаментальные исследования изучению структурно-функциональных и гормональных механизмов регуляции функции воспроизводства.

Учёным выполнено и опубликовано более 200 научных работ, несколько монографий. На протяжении всей своей жизни он активно занимался внедрением достижений науки в сельскохозяйственное производство. Г. А. Черемисиновым создана научная школа учёных, включающая боле 20 кандидатов и докторов наук. Григорий Андрианович достойно прошёл по своему жизненному пути как человек и учёный, заслуживший большого уважения со стороны друзей, коллег и научной общественности.

Не менее достойным представителем Воронежской школы ветеринарных акушеров является **Мисайлов Владимир Дмитриевич**, 1929 года ро-

ждения — доктор ветеринарных наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ.

Владимир Дмитриевич — выходец из семью ветеринарных специалистов, после окончания

Бурятского зооветеринарного института в 1950 году в течение 10 лет работал главным ветеринарным врачом в Иркутской области, два года — ассистентом кафедры акушерства Бурятского СХИ. В возрасте 33 лет Владимир Дмитриевич поступает в аспирантуру к профессору Акатову В. А., после окончания которой, в 1967 году защищает кандидатскую диссертацию. С 1965 по 1974 г Мисайлов В. Д. — ассистент, доцент, заведующий кафедрой акушерства Бурятского СХИ, с 1977 года — заведующий лабораторией болезней органов размножения и молочной железы свиней ВНИВИ патологии, фармакологии и терапии. Он, вместе со своими учениками, являлся основоположником решения проблемы метрит-мастит-агалактия у свиноматок. Результаты комплексных исследований по данной проблеме послужили научной базой для защиты 3 докторских и 8 кандидатских диссертаций. В 1990 году Владимир Дмитриевич защитил докторскую диссертацию. В последние годы своей жизни он много времени уделял так же вопросам и проблемам патологии беременности и послеродового периода у молочных коров. Владимиром Дмитриевичем опубликовано более 100 научных работ, получено 8 авторских свидетельств и патентов на изобретения, 17 научных разработок, подготовлено более 15 кандидатов и докторов наук. Мисайлов В. Д. остаётся примером беззаветной преданности ветеринарной акушерской науке и практике, эталоном высокого профессионала и добрейшей души человека.

Заслуженный деятель науки РФ, доктор ветеринарных наук, профессор **Париков Виталий Александрович**, 1928 года рождения — выходец из крестьянской семьи Ивановской области. В 1947 году окончил зооветеринарный техникум, 6 лет работал заведующим зооветпунктом, затем председателем колхоза, с 1953 по 1958 гг — студент Воронежского зооветинститута, с 1958 по 1963 гг — преподаватель Березовского сельскохозяйственного техникума. В 1963 году, в возрасте 35 лет, он поступает в очную аспирантуру к профессору Акатову В. А., с которым создаёт новое научное направление в ветеринарном акушерстве — ультразвуковое лечение животных при болезнях молочной железы. В 1973 году, после семи лет работы ассистентом и доцентом кафедры Воронежского сельскохозяйственного института, переходит во Всесоюзный НИИ незаразных болезней животных, возглавив лабораторию болезней молочной железы. Вся научная деятельность Парикова В. А. связана с изучением этиологии, патогенеза и разработке новых методов диагностики, лечения и профилактики воспалительных заболеваний молочной железы, новых неантибиотических экологически безопасных препаратов. Вместе со своими учениками он впервые раскрыл роль иммунологической и антиоксидантной защиты молочной железы в генезе её воспалительных заболеваний. Париковым В. А. опубликовано более 200 научных работ, получено 18 авторских свидетельств и патентов на изобретения, под его руководством выполнено и защищено более 15 кандидатских и докторских диссертаций. Трудолюбие, творческое отношение к работе, простота в общении, искренность и скромность снискали Парикову В. А. большое уважение коллег и всего сообщества ветеринарных акушеров.

Нежданов Анатолий Григорьевич — заслуженный деятель науки Российской Федерации, доктор ветеринарных наук, профессор, 1939 года рождения, является одним из выдающихся представителей Воронежской школы ветеринарных акушеров. Нежданов А. Г. родился в селе Тынково Избердеевского ныне Петровского района Тамбовской области. В 1961 году с отличием окончил ветеринарный факультет Воронежского зооветеринарного института и работал ветврачом-эпизоотологом, главным ветврачом Мичуринской станции по борьбе с бо-

лезнями животных Тамбовской области, с 1965 по 1970 год — аспирант, ассистент кафедры акушерства Воронежского СХИ, с 1970 по 1989 год — старший научный сотрудник, ученый секретарь, заведующий лабораторией патоэндокринологии Всесоюзного научно-исследовательского института незаразных болезней животных, с 1989 по 2004 год — заведующий кафедрой акушерства Воронежского госагроуниверситета, с 2004 по 2008 год — главный научный сотрудник ВНИВИ патологии, фармакологии и терапии, с 2008 по 2014 год — заведующийотделом патологии воспроизводства и молочной железы Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии, с 2014 года — главный научный сотрудник лаборатории болезней органов воспроизводства, молочной железы и молодняка сельскохозяйственных животных Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии. Научная деятельность Нежданова А. Г. посвящена проведению фундаментальных исследований по выявлению роли гормонально-метаболического гомеостаза организма животных в регуляции функции размножения, причин и патогенеза наиболее распространенных акушерских и гинекологических болезней. Исследованиями ученого раскрыты молекулярно-биохимические механизмы патогенного действия неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды организма на функциональную деятельность органов эндокринной и репродуктивной систем. Доказано, что в основе развития акушерской патологии у животных лежит функциональная недостаточность гипоталамо-гипофизарной и фетоплацентарной систем. Эти исследования позволили разработать и предложить производству методы ранней диагностики и прогнозирования риска развития акушерской патологии с использованием гормонально-биохимических и электрофизиологических методов, новые принципы и методы ее профилактики и лечения с использованием комплексных витаминно-минеральных, гепатотропных, тканевых, гормональных и других биологически активных препаратов и новых физиотерапевтических средств. В последние годы жизни его внимание было приковано к изучению нарушений раннего эмбриогенеза у высокопродуктивного молочного скота. А. Г. Неждановым опубликовано более 400 научных и учебно-методических работ, получено более 20 авторских свидетельств и патентов на изобретения, он участвовал в разработке более 30 методических рекомендаций, указаний и наставлений, внедрённых в сельскохозяйственное производство на государственном уровне. Под его руководством выполнено и защищено более 20 докторских диссертаций и более 30 кандидатских диссертаций. Анатолий Григорьевич награжден многими медалями и почетными грамотами. Научная эрудиция, неординарность мышления, принципиальность и требовательность снискали ему глубокое уважение коллег и широкую известность.

Слободяник Виктор Иванович — ученик профессора Парикова В. И., родился в 1949 году в селе Устьянка Бурлинского района Алтайского края. В 1972 году с отличием окончил Ленинградский ветеринарный институт, в 1982 году — защитил кандидатскую, а в 1994 — докторскую диссертации. С 1974 по 1996 гг работал в НИВИ патологии, фармкологии и терапии, с 1996 по 2019 гг — профессор Воронежского государственного аграрного университета имени К. Д. Глинки, затем имени Императора Петра I. Научная деятельность Слободяника В. И. посвящена изучению иммунологических основ этиопатогенеза воспалительных заболеваний молочной железы коров и разработке средств и методов их коррекции. Автором дано научное обоснование для применения иммунокорригирующих препаратов для терапии и профилактики мастита у коров. Слободяником В. И. опубликовано 200 научных статей, 16 учебных и учебно-методических разработок, получено 7 авторских свидетельств и патентов на изобретения, под его руководством подготовлены и защищены 13 кандидатский диссертаций. В памяти он останется как настоящий профессионал своего дела, добродушный и отзывчивый человек.

Ещё одним из учеников профессора Парикова В. А. является **Климов Николай Тимофеевич** — доктор ветеринарных наук, 1959 года рождения. Климов Н. Т. в 1981 году окончил ветеринарный факультет Воронежского сельскохозяйственного института, с 1981 по 1985 год — работа в области практической ветеринарии, 1985 по 1994 год — сотрудник НИВИ патологии, фармакологии и терапии, с 1994 по 2005 год — вновь его деятельность связана с ветеринарной практи-

кой, с 2005 по 2021 год главный научный сотрудник Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии, с 2022 года по настоящее время находится на заслуженном отдыхе.

Научная деятельность Климова Н. Т. посвящена проведению фундаментальных исследований по изучению и разработке новых средств и способов фармакотерапии и фармакопрофилактики мастита у коров. Исследованиями ученого раскрыта возможность использования средств неспецифической патогенетической терапии при субклиническом мастите у коров с целью получения молока высокого санитарного качества. Учёным научно обоснован состав и разработаны многочисленные препараты для лечения мастита у коров, которые нашли широкое применение на территории России и стран СНГ.

Николай Тимофеевич является одним из основоположников программы оздоровления молочных стад от мастита в зависимости от уровня заболеваемости коров, им выявлено значение технологических факторов и патогенной микрофлоры в развитии воспалительного процесса в молочной железе коров. В последнее время его внимание было приковано к изучению методологию коррекции общего и локального иммунобиологического гомеостаза лактирующих коров с целью профилактики воспалительных заболеваний молочной железы. Н. Т. Климовым опубликовано более 90 научных и учебно-методических работ, получено более 15 авторских свидетельств и патентов на изобретения, под его руководством выполнено и защищено 3 кандидатских диссертации.

Целеустремлённость, широкий кругозор мышления, скромность в общении снискали ему глубокое уважение коллег.

В настоящее время продолжателями идей Воронежской школы ветеринарных акушеров являются доктора наук Лободин К. А., Коцарев В. Н., Михалёв В. И., кандидаты наук Зимников В. И., Скориков В. Н. и др.

Дальнейшее развитие ветеринарной акушерской науки связано с внедрением в неё современных методов физиологии, биохимии, эндокринологии, иммунологии, микробиологии, фармакологии, гистоморфологии, что будет способствовать созданию теоретических основ для разработки практических рекомендацию по обеспечению репродуктивного и продуктивного здоровья животных.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

С. В. Шабунин — академик РАН, доктор ветеринарных наук, профессор, научный руководитель ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»;

П. А. Паршин — доктор ветеринарных наук, профессор, директор ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»;

В. И. Михалёв — доктор ветеринарных наук, заведующий сектором.

Статья поступила в редакцию 08.07.2025.

Original article
UDC 619:618.2/7

VORONEZH SCHOOL OF VETERINARY OBSTETRICIANS

Sergey Viktorovich Shabunin, Pavel Andreevich Parshin, Vitaliy Ivanovich Mikhalev✉

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

The beginning of the formation of Voronezh scientific school of veterinary obstetricians is associated with the name of the Honorary Citizen of Voronezh, Honored Scientist of the Russian Federation, Doctor of Veterinary Sciences, Professor **Vasiliy Alekseevich Akatov**, who headed the Department of Obstetrics of Voronezh Agrarian Institute in the 60s. In 1962, a postgraduate program started its work on the basis of this department. This time can be considered a historical moment in the emergence of a scientific school. Some of the first representatives of Voronezh school of veterinary obstetricians are Doctors of Sciences Cheremisinov G. A., Misaylov V. D., Parikov V. A., Nezhdanov A. G. et al. Together with Professor Akatov V. A., they created the largest school of veterinary obstetricians, which gained worldwide recognition.

Cheremisinov Grigoriy Andrianovich, born in 1927, is the first student of Professor V. A. Akatov, Laureate of the State Prize of the Russian Federation, Doctor of Veterinary Sciences, Professor. Grigoriy Andrianovich came from a large peasant family in Kursk region. His childhood fell on the hungry years of the early 1930s. In 1942—1943, he was in the territory occupied by the Germans. In 1944—1946, he served in the ranks of the Soviet Army. In 1946—1948, he completed his studies at school, after which he entered Voronezh Zooveterinary Institute. In 1953, Grigoriy Andrianovich graduated from the institute. While studying at the institute, he showed a penchant for learning new things, which resulted in eight published research articles. After studying at the university, G. A. Cheremisinov worked as a practicing veterinarian in Kursk region for 9 years, and in 1965, he completed postgraduate studies at the Department of Obstetrics and Gynecology of Voronezh Agrarian Institute and devoted himself to research work, first at Voronezh RVS, and since 1970, at the Scientific Research Institute of Noncontagious Animal Diseases. The scientific activity of Cheremisinov G. A. was characterized by a wide range of interests of theoretical and practical orientation. He introduced modern methods of histomorphology and biochemistry into obstetric science, carried out fundamental studies on structural-functional and hormonal mechanisms of the reproductive function regulation. The scientist has completed and published more than 200 research papers and several monographs. Throughout his life, he was actively involved in the implementation of scientific achievements in agricultural production. G. A. Cheremisinov created a scientific school of scientists, including more than 20 Candidates and Doctors of Sciences. Grigoriy Andrianovich walked his life's path with dignity as a person and a scientist, deserving great respect from friends, colleagues and the scientific community.

No less worthy representative of Voronezh school of veterinary obstetricians is **Vladimir Dmitrievich Misaylov**, born in 1929, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Honored Scientist of the Russian Federation. Vladimir Dmitrievich came from a family of veterinary specialists, after graduating from Buryat Zooveterinary Institute in 1950, he worked for 10 years as the Chief Veterinarian in Irkutsk region, two years — as a

Teaching Assistant at the Department of Obstetrics of Buryat Agrarian Institute. At the age of 33, Vladimir Dmitrievich entered postgraduate studies (research advisor — Professor V. A. Akatov), after which, in 1967, he defended his candidate dissertation.

From 1965 to 1974, V. D. Misaylov — Teaching Assistant, Associate Professor, Head of the Department of Obstetrics of Buryat Agrarian Institute, since 1977 — Head of the Laboratory of the Reproductive Organs and Mammary Gland Diseases of Pigs at Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy. Together with his students, he was the founder of the solution to the problem of mastitis-metritis-agalactia in sows. The results of complex studies on this problem served as the scientific basis for the defense of 3 doctoral and 8 candidate dissertations. In 1990, Vladimir Dmitrievich defended his doctoral dissertation. In the last years of his life, he also devoted a lot of time to issues and problems of pregnancy pathology and the postpartum period in dairy cows. Vladimir Dmitrievich published more than 100 research papers, received 8 inventor's certificates and patents for inventions, 17 scientific research results, prepared more than 15 Candidates and Doctors of Sciences. Misaylov V. D. remains an example of selfless dedication to veterinary obstetric science and practice, a standard of a high professional and a very kind person.

Honored Scientist of the Russian Federation, Doctor of Veterinary Sciences, Professor **Vitaliy Aleksandrovich Parikov**, born in 1928, came from a peasant family in Ivanovo region. In 1947, he graduated from Zooveterinary College, worked for 6 years as the Head of the Zooveterinary Station, then as the Chairman of the collective farm, from 1953 to 1958 he was a student at Voronezh Zoovetinary Institute. From 1958 to 1963, he was a Teacher at Berezovskiy Agrarian College. In 1963, at the age of 35, he entered full-time postgraduate studies (research advisor — Professor V. A. Akatov). With V. A. Akatov he created a new scientific direction in veterinary obstetrics — ultrasound treatment of animals with mammary gland diseases. In 1973, after seven years of work as a Teaching Assistant and Associate Professor at Voronezh Agrarian Institute, he transferred to the All-Union Scientific Research Institute of Noncontagious Animal Diseases and was the Head of the Laboratory of Mammary Gland Diseases. All scientific activities of V. A. Parikov are associated with the study of the etiology, pathogenesis and development of new methods of diagnosis, treatment and prevention of inflammatory diseases of the mammary gland, design of new non-antibiotic environmentally safe drugs. Together with his students, he was the first to reveal the role of immunological and antioxidant protection of the mammary gland in the genesis of its inflammatory diseases. V. A. Parikov published more than 200 research papers, received 18 inventor's certificates and patents for inventions, under his supervision more than 15 candidate and doctoral dissertations were completed and defended. Hard work, creative attitude to work, simplicity in communication, sincerity and modesty earned V. A. Parikov great respect from colleagues and the entire community of veterinary obstetricians.

Nezhdanov Anatoliy Grigoryevich — Honored Scientist of the Russian Federation, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, born in 1939, is one of the outstanding representatives of Voronezh School of Veterinary Obstetricians. Nezhdanov A. G. was born in Tynkovo village, Izberdeevskiy, now Petrovskiy district, Tambov region. In 1961, he graduated with honors from the Veterinary Faculty of Voronezh Zooveterinary Institute and worked as a Veterinarian-epizootologist, Chief Veterinarian of Michurinsk station for the Fight against Animal Diseases in Tambov region, from 1965 to 1970 — Postgraduate Student, Teaching Assistant at the Department of Obstetrics of Voronezh Agrarian Institute, from 1970 to 1989 — Senior Scientific Associate, Academic Secretary, Head of the Laboratory of Pathoendocrinology of the All-Union Scientific Research Institute of Noncontagious Animal Diseases, from 1989 to 2004 — Head of the Department of

Obstetrics of Voronezh State Agrarian University, from 2004 to 2008 — Chief Scientific Associate of the ARVRI of pathology, pharmacology and therapy, from 2008 to 2014 — Head of the Department of Reproduction and Mammary Gland Pathology of the All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, since 2014 — Chief Scientific Associate of the Laboratory of the Reproductive Organs and Mammary Gland Diseases in Young Farm Animals of ARVRI of Pathology, Pharmacology and Therapy. The scientific activity of A. G. Nezhdanov is devoted to conducting fundamental research to identify the role of hormonal and metabolic homeostasis of the animal body in regulating the reproductive function, the causes and pathogenesis of the most common obstetric and gynecological diseases. The scientist's research revealed the molecular and biochemical mechanisms of the pathogenic effect of unfavorable factors of the external and internal environment of the body on the functional activity of the endocrine and reproductive systems. It has been proven that the development of obstetric pathology in animals is based on functional insufficiency of the hypothalamic-pituitary and fetoplacental systems. These studies made it possible to develop and offer production methods for early diagnosis and risk prediction of obstetric pathology using hormonal-biochemical and electrophysiological methods, new principles and methods for its prevention and treatment using complex vitamin-mineral, hepatotropic, tissue, hormonal and other biologically active drugs and new physiotherapeutic agents. In the last years of his life, his attention was focused on the study of early embryogenesis disorders in high yielding dairy cattle. A. G. Nezhdanov published more than 400 research and educational and methodological works, received more than 20 inventor's certificates and patents for inventions, he participated in the development of more than 30 methodological recommendations, guidelines and instructions introduced into agricultural production at the state level. Under his supervision, more than 20 doctoral dissertations and more than 30 candidate dissertations were completed and defended. Anatoliy Grigoryevich was awarded many medals and certificates of honor. His scientific erudition, originality of thinking, adherence to principles and exactingness earned him the deep respect of his colleagues and wide fame.

Slobodyanik Viktor Ivanovich is a student of Professor Parikov V. I. He was born in 1949 in Ustyanka village, Burlinskiy district, Altai territory. In 1972, he graduated with honors from Leningrad

Veterinary Institute. In 1982, he defended his candidate dissertation, and in 1994 — his doctoral dissertation. From 1974 to 1996, he worked at VRI of Pathology, Pharmacology and Therapy, from 1996 to 2019 — Professor at Voronezh State Agrarian University named after K. D. Glinka, then named after Emperor Peter the Great. The research activity of Slobodyanik V. I. is devoted to the study of the immunological basis of the etiopathogenesis of inflammatory diseases of the mammary gland of cows and the development of means and methods for their correction. The author provides a scientific justification for the use of immunocorrective drugs for the therapy and prevention of bovine mastitis. Slobodyanik V. I. published 200 research articles, 16 educational and guidance papers, received 7 inventor's certificates and patents for inventions, under his supervision 13 candidate dissertations were completed and defended. He will remain in memory as a true professional in his field, a good-natured and sympathetic person.

Another student of Professor V. A. Parikov is **Nikolay Timofeevich Klimov**, Doctor of Veterinary Sciences, born in 1959. N. T. Klimov graduated from the Veterinary Faculty of Voronezh Agrarian Institute in 1981. From 1981 to 1985, he worked in the field of practical veterinary medicine. From 1985 to 1994, he was an employee of VRI of Pathology, Pharmacology and Therapy. From 1994 to 2005, his activities were again related to veterinary practice. From 2005 to 2021, he was the Chief Scientific Associate of the All-Russian VRI of Pathology, Pharmacology and Therapy. From 2022 till the present, N. T. Klimov has been on a well-deserved rest. The research activity of N. T. Klimov is devoted to conducting fundamental research on the study and development of new means and methods of pharmacotherapy and pharmacoprophylaxis of bovine mastitis. The scientist's research revealed the possibility of

using non-specific pathogenetic therapy for bovine subclinical mastitis in order to obtain milk of high sanitary quality. The scientist scientifically substantiated the composition and designed numerous drugs for the treatment of bovine mastitis, which have found wide application in Russia and the CIS countries. Nikolay Timofeevich is one of the founders of the program for improving the health of dairy herds from mastitis depending on the level of morbidity in cows. He identified the importance of technological factors and pathogenic microflora in the development of the inflammatory process in the mammary gland of cows. Recently, his attention has been focused on studying the methodology for correcting the general and local immunobiological homeostasis of lactating cows in order to prevent inflammatory diseases of the mammary gland. N. T. Klimov has published more than 90 research and educational-methodical works, received more than 15 inventor's certificates and patents for inventions, and under his supervision, 3 candidate dissertations were completed and defended. His dedication, broad outlook and modesty in communication earned him the deep respect of his colleagues.

Currently, the continuers of the ideas of Voronezh school of veterinary obstetricians are Doctors of Sciences Lobodin K. A., Kotsarev V. N., Mikhalev V. I., Candidates of Sciences Zimnikov V. I., Skorikov V. N. et al.

Further development of veterinary obstetric science is associated with the introduction of modern methods of physiology, biochemistry, endocrinology, immunology, microbiology, pharmacology, histomorphology, which will contribute to the creation of theoretical foundations for the development of practical recommendations for ensuring the reproductive and productive health of animals.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

S. V. Shabunin — Academician of the RAS, Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academic Director of FSBSI "ARVRIPP&T";

P. A. Parshin — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Director of FSBSI "ARVRIPP&T";

V. I. Mikhalev — Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Sector.

The article was submitted 08.07.2025.

Научная статья
УДК 619:615.065:615.37/281
DOI: 000

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗВРЕДНОСТИ (ПЕРЕНОСИМОСТИ) НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ИНТЕРАМИН В РАМКАХ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Юлия Сергеевна Пархоменко✉, Нина Алексеевна Хохлова, Лилия Валерьевна Ческидова

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, yuliyasp21@mail.ru✉

Аннотация. Профилактическая ветеринарная медицина в современных условиях интенсификации животноводства нуждается в эффективных препаратах. В статье представлены результаты изучения безвредности (переносимости) нового комплексного препарата интерамин в рамках доклинических исследований. В эксперименте участвовало 15 клинически здоровых телят, разделенных на 3 группы (по $n = 5$). Пробы крови отбирали через 7 и 14 суток после однократного внутримышечного введения препарата в терапевтической дозе (0,1 мл/кг) и в 10-кратной терапевтической дозе (1,0 мл/кг). Результаты исследования показали, что морфологический состав крови и биохимические показатели обмена веществ у телят, получавших однократно интерамин, соответствовали физиологическим значениям для данной половозрастной группы животных. Это позволяет сделать вывод, что новый комплексный препарат интерамин безвреден для животных и обладает хорошей переносимостью.

Ключевые слова: интерамин, переносимость (безвредность), морфология и биохимия крови, телята

Фундаментальной задачей ветеринарной фармакологии является разработка высокоэффективных, экологически безопасных лекарственных средств, применяемых для животных, которые не должны оказывать негативного действия на их организм и не снижать качество получаемой сельскохозяйственной продукции [5].

Основополагающую роль в этом играет доклиническое исследование новых препаратов, позволяющее определить их специфическую фармакологическую активность, безопасность, дающее возможность оценить их биохимическое и физиологическое действие на организм, установить взаимосвязь между концентрацией действующего вещества и его эффектами и определить показания и противопоказания к применению [6], а также выявить побочные эффекты, изменяющие соотношение пользы и риска [4].

Профилактическая ветеринарная медицина в современных условиях интенсификации животноводства нуждается в эффективных препаратах. Уникальным потенциалом в решении этой задачи отличаются лекарственные средства природного происхождения, которым присуща высокая биологическая активность. Новый комплексный препарат интерамин, в состав которого входят гидрофильная криофракция селезенки крупного рогатого скота, рекомбинантные видоспецифические (бычьи) альфа- и гамма — интерфероны и витамины А, Е, является одним из них. По результатам предыдущих исследований было показано, что комплексный препарат интерамин можно отнести к V классу практически нетоксичных лекарственных веществ по Hodge H. et al., 1975; Сидоров К.К, 1977, и IV классу опасности — малоопасные вещества по ГОСТ 12.1.007—76 [1], что он не проявляет местно-раздражающего и кожно-резорбтивного действий [3] и не оказывает эмбриотоксического и тератогенного эффектов [2].

Цель работы — доклиническое изучение безвредности (переносимости) нового комплексного препарата интерамин на телятах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на базе одного из животноводческих комплексов Воронежской области в соответствии с требованиями действующих международных и российских законодательных актов (Директива 2010/63/EU от 22.09.2010, Европейской конвенции (ETS123), Strasbourg, 1986), а также требований биоэтической комиссии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», на 15 клинически здоровых телятах голштинской породы в возрасте 5—6 месяцев. Животным первой группы (n = 5) препарат не вводили, они служили контролем. Телятам второй группы (n = 5) однократно внутримышечно инъецировали новый комплексный препарат интерамин в терапевтической дозе (0,1 мл/кг), третьей (n = 5) — в 10-кратной терапевтической дозе (1,0 мл/кг). Влияние на организм телят испытуемого препарата оценивали по результатам лабораторного исследования гематологических и биохимических показателей. Пробы крови отбирали через 7 и 14 суток после однократного внутримышечного введения препарата у здоровых животных из яремной вены посредством венепункции.

Гематологические показатели (эритроциты, гемоглобин, лейкоциты, лейкограмму) определяли на гематологическом анализаторе ABX Micros 60 CT/OT (Франция) и посредством общепринятых методов, белковые фракции — электрофорезом на агарозном геле, уровень мочевины, креатинина, холестерина, глюкозы, общего кальция, неорганического фосфора, активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) — на биохимическом анализаторе Hitachi-902, а общий белок, общий билирубин — спектрофотометрически с помощью набора АО «Витал Девелопмент Корпорэйшн». Обработку полученных экспериментальных данных проводили с использованием статистической программы Statistica v. 8.0 (StatSoft Inc.).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

После однократного применения интерамина в терапевтической и 10-кратной терапевтической дозах на основании анализа полученных результатов лабораторного исследования проб крови телят опытных групп установлено, что гематологические показатели не выходили за пределы референсных значений и в большинстве своем достоверно не отличались от показателей животных контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1

Гематологические показатели здоровых телят при изучении безвредности препарата интерамин

Показатель	Контрольная группа	Первая опытная группа (0,1 мл/кг)	Вторая опытная группа (1,0 мл/кг)
1	2	3	4
Через 7 дней после введения препарата			
Эритроциты, 10^{12}/л	7,46 ± 0,38	7,92 ± 0,55	7,93 ± 0,36
Гемоглобин, г/л	113,1 ± 2,52	115,3 ± 3,74	114,8 ± 3,41
Лейкоциты, 10^{9}/л	8,62 ± 0,34	9,34 ± 0,36	9,21 ± 0,23
Базофилы, %	0,47 ± 0,62	0,30 ± 0,26	0,38 ± 0,24
Нейтрофилы палочкоядерные, %	2,46 ± 0,52	2,66 ± 0,63	2,52 ± 0,42
Нейтрофилы сегментоядерные, %	26,8 ± 0,96	26,9 ± 0,82	27,1 ± 0,68
Эозинофилы, %	4,45 ± 0,20	4,02 ± 0,18	3,92 ± 0,28
Моноциты, %	4,72 ± 0,54	4,92 ± 0,88	4,78 ± 0,96
Лимфоциты, %	61,1 ± 1,63	61,2 ± 1,84	61,3 ± 2,02

Окончание табл. 1

1	2	3	4
Через 14 дней после введения препарата			
Эритроциты, 10^{12}/л	7,22 ± 0,81	7,58 ± 0,67	7,11 ± 0,57
Гемоглобин, г/л	112,2 ± 1,83	114,1 ± 2,25	113,2 ± 2,06
Лейкоциты, 10^{9}/л	8,58 ± 0,26	9,17 ± 0,43	9,08 ± 0,21
Базофилы, %	0,24 ± 0,18	0,12 ± 0,06	0,22 ± 0,12
Нейтрофилы палочкоядерные, %	2,36 ± 0,49	2,28 ± 0,53	2,12 ± 0,47
Нейтрофилы сегментоядерные, %	28,1 ± 1,41	29,5 ± 0,52	29,7 ± 0,72
Эозинофилы, %	4,58 ± 0,26	3,96 ± 0,24	3,44 ± 0,33
Моноциты, %	5,42 ± 0,46	4,64 ± 0,54	4,42 ± 0,39
Лимфоциты, %	59,3 ± 1,03	59,5 ± 0,94	61,1 ± 0,84

Как следует из таблицы 2, при однократном внутримышечном введении интерамина в исследуемых дозах (0,1 мл/кг и 1,0 мл/кг) колебания значений основных показателей обмена веществ телят опытных групп находились в пределах физиологической нормы и достоверно не отличались от аналогичных показателей телят контрольной группы, что свидетельствует о хорошей переносимости нового комплексного препарата.

По итогам проведенного исследования не было обнаружено негативного влияния на органы, первоочередно подвергающиеся возможному токсическому воздействию лекарственных препаратов. Некоторые изменения морфологических и биохимических показателей крови после введения однократной условно-терапевтической и 10-кратной условно-терапевтической дозах имели характер тенденции и, вероятно, связаны с активизацией процессов метаболизма биологически активными веществами препарата.

Из этого можно сделать вывод об отсутствии токсического эффекта на организм здоровых животных препарата интерамин при однократном введении.

Таблица 2

Биохимические показатели здоровых телят при изучении безвредности препарата интерамин

Показатель	Контрольная группа	Первая опытная группа (0,1 мл/кг)	Вторая опытная группа (1,0 мл/кг)
1	2	3	4
Через 7 дней после введения препарата			
Общий белок, г/л	65,9 ± 0,95	66,8 ± 1,06	69,90 ± 0,87
Альбумины, %	44,5 ± 1,17	44,9 ± 1,23	44,6 ± 0,97
α-глобулины, %	17,4 ± 0,63	16,52 ± 0,81	16,76 ± 0,73
β-глобулины, %	15,2 ± 0,53	14,38 ± 0,75	14,54 ± 0,66

Окончание табл. 2

1	2	3	4
γ-глобулины, %	22,9 ± 1,17	24,2 ± 1,32	24,1 ± 1,04
ЩФ, Е/л	131,3 ± 2,13	134,1 ± 3,05	133,3 ± 4,01
АсАТ, Е/л	55,1 ± 1,72	55,5 ± 2,61	54,9 ± 2,03
АлАТ, Е/л	26,8 ± 0,69	27,1 ± 1,09	26,9 ± 0,74
Креатинин, мкМ/л	78,1 ± 2,10	78,3 ± 2,21	79,3 ± 1,78
Мочевина, мМ/л	5,18 ± 0,34	5,79 ± 0,19	5,95 ± 0,26
Общий билирубин, мкМ/л	3,08 ± 0,07	3,12 ± 0,14	3,27 ± 0,17
Глюкоза, мМ/л	5,07 ± 0,11	4,76 ± 0,26	4,82 ± 0,13
Холестерин, мМ/л	2,29 ± 0,04	2,01 ± 0,22	1,96 ± 0,21
Общий кальций, мМ/л	2,48 ± 0,09	2,69 ± 0,10	2,71 ± 0,18
Фосфор неорг., мМ/л	2,32 ± 0,05	2,21 ± 0,06	2,27 ± 0,03
Через 14 дней после введения препарата			
Общий белок, г/л	66,2 ± 1,12	68,4 ± 1,01	67,8 ± 0,82
Альбумины, %	44,6 ± 1,03	44,6 ± 0,97	44,7 ± 1,17
α-глобулины, %	17,06 ± 0,43	16,18 ± 0,51	16,84 ± 0,49
β-глобулины, %	15,14 ± 0,37	14,42 ± 0,56	14,16 ± 1,06
γ-глобулины, %	23,2 ± 1,24	24,8 ± 1,25	23,6 ± 1,11
ЩФ, Е/л	133,5 ± 3,12	136,6 ± 2,88	140,1 ± 3,30
АсАТ, Е/л	53,3 ± 2,07	56,2 ± 1,73	56,7 ± 1,45
АлАТ, Е/л	25,3 ± 1,59	26,5 ± 0,99	28,4 ± 0,85
Креатинин, мкМ/л	78,6 ± 2,84	79,6 ± 1,77	78,4 ± 1,38
Мочевина, мМ/л	5,23 ± 0,18	5,71 ± 0,23	5,65 ± 0,16
Общий билирубин, мкМ/л	2,84 ± 0,11	2,78 ± 0,06	2,87 ± 0,05
Глюкоза, мМ/л	5,01 ± 0,12	4,86 ± 0,04	4,98 ± 0,08
Холестерин, мМ/л	2,37 ± 0,13	2,29 ± 0,27	2,16 ± 0,13
Общий кальций, мМ/л	2,63 ± 0,05	2,75 ± 0,04	2,70 ± 0,03
Фосфор неорг., мМ/л	2,35 ± 0,07	2,24 ± 0,05	2,26 ± 0,06

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

После изучения безвредности (переносимости) препарата интерамин на целевом виде животных можно заключить, что новый комплексный препарат не оказывает отрицательного влияния на параметры морфологического состава крови и биохимические показатели обмена веществ у телят — у животных опытных групп не обнаружено достоверных отклонений. Поэтому новый комплексный препарат интерамин безвреден для животных и обладает хорошей переносимостью.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Востроилова Г. А.* Оценка репродуктивной токсичности препарата «Интерамин» в рамках доклинических испытаний / Г. А. Востроилова, Ю. С. Пархоменко, Н. А. Хохлова, А. А. Корчагина // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. 2022. Т. 58. № 3. С. 18—21.

2. *Востроилова Г. А.* Токсикометрическая характеристика комплексного препарата с иммунотропной активностью / Г. А. Востроилова, Ю. С. Пархоменко, Н. А. Хохлова // Ветеринарный фармакологический вестник. 2022. № 2 (19). С. 21—33. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.2.21

3. *Пархоменко Ю. С.* Характеристика местнораздражающего и кожнорезобтивного действий препарата интерамин / Ю. С. Пархоменко // Приоритетные векторы развития промышленности и сельского хозяйства: материалы V Международной научно-практической конференции. 2022. Т. 1. С. 72—76.

4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / Миронов А. Н. Москва: Гриф и К, 2012. 944 с.

5. *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. DOI: 10.4236/aid.2013.33027

6. *Stanulović V.*, *Hodolic M.*, *Mitsikostas D. D.*, *Papadopoulos D.* Drug tolerability: How much ambiguity can be tolerated? A systematic review of the assessment of tolerability in clinical studies / V. Stanulović, M. Hodolic, D. D. Mitsikostas, D. Papadopoulos // British Journal of Clinical Pharmacology. 2022. № 88(2). P. 551—565. DOI: 10.1111/bcp.15016

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ю. С. Пархоменко — младший научный сотрудник;
Н. А. Хохлова — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
Л. В. Ческидова — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 03.07.2025.

Original article
UDC 619:615.065:615.37/281

STUDY OF THE SAFETY (TOLERABILITY) OF THE NEW COMPLEX DRUG INTERAMIN IN THE FRAMEWORK OF PRECLINICAL STUDIES

Yuliya Sergeevna Parkhomenko*✉, Nina Alekseevna Khokhlova*, Liliya Valeryevna Cheskidova*

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, yuliyasp21@mail.ru✉

Abstract. Preventive veterinary medicine in the modern conditions of intensification of animal husbandry requires effective drugs. The article presents the results of a study of the safety (tolerability) of the new complex drug interamin in the framework of preclinical studies. The experiment involved 15 clinically healthy calves, divided into 3 groups (n = 5 each). Blood samples were collected 7 and 14 days after a single intramuscular administration of the drug at a therapeutic dose (0.1 ml/kg) and at a 10-fold therapeutic dose (1.0 ml/kg). The study results showed that the morphological composition of the blood and biochemical indicators of metabolism in calves, which received interamin once, corresponded to the physiological values for this age and gender group of animals. This allows to conclude that the new complex drug interamin is safe for animals and has good tolerability.
Keywords: interamin, tolerability (safety), blood morphology and biochemistry, calves

The fundamental task of veterinary pharmacology is the design of highly effective, environmentally safe drugs used for animals that should not have a negative effect on their body and not reduce the quality of the resulting agricultural products [5]. A fundamental role in this is played by preclinical study of new drugs, which allows to determine their specific pharmacological activity, safety, making it possible to assess their biochemical and physiological effects on the body, establish the relationship between the concentration of the active substance and its effects, and determine the indications and contraindications for use [6], as well as to identify side effects that change the risk-benefit ratio [4].

Preventive veterinary medicine in the modern conditions of intensification of animal husbandry requires effective drugs. Medicines of natural origin, which are characterized by high biological activity, have a unique potential for solving this problem. The new complex drug interamin, which includes hydrophilic cryofraction of bovine spleen, recombinant (bovine) species-specific interferons –alpha and –gamma and vitamins A, E, is one of such medicines. According to the results of previous studies, it has been shown that the complex drug interamin can be classified as class V of practically non-toxic medicinal substances according to Hodge H. et al., 1975; Sidorov K. K., 1977, and class IV of hazard — low-hazard substances according to GOST 12.1.007—76 [1], that it does not exhibit local irritant and skin-resorptive effects [3] and does not have embryotoxic and teratogenic effects [2].

The work objective is a preclinical study of the safety (tolerability) of the new complex drug interamin on calves.

MATERIAL AND METHODS

The studies were conducted on the basis of one of the livestock complexes in Voronezh region in accordance with the requirements of current international and Russian legislative acts (Directive 2010/63/EU of 22.09.2010, the European Convention (ETS123), Strasbourg, 1986), as well as the requirements of the bioethics commission of FSBSI "ARVRIPP&T", on 15 clinically healthy Holstein calves aged 5—6 months. The animals of the first group (n = 5) were not administered the drug, they served as the control. The calves of the second group (n = 5) were given a single intramuscular injection of the new complex drug interamin at a therapeutic dose (0.1 ml/kg), the third group (n = 5) — at a 10-fold therapeutic dose (1.0 ml/kg). The effect of the test drug on the calves was assessed based on the results of a laboratory study of he-

matological and biochemical indicators. Blood samples were collected 7 and 14 days after a single intramuscular injection of the drug to healthy animals from the jugular vein by venipuncture.

Hematological indicators (erythrocytes, hemoglobin, leukocytes, leukogram) were determined on a hematological analyzer ABX Micros 60 CT/OT (France) and by conventional methods, protein fractions — by electrophoresis on agarose gel; the level of urea, creatinine, cholesterol, glucose, total calcium, inorganic phosphorus, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) activity — on a Hitachi-902 biochemical analyzer; and total protein, total bilirubin — spectrophotometrically using a set of Vital Development Corporation JSC. The obtained experimental data were processed using the statistical program Statistica v. 8.0 (StatSoft Inc.).

STUDY RESULTS

After a single use of interamin at therapeutic and 10-fold therapeutic doses, based on the analysis of the obtained results of laboratory testing of blood samples from the calves in the experimental groups, it was established that the hematological indicators did not go beyond the reference values and, for the most part, did not differ significantly from the indicators of the animals in the control group (Table 1).

Table 1

Hematological indicators of healthy calves in the study of the drug interamin safety

Indicator	Control group	First experimental group (0.1 ml/kg)	Second experimental group (1.0 ml/kg)
7 days after the drug administration			
Erythrocytes, 10^{12}/L	7.46 ± 0.38	7.92 ± 0.55	7.93 ± 0.36
Hemoglobin, g/L	113.1 ± 2.52	115.3 ± 3.74	114.8 ± 3.41
Leukocytes, 10^{9}/L	8.62 ± 0.34	9.34 ± 0.36	9.21 ± 0.23
Basophils, %	0.47 ± 0.62	0.30 ± 0.26	0.38 ± 0.24
Stab neutrophils, %	2.46 ± 0.52	2.66 ± 0.63	2.52 ± 0.42
Segmented neutrophils, %	26.8 ± 0.96	26.9 ± 0.82	27.1 ± 0.68
Eosinophils, %	4.45 ± 0.20	4.02 ± 0.18	3.92 ± 0.28
Monocytes, %	4.72 ± 0.54	4.92 ± 0.88	4.78 ± 0.96
Lymphocytes, %	61.1 ± 1.63	61.2 ± 1.84	61.3 ± 2.02
14 days after the drug administration			
Erythrocytes, 10^{12}/L	7.22 ± 0.81	7.58 ± 0.67	7.11 ± 0.57
Hemoglobin, g/L	112.2 ± 1.83	114.1 ± 2.25	113.2 ± 2.06
Leukocytes, 10^{9}/L	8.58 ± 0.26	9.17 ± 0.43	9.08 ± 0.21
Basophils, %	0.24 ± 0.18	0.12 ± 0.06	0.22 ± 0.12
Stab neutrophils, %	2.36 ± 0.49	2.28 ± 0.53	2.12 ± 0.47
Segmented neutrophils, %	28.1 ± 1.41	29.5 ± 0.52	29.7 ± 0.72
Eosinophils, %	4.58 ± 0.26	3.96 ± 0.24	3.44 ± 0.33
Monocytes, %	5.42 ± 0.46	4.64 ± 0.54	4.42 ± 0.39
Lymphocytes, %	59.3 ± 1.03	59.5 ± 0.94	61.1 ± 0.84

As follows from Table 2, with a single intramuscular injection of interamin at the studied doses (0.1 ml/kg and 1.0 ml/kg), fluctuations in the values of the main metabolic indicators of the calves in the experimental groups were within the physiological norm and did not differ significantly from similar indicators in the calves in the control group, which indicated good tolerability of the new complex drug.

Table 2

Biochemical indicators of healthy calves in the study of the drug interamin safety

Indicator	Control group	First experimental group (0.1 ml/kg)	Second experimental group (1.0 ml/kg)
1	2	3	4
7 days after the drug administration			
Total protein, g/L	65.9 ± 0.95	66.8 ± 1.06	69.90 ± 0.87
Albumin, %	44.5 ± 1.17	44.9 ± 1.23	44.6 ± 0.97
α-globulins, %	17.4 ± 0.63	16.52 ± 0.81	16.76 ± 0.73
β-globulins, %	15.2 ± 0.53	14.38 ± 0.75	14.54 ± 0.66
γ-globulins, %	22.9 ± 1.17	24.2 ± 1.32	24.1 ± 1.04
ALP, U/L	131.3 ± 2.13	134.1 ± 3.05	133.3 ± 4.01
AST, U/L	55.1 ± 1.72	55.5 ± 2.61	54.9 ± 2.03
ALT, U/L	26.8 ± 0.69	27.1 ± 1.09	26.9 ± 0.74
Creatinine, μM/L	78.1 ± 2.10	78.3 ± 2.21	79.3 ± 1.78
Urea, mm/L	5.18 ± 0.34	5.79 ± 0.19	5.95 ± 0.26
Total bilirubin, μM/L	3.08 ± 0.07	3.12 ± 0.14	3.27 ± 0.17
Glucose, mm/L	5.07 ± 0.11	4.76 ± 0.26	4.82 ± 0.13
Cholesterol, mm/L	2.29 ± 0.04	2.01 ± 0.22	1.96 ± 0.21
Total calcium, mmol/L	2.48 ± 0.09	2.69 ± 0.10	2.71 ± 0.18
Inorganic phosphorus, mm/L	2.32 ± 0.05	2.21 ± 0.06	2.27 ± 0.03
14 days after the drug administration			
Total protein, g/L	66.2 ± 1.12	68.4 ± 1.01	67.8 ± 0.82
Albumin, %	44.6 ± 1.03	44.6 ± 0.97	44.7 ± 1.17
α-globulins, %	17.06 ± 0.43	16.18 ± 0.51	16.84 ± 0.49
β-globulins, %	15.14 ± 0.37	14.42 ± 0.56	14.16 ± 1.06
γ-globulins, %	23.2 ± 1.24	24.8 ± 1.25	23.6 ± 1.11
ALP, U/L	133.5 ± 3.12	136.6 ± 2.88	140.1 ± 3.30
AST, U/L	53.3 ± 2.07	56.2 ± 1.73	56.7 ± 1.45
ALT, U/	25.3 ± 1.59	26.5 ± 0.99	28.4 ± 0.85

Table 2 (the end)

1	2	3	4
Creatinine, μM/L	78.6 ± 2.84	79.6 ± 1.77	78.4 ± 1.38
Urea, mm/L	5.23 ± 0.18	5.71 ± 0.23	5.65 ± 0.16
Total bilirubin, μM/L	2.84 ± 0.11	2.78 ± 0.06	2.87 ± 0.05
Glucose, mm/L	5.01 ± 0.12	4.86 ± 0.04	4.98 ± 0.08
Cholesterol, mm/L	2.37 ± 0.13	2.29 ± 0.27	2.16 ± 0.13
Total calcium, mmol/L	2.63 ± 0.05	2.75 ± 0.04	2.70 ± 0.03
Inorganic phosphorus, mm/L	2.35 ± 0.07	2.24 ± 0.05	2.26 ± 0.06

The study did not reveal any negative effects on organs that are primarily exposed to possible toxic effects of drugs. Some changes in morphological and biochemical blood indicators after the administration of a single conditionally therapeutic and 10-fold conditionally therapeutic doses were of a trend nature and were probably associated with the activation of metabolic processes by biologically active substances of the drug.

From this, we can conclude that there is no toxic effect of the drug interamin on the body of healthy animals after a single administration.

CONCLUSION

After studying the safety (tolerability) of the drug interamin on the target animal species, it can be concluded that the new complex drug does not have a negative effect on the indicators of the morphological composition of the blood and biochemical indicators of metabolism in calves — no reliable deviations were found in the animals of the experimental groups. Therefore, the new complex drug interamin is safe for animals and has good tolerability.

REFERENCES

1. *Vostroilova G. A.* Assessment of reproductive toxicity of the drug “Interamin” in the framework of preclinical trials / G. A. Vostroilova, Yu.S. Parkhomenko, N. A. Khokhlova, A. A. Korchagina // Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny (Transactions of the educational establishment “Vitebsk the Order of ‘the Badge of Honor’ State Academy of Veterinary Medicine”). 2022. Vol. 58. No. 3. P. 18—21.

2. *Vostroilova G. A.* Toxicometric characteristics of a complex drug with immunotropic activity / G. A. Vostroilova, Yu. S. Parkhomenko, N. A. Khokhlova // Bulletin of Veterinary Pharmacology. 2022. No. 2 (19). P. 21—33. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.2.21

3. *Parkhomenko Yu. S.* Characteristics of local irritant and skin resorption effects of the drug interamin / Yu. S. Parkhomenko // Priority vectors of industry and agriculture development: materials of the V International scientific and practical conference. 2022. Vol. 1. P. 72—76.

4. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. / *Mironov A. N.* Moscow: Grif i K, 2012. 944 p.

5. *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. DOI: 10.4236/aid.2013.33027

6. *Stanulović V., Hodolic M., Mitsikostas D. D., Papadopoulos D.* Drug tolerability: How much ambiguity can be tolerated? A systematic review of the assessment of tolerability in clinical studies / V. Stanulović, M. Hodolic, D. D. Mitsikostas, D. Papadopoulos // British Journal of Clinical Pharmacology. 2022. No. 88(2). P. 551—565. DOI: 10.1111/bcp.15016

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Yu. S. Parkhomenko — Junior Scientific Associate;
N. A. Khokhlova — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;
L. V. Cheskidova — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate.

The article was submitted 03.07.2025.

Научная статья
УДК 619:615.2/.3:616-056.54:636.2-053.2
DOI: 000

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА БЫЧЬЕГО РЕКОМБИНАНТНОГО IFN-γ НА ПОКАЗАТЕЛИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У ТЕЛЯТ-ГИПОТРОФИКОВ С КОМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Дмитрий Александрович Саврасов*✉, Павел Андреевич Паршин**

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

Аннотация. В статье представлены результаты изучения влияния препарата IFN-γ на показатели естественной неспецифической резистентности телят при коморбидных патологиях (гипотрофия, иммунодефицит). Для исследования были отобраны новорожденные телята голштинской породы, которые находились в аналогичных условиях содержания и кормления. Экспериментальных животных разделили на группы: 1 группа — клинически здоровые телята-нормотрофики (*n* = 5); 2 группа (контрольная) — телята-гипотрофики, которым не применяли препараты (*n* = 5); 3 группа (опытная) — телята-гипотрофики, которым в первые и вторые сутки жизни парентерально вводили препарат IFN-γ бычьего рекомбинантного в дозе 0,1 мл/кг (*n* = 5). Установлено, что применение препарата бычьего рекомбинантного IFN-γ телятам-гипотрофикам с коморбидной патологией способствует восстановлению уровня клеточного звена (ФАН, ФИ и ФЧ) на 7-е сутки, а к 30-му дню оптимизируются и гуморальные показатели (БАСК, КАСК, ЛАСК) неспецифической резистентности, повышая защитные возможности организма в борьбе с различными болезнетворными агентами.

Ключевые слова: телята, гипотрофия, коморбидность, резистентность, интерферон-γ

В условиях интенсификации животноводства усиливается негативное влияние контролируемых и неконтролируемых человеком стресс-факторов различной природы на животных, что сопровождается повышением заболеваемости. Проблема получения и сохранения здорового молодняка сельскохозяйственных животных относится к числу наиболее актуальных в животноводстве, решение которой во многом определяет его эффективность [1].

В последние десятилетия увеличивается количество телят с нарушениями нутритивного статуса, что клинически проявляется гипотрофией. По мере усугубления степени тяжести заболевания у животных при гипотрофии развивается вторичное иммунодефицитное состояние, что диктует необходимость применения в комплексном лечении препаратов с иммунокорригирующим эффектом [2, 3]. Перспективным направлением фармакотерапии в этом направлении является применение препаратов на основе видоспецифичных интерферонов [4]. Интерфероны представляют 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 высокоэффективных иммуномодулирующих и антистрессовых агентов, поэтому вполне обоснованно, что наиболее изученными в гуманной медицине и широко используемыми на практике являются IFN-α и IFN-γ.

В настоящее время терапия IFN-γ является одним из наиболее перспективных и постоянно расширяющихся направлений иммунофармакологии и лечения заболеваний различной этиологии. Использование рекомбинантных IFN-γ, обеспечивающих адекватную и целенаправленную ме-

дикаментозную коррекцию иммунных дисфункций, повышает эффективность иммунотерапии. При введении в организм они восполняют дефицит эндогенных регуляторных медиаторов и полностью воспроизводят их эффекты. Это особенно важно в условиях тяжелой или хронической патологии, когда применение традиционных стимулирующих иммунную систему веществ или индукторов синтеза цитокинов малоэффективно из-за истощения компенсаторных возможностей иммунной системы [4, 5].

Целью исследования было изучение влияния препарата IFN-γ на показатели неспецифической резистентности у телят-гипотрофиков с коморбидной патологией.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Научные исследования проведены на телятах голштинской породы с рождения и до месячного возраста. Животные находились в аналогичных условиях содержания, кормления и ухода. Новорождённые телята были разделены по принципу аналогов на 3 группы по пять голов в каждой.

1 группа — клинически здоровые телята-нормотрофики; 2 группа (контрольная) — телята-гипотрофики, которым не применяли препарат; 3 группа (опытная) — телята-гипотрофики, которым парентерально вводили препарат IFN-γ бычий рекомбинантный в дозе 0,1 мл/кг двукратно в первые и вторые сутки жизни.

У телят брали кровь из ярёмной вены с учётом правил асептики и антисептики в 1-е, 7-е и 30-е сутки. Фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН), бактерицидную (БАСК), лизоцимную (ЛАСК) и комплементарную (КАСК) активность сыворотки крови — согласно утвержденным «Методическим рекомендациям по оценке и коррекции иммунного статуса животных» [6]. С помощью программы Statistica 6.0 проводили статистическую обработку полученных данных, по критерию Стьюдента — оценку достоверности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе проведенных клинических исследований у новорожденных телят-гипотрофиков с коморбидной патологией в первые сутки жизни были выявлены пониженные показатели клеточного и гуморального звеньев неспецифической резистентности относительно таковых у клинически здоровых телят. Так уровень ФАН, ФИ и ФЧ был ниже на 11,9 %, 35,0 и 39,4 % соответственно. Показатели гуморального звена также были меньше КАСК на 34,1 %, ЛАСК на 33,1 и БАСК на 16,0 % по сравнению аналогичными значениями телят-нормотрофиков.

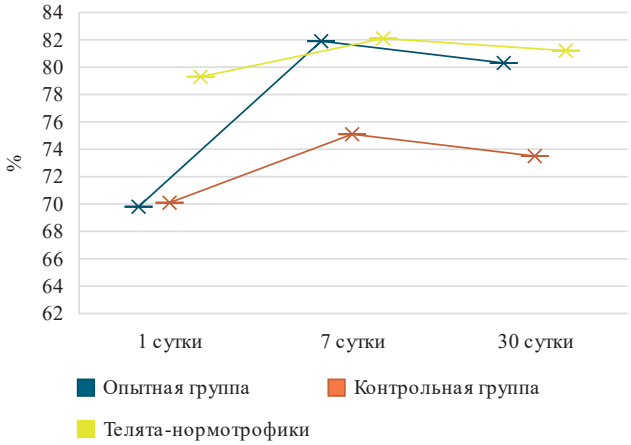
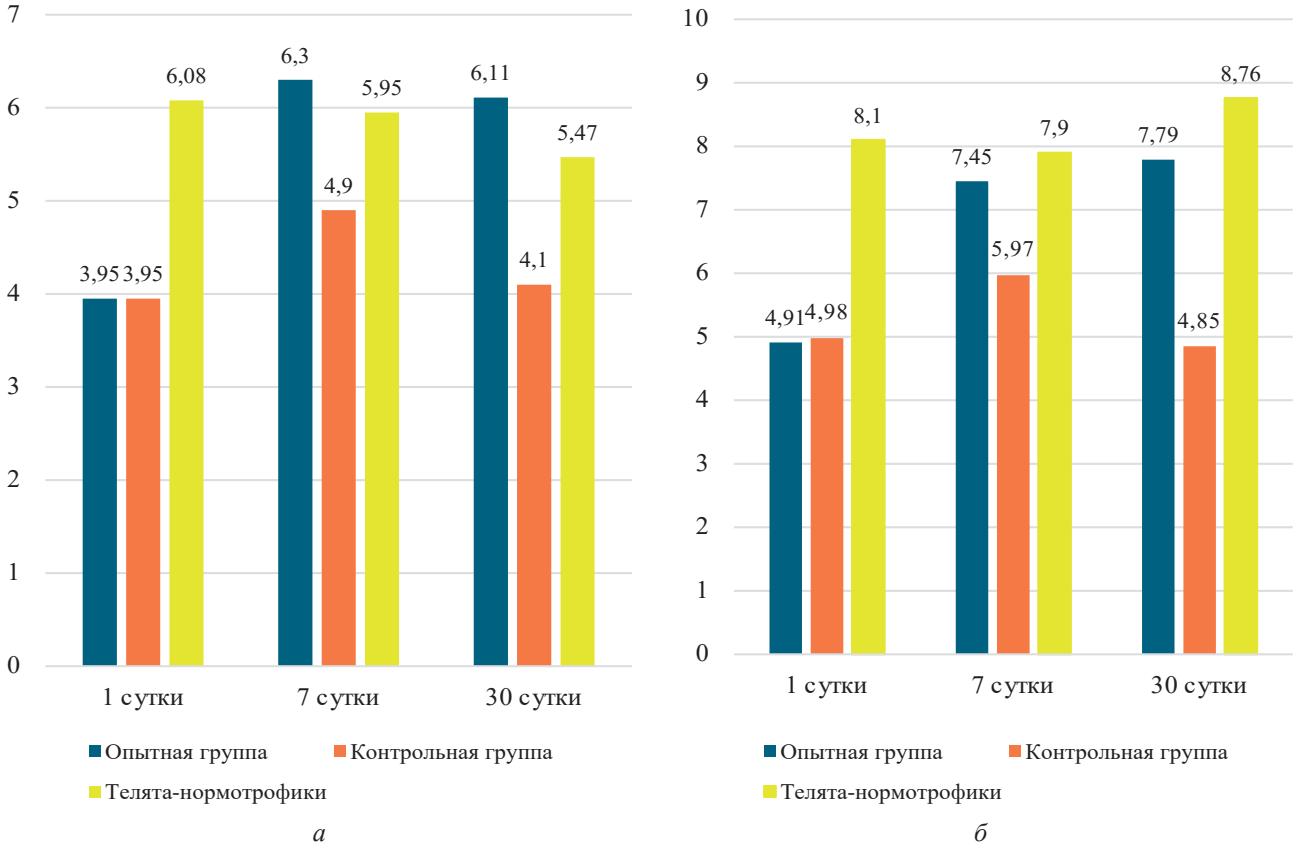


Рис. 1. Динамика изменений фагоцитирующей активности нейтрофилов

У клинически здоровых животных фагоцитарная активность нейтрофилов в течение опыта практически не изменялась, у телят-гипотрофиков контрольной группы отмечено незначительное повышение на 7 сутки ФАН на 7,1 %, при этом оставалась на более низком уровне до 30 дня (рис. 1). У телят-гипотрофиков опытной группы после применения препарата INF-γ бычьего рекомбинантного ФАН увеличилась на 7-е сутки на 17,3 % ($P < 0,05$), достигая значений нормотрофиков и на 30-е сутки оставался в переделах этих же границ.

Фагоцитарное число и фагоцитарный индекс у клинически здоровых телят не претерпели значимых изменений во все сроки исследований (рис. 2). У телят-гипотрофиков с коморбидной патологией контрольной группы отмечено на 7 день повышение ФЧ и ФИ на 24,0 и 19,9 % при снижении на 30 день указанных показателей на 19,3 и 18,7 % соответственно. Наряду с этим в течение всего опыта у телят-гипотрофиков уровень поглотительной функции нейтрофилов был значительно ниже аналогичных значений телят-нормотрофиков. У животных опытной группы после применения бычьего рекомбинантного IFN-γ установлено на 7 сутки значительное увеличение ФЧ и ФЧ на 59,5 и 52 % ($P < 0,01$), достигая значений телят-нормотрофиков. Изменения, отмеченные к 30 дню исследований, свидетельствовали о выраженной интенсивности и завершенности фагоцитоза под влиянием препарата (рис. 2).



а *б*

Рис. 2. Динамика изменений показателей фагоцитоза:
а — ФЧ; *б* — ФИ

Следовательно, применение препарата бычьего рекомбинантного IFNγ активизировало показатели клеточного звена неспецифической резистентности у телят-гипотрофиков с коморбидной патологией, уровень которых на 7-й день достигал значений телят-нормотрофиков.

Комплементарная активность сыворотки крови у телят-нормотрофиков после рождения составила 8,97 ± 0,72 %гем., а на 7-й и на 30-й день жизни регистрировали понижение уровня КАСК на 50,2 и 18,9 % ($P < 0{,}005$). На 7 сутки исследований у новорождённых телят контрольной группы отмечали также снижение указанного показателя на 32,1 % ($P < 0{,}01$) уровень которого до 30 дня не изменялся и был меньше аналогичного значения телят-нормотрофиков на 25,2 % (рис. 3). Динамика изменений активности комплемента под влиянием препарата рекомбинантного IFN-γ у новорожденных телят-гипотрофиков с коморбидной патологией характеризовалась уменьшением на 23,6 % ($P < 0{,}005$) на 7 день исследований и увеличением на 27,8 % ($P < 0{,}005$) к 30 дню до уровня клинически здоровых животных, что свидетельствует о повышении гуморальной неспецифической защиты.

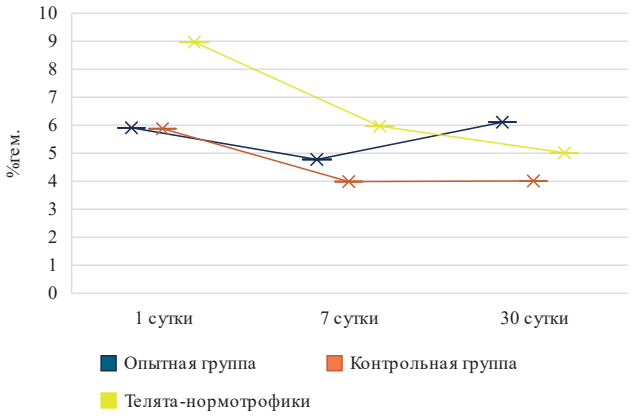


Рис. 3. Динамика изменений комплементарной активности сыворотки крови

Бактерицидная активность сыворотки крови у телят-нормотрофиков в 1 сутки составила 79,5 ± 2,13 % и достоверно не изменялась к месячному возрасту (81,7 ± 2,08 %). У животных контрольной группы БАСК на 7 и 30 сутки не изменилась относительно первых суток и была ниже на 18,2—14,2 % значений клинически здоровых животных.

В то же время применение препарата IFN-γ телятам-гипотрофикам с коморбидной патологи-

ей способствовало увеличению БАСК на 7 день на 4,7 % ($P < 0,05$), а на 30-й день — на 13,6 % ($P < 0,01$) незначительно превышая уровень аналогичного показателя телят-нормотрофиков, при этом снижая риск возникновения воспалений и повышая устойчивость организма к бактериальным возбудителям желудочно-кишечных и респираторных болезней.

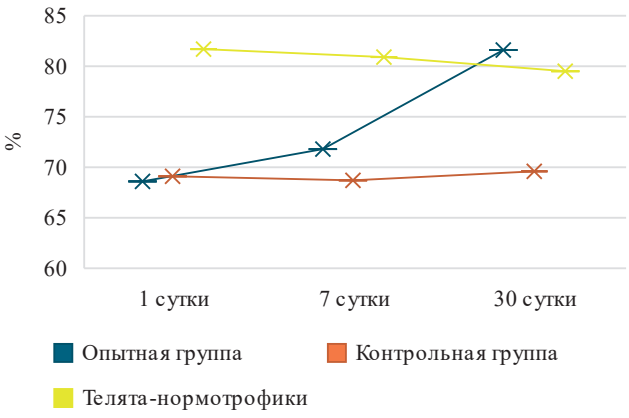


Рис. 4. Динамика изменений бактерицидной активности сыворотки крови

В первые сутки ЛАСК у телят-гипотрофиков контрольной и опытной групп была меньше на 33,1 % ($P < 0,05$) значения телят-нормотрофиков. На 7 сутки у телят-нормотрофиков и гипотрофиков контрольной группы установлено снижение лизоцимной активности сыворотки крови на 7,8 и 22,2 % соответственно, а на 30 сутки увеличение на 12,7 % (телята-нормотрофики) и на 38,4 % ($P < 0,005$) (животные -гипотрофики). При этом уровень ЛАСК у телят-гипотрофиков по сравнению с таковым у клинически здоровых телят оставался ниже на 27,5 %.

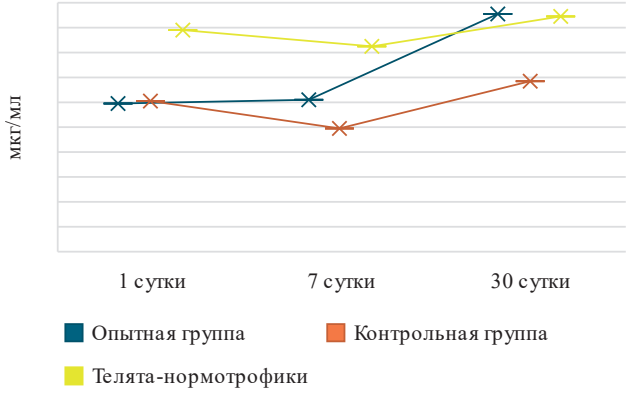


Рис. 5. Динамика изменения лизоцимной активности сыворотки крови

У животных опытной группы после применения рекомбинантного IFN-γ ЛАСК на 7 день увеличилась незначительно, превышая в тоже время аналогичный показатель телят-гипотрофиков контрольной группы. На 30 сутки отмечено более выраженное повышение на 56,5 % ($P < 0,05$) до уровня клинически здоровых телят, что характеризует повышенную пролиферативную активность гранулоцитов, моноцитов и макрофагов, синтезируемых лизоцим, под действием IFN-γ.

Таким образом, после применения бычьего рекомбинантного IFN-γ у телят-гипотрофиков установлено повышение показателей клеточного на 7 сутки и гуморального на 30 сутки звеньев естественной резистентности до уровня здоровых животных, что обусловлено иммунокоррегирующим действием препарата.

Интерферон II типа — IFN-γ является одним из основных факторов неспецифической защиты и ключевым цитокином как естественного, так и адаптивного иммунитета, участвует в обеспечении взаимосвязи между лимфоцитами и макрофагами, стимулирует антигенпрезентирующую функцию макрофагов, регулирует соотношение клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа [7].

IFN-γ стимулирует фагоцитоз, экспрессию генов главного комплекса гистосовместимости и активность естественных киллеров. Среди функций IFN-γ одной из важнейших является активация эффекторных функций макрофагов: их микробицидности и цитотоксичности, продукции ими цитокинов. Одновременно с этим он регулирует образование антител, пролиферацию лимфоцитов, гиперчувствительность замедленного типа. В настоящее время известно, что IFN-γ обеспечивает комбинированный эффект: этиотропный (противовирусный) широкого спектра действия и мощный иммуномодулирующий (иммуностимулирующий и индуцирующий неспецифическую защиту) [8]. Наряду с этим IFN-γ влияет на клеточный иммунный ответ, активирует Th1-клетки, NK-клетки, макрофаги, цитотоксические Т-лимфоциты, повышает неспецифическую резистентность организма и антигенспецифический иммунный ответ, оказывает выраженное противовирусное, антибактериальное, иммуномоделирующее и антипролиферативное действие и является одним из регуляторных факторов клеточного иммунитета [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенными исследованиями установлено, что двукратное применение бычьего реком-

бинантного IFN-γ телятам-гипотрофикам оказало положительное влияние на показатели клеточного и гуморального звена неспецифического иммунитета, повышая их до значений телят-нормотрофиков, свидетельствующее о выраженном иммуномодулирующем действии препарата.

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. Георафия. — 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.

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

8. *Сологуб Т. В.* Интерферон-гамма в терапии гриппа и других респираторных вирусных инфекций / Т. В. Сологуб, Г. С. Голобоков, В. В. Цветков, И. И. Токин // Медицинский Совет. —2015. —№ 7. — С. 54—58.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Д. А. Саврасов — кандидат ветеринарных наук, доцент, заведующий кафедрой терапии и фармакологии;
П. А. Паршин — доктор ветеринарных наук, профессор, директор ФГБНУ «ВНИВИПФиТ».

Статья поступила в редакцию 09.07.2025.

Original article
UDC 619:615.2/.3:616-056.54:636.2-053.2

ASSESSMENT OF THE EFFECT OF THE RECOMBINANT BOVINE IFNΓ PREPARATION ON THE NON-SPECIFIC RESISTANCE INDICATORS IN HYPOTROPHIC CALVES WITH COMORBID PATHOLOGY

Dmitriy Aleksandrovich Savrasov[*]✉, **Pavel Andreevich Parshin**[**]

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

Abstract. The article presents the results of studying the effect of the IFNγ preparation on the natural non-specific resistance indicators in calves with comorbid pathologies (hypotrophy, immunodeficiency). Newborn Holstein calves were selected for the study, which were kept in similar keeping and feeding conditions. The experimental animals were divided into groups: group 1 — clinically healthy normotrophic calves (n = 5); group 2 (control) — hypotrophic calves, which were not given the preparation (n = 5); group 3 (experimental) — hypotrophic calves, which were parenterally administered recombinant bovine IFNγ at a dose of 0.1 ml/kg on the first and second days of life (n = 5). It has been established that the use of a recombinant bovine IFN-γ preparation in hypotrophic calves with comorbid pathology contributes to the restoration of the level of the cellular link (NPA, PhI and PhN) on the 7th day, and by the 30th day, humoral indicators (SBA, SCA, SLA) of non-specific resistance are optimized, increasing the body's defense capabilities in the fight against various pathogenic agents.
Keywords: calves, hypotrophy, comorbidity, resistance, interferon-γ

In the conditions of animal husbandry intensification, the negative effect of stress factors of various origin (controlled and uncontrolled by humans) on animals increases, which is accompanied by an increase in morbidity. The problem of obtaining and maintaining healthy young farm animals is one of the most pressing in animal husbandry, the solution of which largely determines its efficacy [1]. In recent decades, the number of calves with nutritional status disorders has increased, which is clinically manifested by hypotrophy. As the disease severity worsens, a secondary immunodeficiency state, which dictates the need to use preparations with an immunocorrective effect in complex treatment, develops in animals with hypotrophy [2, 3]. A promising direction of pharmacotherapy in this case is the use of preparations based on species-specific interferons [4]. Interferons are a group of biologically active proteins and/or glycoproteins synthesized by cells during the immune reaction in response to the effects of stimulating agents. Due to their functional activity, they can fully claim the role of highly effective immunomodulatory and anti-stress agents, so it is quite reasonable that IFN-α and IFN-γ are the most studied in human medicine and widely used in practice.

Currently, IFN-γ therapy is one of the most promising and constantly expanding areas of immunopharmacology and treatment of diseases of various etiologies. The use of recombinant IFN-γ, which provides adequate and targeted drug correction of immune dysfunctions, increases the efficacy of immunotherapy. When administered into the body, they compensate for the deficiency of endogenous regulatory mediators and completely reproduce their effects. This is especially important in conditions of severe or chronic pathology, when the use of traditional substances stimulating the immune system or inducers of cytokine synthesis is ineffective due to the depletion of the compensatory capabilities of the immune system [4, 5].

The research objective was to study the effect of the IFNγ preparation on the non-specific resistance indicators in hypotrophic calves with comorbid pathology.

MATERIAL AND METHODS

Scientific studies were conducted on Holstein calves from birth to one month of age. The animals were kept in similar keeping, feeding and care conditions. 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) — hypotrophic calves, which were not administered the preparation; group 3 (experimental) — hypotrophic calves, which were parenterally administered the recombinant bovine IFNγ preparation at a dose of 0.1 ml/kg twice on the first and second days of life. Blood was taken from the jugular vein of calves taking into account the rules of asepsis and antisepsis on the 1st, 7th and 30th days. Phagocytic index (PhI), phagocytic number (PhN), neutrophil phagocytic activity of (NPA), serum bactericidal (SBA), lysozyme (SLA) and complementary (SCA) activity — according to the approved Methodological Recommendations for the Assessment and Correction of the Immune Status of Animals [6]. Using the Statistica 6.0 program, statistical processing of the obtained data was carried out, according to the Student criterion — an assessment of reliability.

STUDY RESULTS

During the clinical studies in newborn hypotrophic calves with comorbid pathology, reduced indicators of cellular and humoral links of non-specific resistance were found on the first day of life relative to those in clinically healthy calves. Thus, the level of NPA, PhI and PhN was lower by 11.9 %, 35.0 and 39.4 %, respectively. The indicators of the humoral link were also lower than SCA by 34.1 %, SLA — by 33.1 and SBA — by 16.0 %, compared to similar values in normotrophic calves.

In clinically healthy animals, neutrophil phagocytic activity remained virtually unchanged during the experiment. In hypotrophic calves, a slight increase in NPA by 7.1 % was noted on the 7th day, while it remained at a lower level until the 30th day (Fig. 1). In the experimental group of hypotrophic calves, after the use of the recombinant bovine INF-γ preparation, NPA increased by 17.3 % on the 7th day ($P < 0.05$), reaching the values of normotrophic calves and remained within the same limits on the 30th day.

The phagocytic number and phagocytic index in clinically healthy calves did not undergo significant changes at any time during the study (Fig. 2). In hypotrophic calves with comorbid pathology of the control group, an increase in PhN and PhI by 24.0 and 19.9 % was noted on the 7th day, with a decrease in these indicators by 19.3 and 18.7 %, respectively, on the 30th day. Along with this, throughout the experiment, the level of neutrophil absorptive function in hypotrophic calves was significantly lower than similar values in normotrophic calves. In the animals of the experimental group, after the use of recombinant bovine IFN-γ, a significant increase in PhN and PhI by 59.5 and 52 % ($P < 0.01$) was established on the 7th day, reaching the values of normotrophic calves. The changes noted by the 30th day of the study indicated a pronounced intensity and completeness of phagocytosis under the effect of the preparation (Fig. 2).

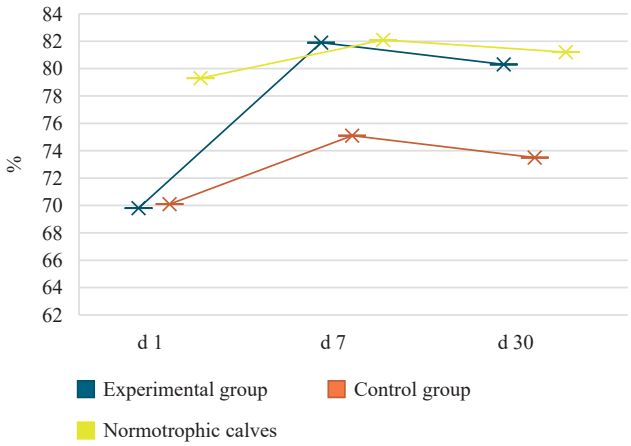


Fig. 1. Dynamics of changes in neutrophil phagocytic activity

Consequently, the use of the recombinant bovine IFNγ preparation activated the indicators of the cellular link of non-specific resistance in hypotrophic calves with comorbid pathology, the level of which on the 7th day reached the values of normotrophic calves.

Serum complementary activity in normotrophic calves after birth was 8.97 ± 0.72 % hem., and on the 7th and 30th day of life, a decrease in the level of SCA by 50.2 and 18.9 % ($P < 0.005$) was recorded. On the 7th day of the studies, a decrease in the indicated indicator by 32.1 % ($P < 0.01$) was also noted in the newborn calves of the control group, the level of which did not change until the 30th day and was lower than the similar value in normotrophic calves by 25.2 % (Fig. 3). The dynamics of changes in complement activity under the effect of the recombinant IFN-γ preparation in newborn hypotrophic calves with comorbid pathology was characterized by a decrease by 23.6 % ($P < 0.005$) on the 7th day of the study, and an increase by 27.8 % ($P < 0.005$) by the 30th day to the level of clinically healthy animals, which indicated an increase in humoral nonspecific defense.

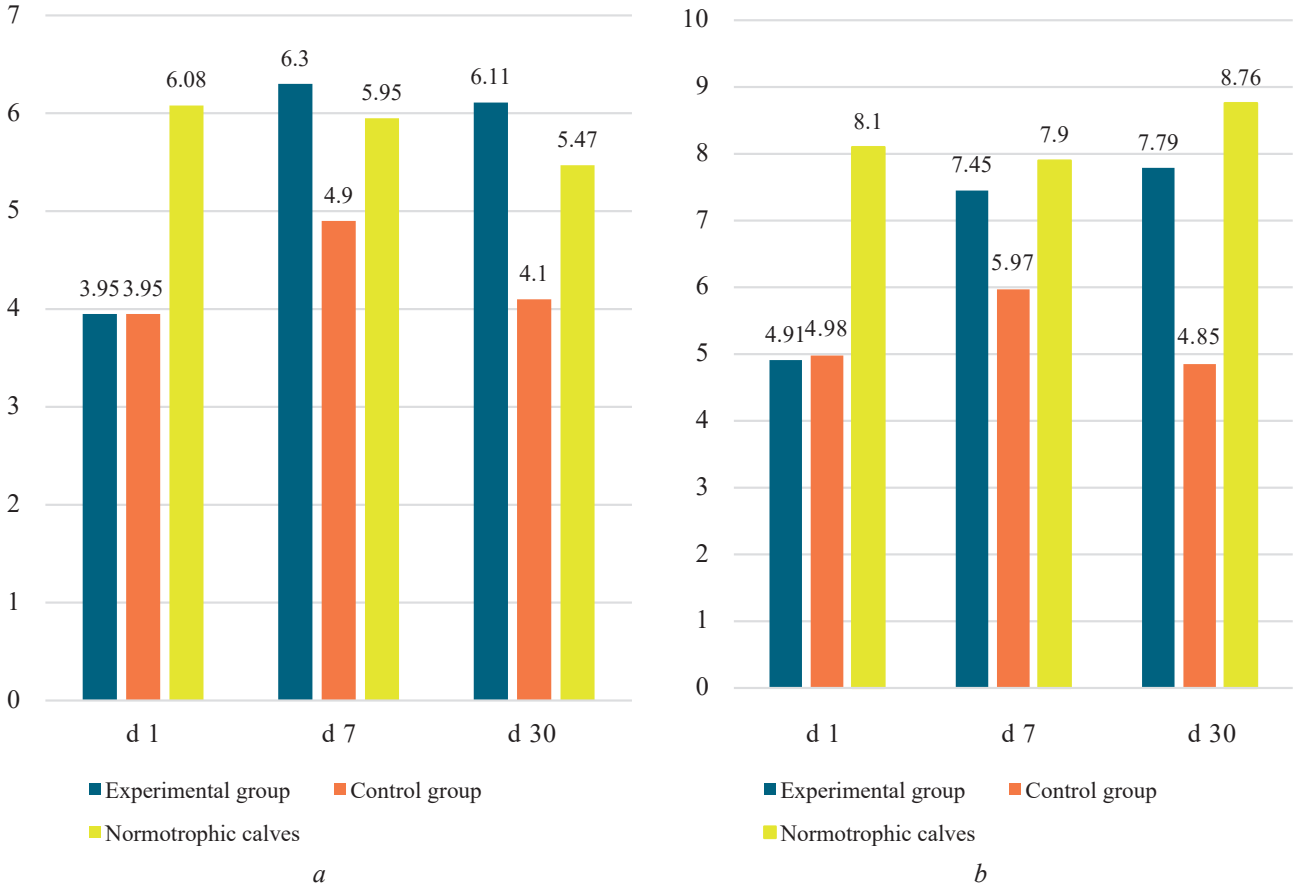


Fig. 2. Dynamics of changes in phagocytosis indicators:
a — PhN; *b* — PhI

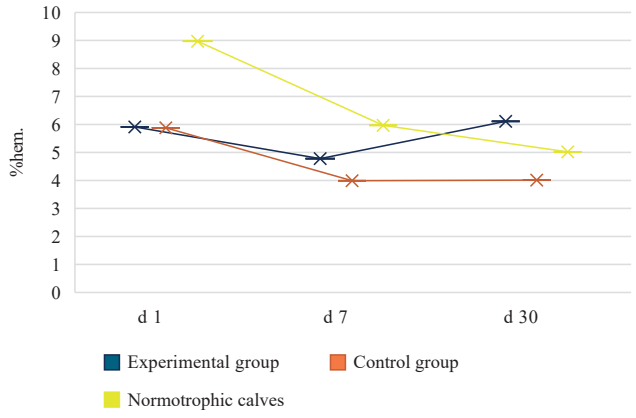


Fig. 3. Dynamics of changes in serum complementary activity

Serum bactericidal activity in normotrophic calves on the 1st day was 79.5 ± 2.13 % and did not change significantly by the age of one month (81.7 ± 2.08 %). In the animals of the control group, SBA on the 7th and 30th days did not change relative to the first day and was by 18.2—14.2 % lower than the values of clinically healthy animals.

At the same time, the use of the IFN-γ preparation in hypotrophic calves with comorbid pathology contributed to an increase in SBA by 4.7 % ($P < 0.05$) on the 7th day, and on the 30th day — by 13.6 % ($P < 0.01$), slightly exceeding the level of a similar indicator in normotrophic calves, while reducing the risk of inflammation and increasing the body's resistance to bacterial pathogens of gastrointestinal and respiratory diseases.

On the first day, SLA in the hypotrophic calves of the control and experimental groups was by 33.1 % ($P < 0.05$) lower than the value in the normotrophic calves. On the 7th day, the normotrophic and hypotrophic calves of the control group showed a decrease in serum lysozyme activity by 7.8 and 22.2 %, respectively, and on the 30th day, an increase by 12.7 % (normotrophic calves) and 38.4 % ($P < 0.005$) (hypotrophic animals). At the same time, the SLA level in hypotrophic calves, compared with that in clinically healthy calves, remained lower by 27.5 %.

In the animals of the experimental group after the use of recombinant IFN-γ, SLA on the 7th day increased slightly, at the same time exceeding the similar indi-

cator of the control group of hypotrophic calves. On the 30th day, a more pronounced increase by 56.5 % ($P < 0.05$) to the level of clinically healthy calves was noted, which characterized the increased proliferative activity of granulocytes, monocytes and macrophages synthesized by lysozyme under the effect of IFN-γ.

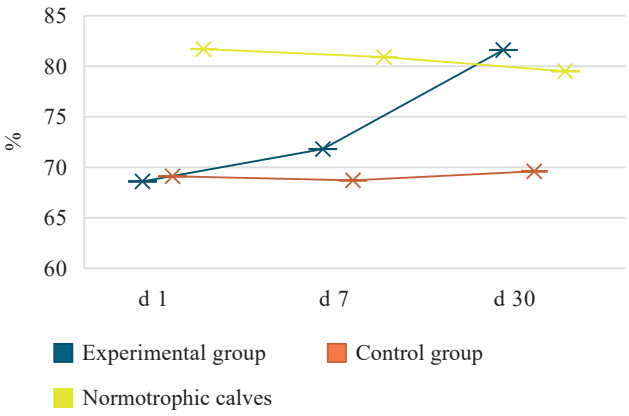


Fig. 4. Dynamics of changes in serum bactericidal activity

Thus, after the use of recombinant bovine IFN-γ in hypotrophic calves, an increase in the indicators of cellular (on the 7th day) and humoral (on the 30th day) links of natural resistance to the level of healthy animals was established, which was due to the immunocorrective effect of the preparation.

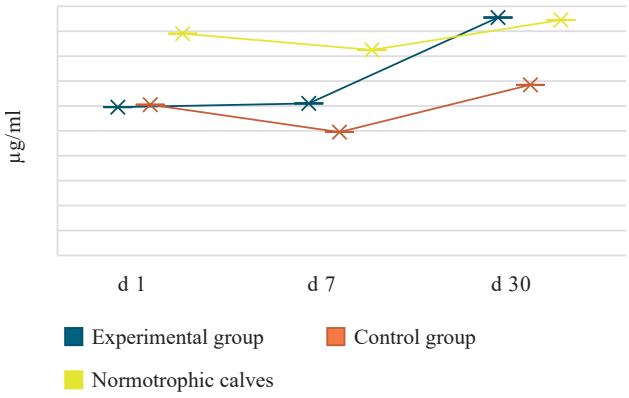


Fig. 5. Dynamics of changes in serum lysozyme activity

Interferon type II (IFN-γ) is one of the main factors of non-specific defense and a key cytokine of both natural and adaptive immunity, participates in ensuring the relationship between lymphocytes and macrophages, stimulates the antigen-presenting function of macrophages, regulates the ratio of cellular and humoral links of the immune response [7].

IFN-γ stimulates phagocytosis, gene expression of the major histocompatibility complex and the activity of natural killers.

Among the functions of IFN-γ, one of the most important is the activation of the effector functions of macrophages: their microbicidal activity and cytotoxicity, their production of cytokines.

At the same time, it regulates the formation of antibodies, proliferation of lymphocytes, and delayed-type hypersensitivity. It is currently known that IFN-γ provides a combined effect: etiotropic (antiviral) of a broad spectrum of action and a powerful immunomodulatory effect (immunostimulating and inducing non-specific defense) [8]. Along with this, IFN-γ affects the cellular immune response, activates Th1 cells, NK cells, macrophages, cytotoxic T lymphocytes, increases the non-specific resistance of the body and the antigen-specific immune response, has a pronounced antiviral, antibacterial, immunomodulatory and antiproliferative effect and is one of the regulatory factors of cellular immunity [7].

CONCLUSION

The conducted studies have established that twofold administration of recombinant bovine IFN-γ to hypotrophic calves had a positive effect on the indicators of cellular and humoral non-specific immunity, increasing them to the values of normotrophic calves, indicating a pronounced immunomodulatory effect of the preparation.

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 the Order of 'the 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. — Seriya 2: Khimiya. Biologiya. Georgafiya (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.

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

8. *Sologub T. V.* Interferon-gamma in the therapy of influenza and other respiratory viral infections / T. V. Sologub, G. S. Golobokov, V. V. Tsvetkov, I. I. Tokin // Meditsinskiy Sovet (Medical Council). — 2015. — No. 7. — P. 54—58.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

P. A. Parshin — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Director of FSBSI “ARVRIPP&T”.

The article was submitted 09.07.2025.

Научная статья
УДК 619:616.2-002:615.281:577.212.6
DOI: 000

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ИНТЕРФЕРОНОВ НА ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА ПРИ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ РЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИИ У ТЕЛЯТ

Виктор Алексеевич Шутиков[*], Дмитрий Евгеньевич Рудь[*], Дмитрий Владимирович Гунькин[*], Николай Алексеевич Стрельников[*], Дмитрий Игоревич Шабанов[*], Валерий Юрьевич Сулин[*], Евгений Владимирович Михайлов[*]✉, Владимир Антонович Прокулевич[**]

[*]Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, voronezh81@rambler.ru✉
[**]Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В статье представлены результаты исследования, направленного на оценку терапевтической эффективности препарата на основе рекомбинантных интерферонов (Проаутовак) при респираторной патологии телят через анализ его влияния на молекулярно-биохимические маркеры антиоксидантной защиты. У больных животных зарегистрирована повышенная экспрессия генов глутатионпероксидазы (GPX1) и супероксиддисмутазы (SOD1), что отражает компенсаторную активацию антиоксидантной системы в условиях патогенетически значимого окислительного стресса. В рамках сравнительного анализа двух терапевтических схем — Азитронит + Проаутовак и Азитронит + Бутофан — установлено, что включение Проаутовака в комплексную терапию обеспечивает более выраженную и пролонгированную стимуляцию антиоксидантных механизмов. Применение данного препарата коррелирует с оптимизацией экспрессионного профиля генов антиоксидантной защиты (CAT, GPX1, SOD1), повышением функциональной активности соответствующих ферментативных систем и ускорением клинического выздоровления животных. Выявленная согласованность динамики транскрипционной активности исследуемых генов и каталитической активности, кодируемых ими ферментов подтверждает информативность избранных маркеров для мониторинга эффективности интерферонотерапии при респираторных заболеваниях телят. Полученные результаты обосновывают целесообразность применения Проаутовака в качестве патогенетически ориентированного компонента комплексной терапии респираторных патологий у молодняка крупного рогатого скота.

Ключевые слова: телята, респираторная патология, бронхопневмония, уровень экспрессии генов, интерфероны, Проаутовак, антиоксидантная защита

Респираторные заболевания занимают лидирующие позиции в структуре заболеваемости крупного рогатого скота, нанося значительный экономический ущерб животноводческим хозяйствам. Патогенетические механизмы респираторных заболеваний у телят характеризуется сложным и многофакторным взаимодействием этиологических агентов (вирусов, бактерий, микоплазм), неблагоприятных факторов окружающей среды (нарушение микроклимата, высокая плотность посадки) и ослаблением иммунной системы [1]. Ключевую роль в развитии и прогрессировании респираторных патологий отводят оксидативному стрессу, обусловленному дисбалансом между генерацией активных форм кислорода (АФК) и потенциалом системы антиоксидантной защиты. Избыточная

продукция АФК инициирует деструктивные процессы в клеточных структурах, включая эпителий респираторного тракта, альвеолоциты и эндотелиальные клетки сосудов, что потенцирует развитие воспалительных реакций, формирование отечного синдрома легких и нарушение процессов газообмена [2, 3].

Система антиоксидантной защиты организма, представленная ансамблем ферментов, включающим супероксиддисмутазу (SOD), каталазу (CAT) и глутатионпероксидазу (GPX), играет критическую роль в нейтрализации АФК и поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза [4, 5]. Дисфункция системы антиоксидантной защиты, связанная с аберрациями в экспрессии генов, кодирующих данные ферменты, может потенцировать развитие респираторных заболеваний и пролонгировать период реконвалесценции [6].

Интерфероны (ИФН) — группа сигнальных белков, продуцируемых клетками в ответ на присутствие патогенов [7]. Традиционно интерфероны рассматривались преимущественно как противовирусные факторы, однако в последние десятилетия накопились данные об их плейотропных эффектах, включая модуляцию антиоксидантной защиты [8, 9].

Данные, полученные Kroetz и соавт. [10], свидетельствуют о том, что интерфероны могут модулировать экспрессию супероксиддисмутазы и каталазы через активацию сигнального пути JAK-STAT. В экспериментальных моделях воспаления легких применение рекомбинантных интерферонов способствовало снижению концентрации маркеров окислительного стресса и повышению антиоксидантной емкости тканей [11]. Синергетический эффект интерферонов и антиоксидантов был продемонстрирован в ряде исследований [12, 13]. Добавление витаминов А, Е и С к интерферонотерапии позволяет усилить противовирусную активность и одновременно повысить антиоксидантный статус организма [14].

Развитие биотехнологий позволило создать новое поколение препаратов на основе рекомбинантных видоспецифичных интерферонов для ветеринарной медицины [15]. Преимуществами таких препаратов являются высокая эффективность, возможность стандартизации производства и минимальный риск аллергических реакций [16].

Целью исследования является изучение влияния видоспецифичных аналогов эндогенных цитокинов на относительный уровень экспрессии генов антиоксидантного статуса и активность ферментов АОС у телят при респираторной патологии незаразной этиологии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования были проведены в крупном животноводческом комплексе Воронежской области. Для решения задач исследования был спланирован и поставлен производственный опыт.

Исследования проведены в соответствии с Меморандумом о гуманном обращении с животными, используемых в научных и учебных целях.

Для данного опыта по изучению влияния видоспецифичного рекомбинантного интерферона на относительный уровень экспрессии генов антиоксидантного статуса у телят при комплексной терапии респираторной патологии незаразной этиологии проведено производственное испытание на телятах 3-х месячного возраста больных бронхопневмонией. Были подобраны здоровые (n = 10) и больные бронхопневмонией телята (n = 20) возрастом 3 месяца, которые были разделены на три исследуемые группы по принципу «пар-аналогов». Первая группа (n = 10) — здоровые животные, служила контролем.

Вторая группа (n = 10) — первая опытная — больные телята, которым применяли внутримышечно препарат Азитронит в дозе 1 мл на 20 кг массы тела 1 раз в день в течение 5 дней совместно с препаратом Проаутовак, действующие вещества в котором представлены коктейлем рекомбинантных видоспецифических цитокинов I, II типа и гранулоцитарного макрофагального колониестимулирующего фактора — ГМ-КСФ (GM-KSF-2) дополненные смесью витаминов А, Е и С в физиологически обоснованных концентрациях для усиления противовирусной и иммуномодулирующей активности цитокинов, внутримышечно двукратно с интервалом 48 часов в дозе 10 мл на голову.

Третья группа (n = 10) — вторая опытная — больные телята, которым применяли внутримышечно Азитронит в дозе 1 мл на 20 кг массы тела 1 раз в день в течение 5 дней совместно с препаратом Бутофан в дозе 10 мл внутримышечно на голову однократно. Дизайн эксперимента представлен на рисунке 1.

Кровь для лабораторных исследований от животных каждой группы отбирали спустя 12 часов, затем 48 часов после повторного применения препарата Проаутовак, и на 2 сутки после окончания терапии. На протяжении всего периода эксперимента проводили клинические наблюдения, учитывали

заболеваемость и падеж. Кровь для исследования антиоксидантного статуса отбирали в вакуумные пробирки из яремной вены. Кровь для молекулярно-генетических исследований помещали в пробирки Эппендорфа и подвергали глубокой заморозке с использованием жидкого азота.

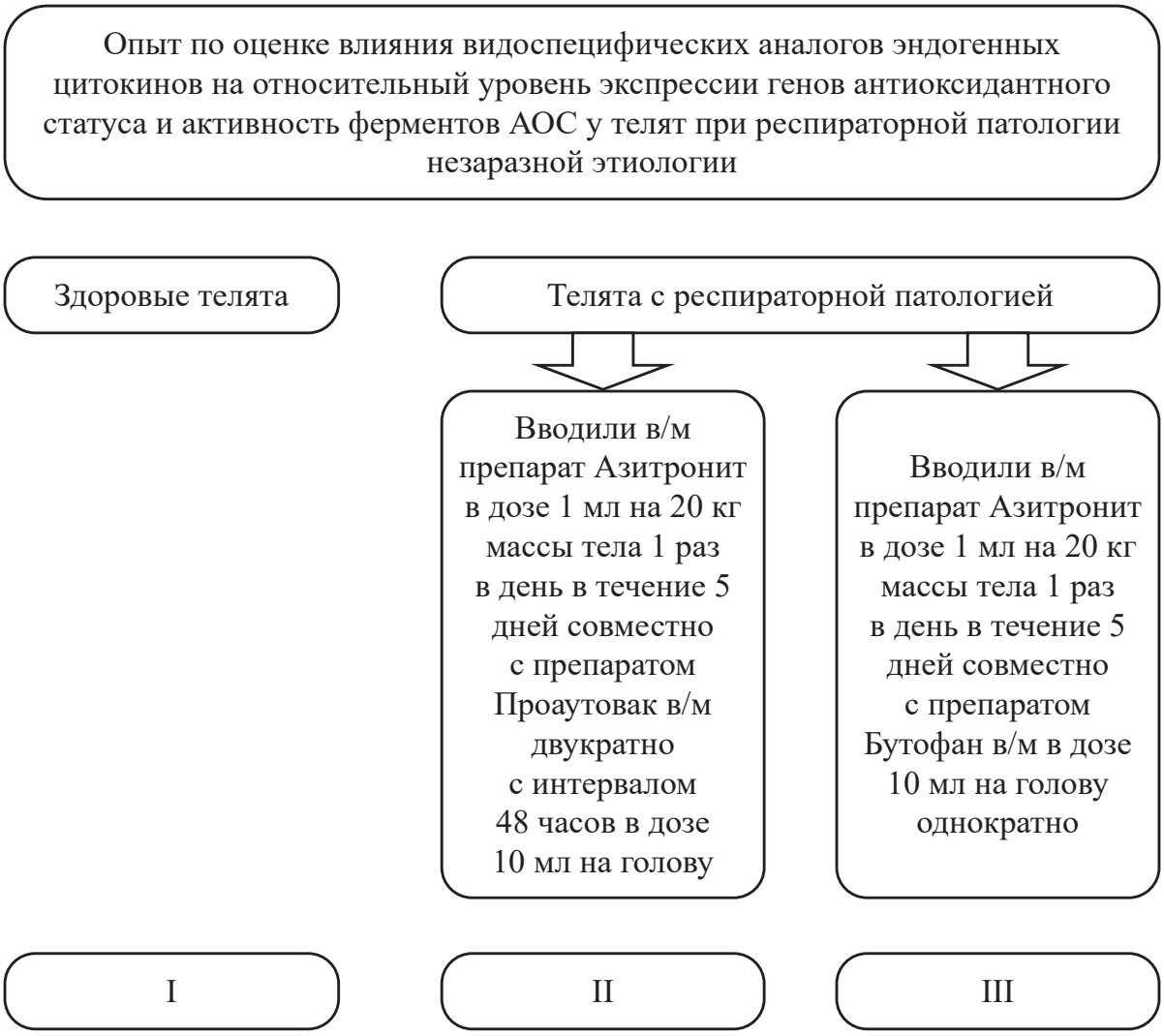


Рис. 1. Дизайн проведенного исследования

Полимеразную цепную реакцию осуществляли на приборах Bio-Rad CFX 96 (Bio-rad, США), Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) и DTLite 4S1 (ДНК-Технология, Россия) с готовой коммерчески доступной смесью для PCR5X qPCRmix-HS LowROX (Евроген, Россия). Выделение тотальной РНК осуществлено набором «РНК-Экстран» (Синтол, Россия) по утвержденной инструкции. Оценку качества выделенной РНК проводили с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле. Исследование проводили посредством ПЦР-анализа с добавлением красителя SYBR Green. Экспрессия генов рассчитывалась по методике 2-ΔΔCt, где сначала рассчитвывается разница между геном домашнего хозяйства (контроля) и исследуемым геном (ΔCt = Ct (β-actin) — Ct (исследуемый ген)). Полученное значение возводилось в степень 2-ΔΔCt.

Для оценки экспрессии изучаемых генов использовалась панели специфичных праймеров для исследования уровней экспрессии генов, ответственных за иммунную и антиоксидантную систему (табл. 1).

Исследование показателей антиоксидантной защиты проведено в соответствии с «Методическими положениями по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма» [17].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программного па-

кета Microsoft Excel 2019 с применением встроенных функций статистического анализа и надстройки «Анализ данных».

Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро — Уилка. При нормальном распределении данные представляли в виде среднего арифметического значения (*M*) и стандартной ошибки среднего (*m*). Достоверность различий между группами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента. При отсутствии нормального распределения применяли непараметрические методы статистики (критерий Манна — Уитни, критерий Уилкоксона). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0{,}05$. Для выявления взаимосвязей между исследуемыми параметрами проводили корреляционный анализ с расчетом коэффициента корреляции Пирсона (r). Силу корреляционной связи оценивали по шкале Чеддока: $0{,}1 < r < 0{,}3$ — слабая связь; $0{,}3 < r < 0{,}5$ — умеренная связь; $0{,}5 < r < 0{,}7$ — заметная связь; $0{,}7 < r < 0{,}9$ — высокая связь; $0{,}9 < r < 1{,}0$ — весьма высокая связь.

Таблица 1

Праймеры, используемые при постановке ПЦР в реальном времени (телята)

№	Название	Последовательность нуклеотидов
1	*β-actinf* *β-actinr*	CTCTTCCAGCCTTCCTTCCT GGGCAGTGATCTCTTTCTGC
2	*SOD1f* *SOD1r*	CACCATCCACTTCGAGGCAA GCACTGGTACAGCCTTGTGT
3	*CATf* *CATr*	TCACTCAGGTGCGGACTTTC GGATGCGGGAGCCATATTCA
4	*HIF-1αf* *HIF-1αr*	CCACGAGGAAATGAGAGAAATGCTT CCGCTGTGTATTTTGCTCTTTACC
5	*GPX1f* *GPX1r*	GAGCCCTTCAACCTGTCCTC GCGTTTTCCTGATGCCCAAAC

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Относительный уровень экспрессии генов антиоксидантной системы у телят исследуемых групп через 12 часов после повторного введения препарата Проаутовак представлен на рисунке 2.

Во второй группе наблюдается значительная интенсификация экспрессии генов, отвечающих за антиоксидантную защиту организма. Данный феномен указывает на стремительную мобилизацию ферментативных компонентов антиоксидантной системы в ответ на комбинированное применение препаратов Азитронит и Проаутовак. Анализ данных выявил, что уровень экспрессии каталазы (CAT) у животных второй опытной группы превосходил показатели первой группы в 20,9 раза, а третьей группы — в 13,8 раза. Еще более выраженные различия обнаружены по гену супероксиддисмутазы (SOD1), активность которого во второй группе превышала значения первой группы в 46,9 раза и третьей группы в 6,1 раза. Что касается глутатионпероксидазы (GPX1), ее экспрессия также достигала максимальных значений во второй группе, превосходя аналогичные показатели первой группы в 6,1 раза и третьей группы в 1,7 раза. Полученные результаты свидетельствуют о выраженном стимулирующем влиянии данной комбинации препаратов на генетические механизмы антиоксидантной защиты.

Относительный уровень экспрессии генов антиоксидантной системы у телят исследуемых групп через 48 часов после повторного введения препарата Проаутовак представлен на рисунке 3.

Уровень экспрессии CAT в третьей группе был наивысший: на 31,2 и 70,4 % выше относительно первой и второй группы. Экспрессия GPX1 выше в третьей группе: на 93,7 и 71,5 % относительно первой и второй группы соответственно. Экспрессия SOD1 была наивысшей в третьей группе: на 35,4 % и 2,1 раза выше относительно первой и второй группы соответственно.

Отмечено повышение уровня экспрессии генов антиоксидантной системы в третьей группе, в то время как во второй группе экспрессия снизилась, что указывает на более отсроченной дей-

ствие терапевтической схемы третьей группы, относительно схемы второй группы, так как система антиоксидантной защиты у телят второй группы запустилась уже через 12 часов после введения препаратов. В экспериментальной модели бронхопневмонии у телят, Patel и соавт. [18] показали, что комбинация рекомбинантного бычьего интерферона-α и витамина Е способствовала более быстрому разрешению воспалительного процесса и восстановлению функции легких по сравнению с монотерапией. Авторы связывают этот эффект с синергичным влиянием компонентов на экспрессию генов, ответственных за антиоксидантную защиту и противовоспалительную активность.

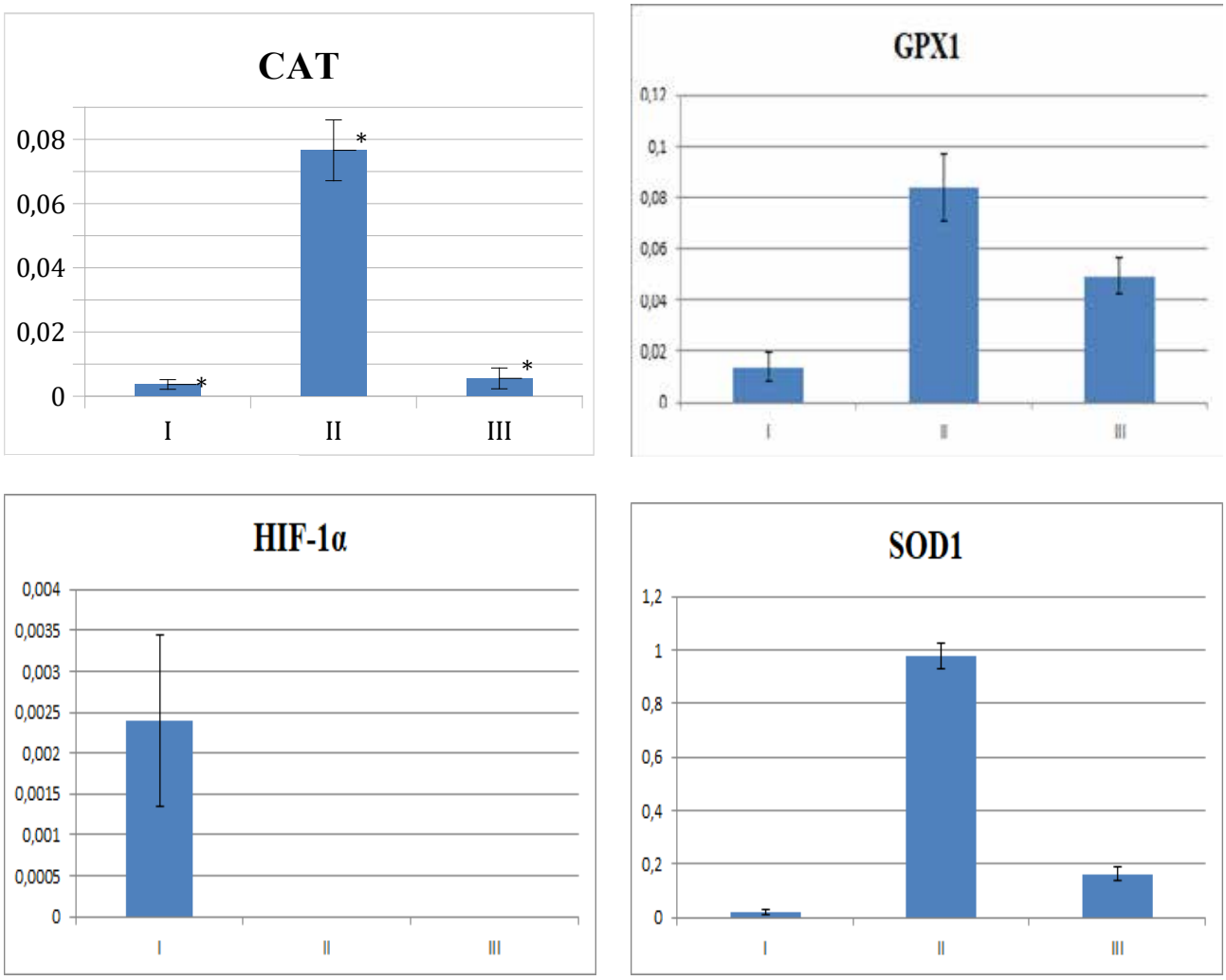


Рис. 2. Относительный уровень экспрессии генов иммунной и антиоксидантной системы у телят исследуемых групп через 12 часов после повторного введения препарата Проаутовак (* — $P \leq 0{,}05$)

Относительный уровень экспрессии генов антиоксидантной системы у телят исследуемых групп на вторые сутки после повторного введения препарата Проаутовак представлен на рисунке 4.

Исследование продемонстрировало максимальные показатели экспрессии генов антиоксидантной системы во второй опытной группе. Активность гена CAT превысила показатели первой и третьей групп в 3,1 и 2,6 раза соответственно. Аналогичная тенденция наблюдалась для гена GPX1, чья экспрессия была выше в 3,1 и 1,8 раза, а также для гена SOD1, превосходящего контрольные значения в 5,7 и 4,1 раза по сравнению с первой и третьей группами.

Примечательно, что во второй группе, несмотря на некоторое снижение от пиковых значений, сохранялась повышенная экспрессия генов антиоксидантной защиты, свидетельствующая о продолжающейся активности защитных механизмов. В противоположность этому, третья опытная группа характеризовалась резким падением экспрессии компонентов антиоксидантной системы.

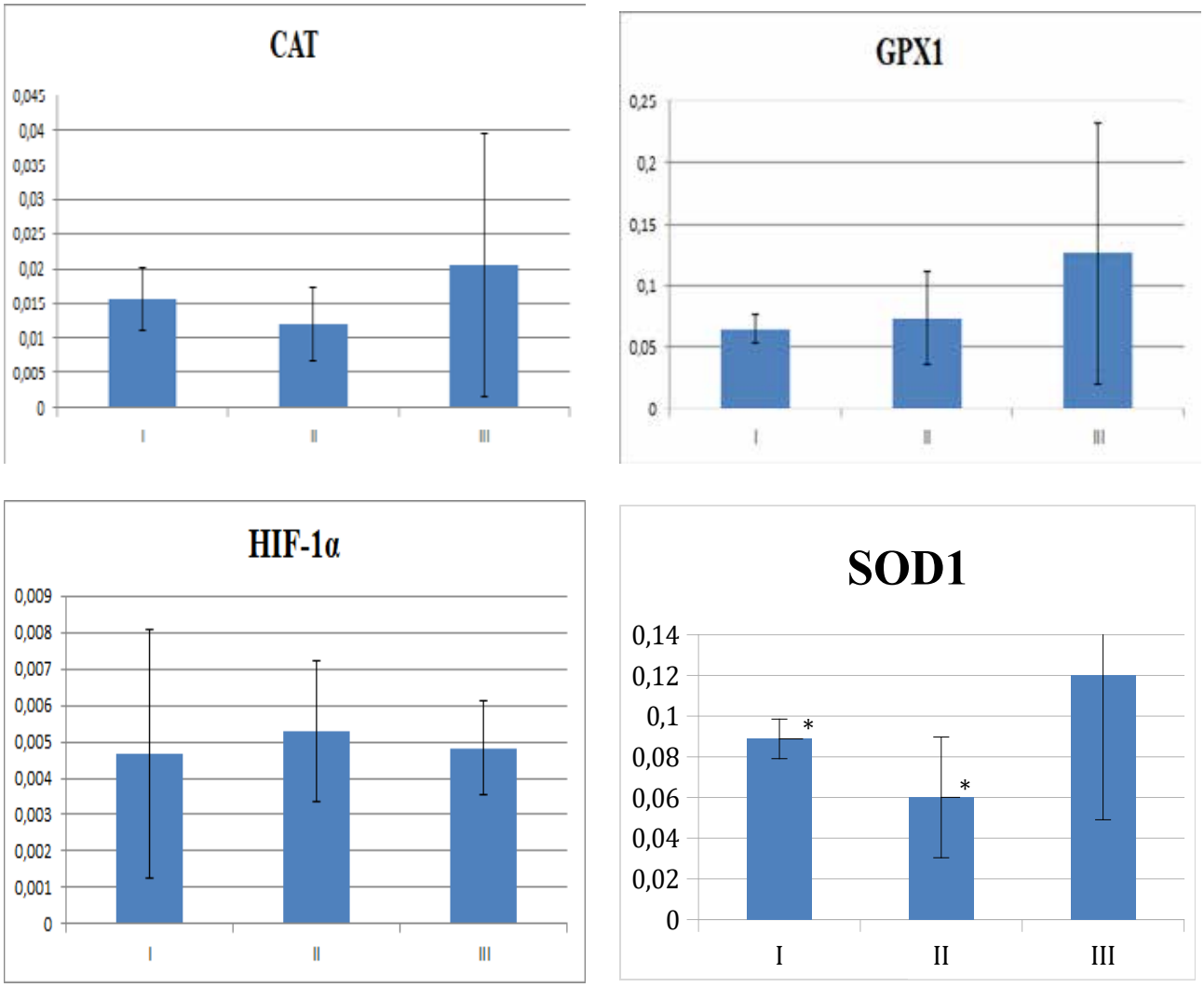


Рис. 3. Относительный уровень экспрессии генов иммунной и антиоксидантной системы у телят исследуемых групп через 48 часов после повторного введения препарата Проаутовак (* — $P \leq 0{,}05$)

Терапевтическая схема с включением препарата Проаутовак продемонстрировала способность к быстрой активации антиоксидантной системы, что выражалось в значительном повышении уровней экспрессии генов CAT, GPX1 и SOD1 уже через 48 часов после повторного введения. Данное наблюдение коррелирует с исследованиями Li и соавторов [19], выявившими способность интерферонотерапии к быстрой индукции экспрессии генов антиоксидантной защиты.

Комплексный анализ полученных результатов указывает на то, что терапевтический подход с применением Проаутовака обеспечивает более предсказуемый и выраженный эффект в отношении подавления процессов свободнорадикального окисления, в то время как схема лечения с использованием препарата Бутофан демонстрирует менее выраженное антиоксидантное действие.

Анализ корреляционных взаимосвязей выявил значимую положительную ассоциацию между экспрессией GPX1 и SOD1 ($r = 0{,}71$), что согласуется с их функциональной ролью как ключевых элементов клеточного ответа на окислительный стресс.

В контексте экспериментальной модели бронхопневмонии у телят было продемонстрировано, что комбинированное применение рекомбинантного бычьего интерферона — α с витамином Е обеспечивает более эффективное купирование воспалительного процесса и восстановление респираторной функции в сравнении с монотерапевтическими подходами.

Исследователи интерпретируют данный феномен через призму синергического воздействия указанных компонентов на транскрипцию генов, контролирующих антиоксидантные и противовоспалительные механизмы.

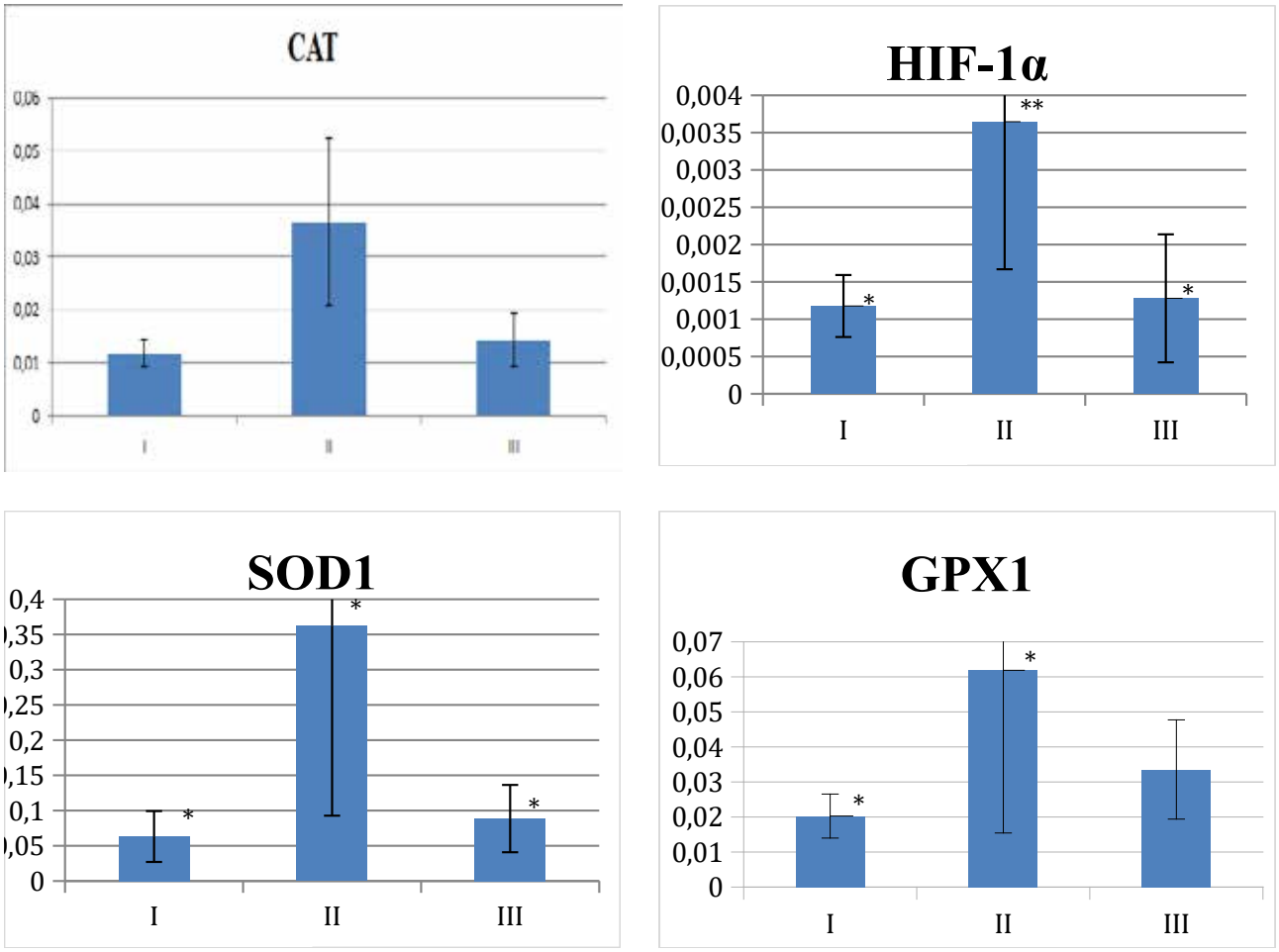


Рис. 4. Относительный уровень экспрессии генов иммунной и антиоксидантной системы у телят исследуемых групп на вторые сутки после повторного введения препарата Проаутовак (* — $P \leq 0{,}05$, ** — $P \leq 0{,}01$)

Резюмируя полученные данные, необходимо подчеркнуть, что патологические процессы в респираторном тракте неизменно сопровождаются развитием оксидативного стресса и гипоксических состояний.

Терапевтический протокол с включением препарата Проаутовак характеризуется более оперативной индукцией антиоксидантных защитных механизмов организма, что клинически манифестирует ускоренным разрешением воспалительного процесса. Альтернативная схема с применением препарата Бутофан демонстрирует меньшую прогностическую ценность вследствие выраженной вариабельности экспрессии генов-мишеней.

На следующем этапе была оценена активность ферментов антиоксидантной системы организма телят в крови.

Активность ферментов антиоксидантной защиты организма у телят исследуемых групп представлена в таблице 2.

Из данных таблицы можно наблюдать, что активность каталазы через 12 часов во второй группе была выше, чем у здоровых животных первой группы, на 19,7 % ($p \leq 0{,}05$), а к 48 часам и 2-м суткам превышение сокращается до 5,3 и 1,1 % соответственно. В третьей группе активность каталазы через 12 часов была ниже, чем у телят первой группы на 11,9 %, но к 2-м суткам показатель оказывается выше на 8,7 % ($p \leq 0{,}01$). Резкий прирост активности каталазы во второй группе на ранних стадиях может быть связан с быстрым реагированием организма на оксидативный стресс. В третьей группе активность возрастает медленнее, что, вероятно, связано с постепенной активацией антиоксидантной системы.

Активность глутатионпероксидазы (ГПО) через 12 часов во второй группе была выше уровня первой на 30,8 % ($p \leq 0{,}05$), к 48 часам разница минимальна (1,4 %), а ко 2-м суткам повышение составило 2,6 %. В третьей группе через 12 часов

активность ГПО была выше уровня здоровых на 4,1 %, но к 48 часам и 2-м суткам снизилась на 0,1 и 10,5 % соответственно. Повышение активности глутатионпероксидазы во второй группе связано с ранней активацией фермента для нейтрализации пероксидов, однако снижение на поздних стадиях указывает на восстановление равновесия. В третьей группе активность менее стабильна, что может указывать на недостаточную антиоксидантную защиту в долгосрочной перспективе.

Таблица 2

Активность ферментов антиоксидантной защиты организма у телят исследуемых групп

Исследуемая группа	Время	Каталаза, мкмоль вост перекиси/л*мин	Глутатион пероксидаза, мкмоль вост глут./л*мин	СОД (е. а./мг Hb)
I	12 ч	38,55 ± 3,30*	13,56 ± 2,15*	2,57 ± 0,13
	48 ч	46,24 ± 2,93	8,74 ± 1,60	2,66 ± 0,05
	2-е сутки	47,10 ± 2,09*	17,47 ± 2,37	3,10 ± 0,06
II	12 ч	46,16 ± 3,28*	17,74 ± 5,90*	2,49 ± 0,12*
	48 ч	43,94 ± 4,15	8,86 ± 1,84	2,59 ± 0,07**
	2-е сутки	55,29 ± 4,08*	17,93 ± 2,39*	3,26 ± 0,03***
III	12 ч	42,98 ± 1,68	14,12 ± 1,44*	2,87 ± 0,11
	48 ч	41,85 ± 3,78	8,83 ± 2,14	2,89 ± 0,04**
	2-е сутки	51,19 ± 5,62**	15,64 ± 1,57	3,44 ± 0,09*

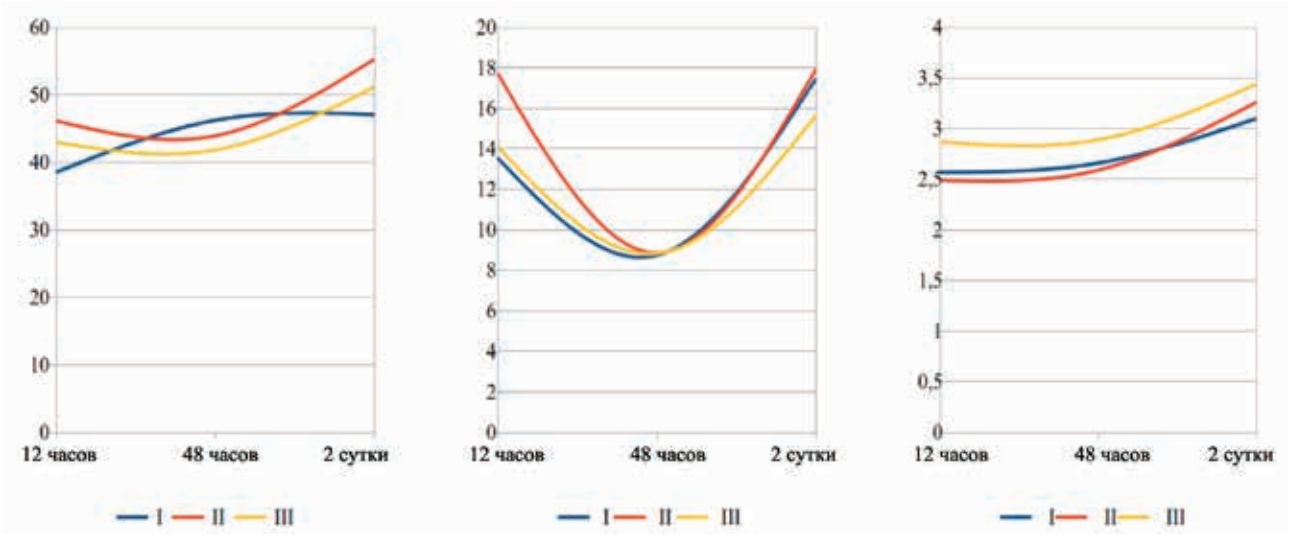
* $P < 0,05$—0,02
** $P < 0,01$
*** $P < 0,001$

Активность супероксидадисмутазы (СОД) через 12 часов во второй группе была ниже, чем у первой, на 3,11 % ($p \leq 0,05$), но к 48 часам и 2-м суткам превышает на 2,93 % ($p \leq 0,01$) и 5,16 % ($p \leq 0,001$). В третьей группе через 12 часов активность выше уровня первой группы на 11,67 %, к 48 часам и 2-м суткам — на 8,65 % ($p \leq 0,01$) и 11,04 % ($p \leq 0,05$). Низкая начальная активность СОД во второй группе могут отражать исчерпание ресурса фермента при острой фазе воспаления, тогда как дальнейший рост активности свидетельствует о восстановлении системы. В третьей группе активность СОД поддерживается на высоком уровне на всех этапах, что может быть связано с менее интенсивным воздействием оксидативного стресса или более устойчивой адаптацией.

На рисунке 5 графически отражена динамика изменений активности ферментов антиоксидантной системы организма телят исследуемых групп по ходу опыта.

При проведении корреляционного анализа отмечена положительная корреляция между экспрессией GPX1 и активность ГПО в крови ($r = 0,65$), особенно во второй группе через 12 часов после повторного введения препарата Проаутовак. Так же стоит отметить положительную корреляционную зависимость между экспрессией SOD1 и активностью СОД в крови ($r = 0,68$), что подтверждает согласованность полученных данных. Особо следует отметить наблюдаемую положительную корреляцию между экспрессией генов и активностью соответствующих ферментов антиоксидантной защиты. Так, активность глутатионпероксидазы через 12 часов во второй группе была выше уровня контрольной группы на 30,8 %, что соответствовало повышенной экспрессии гена GPX1. Подобная согласованность молекулярных и биохимических маркеров была отмечена и в работах Liu и соавт. [20], что подтверждает валидность полученных нами результатов. В исследованиях Ушкалова и соавт. [21] была показана эффективность применения рекомбинантного бычьего интерферона при бронхопневмонии телят, что проявлялось сокращением сроков выздоровления и снижением ча-

стоты осложнений. Авторы отмечают положительное влияние интерферонотерапии на показатели антиоксидантной защиты организма, включая активность каталазы и супероксиддисмутазы. Важно отметить, что в группе, получавшей Проаутовак, наблюдалась более сбалансированная активация антиоксидантной системы без резких колебаний уровня экспрессии генов, что может быть связано с видоспецифичностью используемых цитокинов. Данная особенность была также отмечена в работах Sang и соавт. [22], подчеркивающих важность применения видоспецифичных интерферонов для достижения оптимального терапевтического эффекта. Наличие в составе препарата Проаутовак не только рекомбинантных цитокинов, но и витаминов А, Е и С, вероятно, способствует синергетическому действию компонентов. Витамин Е, являясь мощным липофильным антиоксидантом, защищает клеточные мембраны от перекисного окисления [23], в то время как витамин С обеспечивает восстановление окисленной формы витамина Е и участвует в регенерации других антиоксидантов [24]. Витамин А, помимо антиоксидантного действия, способствует регенерации эпителия дыхательных путей, что особенно важно при респираторных патологиях [25].



а *б* *в*

Рис. 5. Динамика показателей системы ПОЛ-АОЗ у исследуемых групп телят:
а — каталаза, мкмоль вост перекиси/л·мин; *б* — глутатион пероксидаза, мкмоль вост глут./л·мин; *г* — СОД, е. а./мг Hb

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительный анализ двух терапевтических схем показал, что комплексная терапия с применением препарата Проаутовак, содержащего видоспецифичные рекомбинантные интерфероны в сочетании с витаминами А, Е и С, обеспечивает более быструю и сбалансированную активацию антиоксидантной системы по сравнению со схемой, включающей Бутофан. Уже через 12 часов после повторного введения Проаутовака наблюдалось значительное повышение экспрессии генов CAT, GPX1 и SOD1, что коррелировало с увеличением активности соответствующих ферментов в крови. Выявлена положительная корреляция между экспрессией генов и активностью ферментов антиоксидантной защиты ($r = 0{,}65$ для GPX1 и ГПО; $r = 0{,}68$ для SOD1 и СОД), что свидетельствует о согласованности молекулярных и биохимических маркеров антиоксидантного статуса и подтверждает достоверность полученных результатов. Таким образом, применение препарата Проаутовак в комплексной терапии респираторных заболеваний телят является патогенетически обоснованным и эффективным подходом, позволяющим снизить интенсивность окислительного стресса, ускорить процессы выздоровления и минимизировать риск осложнений.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Gaudino M.* Understanding the mechanisms of viral and bacterial coinfections in bovine respiratory disease: a comprehensive literature review of experimental evidence / M. Gaudino, B. Nagamine, F. Ducatez // Vet Res 53, 70 (2022).

2. *Соодаева С. К.* Нарушения окислительного метаболизма при заболеваниях респираторного тракта и со-

временные подходы к антиоксидантной терапии / С. К. Соодаева, И. А. Климанов // Практическая пульмонология. 2009. № 1.

3. *Lykkesfeldt J.* Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals / J. Lykkesfeldt, O. Svendsen // Veterinary Journal. — 2019. — Vol. 173. — P. 502—511. — DOI: 10.1016/j.tvjl.2018.06.005

4. *Колесниченко Л. С.* Молекулярные механизмы работы антиоксидантной системы / Л. С. Колесниченко, В. И. Кулинский // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. — 2018. — № 2 (60). — С. 203—207. — DOI: 10.25631/tbsh.2018.60.2.203-207

5. *Высокогорский В. Е.* Антиоксидантная система организма животных: механизмы регуляции и возрастные особенности / В. Е. Высокогорский, Т. Д. Воронова, Д. С. Веселов // Ветеринарная патология. — 2019. — № 1. — С. 23—30. — DOI: 10.24411/0869-8015-2019-10004

6. *Зайцева Е. В.* Оксидативный стресс у молодняка при патологии / Е. В. Зайцева, Е. В. Крапивина, А. А. Менькова // Вестник Брянской ГСХА. — 2019. — № 3. — С. 31—35. — DOI: 10.30679/2587-9847-2019-3-31-35

7. *McNab F.* Type I interferons in infectious disease / F. McNab, K. Mayer-Barber, A. Sher // Nature Reviews Immunology. — 2019. — Vol. 15. — P. 87—103. — DOI: 10.1038/nri3787

8. *Ivashkiv L. B.* Regulation of type I interferon responses / L. B. Ivashkiv, L. T. Donlin // Nature Reviews Immunology. — 2014. — Vol. 14. — P. 36—49. — DOI: 10.1038/nri3581

9. *Шевченко И. В.* Интерфероны I типа в регуляции врожденного и адаптивного иммунитета / И. В. Шевченко, Л. В. Ковальчук, М. В. Хорева // Иммунология. — 2018. — № 1. — С. 14—20. — DOI: 10.18821/0206-4952-2018-39-1-14-20

10. *Kroetz D. N.* Type I interferon induced epigenetic regulation of macrophages suppresses innate and adaptive immunity in acute respiratory viral infection / D. N. Kroetz, R. M. Allen, M. A. Schaller // PLoS Pathogens. — 2019. — Vol. 11. — e1005338. — DOI: 10.1371/journal.ppat.1005338

11. *Klotz D.* Pathogenesis of respiratory disorders in neonatal calves and the antioxidant status / D. Klotz, S. Jansen, J. S. Agerholm // Veterinary Research Communications. — 2018. — Vol. 42. — P. 219—228. — DOI: 10.1007/s11259-018-9730-4

12. *Безбородкин Н. С.* Фармакокоррекция антиоксидантного статуса организма животных / Н. С. Безбородкин, В. Н. Иванов // Ветеринарная медицина. — 2019. — № 2. — С. 11—15. — DOI: 10.12737/article_5c5ac82cb7bed8.74953610

13. *Семененко М. П.* Фармакологические аспекты применения антиоксидантных препаратов в ветеринарии / М. П. Семененко, Е. В. Кузьминова, Е. В. Тяпкина // Ветеринария Кубани. — 2018. — № 4. — С. 10—12. — DOI: 10.33861/2071-8020-2018-4-10-12

14. *Васильева С. В.* Клиническая биохимия крупного рогатого скота / С. В. Васильева, Ю. В. Конопатов. — СПб.: Лань, 2018. — 188 с. — DOI: 10.18619/2072-9146-2018-188

15. *Самуйленко А. Я.* Биотехнологические препараты нового поколения в ветеринарии / А. Я. Самуйленко, С. А. Гринь, И. Н. Матвеева // Ветеринария. — 2018. — № 7. — С. 3—8. — DOI: 10.30896/0042-4846.2018.21.7.3-8

16. *Смоленцев С. Ю.* Современные иммуномодуляторы и их применение в ветеринарии / С. Ю. Смоленцев, К. Х. Папуниди, Г. Р. Юсупова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. — 2018. — Т. 236. — С. 183—186. — DOI: 10.31588/2413-4201-1883-236-4-183-186

17. *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: Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук, 2010. — 70 с.

18. *Patel J. R.* Efficacy of a live bovine respiratory syncytial virus vaccine in calves with maternal antibodies / J. R. Patel, S. A. Didlick, H. Bateman // American Journal of Veterinary Research. — 2018. — Vol. 67. — P. 114—119. — DOI: 10.2460/ajvr.67.1.114

19. *Li Q.* NF-κB regulation in the immune system / Q. Li, I. M. Verma // Nature Reviews Immunology. — 2018. — Vol. 2. — P. 725—734. — DOI: 10.1038/nri910

20. *Liu T.* NF-κB signaling in inflammation / T. Liu, L. Zhang, D. Joo // Signal Transduction and Targeted Therapy. — 2019. — Vol. 2. — e17023. — DOI: 10.1038/sigtrans.2017.23

21. *Ушкалов В. О.* Антиоксидантний статус організму телят за дії препаратів інтерферону / В. О. Ушкалов, В. В. Данчук, В. І. Карповський // Ветеринарна біотехнологія. — 2019. — № 34. — С. 145—153. — DOI: 10.31073/vet_biotech34-18

22. *Sang Y.* Porcine type I interferons: polymorphic sequences and activity against PRRSV / Y. Sang, R. R. Rowland, F. Blecha // BMC Proceedings. — 2018. — Vol. 5. — P. S8. — DOI: 10.1186/1753-6561-5-S4-S8

23. *Спиричев В. Б.* Биологическая роль жирорастворимых витаминов / В. Б. Спиричев, И. Я. Конь // Вопросы питания. — 2018. — № 6. — С. 4—13. — DOI: 10.24411/0042-8833-2018-10060

24. *Конь И. Я.* Роль витамина С и других микронутриентов в повышении иммунитета и профилактике респираторных инфекций / И. Я. Конь, М. М. Коростелева, Н. М. Шилина // Вопросы практической педиа-

трии. — 2019. — № 6. — С. 65—70. — DOI: 10.20953/1817-7646-2019-6-65-70

25. *Гапонов А. М.* Взаимодействие ретиноевой кислоты и интерферонов в регуляции иммунного ответа / А. М. Гапонов, М. В. Пащенков, Б. В. Пинегин // Иммунология. — 2019. — № 3. — С. 146—151. — DOI: 10.18821/0206-4952-2019-40-3-146-151

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. А. Шутиков — аспирант, младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики;

Д. Е. Рудь — соискатель;

Д. В. Гунькин — аспирант, младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики;

Н. А. Стрельников — младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики;

Д. И. Шабанов — научный сотрудник лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем;

В. Ю. Сулин — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем;

Е. В. Михайлов — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем;

В. А. Прокулевич — д. б. н., профессор, главный научный сотрудник НИЛ Биотехнологии кафедры Микробиологии биологического факультета.

Статья поступила в редакцию 17.07.2025.

Original article
UDC 619:616.2-002:615.281:577.212.6

EFFECT OF THE INTERFERON-BASED DRUG ON THE RELATIVE LEVEL OF ANTIOXIDANT DEFENSE GENE EXPRESSION IN COMPLEX THERAPY OF RESPIRATORY PATHOLOGY IN CALVES

Viktor Alekseevich Shutikov[*], Dmitriy Evgenyevich Rud[*], Dmitriy Vladimirovich Gunkin[*], Nikolay Alekseevich Strelnikov[*], Dmitriy Igorevich Shabanov[*], Valeriy Yuryevich Sulin[*], Evgeniy Vladimirovich Mikhaylov[*]✉, Vladimir Antonovich Prokulevich[**]

[*]*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, voronezh81@rambler.ru*✉
[**]*Belarusian State University, Minsk, the Republic of Belarus*

Abstract. The article presents the results of a study aimed at assessing the therapeutic efficacy of the recombinant interferon-based drug (Proautovak) in case of respiratory pathology in calves through the analysis of its effect on molecular-biochemical markers of antioxidant protection. Increased expression of glutathione peroxidase (GPX1) and superoxide dismutase (SOD1) genes was registered in sick animals, which reflected compensatory activation of the antioxidant system under conditions of pathogenetically significant oxidative stress. As part of a comparative analysis of two therapeutic regimens (Azitronit + Proautovak and Azitronit + Butofan), it has been found that the inclusion of Proautovak in complex therapy provides a more pronounced and prolonged stimulation of antioxidant mechanisms. The use of this drug correlates with the optimization of the expression profile of antioxidant defense genes (CAT, GPX1, SOD1), an increase in the functional activity of the corresponding enzymatic systems and an acceleration of clinical recovery in animals. The revealed consistency of the dynamics of transcriptional activity of the studied genes and catalytic activity of the enzymes encoded by them confirms the informativeness of the selected markers for monitoring the efficacy of interferon therapy in case of respiratory diseases in calves. The obtained results substantiate the feasibility of using Proautovak as a pathogenetically oriented component of complex therapy of respiratory pathologies in young cattle.
Keywords: calves, respiratory pathology, bronchopneumonia, gene expression level, interferons, Proautovak, antioxidant protection

Respiratory diseases occupy a leading position in the structure of cattle morbidity, causing significant economic damage to livestock farms. Pathogenetic mechanisms of respiratory diseases in calves are characterized by a complex and multifactorial interaction of etiological agents (viruses, bacteria, mycoplasmas), unfavorable environmental factors (microclimate disturbance, high stocking density) and a weakened immune system [1]. A key role in the development and progression of respiratory pathologies is assigned to oxidative stress, caused by an imbalance between the generation of reactive oxygen species (ROS) and the potential of the antioxidant defense system. Excessive production of ROS initiates destructive processes in cellular structures, including the epithelium of the respiratory tract, alveolocytes and vascular endothelial cells, which potentiates the development of inflammatory reactions, the formation of pulmonary edema syndrome and disruption of gas exchange processes [2,3].

The body's antioxidant defense system, represented by an enzyme ensemble including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX), plays a critical role in neutralizing ROS and maintaining redox homeostasis [4,5]. Dysfunction of the antioxidant defense system associated with aberrations in the expression of genes encoding these enzymes can potentiate the development of respiratory diseases and prolong the period of convalescence [6].

Interferons (IFNs) are a group of signaling proteins produced by cells in response to the presence of pathogens [7]. Traditionally, interferons were considered primarily as antiviral factors. However, in recent decades, there have been accumulated the data on their pleiotropic effects, including modulation of antioxidant defense [8,9].

The data obtained by Kroetz et al. [10] indicate that interferons can modulate the expression of superoxide dismutase and catalase through activation of the JAK-STAT signaling pathway. In experimental models of lung inflammation, the use of recombinant interferons contributed to a decrease in the concentration of oxidative stress markers and an increase in the antioxidant capacity of tissues [11]. The synergistic effect of interferons and antioxidants has been demonstrated in a number of studies [12,13]. The addition of vitamins A, E and C to interferon therapy can enhance antiviral activity and simultaneously increase the antioxidant status of the body [14].

The biotechnology development has made it possible to design a new generation of drugs based on recombinant species-specific interferons for veterinary medicine [15]. The advantages of such drugs are high efficacy, the possibility of standardizing production and minimal risk of allergic reactions [16].

The study objective is to investigate the effect of species-specific analogues of endogenous cytokines on the relative expression level of antioxidant status genes and the activity of AOS enzymes in calves with respiratory pathology of non-infectious etiology.

MATERIAL AND METHODS

The research was conducted at a large livestock complex in Voronezh region. To solve the research problems, a production experiment was planned and carried out. The research was conducted in accordance with the Memorandum on the humane treatment of animals used for scientific and educational purposes.

For this experiment on studying the effect of species-specific recombinant interferon on the relative expression level of antioxidant status genes in calves during complex therapy of respiratory pathology of non-infectious etiology, a production test was conducted on 3-month-old calves with bronchopneumonia. Healthy calves (n = 10) and calves with bronchopneumonia (n = 20) aged 3 months were selected, which were divided into three study groups according to the pair-analogue principle. The first group (n = 10) with healthy animals served as the control. The second group (n = 10) — the first experimental group with sick calves, which were administered the drug Azitronit intramuscularly at a dose of 1 ml per 20 kg of body weight once a day for 5 days together with the drug Proautovak, the active substances of which are represented by a cocktail of recombinant species-specific cytokines of type I, II and granulocyte macrophage colony-stimulating factor — GM—CSF (GM-KSF-2) supplemented with a mixture of vitamins A, E and C in physiologically justified concentrations to enhance the antiviral and immunomodulatory activity of cytokines, intramuscularly twice with an interval of 48 hours at a dose of 10 ml per animal. The third group (n = 10) — the second experimental group with sick calves, which were administered Azitronit once intramuscularly at a dose of 1 ml per 20 kg of body weight once a day for 5 days together with the drug Butofan at a dose of 10 ml intramuscularly per animal. The experimental design is presented in Fig. 1.

Blood for laboratory studies was collected from the animals of each group in 12 hours, then 48 hours after repeated administration of Proautovak, and on the day 2 after the end of therapy. Throughout the entire experimental period, clinical observations were carried out, morbidity and mortality were taken into account. Blood for studying the antioxidant status was collected in vacuum tubes from the jugular vein. Blood for molecular genetic studies was placed in Eppendorf tubes and deep frozen using liquid nitrogen.

Polymerase chain reaction was carried out on Bio-Rad CFX 96 (Bio-rad, USA), Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Australia) and DTLite 4S1 (DNA-Technology, Russia) devices with a ready-made commercially available PCR mixture 5X qPCRmix-HS LowROX (Evrogen, Russia). Total RNA was isolated using the RNA-Extran kit (Syntol, Russia) according to the approved instructions. The quality of the isolated RNA was assessed using electrophoresis in 2 % agarose gel. The study was conducted using the PCR analysis with the addition of SYBR Green dye. Gene expression was calculated using the 2-ΔΔCt method, where the difference between the housekeeping gene (control) and the gene under study is first calculated (ΔCt = Ct (β-actin) — Ct (gene under study)). The resulting value was raised to the power of -ΔΔCt. To assess the expression of the genes under study, a panel of specific primers was used to study the expression levels of the genes responsible for the immune and antioxidant systems (Table 1).

The study of antioxidant protection indicators was carried out in accordance with the Methodological Pprovisions for the Study of Free Radical Oxidation Processes and the Antioxidant Defense System of the Body [17].

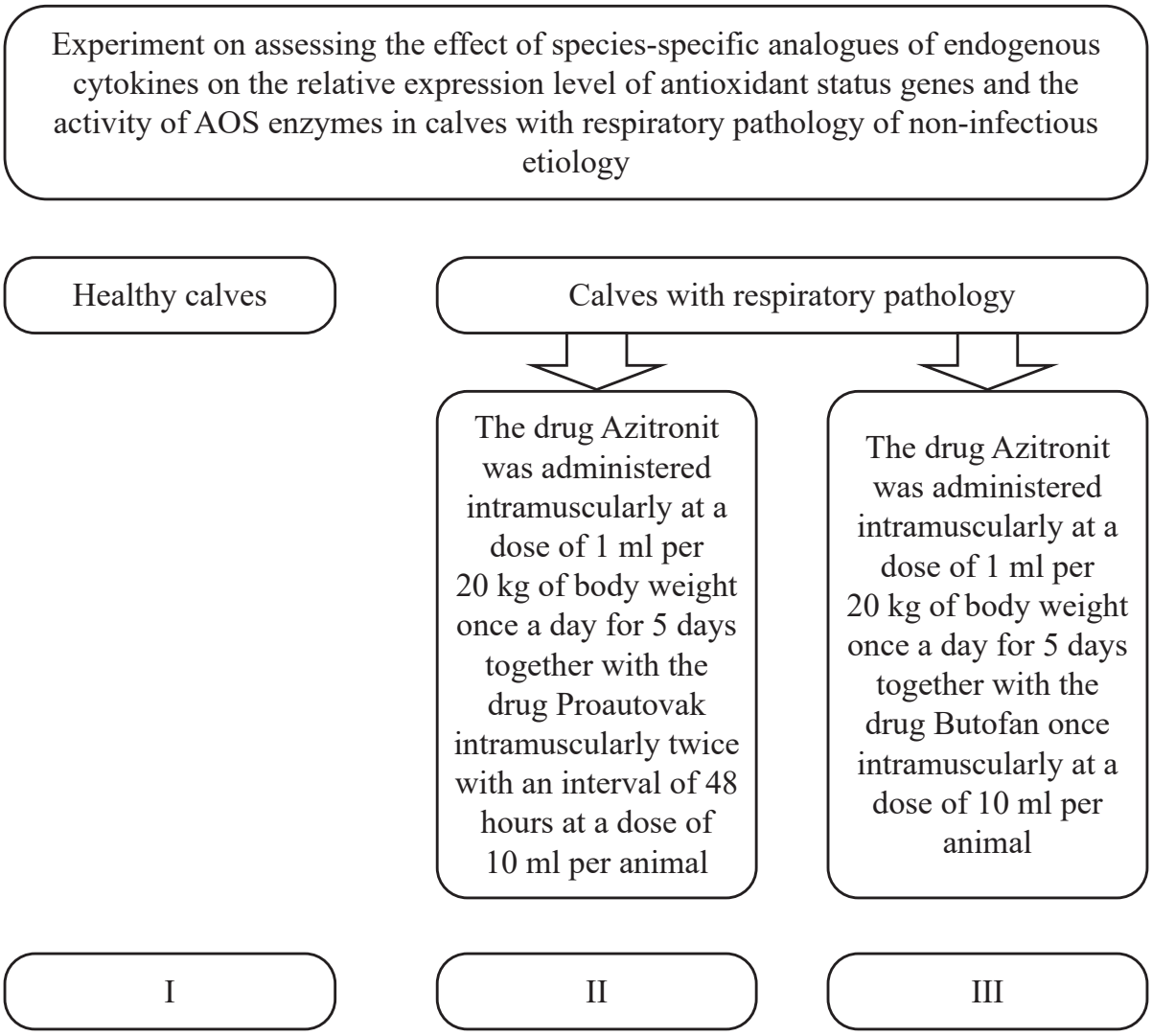


Fig. 1. Experimental design

Table 1

Primers used in real-time PCR (calves)

№	Name	Nucleotide sequence
1	*β-actinf* *β-actinr*	CTCTTCCAGCCTTCCTTCCT GGGCAGTGATCTCTTTCTGC
2	*SOD1f* *SOD1r*	CACCATCCACTTCGAGGCAA GCACTGGTACAGCCTTGTGT
3	*CATf* *CATr*	TCACTCAGGTGCGGACTTTC GGATGCGGGAGCCATATTCA
4	*HIF-1αf* *HIF-1αr*	CCACGAGGAAATGAGAGAAATGCTT CCGCTGTGTATTTTGCTCTTTACC
5	*GPX1f* *GPX1r*	GAGCCCTTCAACCTGTCCTC GCGTTTTCCTGATGCCCAAAC

Statistical processing of the obtained data was carried out using the Microsoft Excel 2019 software package with the built-in statistical analysis functions and the Data Analysis add-in.

The normality of the data distribution was checked using the Shapiro — Wilk test. With a normal distribution, the data were presented as the arithmetic mean (M) and the standard error of the mean (m).

The reliability of differences between the groups was assessed using the Student's t-test. In the absence of a normal distribution, nonparametric statistical methods were used (Mann — Whitney test, Wilcoxon test). The differences were considered statistically significant at $p \leq 0.05$. To identify relationships between the studied parameters, a correlation analysis was performed with the calculation of the Pearson correlation coefficient (r). The strength of the correlation was assessed using the Chaddock's scale: $0.1 < r < 0.3$ — weak correlation; $0.3 < r < 0.5$ — moderate correlation; $0.5 < r < 0.7$ — noticeable correlation; $0.7 < r < 0.9$ — high correlation; $0.9 < r < 1.0$ — very high correlation.

STUDY RESULTS

The relative expression level of antioxidant system genes in the calves of the studied groups 12 hours after repeated administration of Proautovak is shown in Fig. 2.

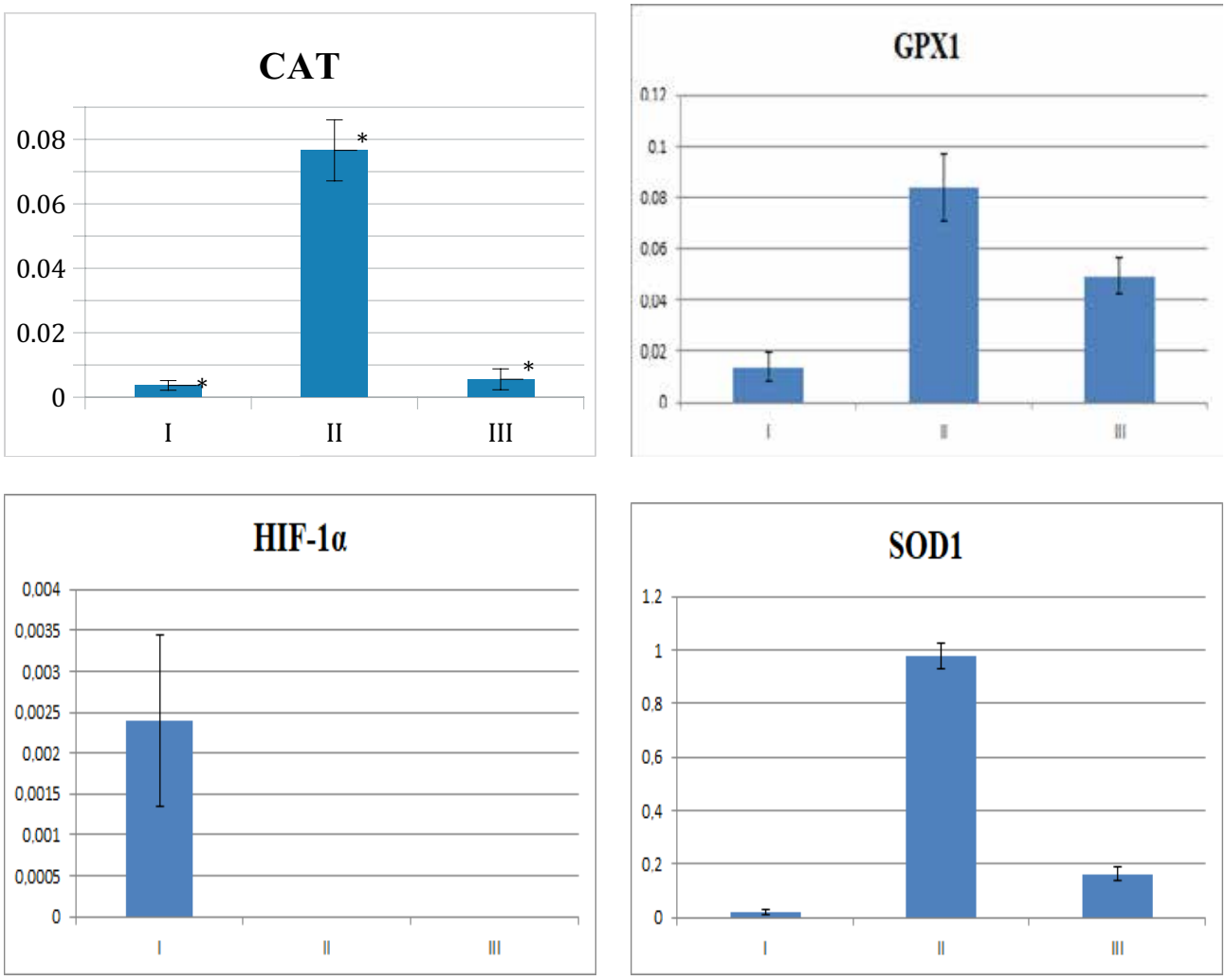


Fig. 2. Relative expression level of genes of the immune and antioxidant systems in the calves of the studied groups 12 hours after repeated administration of Proautovak (* — $P \leq 0.05$)

In the second group, there is a significant intensification of the expression of genes responsible for the antioxidant defense of the body. This phenomenon indicates a rapid mobilization of the enzymatic components of the antioxidant system in response to the combined use of Azitronit and Proautovak.

The data analysis revealed that the level of catalase (CAT) expression in the animals of the second ex-

perimental group exceeded the indicators of the first group by 20.9 times, and the third group — by 13.8 times. Even more pronounced differences were found for the superoxide dismutase (SOD1) gene, the activity of which in the second group exceeded the values of the first group by 46.9 times and the third group — by 6.1 times.

As for glutathione peroxidase (GPX1), its expression also reached maximum values in the second group, exceeding similar indicators of the first group by 6.1 times and the third group — by 1.7 times. The results obtained indicate a pronounced stimulating effect of this combination of drugs on the genetic mechanisms of antioxidant protection.

The relative expression level of antioxidant system genes in the calves of the studied groups 48 hours after repeated administration of Proautovak is shown in Fig. 3.

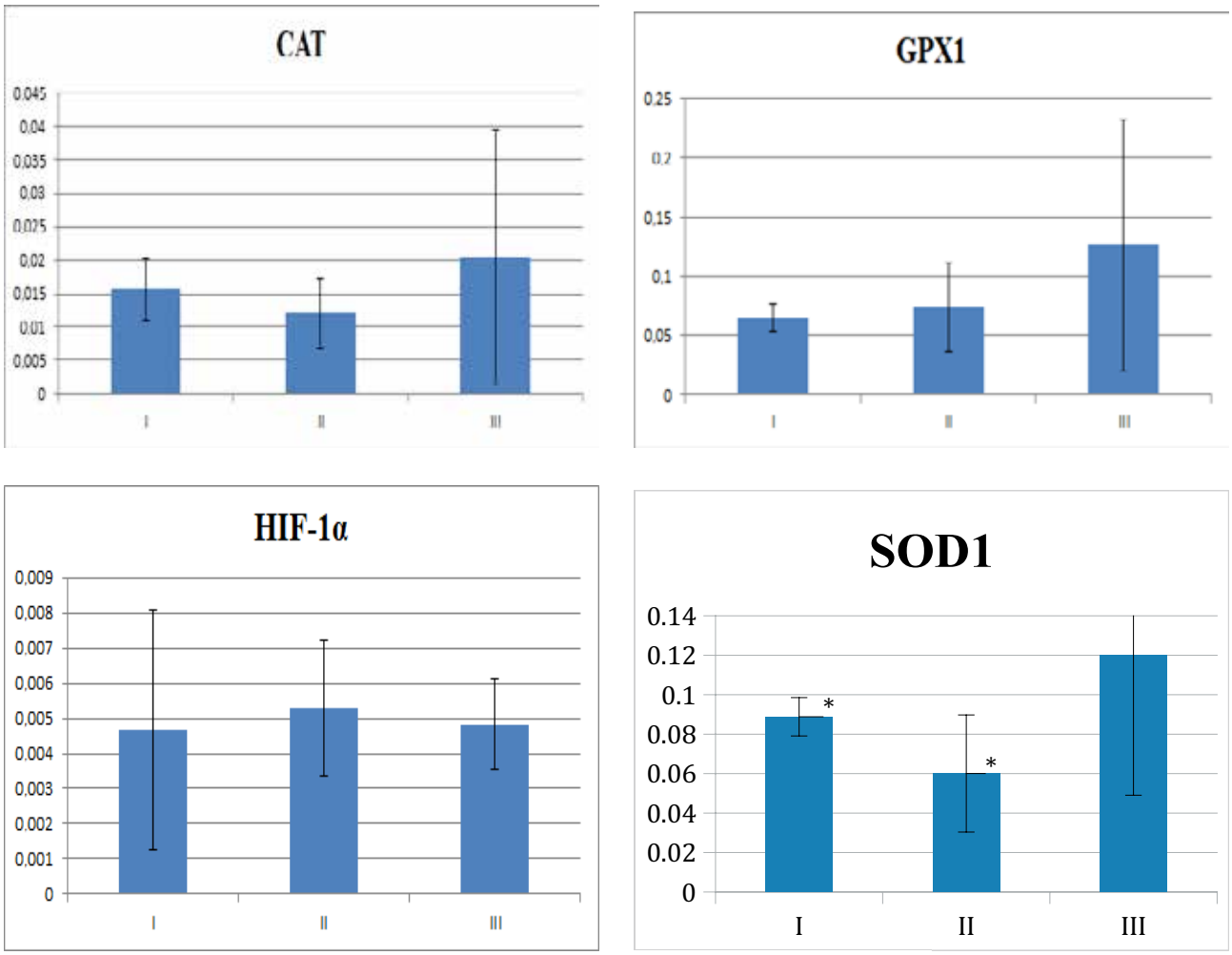


Fig. 3. Relative expression level of genes of the immune and antioxidant systems in the calves of the studied groups 48 hours after repeated administration of Proautovak (* — $P \leq 0.05$)

The level of CAT expression in the third group was the highest: by 31.2 and 70.4 % higher than in the first and second groups. The GPX1 expression was higher in the third group: by 93.7 and 71.5 % higher than in the first and second groups, respectively. The SOD1 expression was the highest in the third group: by 35.4 % and 2.1 times higher than in the first and second groups, respectively.

An increase in the level of expression of antioxidant system genes was noted in the third group, while in the second group the expression decreased, indicating a more delayed effect of the therapeutic regimen of the third group, relative to the regimen of the second group, since the antioxidant defense system in the calves of the second group was launched already 12 hours after the administration of the drugs. In an experimental model of bronchopneumonia in calves, Patel et al. [18] showed that the combination of recombinant bovine interferon-α and vitamin E contributed to a more rapid resolution of the inflammatory process

and restoration of lung function, compared to monotherapy. The authors attribute this effect to the synergistic effect of the components on the expression of genes responsible for antioxidant protection and anti-inflammatory activity.

The relative expression level of antioxidant system genes in the calves of the studied groups on the second day after repeated administration of Proautovak is shown in Fig. 4.

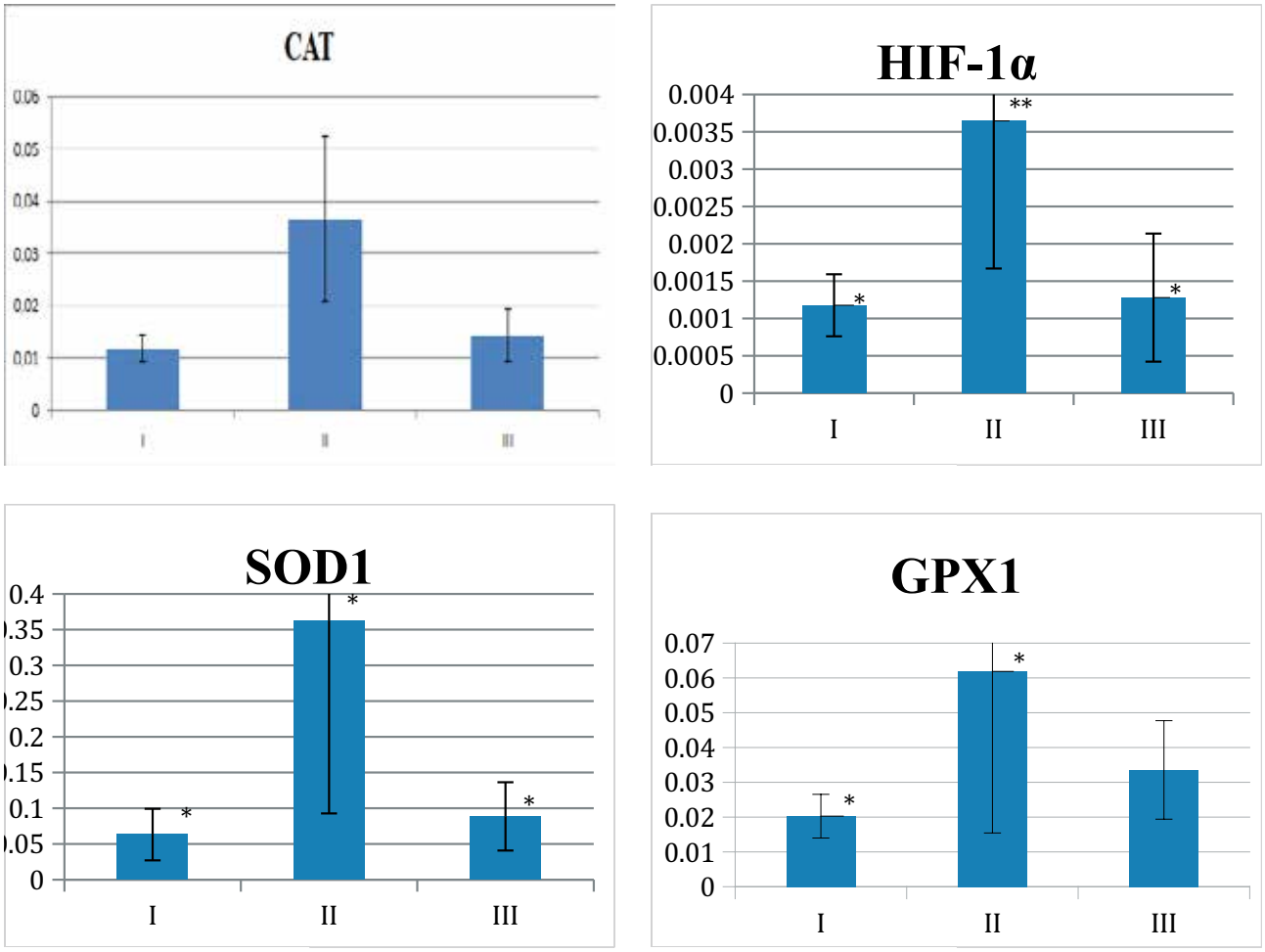


Fig. 4. Relative expression level of genes of the immune and antioxidant systems in the calves of the studied groups on the second day after repeated administration of Proautovak (* — $P \leq 0.05$, ** — $P \leq 0.01$)

The study demonstrated the highest expression rates of antioxidant system genes in the second experimental group. The activity of the CAT gene exceeded the values of the first and third groups by 3.1 and 2.6 times, respectively. A similar trend was observed for the GPX1 gene, the expression of which was by 3.1 and 1.8 times higher, as well as for the SOD1 gene, which exceeded the control values by 5.7 and 4.1 times, compared to the first and third groups.

It is noteworthy that in the second group, despite some decrease from the peak values, increased expression of antioxidant defense genes was maintained, indicating the continuing activity of defense mechanisms. In contrast, the third experimental group was characterized by a sharp drop in the expression of antioxidant system components.

The therapeutic regimen including Proautovak demonstrated the ability to rapidly activate the antioxidant system, which was expressed in a significant increase in the expression levels of the CAT, GPX1 and SOD1 genes within 48 hours after repeated administration.

This observation correlates with the studies of Li et al. [19], which revealed the ability of interferon therapy to rapidly induce the expression of antioxidant defense genes.

A comprehensive analysis of the results indicates that the therapeutic approach using Proautovak pro-

vides a more predictable and pronounced effect in suppressing free radical oxidation processes, while the treatment regimen using Butofan demonstrates a less pronounced antioxidant effect.

The analysis of correlation relationships revealed a significant positive association between the expression of GPX1 and SOD1 ($r = 0.71$), which was consistent with their functional role as key elements of the cellular response to oxidative stress.

In the context of an experimental model of bronchopneumonia in calves, it was demonstrated that the combined use of recombinant bovine interferon — α with vitamin E provided more effective relief of the inflammatory process and restoration of respiratory function, compared to monotherapeutic approaches. The researchers interpret this phenomenon through the prism of the synergistic effect of these components on the transcription of genes that control antioxidant and anti-inflammatory mechanisms.

Summarizing the data obtained, it is necessary to emphasize that pathological processes in the respiratory tract are invariably accompanied by the development of oxidative stress and hypoxic conditions. The therapeutic protocol with the inclusion of Proautovak is characterized by a more rapid induction of the body's antioxidant defense mechanisms, which clinically manifests itself in an accelerated resolution of the inflammatory process. An alternative scheme using Butofan demonstrates a lower prognostic value due to the pronounced variability of target gene expression.

At the next stage, the activity of antioxidant enzymes in the blood of calves was assessed.

The activity of antioxidant enzymes in the body of calves of the studied groups is presented in Table 2.

Table 2

Activity of antioxidant enzymes in the calves of the studied groups

Studied group	Time	Catalase, μmol of red. peroxide/L*min	Glutathione peroxidase, μmol of red. glut./L*min	SOD (U/mg of Hb)
I	12 h	38.55 ± 3.30*	13.56 ± 2.15*	2.57 ± 0.13
	48 h	46.24 ± 2.93	8.74 ± 1.60	2.66 ± 0.05
	2 d	47.10 ± 2.09*	17.47 ± 2.37	3.10 ± 0.06
II	12 h	46.16 ± 3.28*	17.74 ± 5.90*	2.49 ± 0.12*
	48 h	43.94 ± 4.15	8.86 ± 1.84	2.59 ± 0.07**
	2 d	55.29 ± 4.08*	17.93 ± 2.39*	3.26 ± 0.03***
III	12 h	42.98 ± 1.68	14.12 ± 1.44*	2.87 ± 0.11
	48 h	41.85 ± 3.78	8.83 ± 2.14	2.89 ± 0.04**
	2 d	51.19 ± 5.62**	15.64 ± 1.57	3.44 ± 0.09*

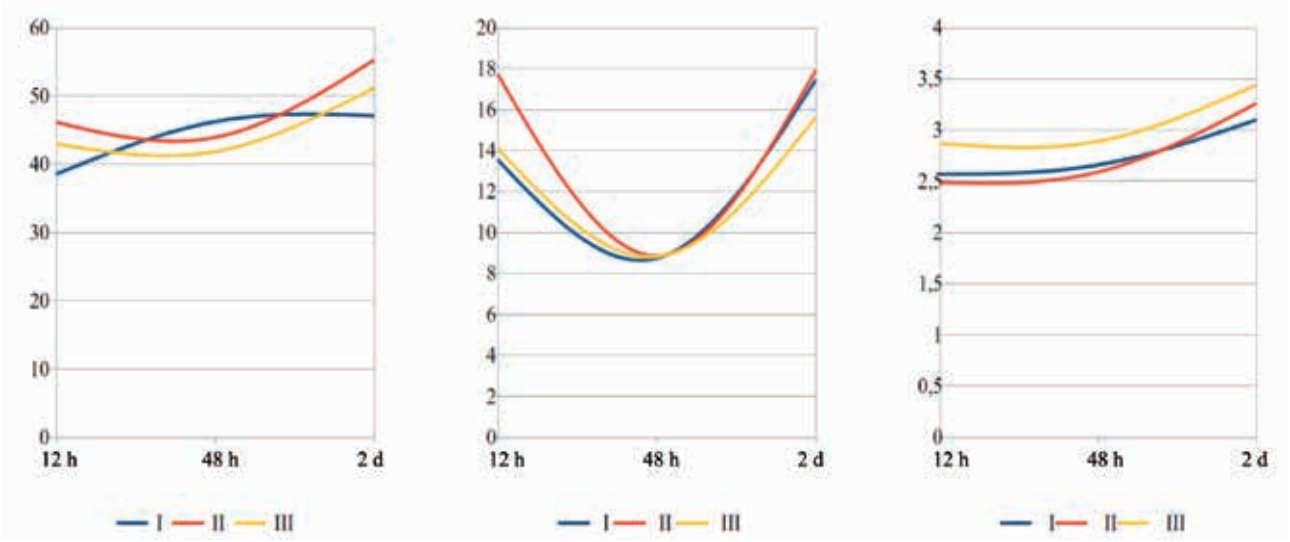
* $P < 0.05$—0.02
** $P < 0.01$
*** $P < 0.001$

From the data in the table, it can be seen that the catalase activity in 12 hours in the second group was higher than in the healthy animals of the first group by 19.7 % ($p \leq 0.05$), and by 48 hours and by day 2, the excess was reduced to 5.3 and 1.1 %, respectively. In the third group, the catalase activity in 12 hours was lower than in the calves of the first group by 11.9 %, but by day 2, the indicator was higher by 8.7 % ($p \leq 0.01$). A sharp increase in catalase activity in the second group at the early stages may be associated with a rapid response of the body to oxidative stress. In the third group, the activity increases more slowly, which is probably due to the gradual activation of the antioxidant system. The glutathione peroxidase (GPX) activity in 12 hours in the second group was higher than the level of the first one by 30.8 % ($p \leq 0.05$), by 48 hours, the difference was minimal (1.4 %), and by day 2, the increase was 2.6 %. In the third group, the GPX activity in 12

hours was higher than the level in healthy animals by 4.1 %, but by 48 hours and day 2, it decreased by 0.1 and 10.5 %, respectively. The increase in glutathione peroxidase activity in the second group is associated with early activation of the enzyme to neutralize peroxides, but a decrease at later stages indicates the restoration of balance. In the third group, the activity is less stable, which may indicate insufficient antioxidant protection in the long term.

Superoxide dismutase (SOD) activity in 12 hours in the second group was lower than in the first by 3.11 % ($p \leq 0.05$), but by 48 hours and day 2, it exceeded it by 2.93 % ($p \leq 0.01$) and 5.16 % ($p \leq 0.001$). In the third group, in 12 hours, the activity was higher than the level of the first group by 11.67 %, by 48 hours and day 2 — by 8.65 % ($p \leq 0.01$) and 11.04 % ($p \leq 0.05$). Low initial SOD activity in the second group may reflect the depletion of the enzyme resource during the acute phase of inflammation, while further growth of activity indicates the system restoration. In the third group, SOD activity is maintained at a high level at all stages, which may be due to a less intense effect of oxidative stress or more stable adaptation.

Fig. 5 graphically shows the dynamics of changes in the activity of antioxidant enzymes in the calves in the studied groups during the experiment.



a *b* *c*

Fig. 5. Dynamics of the indicators of the LPO-AOD system in the studied groups of calves:
a — catalase, μmol of red. peroxide/L·min; *b* — glutathione peroxidase, μmol of red. glut./L·min; *c* — SOD, U/mg of Hb

During the correlation analysis, a positive correlation was noted between GPX1 expression and GPX activity in the blood ($r = 0.65$), especially in the second group 12 hours after repeated administration of Proautovak. It is also worth noting the positive correlation between SOD1 expression and SOD activity in the blood ($r = 0.68$), which confirmed the consistency of the obtained data. Particularly noteworthy is the observed positive correlation between gene expression and the activity of the corresponding antioxidant defense enzymes. Thus, glutathione peroxidase activity in 12 hours in the second group was higher than the control group level by 30.8 %, which corresponded to increased GPX1 gene expression. Similar consistency of molecular and biochemical markers was noted in the works of Liu et al. [20], which confirmed the validity of our results. In the studies of Ushkalov et al. [21], the efficacy of using recombinant bovine interferon in case of bronchopneumonia in calves, which was manifested by a reduction in the recovery period and a decrease in the incidence of complications, is shown. The authors noted the positive effect of interferon therapy on the indicators of the body's antioxidant defense, including the activity of catalase and superoxide dismutase. It is important to note that in the group receiving Proautovak, a more balanced activation of the antioxidant system was observed without sharp fluctuations in the level of gene expression, which may be associated with the species-specificity of the cytokines used. This feature was also noted in the works of Sang et al. [22], emphasizing the importance of using species-specific interferons to achieve an optimal therapeutic effect. The presence of not only recombinant cytokines, but also vitamins A, E and C in the composition of Proautovak, probably contributes to the synergistic effect of the components. Vitamin E,

being a powerful lipophilic antioxidant, protects cell membranes from peroxidation [23], while vitamin C ensures the restoration of the oxidized form of vitamin E and participates in the regeneration of other antioxidants [24]. Vitamin A, in addition to its antioxidant effect, promotes the regeneration of the respiratory tract epithelium, which is especially important in case of respiratory pathologies [25].

CONCLUSION

A comparative analysis of two therapeutic regimens showed that combination therapy using Proautovak, which contains species-specific recombinant interferons in combination with vitamins A, E and C, provides a faster and more balanced activation of the antioxidant system, compared to a regimen including Butofan.

Already 12 hours after repeated administration of Proautovak, a significant increase in the expression of the CAT, GPX1 and SOD1 genes was observed, which correlated with an increase in the activity of the corresponding enzymes in the blood. A positive correlation was found between gene expression and activity of antioxidant defense enzymes ($r = 0.65$ for GPX1 and GPX; $r = 0.68$ for SOD1 and SOD), which indicated the consistency of molecular and biochemical markers of antioxidant status and confirmed the reliability of the results obtained. Thus, the use of Proautovak in the complex therapy of respiratory diseases in calves is a pathogenetically justified and effective approach that allows reducing the intensity of oxidative stress, accelerating recovery processes and minimizing the risk of complications.

REFERENCES

1. *Gaudino M.* Understanding the mechanisms of viral and bacterial coinfections in bovine respiratory disease: a comprehensive literature review of experimental evidence / M. Gaudino, B. Nagamine, F. Ducatez // Vet Res 53, 70 (2022).

2. *Soodaeva S. K.* Disorders of oxidative metabolism in case of respiratory tract diseases and modern approaches to antioxidant therapy / S. K. Soodaeva, I. A. Klimanov // Prakticheskaya pulmonologiya (Practical Pulmonology). 2009. No. 1.

3. *Lykkesfeldt J.* Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals / J. Lykkesfeldt, O. Svendsen // Veterinary Journal. — 2019. — Vol. 173. — P. 502—511. — DOI: 10.1016/j.tvjl.2018.06.005

4. *Kolesnichenko L. S.* Molecular mechanisms of the antioxidant system / L. S. Kolesnichenko, V. I. Kulinskiy // Byulleten VSNTs SO RAMN. — 2018. — No. 2 (60). — P. 203—207. — DOI: 10.25631/tbsh.2018.60.2.203-207

5. *Vysokogorskiy V. E.* Antioxidant system of the animal body: regulatory mechanisms and age-related characteristics / V. E. Vysokogorskiy, T. D. Voronova, D. S. Veselov // Veterinarnaya patologiya (Veterinary pathology). — 2019. — No. 1. — P. 23—30. — DOI: 10.24411/0869-8015-2019-10004

6. *Zaytseva E. V.* Oxidative stress in young animals with pathology / E. V. Zaytseva, E. V. Krapivina, A. A. Menkova // Vestnik Bryanskoy GSKhA (Bulletin of Bryansk State Agricultural Academy). — 2019. — No. 3. — P. 31—35. — DOI: 10.30679/2587-9847-2019-3-31-35

7. *McNab F.* Type I interferons in infectious disease / F. McNab, K. Mayer-Barber, A. Sher // Nature Reviews Immunology. — 2019. — Vol. 15. — P. 87—103. — DOI: 10.1038/nri3787

8. *Ivashkiv L. B.* Regulation of type I interferon responses / L. B. Ivashkiv, L. T. Donlin // Nature Reviews Immunology. — 2014. — Vol. 14. — P. 36—49. — DOI: 10.1038/nri3581

9. *Shevchenko I. V.* Type I interferons in the regulation of innate and adaptive immunity / I. V. Shevchenko, L. V. Kovalchuk, M. V. Khoreva // Immunologiya (Immunology). — 2018. — No. 1. — P. 14—20. — DOI: 10.18821/0206-4952-2018-39-1-14-20

10. *Kroetz D. N.* Type I interferon induced epigenetic regulation of macrophages suppresses innate and adaptive immunity in acute respiratory viral infection / D. N. Kroetz, R. M. Allen, M. A. Schaller // PLoS Pathogens. — 2019. — Vol. 11. — e1005338. — DOI: 10.1371/journal.ppat.1005338

11. *Klotz D.* Pathogenesis of respiratory disorders in neonatal calves and the antioxidant status / D. Klotz, S. Jansen, J. S. Agerholm // Veterinary Research Communications. — 2018. — Vol. 42. — P. 219—228. — DOI: 10.1007/s11259-018-9730-4

12. *Bezborodkin N. S.* Pharmacocorrection of the antioxidant status of the animal body / N. S. Bezborodkin, V. N. Ivanov // Veterinarnaya meditsina (Veterinary medicine). — 2019. — No. 2. — P. 11—15. — DOI: 10.12737/article_5c5ac82cb7bed8.74953610

13. *Semenenko M. P.* Pharmacological aspects of the use of antioxidant drugs in veterinary medicine / M. P. Semenenko, E. V. Kuzminova, E. V. Tyapkina // Veterinariya Kubani (Veterinary science of Kuban). — 2018. — No. 4. — P. 10—12. — DOI: 10.33861/2071-8020-2018-4-10-12

14. *Vasilyeva S. V.* Clinical biochemistry of cattle / S. V. Vasilyeva, Yu. V. Konopatov. — St. Petersburg: Lan, 2018. — 188 p. — DOI: 10.18619/2072-9146-2018-188

15. *Samoylenko A. Ya.* New generation biotechnological drugs in veterinary medicine / A. Ya. Samoylenko, S. A. Grin, I. N. Matveeva // Veterinariya (Veterinary science). — 2018. — No. 7. — P. 3—8. — DOI: 10.30896/0042-4846.2018.21.7.3-8

16. *Smolentsev S. Yu.* Modern immunomodulators and their use in veterinary medicine / S. Yu. Smolentsev, K. Kh. Papunidi, G. R. Yusupova // Uchenye zapiski Kazanskoy

gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N. E. Baumana (Transactions of Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman). — 2018. — Vol. 236. — P. 183—186. — DOI: 10.31588/2413-4201-1883-236-4-183-186

17. *Retskiy M. I.* Methodological 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: State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, 2010. — 70 p.

18. *Patel J. R.* Efficacy of a live bovine respiratory syncytial virus vaccine in calves with maternal antibodies / J. R. Patel, S. A. Didlick, H. Bateman // American Journal of Veterinary Research. — 2018. — Vol. 67. — P. 114—119. — DOI: 10.2460/ajvr.67.1.114

19. *Li Q.* NF-κB regulation in the immune system / Q. Li, I. M. Verma // Nature Reviews Immunology. — 2018. — Vol. 2. — P. 725—734. — DOI: 10.1038/nri910

20. *Liu T.* NF-κB signaling in inflammation / T. Liu, L. Zhang, D. Joo // Signal Transduction and Targeted Therapy. — 2019. — Vol. 2. — e17023. — DOI: 10.1038/sigtrans.2017.23

21. *Ushkalov V. O.* Antioxidant status of the body of calves after taking interferon preparations / V. O. Ushkalov, V. V. Danchuk, V. I. Karpovskiy // Veterinarnaya biotekhnologiya (Veterinary biotechnology). — 2019. — No. 34. — P. 145—153. — DOI: 10.31073/vet_biotech34-18

22. *Sang Y.* Porcine type I interferons: polymorphic sequences and activity against PRRSV / Y. Sang, R. R. Rowland, F. Blecha // BMC Proceedings. — 2018. — Vol. 5. — P. S8. — DOI: 10.1186/1753-6561-5-S4-S8

23. *Spirichev V. B.* Biological role of fat-soluble vitamins / V. B. Spirichev, I. Ya. Kon // Voprosy pitaniya (Nutrition Issues). — 2018. — No. 6. — P. 4—13. — DOI: 10.24411/0042-8833-2018-10060

24. *Kon I. Ya.* Role of vitamin C and other micronutrients in enhancing immunity and preventing respiratory infections / I. Ya. Kon, M. M. Korosteleva, N. M. Shilina // Voprosy prakticheskoy pediatrii (Issues of Practical Pediatrics). — 2019. — No. 6. — P. 65—70. — DOI: 10.20953/1817-7646-2019-6-65-70

25. *Gaponov A. M.* Interaction of retinoic acid and interferons in the regulation of the immune response / A. M. Gaponov, M. V. Pashchenkov, B. V. Pinegin // Immunologiya (Immunology). — 2019. — No. 3. — P. 146—151. — DOI: 10.18821/0206-4952-2019-40-3-146-151

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

V. A. Shutikov — Postgraduate Student, Junior Scientific Associate of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;

D. E. Rud — Applicant for a Degree;

D. V. Gunkin — Postgraduate Student, Junior Scientific Associate of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;

N. A. Strelnikov — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;

D. I. Shabanov — Scientific Associate of the Laboratory of Preclinical Studies and Simulation of Biological Systems;

V. Yu. Sulin — Candidate of Biological Sciences, Principal Scientific Associate of the Laboratory of Preclinical Studies and Simulation of Biological Systems;

E. V. Mikhaylov — Candidate of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems;

V. A. Prokulevich — Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Scientific Associate of the Research Laboratory of Biotechnology, Department of Microbiology, Faculty of Biology.

The article was submitted 17.07.2025.

Научная статья
УДК 619:579.8:636.4
DOI: 000

ОПТИМИЗАЦИЯ ГОМЕОСТАЗА ПОРОСЯТ ПРОБИОТИКОМ «ПЕНТАПРОЛ» ПРИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ СТРЕССЕ, ОБУСЛОВЛЕННОМ ОТЪЕМОМ ИХ ОТ СВИНОМАТОК И ПЕРЕВОДОМ НА ДОРАЩИВАНИЕ

Алексей Гаврилович Шахов[*]✉, Лариса Юрьевна Сашнина[*], Галина Анатольевна Востроилова[*], Владимир Николаевич Коцарев[*], Валентина Ивановна Моргунова[*], Дмитрий Игоревич Шабанов[*], Вячеслав Юрьевич Боев[**]

[*]Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, vnivipat@mail.ru✉
[**]Вишневский, Верхнехавский район, Россия

Аннотация. В статье представлены результаты изучения влияния пробиотика «Пентапрол» на гемоморфологический и биохимический статус поросят при технологическом стрессе, связанном с отъемом и переводом на доращивание. Исследования проведены в промышленном свиноводческом хозяйстве. Установлено, что гомеостаз животных, получавших пробиотик, по сравнению с контролем (без препарата) характеризовался повышением активности сосудисто-тромбоцитарного механизма гемостаза и биохимического статуса, снижением интенсивности процессов пероксидации липидов и эндогенной интоксикации, что способствовало уменьшению заболеваемости животных желудочно-кишечными болезнями и увеличению их сохранности.

Ключевые слова: поросята, технологический стресс, пробиотик «Пентапрол», гомеостаз

Технологические стресс-факторы (ранний отъем поросят от свиноматок, перегруппировки, связанные с переводом их на доращивание и откорм, смена условий кормления и содержания, безвыгульное выращивание и др.), свойственные промышленному свиноводству, оказывают существенное влияние на функционирование физиологических систем организма [1, 2].

Установлено, что технологический стресс, связанный с ранним отъемом поросят от свиноматок и переводом их на доращивание, сопровождается существенными изменениями гемоморфологического и биохимического статуса, повышением пероксидации липидов и эндогенной интоксикации на фоне сниженной антиоксидантной защиты, большинство показателей которых через 20 дней после стрессового воздействия не достигает предотъемных значений [3].

Для предупреждения стрессовой дезадаптации, оптимизации гомеостаза животных рекомендованы различные фармакологические препараты природного и синтетического происхождения, адаптогены, стресс-корректоры, антиоксиданты, интерферонсодержащие средства [4—8].

Установлено положительное влияние различных пробиотических препаратов на физиолого-биохимический статус и продуктивность поросят [9—13].

Кормовая добавка «Пентапрол» разработана ООО «Биона» для стабилизации микрофлоры кишечника, повышения продуктивности и сохранности свиней и сельскохозяйственной птицы. Микроорганизмы *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*, входящие в состав препарата, обладают антагонистической активностью по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам, восстанавливают микрофлору кишечника и стимулируют обмен веществ.

Цель исследований — изучение влияния пробиотика «Пентапрол» на гемоморфологический и биохимический статус поросят при технологическом стрессе, обусловленном отъемом их от свиноматок и переводом на доращивание.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на промышленном свиноводческом комплексе на 2 группах поросят (опытная *n* = 320 и контрольная *n* = 320), полученных от свиноматок помесных пород (крупная белая-ландрас + дюрок), которых в возрасте 28 дней отняли от свиноматок и перевели на доращивание. Опыт проводили в соответствии с требованиями действующих международных и российских законодательных актов (Директива 2010/63/EU от 22.09.2010, Европейской конвенции (ETS123)) (Strasburg, 1986), а также требований комиссии по биоэтике «ВНИВИПФиТ» (протокол № 1-02/24 от 1.02.2024 г).

Животных содержали при оптимальных параметрах микроклимата с учетом их физиологического состояния. В период доращивания поросят кормили комбикормами СК-3 и СК-4, сбалансированными по энергии, протеину, аминокислотам, витаминам, макро- и микроэлементам. Животным опытной группы после перевода на доращивание с питьевой водой через медикатор ежедневно назначали пробиотик «Пентапрол» по 3 мл на голову в течение 14 дней. Поросятам контрольной группы препарат не применяли.

Пробиотик «Пентапрол» содержит биологически активные метаболиты, живые вегетативные клетки и споры*: Lactobacillus acidophilus и Lactobacillus plantarum* — $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл, *Lactococcus lactis subsp. lactis* и *Enterococcus faecium* $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл, *Bifidobacterium pullorum* — не менее $5 \cdot 10^7$ КОЕ/мл.

За животными вели наблюдение, учитывали заболеваемость, падеж. От поросят (*n* = 5) опытной и контрольной групп в 26 и 43-дневном возрасте проведен забор крови для морфологических и биохимических исследований.

Морфологический анализ крови проводили на гематологическом анализаторе «ABX Micros 60», биохимические исследования сыворотки крови — на анализаторе «Hitachi-902» в соответствии с «Методическими рекомендациями по применению биохимических методов исследований крови животных» [14]. Содержание малонового диальдегида (МДА), активность глутатионпероксидазы (ГПО) и каталазы определяли в соответствии с «Методическими положениями по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма» [15].

Концентрацию среднемолекулярных пептидов (СМП) определяли по содержанию в сыворотке крови веществ низкой и средней молекулярной массы с последующим расчетом индекса эндогенной интоксикации (ИЭИ) [16], стабильных метаболитов азота (NO_x) в плазме крови -спектрофотометрическим методом [17].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica, версия 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Отъем поросят от свиноматок и перевод их на доращивание оказал существенное влияние на морфологические показатели крови (табл. 1).

Таблица 1

Морфологические показатели крови у поросят

Показатели	Возраст (дни), группы		
	26	43	43
	фон	контрольная	опытная
1	2	3	4
Эритроциты, 10^{12}/л	6,05 ± 0,12	5,78 ± 0,16	5,77 ± 0,15
Гемоглобин, г/л	109,0 ± 2,37	94,8 ± 1,78*	95,2 ± 2,61*
Тромбоциты, 10^9/л	322,6 ± 11,16	503,2 ± 21,52*	522,6 ± 55,42*
Лейкоциты, 10^9/л	15,0 ± 1,46	18,0 ± 1,74	18,7 ± 1,71
Нейтрофилы: юные%	—	—	—

Окончание табл. 1

1	2	3	4
палочкоядерные, %	7,8 ± 0,74	5,2 ± 0,49*	4,6 ± 0,37*
сегментоядерные, %	32,4 ± 1,33	38,6 ± 0,58*	38,0 ± 0,88*
Эозинофилы, %	1,2 ± 0,21	3,0 ± 0,55*	1,5 ± 0,29+
Базофилы, %	—	—	—
Моноциты, %	2,2 ± 0,37	2,8 ± 0,37	3,3 ± 0,40
Лимфоциты, %	56,4 ± 0,69	50,4 ± 0,96*	52,6 ± 0,87*

* $p < 0,05$—0,001 — к отношению к предыдущему периоду
\+ $p < 0,05$—0,001 — по отношению к контролю

У животных контрольной и опытной групп снизилось по сравнению с фоном содержание эритроцитов на 4,5 и 4,6 %, гемоглобина — на 13,0 % ($p < 0,002$) и 12,7 % ($p < 0,01$) при отсутствии у них разницы в показателях, что свидетельствовало об уменьшении интенсивности эритропоэза и насыщенности эритроцитов гемоглобином.

Вместе с тем у подопытных поросят увеличилось количество тромбоцитов на 56,0 % ($p < 0,001$) и 62,0 % ($p < 0,01$) и лейкоцитов — на 20,0 и 24,7 %, что указывало на повышение активности сосудисто-тромбоцитарного механизма гемостаза и клеточной защиты.

У животных обеих групп происходило повышение количества сегментоядерных нейтрофилов на 19,1 % ($p < 0,01$) и 17,3 % ($p < 0,01$) при снижении относительного содержания палочкоядерных нейтрофилов на 33,3 % ($p < 0,02$) и 40,3 % ($p < 0,01$) более выраженное (на 11,5 %) у животных опытной группы.

Увеличение относительного количества эозинофилов у поросят контрольной и опытной групп в 2,5 раза ($p < 0,02$) и на 25,0 %, обусловлено наличием стресс-реакции и повышением восприимчивости к бактериальным патогенам, особенно у животных в контроле, у которых их значение превышало в 2,0 раза ($p < 0,05$).

Уровень моноцитов, являющихся предшественниками тканевых макрофагов и осуществляющих фагоцитарную, антигенпредставляющую и репаративную функции, увеличился у поросят обеих групп на 27,3 и 50,0 %, что свидетельствовало о мобилизации мононуклеарных фагоцитов. При этом их значение у животных опытной группы превышало контрольный показатель на 17,9 %.

Относительное количество лимфоцитов, которые из всех субпопуляций лейкоцитов наиболее чувствительны к стрессовым воздействиям, у поросят контрольной и опытной групп снизилось на 10,6 % ($p < 0,002$) и 6,7 % ($p < 0,01$), в то же время их значение у животных опытной группы превышало контрольный показатель на 4,4 %.

Технологический стресс, обусловленный отъемом поросят от свиноматок и переводом на доращивание, сопровождался снижением содержания белка у животных контрольной и опытной групп на 9,9 % ($p < 0,001$) и 6,2 % ($p < 0,02$), при этом у поросят опытной группы его уровень превышал контрольный показатель на 4,1 % ($p < 0,05$) (табл. 2).

Изменения в протеинограмме характеризовались снижением у животных контрольной группы количества альбуминов, играющих значительную роль в детоксикации организма, на 8,7 % ($p < 0,01$), и у поросят опытной группы их значение превышало контроль на 7,3 % ($p < 0,02$).

Уровень α-глобулиновой фракции, содержащей острофазные белки, у животных контрольной группы повысился на 12,8 % ($p < 0,05$), а в опытной — не изменился и был меньше, чем в контроле на 11,9 %.

Содержание β-глобулинов, включающих компоненты системы комплемента и часть иммуноглобулинов, у поросят контрольной группы не изменилось, а в опытной — снизилось на 10,0 % и было меньше, чем аналогичный показатель животных в контроле на 9,8 %. Уровень γ-глобулинов, обеспечивающих гуморальный иммунитет, у животных обеих групп увеличился на 14,7 % ($p < 0,02$) и 20,5 % ($p < 0,01$), и был незначительно выше (на 5,0 %) у поросят опытной группы.

Таблица 2

Биохимические показатели у поросят

Показатели	Возраст (дни), группы		
	26	43	43
	фон	контрольная	опытная
Общий белок, г/л	59,8 ± 0,99	53,9 ± 0,39*	56,1 ± 0,76*+
Альбумины, %	48,3 ± 0,19	44,1 ± 0,97*	47,3 ± 0,97+
α –глобулины, %	15,6 ± 0,22	17,6 ± 0,83*	15,5 ± 0,85
β –глобулины, %	20,5 ± 0,37	20,4 ± 0,78	18,4 ± 0,87
γ-глобулины, %	15,6 ± 0,34	17,9 ± 0,62*	18,8 ± 0,77*
МДА, мк/М/л	1,22 ± 0,041	1,67 ± 0,249	1,26 ± 0,107
Каталаза, мкМ H_2O_2/л·мин	55,6 ± 1,320	57,0 ± 1,150	60,5 ± 1,322*+
ГПО, ВГ/л·мин	18,3 ± 1,190	18,1 ± 0,798	15,8 ± 0,897
Оксид азота, мкМ/л	34,0 ± 2,110	34,2 ± 0,863	36,5 ± 1,971
СМП, у. е.	0,66 ± 0,020	0,91 ± 0,056*	0,51 ± 0,096+
ИЭИ, у. е.	9,6 ± 0,420	13,0 ± 0,561*	10,2 ± 0,603

* $p < 0,05$—0,001 — к отношению к предыдущему периоду
\+ $p < 0,05$—0,001 — по отношению к контролю

Под воздействием технологического стресса у животных контрольной группы повысилось содержание малонового диальдегида, являющегося показателем активности процессов ПОЛ, на 36,9 % и среднемолекулярных пептидов, являющихся маркером эндогенной интоксикации, — на 37,9 % ($p < 0,01$) при снижении последних у поросят опытной группы на 22,7 %. При этом их значения у животных, получавших пробиотик, были меньше по отношению к контролю на 24,6 и 44,0 % ($p < 0,001$).

Индекс эндогенной интоксикации у поросят контрольной группы также увеличился на 35,4 % и у животных опытной группы был ниже на 21,5 %.

Это согласуется с ранее проведенным исследованием Wanchao на модели ишемии и реперфузионного шока мозга у крыс Sprague Dawley, в котором было показано, что введение культуры штамма *Lactobacillus spp.* уменьшило количество малонового диальдегида и увеличивало активность SOD при значительном улучшении клинических показателей [18].

Кроме того, установлено, что введение штамма *L. Brevis* 47f мышам BALB/c с 5-фторурацилом (5-FU)-индуцированным мукозитом защищало энтероциты и снижало в 2—3 раза уровни MDA в плазме крови и уровни MDA в тканях кишечника в сравнении с положительной контрольной группой [19].

При изучении ферментативного звена антиоксидантной защиты установлено, что активность каталазы, обеспечивающей разложение перекиси водорода на воду и молекулярный кислород и характеризующей антиперекисную защиту, у поросят обеих групп незначительно повысилась на 2,2 и 8,8 % ($p < 0,05$) и у поросят после применения «Пентапрола было выше на 6,1 % показателя контроля.

Антиоксидантные свойства «Пентапрола» обусловлены наличием гена CAT, кодирующего важный антиоксидантный фермент**,** у отдельных видов лактобацилл, содержащих группу гема или Mn (реже) в качестве простетической группы [20].

При анализе геномов промышленно значимых лактобацилл установлено, что ген гем-каталазы распространен среди групп *L. brevis, L. planta-*

rum и *L. sakei*, тогда как Mn-каталаза присутствует только в отдельных штаммах, таких как *L. casei* и *L. zeae* [21]. В то время как *L. casei* N87 содержит два гена CAT — гем⁻ и Mn-тип, которые редко встречаются у лактобацилл [22].

При этом активность глутатионпероксидазы, катализирующей превращение перекиси водорода и органические перекиси до гидросоединений, у животных опытной группы снизилась на 13,7 % и была меньше, чем в контроле на 12,9 % ($p < 0,05$), что связано с расходом на снижение интенсивности ПОЛ и эндогенной интоксикации.

Количество стабильных метаболитов оксида азота, принимающих участие в реакциях окислительного стресса и механизмах антиоксидантной защиты, увеличилось только у поросят опытной группы на 7,4 % и превышало контрольный показатель на 6,7 %.

Оптимизация гомеостаза поросят с применением пробиотика «Пентапрол» в период воздействия технологического стресса положительно сказалась на их клиническом статусе. Заболеваемость поросят желудочно-кишечными болезнями в опытной группе в первую неделю после перевода на доращивание составила 3,1 % (10 гол.), в контрольной — 7,8 % (25 гол.).

Продолжительность лечения больных поросят опытной и контрольной групп с использованием антимикробного препарата лексофлона орально в дозе 0,5 мл/20 кг массы тела один раз в сутки составила соответственно 4 и 5 дней, количество выздоровевших поросят — 80,0 и 76,0 % при летальности 20,0 и 24,0 % соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение пробиотика «Пентапрол» поросятам при технологическом стрессе, обусловленном отъемом поросят от свиноматок и переводом на доращивание, оказывает положительное влияние на их гомеостаз, проявляющееся повышением активности сосудисто-тромбоцитарного механизма гемостаза, белоксинтезирующей функции печени, повышением неспецифической клеточной и гуморальной защиты.

При этом под влиянием пробиотика у животных отмечено снижение уровня малонового диальдегида, среднемолекулярных пептидов и индекса эндогенной интоксикации.

Выявленные изменения повышали устойчивость поросят к бактериальным патогенам, что способствовало уменьшению заболеваемости и увеличению сохранности животных.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Рецкий М. И.* Молекулярно-биохимические механизмы стресса и адаптации / М. И. Рецкий, В. С. Бузлама, Б. Л. Жарков, Ю. В. Водолазкий // Эколого-адаптационная стратегия защиты здоровья и продуктивности животных в современных условиях. — Воронеж: Воронежский государственный университет, 2001. — С. 29—85.

2. *Шахов А. Г.* Особенности гуморального и клеточного иммунитета у поросят при технологическом стрессе /А.Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, Ю. Ю. Владимирова, М. И. Адодина, К. В. Тараканова // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2020. — № 2 (11). — С. 143—149. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.2.143

3. *Шахов А. Г.* Гемоморфологический, биохимический и иммунный статус у поросят при стрессе, вызванном отъемом их от свиноматок и переводом на доращивание / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, Ю. Ю. Владимирова, К. В. Тараканова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2019. — № 3. С. 182—186.

4. *Бузлама В. С.* Активные формы кислорода, антиоксиданты, адаптогены / В. С. Бузлама // В сборнике: Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных. Материалы международной научно-практической конференции. — Воронеж: изд-во Воронежский государственный университет, 2004. — С. 183—186.

5. *Чусова Г. Г.* Влияние биологически активных веществ на морфологические показатели крови у свиноматок / Г. Г. Чусова, Ю. Н. Бригадиров, В. Н. Коцарев, А. Э. Лобанов //Ветеринарный фармакологический вестник (научно-практический журнал). — 2019. № 2 (7). — С. 138—142. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2019.2.138

6. *Петрянкин Ф. П.* Иммунотропные препараты для лечения и профилактики болезней животных / Ф. П. Петрянкин // Ветеринарная патология. — 2009. — № 2 (29). — С. 98—105.

7. *Смоленцев С. Ю.* Влияние иммуностимуляторов на формирование иммунитета у свиноматок и поросят / С. Ю. Смоленцев // Вестник Марийского государственного университета. — 2011. — № 6. — С. 116—118.

8. *Попов В. С.* Этиологические особенности иммунодефицитов у свиней в условиях промышленной технологии / В. С. Попов, Н. В. Самбуров, А. А. Зорикова // Животноводство. — 2016. — № 4. — С. 63—67.

9. *Учасов Д. С.* Иммуно-биохимический статус и продуктивность поросят-сосунов и отъемышей при использовании пробиотика «Проваген» / Д. С. Учасов, О. Б. Сеин, Д. С. Ашихмин // Вестник ОрелГАУ. — 2011. — № 6 (33). — С. 49—51.

10. *Козел Л. С.* Биохимические и гематологические показатели у поросят при использовании комплексного препарата — симбиотика / Л. С. Козел, В. Л. Сукач, О. В. Милоста // Сельское хозяйство — проблемы и перспективы: сборник научных трудов / УО «Гродненский ГАУ». — Гродно. — 2013. — Т. 20: Ветеринария. — С. 109—115.

11. *Сеин О. Б.* Физиолого-биохимический статус у свиней при включении в рацион пробиотика «Лактобифадол» / О. Б. Сеин, Д. В. Трубников, Д. П. Черников // Вестник Курской ГСХА. — 2017. — № 9. — С. 29—32.

12. *Сеин О. Б.* Влияние пробиотического препарата «Муцинол» на физиолого-биохимический статус свиней / О. Б. Сеин, Д. П. Черников // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. — 2018. — № 4. — С. 115—118.

13. *Аникиенко И. В.* Влияние пробиотического препарата «Ветоспорин-С» на биохимические показатели крови и рост поросят-отъемышей / И. В. Аникиенко, Л. Н. Карелина, О. П. Ильина, И. И. Силкин // Вестник ИрГСХА. — 2018. — № 85. — С. 124—134.

14. Методические рекомендации по применению биохимических методов исследований крови животных / М. И. Рецкий, А. Г. Шахов, В. И. Шушлебин и др., Воронеж. — 2005. — 94 с.

15. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М. И. Рецкий, С. В. Шабунин, Г. Н. Близнецова и др. — Воронеж: Истоки, 2010. — 70 с.

16. *Гребнева О. Л.* Способ подсчета показателей веществ низкой и средней молекулярной массы плазмы крови / О. Л. Гребнева, Е. А. Ткачук, В. О. Чубейко // Клиническая лабораторная диагностика. — 2006. — № 2. — С. 17—18.

17. *Близнецова Г. Н.* Спектрофотометрический метод определения оксида азота / Г. Н. Близнецова, Н. В. Ермакова, З. Д. Мухаммед, М. И. Рецкий // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. — 2002. — № 1. — С. 56—60.

18. *Wanchao S.* Protective effect and mechanism of Lactobacillus on cerebral ischemia reperfusion injury in rats / S. Wanchao, M. Chen, S. Zhiguo, X. Futang, S. Mengmeng // Braz. J. Med. Biol. Res. —2018. —51- e7172.

19. *Marsova M.* The Lactobacillus brevis 47 f Strain Protects the Murine Intestine from Enteropathy Induced by 5-Fluorouracil/ M. Marsova, M. Odorskaya, M. D. Novichkova, V. Polyakova, S. Abilev, E. V. Kalinina,; A. Shtil, E. Poluektova, V. Danilenko// Microorganisms –2020. — 8. —876.

20. *Glorieux C.* Catalase, a remarkable enzyme: Targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. / C. Glorieux, Calderon, P.B. //Biol. Chem. —2017. — 398. — P.1095—1108.

21. *Zotta T.* Aerobic metabolism in the genus Lactobacillus: Impact on stress response and potential applications in the food industry / T. Zotta, E. Parente, A. Ricciardi// J. Appl. Microbiol. —2017. — 122. — P. 857—869.

22. *Ricciardi A.* Factors affecting gene expression and activity of heme- and manga-nese-dependent catalases in Lactobacillus casei strains/ A. Ricciardi, R. G. Ianniello, E. Parente, T. Zotta // Int. J. Food Microbiol. —2018— 280. — P 66—77.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. Г. Шахов — член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник;
Л. Ю. Сашнина — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;
Г. А. Востроилова — доктор биологических наук, главный научный сотрудник;
В. Н. Коцарев — доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник;
В. И. Моргунова — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник;
Д. И. Шабанов — научный сотрудник;
В. Ю. Боев — кандидат ветеринарных наук, ветеринарный врач.

Статья поступила в редакцию 02.07.2025.

Original article
UDC 619:579.8:636.4

OPTIMIZATION OF THE HOMEOSTASIS OF PIGLETS WITH THE PROBIOTIC "PENTAPROL" UNDER TECHNOLOGICAL STRESS CAUSED BY WEANING AND TRANSFER TO REARING

Aleksey Gavrilovich Shakhov[*]✉, Larisa Yuryevna Sashnina[*], Galina Anatolyevna Vostroilova[*], Vladimir Nikolaevich Kotsarev[*], Valentina Ivanovna Morgunova[*], Dmitriy Igorevich Shabanov[*], Vyacheslav Yuryevich Boev[**]

[*]All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, vnivipat@mail.ru✉
[**]Vishnevskoye, Verkhne-Khavskiy r., Voronezh region, Russia

Abstract. The article presents the results of studying the effect of the probiotic "Pentaprol" on the hemomorphological and biochemical status of piglets under technological stress associated with weaning and transfer to rearing. The studies were conducted at an industrial pig breeding farm. It was found that the homeostasis of animals receiving the probiotic, compared to the control (without the drug), was characterized by an increase in the activity of the vascular-platelet mechanism of hemostasis and biochemical status, a decrease in the intensity of lipid peroxidation and endogenous intoxication, which contributed to a decrease in the incidence of gastrointestinal diseases in animals and an increase in their livability.
Keywords: piglets, technological stress, probiotic "Pentaprol", homeostasis

Technological stress factors (early weaning of piglets, regrouping associated with their transfer to rearing and fattening, change in feeding and keeping conditions, indoor rearing, etc.), typical of industrial pig breeding, have a significant effect on the functioning of the physiological systems of the body [1, 2].

It has been established that technological stress associated with early weaning of piglets and their transfer to rearing is accompanied by significant changes in the hemomorphological and biochemical status, an increase in lipid peroxidation and endogenous intoxication against the background of reduced antioxidant protection, most of the indicators of which do not reach pre-weaning values 20 days after stress exposure [3].

To prevent stress maladaptation and optimize animal homeostasis, various pharmacological drugs of natural and synthetic origin, adaptogens, stress correctors, antioxidants, and interferon-containing agents are recommended [4—8].

A positive effect of various probiotic drugs on the physiological and biochemical status and productivity of piglets has been established [9—13].

The feed additive "Pentaprol" was designed by Biona LLC to stabilize the intestinal microflora, increase productivity and livability of pigs and poultry. Microorganisms *Lactobacillus spp.* and *Bifidobacterium spp*., included in the composition of the drug, have antagonistic activity against pathogenic and opportunistic microorganisms, restore intestinal microflora and stimulate metabolism.

The research objective is to study the effect of the probiotic "Pentaprol" on the hemomorphological and biochemical status of piglets under technological stress caused by weaning and transfer to rearing.

MATERIAL AND METHODS

The studies were conducted at an industrial pig breeding complex on 2 groups of piglets (experimental, $n = 320$, and control, $n = 320$) obtained from crossbred sows (Large White-Landrace + Duroc), which were weaned at the age of 28 days and transferred to rearing. The experiment was carried out in accordance with the requirements of current international and Russian legislation (Directive 2010/63/EU dtd. 22.09.2010, European Convention (ETS123)) (Strasburg, 1986), as well as the requirements of the Bioethics Commission of ARVRIPP&T (protocol No. 1-02/24 dtd. 1.02.2024).

The animals were kept under optimal microclimate parameters, taking into account their physiological condition. During the rearing period, the piglets were fed with compound feeds SK-3 and SK-4, balanced in energy, protein, amino acids, vitamins, macro- and microelements. After being transferred to rearing with drinking water through a medicator, the animals of the experimental group were prescribed the probiotic "Pentaprol" daily at 3 ml per animal for 14 days. The piglets of the control group were not administered the drug.

The probiotic "Pentaprol" contains biologically active metabolites, live vegetative cells and spores: *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* — $1 \cdot 10^8$ CFU/ml, *Lactococcus lactis subsp. lactis* and *Enterococcus faecium* — $1 \cdot 10^8$ CFU/ml, *Bifidobacterium pullorum* — at least $5 \cdot 10^7$ CFU/ml.

The animals were observed, morbidity and mortality were taken into account. Blood was taken from the piglets ($n = 5$) of the experimental and control groups at the age of 26 and 43 days for morphological and biochemical studies.

Morphological blood analysis was performed on the hematological analyzer ABX Micros 60, biochemical studies of the blood serum — on the analyzer Hitachi-902 in accordance with the Methodological Recommendations for the Use of Biochemical Methods for Studying Animal Blood [14]. The content of malondialdehyde (MDA), the activity of glutathione peroxidase (GPx) and catalase were determined in accordance with the Methodological Provisions for the Study of Free Radical Oxidation Processes and the Antioxidant Defense System of the Body [15].

The concentration of medium molecular peptides (MMP) was determined by the content of low and medium molecular weight substances in the blood serum with subsequent calculation of the index of endogenous intoxication (IEI) [16], stable nitrogen metabolites (NO_x) in blood plasma — by the spectrophotometric method [17].

Statistical processing of the obtained results was performed using the Statistica software package, version 6.0.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

Weaning and transfer to rearing had a significant effect on the morphological blood indicators (Table 1).

Table 1

Morphological blood indicators in piglets

Indicators	Age (days), groups		
	26	43	43
	baseline	control	experimental
Erythrocytes, 10^{12}/L	6.05 ± 0.12	5.78 ± 0.16	5.77 ± 0.15
Hemoglobin, g/L	109.0 ± 2.37	94.8 ± 1.78*	95.2 ± 2.61*
Thrombocytes, 10^9/L	322.6 ± 11.16	503.2 ± 21.52*	522.6 ± 55.42*
Leukocytes, 10^9/L	15.0 ± 1.46	18.0 ± 1.74	18.7 ± 1.71
Neutrophils: young%	—	—	—
stab, %	7.8 ± 0.74	5.2 ± 0.49*	4.6 ± 0.37*
segmented, %	32.4 ± 1.33	38.6 ± 0.58*	38.0 ± 0.88*
Eosinophils, %	1.2 ± 0.21	3.0 ± 0.55*	1.5 ± 0.29+
Basophils, %	—	—	—
Monocytes, %	2.2 ± 0.37	2.8 ± 0.37	3.3 ± 0.40
Lymphocytes, %	56.4 ± 0.69	50.4 ± 0.96*	52.6 ± 0.87*

* $p < 0.05$—0.001 — relative to the previous period
\+ $p < 0.05$—0.001 — relative to the control

In the animals of the control and experimental groups, the content of erythrocytes decreased by 4.5 and 4.6 %, compared to the baseline, hemoglobin — by 13.0 % ($p < 0.002$) and 12.7 % ($p < 0.01$) with no difference in the indicators, which indicated a decrease in the intensity of erythropoiesis and the saturation of erythrocytes with hemoglobin. At the same time, the experimental piglets showed an increase in the number of platelets by 56.0 % ($p < 0.001$) and 62.0 % ($p < 0.01$), and leukocytes — by 20.0 and 24.7 %, indicating an increase in the activity of the vascular-platelet mechanism of hemostasis and cellular protection.

In the animals of both groups, there was an increase in the number of segmented neutrophils by 19.1 % ($p < 0.01$) and 17.3 % ($p < 0.01$) with a decrease in the relative content of stab neutrophils by 33.3 % ($p < 0.02$) and 40.3 % ($p < 0.01$), more pronounced (by 11.5 %) in the animals of the experimental group.

The increase in the relative number of eosinophils in the piglets of the control and experimental groups by 2.5 times ($p < 0.02$) and by 25.0 % is due to the presence of a stress reaction and increased susceptibility to bacterial pathogens, especially in the animals in the control, in which their value exceeded by 2.0 times ($p < 0.05$).

The level of monocytes, which are precursors of tissue macrophages and perform phagocytic, antigen-presenting and reparative functions, increased in the piglets of both groups by 27.3 and 50.0 %, indicating the mobilization of mononuclear phagocytes. At the same time, their value in the animals of the experimental group exceeded the control indicator by 17.9 %.

The relative number of lymphocytes, which are the most sensitive to stress effects among all leukocyte subpopulations, decreased by 10.6 % ($p < 0.002$) and 6.7 % ($p < 0.01$) in the piglets of the control and experimental groups, while their value in the animals of the experimental group exceeded the control value by 4.4 %.

Technological stress caused by weaning and transfer to rearing was accompanied by a decrease in protein content in the animals of the control and experimental groups by 9.9 % ($p < 0.001$) and 6.2 % ($p < 0.02$), while in the piglets of the experimental group its level exceeded the control value by 4.1 % ($p < 0.05$) (Table 2).

Table 2

Biochemical indicators in piglets

Indicators	Age (days), groups		
	26	43	43
	baseline	control	experimental
Total protein, g/L	59.8 ± 0.99	53.9 ± 0.39*	56.1 ± 0.76*+
Albumin, %	48.3 ± 0.19	44.1 ± 0.97*	47.3 ± 0.97+
α-globulins, %	15.6 ± 0.22	17.6 ± 0.83*	15.5 ± 0.85
β-globulins, %	20.5 ± 0.37	20.4 ± 0.78	18.4 ± 0.87
γ-globulins, %	15.6 ± 0.34	17.9 ± 0.62*	18.8 ± 0.77*
MDA, μM/L	1.22 ± 0.041	1.67 ± 0.249	1.26 ± 0.107
Catalase, μM H_2O_2/L·min	55.6 ± 1.320	57.0 ± 1.150	60.5 ± 1.322*+
GPx, μM G-SH/L·min	18.3 ± 1.190	18.1 ± 0.798	15.8 ± 0.897
Nitric oxide, μM/L	34.0 ± 2.110	34.2 ± 0.863	36.5 ± 1.971
MMP, c. u.	0.66 ± 0.020	0.91 ± 0.056*	0.51 ± 0.096+
IEI, c. u.	9.6 ± 0.420	13.0 ± 0.561*	10.2 ± 0.603

* $p < 0.05$—0.001 — relative to the previous period
\+ $p < 0.05$—0.001 — relative to the control

Changes in the proteinogram were characterized by a decrease in the amount of albumins in the animals of the control group, which play a significant role in detoxification of the body, by 8.7 % ($p < 0.01$), and in the piglets of the experimental group their value exceeded the control by 7.3 % ($p < 0.02$).

The level of the α-globulin fraction containing acute-phase proteins in the animals of the control group increased by 12.8 % ($p < 0.05$), and in the experimental group it did not change and was less than in the control by 11.9 %.

The content of β-globulins, including components of the complement system and some immunoglobulins, did not change in the piglets of the control group, while in the experimental group it decreased by 10.0 % and was by 9.8 % less than the similar indicator of the animals in the control.

The level of γ-globulins, which provide humoral immunity, increased by 14.7 % ($p < 0.02$) and 20.5 % ($p < 0.01$) in the animals of both groups, and was slightly higher (by 5.0 %) in the piglets of the experimental group.

Under the effect of technological stress, the content of malondialdehyde, which is an indicator of the activity of LPO processes, increased in the animals of the control group by 36.9 % and medium molecular peptides, which are a marker of endogenous intoxication, increased by 37.9 % ($p < 0.01$), while the latter decreased in the piglets of the experimental group by 22.7 %. At the same time, their values in the animals receiving the probiotic were lower in relation to the control by 24.6 and 44.0 % ($p < 0.001$).

The index of endogenous intoxication in the piglets of the control group also increased by 35.4 % and was lower in the animals of the experimental group by 21.5 %.

This is consistent with a previous study by Wanchao on a Sprague Dawley rat model of cerebral ischemia and reperfusion shock, which showed that administration of *Lactobacillus spp.* decreased malondialdehyde levels and increased SOD activity with significant improvement in clinical indicators [18].

In addition, administration of *L. Brevis* 47f strain to BALB/c mice with 5-fluorouracil (5-FU)-induced mucositis protected enterocytes and reduced plasma MDA levels and intestinal MDA levels by 2—3 times, compared to the positive control group [19].

When studying the enzymatic link of antioxidant defense, it has been found that the activity of catalase, which ensures the decomposition of hydrogen peroxide into water and molecular oxygen and characterizes antiperoxide protection, in the piglets of both groups increased slightly by 2.2 and 8.8 % ($p < 0.05$), and in the piglets after the use of "Pentaprol" it was by 6.1 % higher than the control value.

The antioxidant properties of "Pentaprol" are due to the presence of the CAT gene, encoding an important antioxidant enzyme, in certain types of lactobacilli containing a heme group or Mn (less often) as a prosthetic group [20]. When analyzing the genomes of industrially significant lactobacilli, it has been found that the heme-catalase gene is common among the *L. brevis*, *L. plantarum* and *L. sakei* groups, while Mn-catalase is present only in certain strains, such as *L. casei* and *L. zeae* [21]. While *L. casei* N87 contains two CAT genes (heme- and Mn-type), which are rare in lactobacilli [22].

At the same time, the activity of glutathione peroxidase, which catalyzes the conversion of hydrogen peroxide and organic peroxides to hydrocompounds, in the animals of the experimental group decreased by 13.7 % and was lower by 12.9 % ($p < 0.05$) than in the control, which was associated with the expenditure on reducing the intensity of LPO and endogenous intoxication.

The amount of stable metabolites of nitric oxide, participating in oxidative stress reactions and antioxidant defense mechanisms, increased only in the piglets of the experimental group by 7.4 % and exceeded the control indicator by 6.7 %.

Optimization of the homeostasis of piglets using the probiotic "Pentaprol" during the period of technological stress had a positive effect on their clinical status. The incidence of gastrointestinal diseases in the piglets in the experimental group in the first week after transfer to rearing was 3.1 % (10 animals), in the control group — 7.8 % (25 animals). The duration of treatment of the sick piglets in the experimental and control groups using the antimicrobial drug lexoflon orally at a dose of 0.5 ml / 20 kg of body weight once a day was 4 and 5 days, respectively, the number of recovered piglets was 80.0 and 76.0 %, with a mortality of 20.0 and 24.0 %, respectively.

CONCLUSION

The use of the probiotic "Pentaprol" in piglets under technological stress caused by weaning and transfer to rearing has a positive effect on their homeostasis, manifested by an increase in the activity of the vascular-platelet mechanism of hemostasis, protein-synthesizing function of the liver, an increase in non-specific cellular and humoral protection. At the same time, under the effect of the probiotic, a decrease in the level of malonic dialdehyde, medium molecular peptides

and the index of endogenous intoxication was noted in animals. The identified changes increased the resistance of piglets to bacterial pathogens, which contributed to a decrease in morbidity and an increase in the livability of animals.

REFERENCES

1. *Retskiy M. I.* Molecular and biochemical mechanisms of stress and adaptation / M. I. Retskiy, V. S. Buzlama, B. L. Zharkov, Yu.V. Vodolazskiy // Ecological and adaptation strategy for protecting animal health and productivity in modern conditions. — Voronezh: Voronezh State University, 2001. — P. 29—85.

2. *Shakhov A. G.* The peculiarities of humoral and cellular immunity in piglets under technological stress / A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, Yu.Yu. Vladimirova, M. I. Adodina, K. V. Tarakanova // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2020. — No. 2 (11). — P. 143—149. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.2.143

3. *Shakhov A. G.* Hemomorphological, biochemical and immune status in piglets under stress caused by weaning and transfer to rearing / A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, Yu.Yu. Vladimirova, K. V. Tarakanova // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii (Normative-legal regulatory issues in veterinary medicine). — 2019. — No. 3. P. 182—186.

4. *Buzlama V. S.* Reactive oxygen species, antioxidants, adaptogens / V. S. Buzlama // In the collection of papers: Free radicals, antioxidants and animal health. Proceedings of the international scientific and practical conference. — Voronezh: Voronezh State University Publishing House, 2004. — P. 183—186.

5. *Chusova G. G.* Effect of biologically active substances on morphological blood indicators in sows / G. G. Chusova, Yu.N. Brigadirov, V. N. Kotsarev, A. E. Lobanov // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2019. No. 2 (7). — P. 138—142. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2019.2.138

6. *Petryankin F. P.* Immunotropic drugs for the treatment and prevention of animal diseases / F. P. Petryankin // Veterinarnaya patologiya (Veterinary pathology). — 2009. — No. 2 (29). — P. 98—105.

7. *Smolentsev S. Yu.* Effect of immunostimulants on the formation of immunity in sows and piglets / S. Yu. Smolentsev // Vestnik Mariyskogo gosudarstvennogo universiteta (Bulletin of Mari State University). — 2011. — No. 6. — P. 116—118.

8. *Popov V. S.* Etiological features of immunodeficiencies in pigs under industrial technology conditions / V. S. Popov, N. V. Samburov, A. A. Zorikova // Zhivotnovodstvo (Animal husbandry). — 2016. — No. 4. — P. 63—67.

9. *Uchasov D. S.* Immunobiochemical status and productivity of suckling and weaned piglets using the probiotic "Provagen" / D. S. Uchasov, O. B. Sein, D. S. Ashikhmin // Vestnik OrelGAU (Bulletin of OrelSAU). — 2011. — No. 6 (33). — P. 49—51.

10. *Kozel L. S.* Biochemical and hematological indicators in piglets when using a complex drug — symbiotic / L. S. Kozel, V. L. Sukach, O. V. Milosta // Agriculture — problems and prospects: collection of scientific papers / UO "Grodnenskiy GAU" (EE "Grodno SAU"). — Grodno. — 2013. — V. 20: Veterinariya (Veterinary science). — P. 109—115.

11. *Sein O. B.* Physiological and biochemical status in pigs when including the probiotic "Laktobifadol" in the diet / O. B. Sein, D. V. Trubnikov, D. P. Chernikov // Vestnik Kurskoy GSKhA (Bulletin of Kursk SAA). — 2017. — No. 9. — P. 29—32.

12. *Sein O. B.* Effect of the probiotic drug "Mutsinol" on the physiological and biochemical status of pigs / O. B. Sein, D. P. Chernikov // Vestnik Kurskoy GSKhA (Bulletin of Kursk SAA). — 2018. — No. 4. — P. 115—118.

13. *Anikienko I. V.* Effect of the probiotic drug "Vetosporin-S" on biochemical blood indicators and growth of weaned piglets / I. V. Anikienko, L. N. Karelina, O. P. Ilyina, I. I. Silkin // Vestnik IrGSKhA (Bulletin of ISAA). — 2018. — No. 85. — P. 124—134.

14. Methodological recommendations for the use of biochemical methods for studying animal blood / M. I. Retskiy, A. G. Shakhov, V. I. Shushlebin et al., Voronezh. — 2005. — 94 p.

15. Methodological 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: Istoki, 2010. — 70 p.

16. *Grebneva O. L.* Method for calculating the indicators of substances of low and medium molecular weight of blood plasma / O. L. Grebneva, E. A. Tkachuk, V. O. Chubeyko // Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Clinical laboratory diagnostics). — 2006. — No. 2. — P. 17—18.

17. *Bliznetsova G. N.* Spectrophotometric method for determining nitric oxide / G. N. Bliznetsova, N. V. Ermakova, Z. D. Mukhammed, M. I. Retskiy // Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya (Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy). — 2002. — No. 1. — P. 56—60.

18. *Wanchao S.* Protective effect and mechanism of Lactobacillus on cerebral ischemia reperfusion injury in rats / S. Wanchao, M. Chen, S. Zhiguo, X. Futang, S. Mengmeng // Braz. J. Med. Biol. Res. —2018. —51- e7172.

19. *Marsova M.* The Lactobacillus brevis 47 f Strain Protects the Murine Intestine from Enteropathy Induced by 5-Fluorouracil/ M. Marsova, M. Odorskaya, M. D. Novichkova, V. Polyakova, S. Abilev, E. V. Kalinina, A. Shtil, E. Poluektova, V. Danilenko// Microorganisms –2020. — 8. —876.

20. *Glorieux C.* Catalase, a remarkable enzyme: Targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. / C. Glorieux, Calderon, P.B. //Biol. Chem. —2017. — 398. — P.1095—1108.

21. *Zotta T.* Aerobic metabolism in the genus Lactobacillus: Impact on stress response and potential applications in the food industry / T. Zotta, E. Parente, A. Ricciardi// J. Appl. Microbiol. —2017. — 122. — P. 857—869.

22. *Ricciardi A.* Factors affecting gene expression and activity of heme- and manga-nese-dependent catalases in Lactobacillus casei strains/ A. Ricciardi, R. G. Ianniello, E. Parente, T. Zotta // Int. J. Food Microbiol. — 2018— 280. — P 66—77.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. G. Shakhov — Corresponding Member of the RAS, Chief Scientific Associate;
L. Yu. Sashnina — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;
G. A. Vostroilova — Doctor of Biological Sciences, Chief Scientific Associate;
V. N. Kotsarev — Doctor of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate;
V. I. Morgunova — Candidate of Biological Sciences, Principal Scientific Associate;
D. I. Shabanov — Scientific Associate;
V. Yu. Boev — Candidate of Veterinary Sciences, Veterinarian.

The article was submitted 02.07.2025.

Научная статья
УДК 619:[612.017:615.03:591.51]:636.4
DOI: 000

ПОВЫШЕНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА ПОРОСЯТ ПРОБИОТИКОМ «ПЕНТАПРОЛ» ПРИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ СТРЕССЕ, ОБУСЛОВЛЕННОМ ОТЪЕМОМ ИХ ОТ СВИНОМАТОК И ПЕРЕВОДОМ НА ДОРАЩИВАНИЕ

Алексей Гаврилович Шахов[*]✉, Лариса Юрьевна Сашнина[**], Владимир Николаевич Коцарев[*], Ирина Владимировна Волкова[*], Вячеслав Юрьевич Боев[**], Сергей Николаевич Фурчаков[*]

[*]Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, г. Воронеж, Россия, vnivipat@mail.ru✉
[**] Вишневское, Верхне-Хавский район, Воронежская область, Россия

Аннотация. В условиях промышленного свиноводческого комплекса изучено влияние пробиотика «Пентапрол» на иммунный статус поросят при технологическом стрессе, обусловленным отъемом их от свиноматок и переводом на доращивание. Препарат применяли поросятам в течение 14 дней после воздействия технологического стресса. Установлено, что применение «Пентапрола» животным сопровождается повышением по сравнению с контролем, не получавшим пробиотик, неспецифической гуморальной и клеточной защиты и специфического клеточного иммунитета, снижением содержания провоспалительных цитокинов при повышении уровня противовоспалительных медиаторов, что оказало положительное влияние на клиническое состояние животных и способствовало снижению их заболеваемости и увеличению сохранности.

Ключевые слова: поросята, технологический стресс, пробиотик «Пентапрол», иммунный статус

Интенсивные технологии в промышленных свиноводческих хозяйствах предусматривают ранний отъем поросят от свиноматок, их перегруппировки, связанные с переводом на доращивание и откорм, смену условий кормления и содержания, большие концентрации животных на ограниченных производственных площадях [1, 2], которые оказывают иммуносупрессивное действие на организм, проявляющееся угнетением клеточного и гуморального иммунитета [3—5].

Для повышения иммунного статуса поросят в критические периоды выращивания, сопровождающиеся стрессом, рекомендованы адаптогены, стресс-корректоры, витамины, препараты на основе нуклеиновых кислот и интерферонов, обладающие иммуномодулирующими свойствами [6—8].

Иммунорегулирующее влияние на иммунную систему животных также установлено у пробиотиков [9, 10].

Пробиотическая кормовая добавка «Пентапрол», разработанная ООО «Биона», предназначена для стабилизации микрофлоры кишечника, повышения продуктивности и сохранности свиней и сельскохозяйственной птицы.

Цель исследования — изучение влияния пробиотика «Пентапрол» на иммунный статус поросят при технологическом стрессе, обусловленным отъемом их от свиноматок и переводом на доращивание.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на промышленном свиноводческом комплексе на 2 группах поросят (опытная, $n = 320$ и контрольная, $n = 320$), полученных от свиноматок помесных пород (крупная белая-ландрас + дюрок), которых в возрасте 28 дней отняли от свиноматок и перевели на доращивание. Опыт проводили в соответствии с требованиями действующих международных и российских законодательных актов (Директива 2010/63/EU от 22.09.2010, Европейской конвенции (ETS123))

(Strasburg, 1986), а также требований комиссии по биоэтике «ВНИВИПФиТ» (протокол № 1-02/24 от 1.02.2024 г).

Животных содержали при оптимальных параметрах микроклимата с учетом их физиологического состояния. В период доращивания поросят кормили комбикормами СК-3 и СК-4, сбалансированными по энергии, протеину, аминокислотам, витаминам, макро- и микроэлементам. Животным опытной группы после перевода на доращивание с питьевой водой через медикатор ежедневно назначали пробиотик «Пентапрол» по 3 мл в течение 14 дней. Поросятам контрольной группы препарат не применяли. Пробиотик «Пентапрол» содержит биологически активные метаболиты, живые вегетативные клетки и споры*: Lactobacillus acidophilus и Lactobacillus plantarum* — $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл, *Lactococcus lactis subsp. lactis* и *Enterococcus faecium* $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл, *Bifidobacterium pullorum* — не менее $5 \cdot 10^7$КОЕ/мл.

За животными в течение 15 дней вели наблюдение, учитывали заболеваемость, падеж. От поросят ($n = 5$) контрольной и опытной групп взяты пробы крови до перевода на доращивание и спустя 47 дней для иммунологических исследований, которые проводили в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции иммунного статуса животных» [11]. Уровень цитокинов: интерлейкина-1β (IL-1β), интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-10 (IL-10), фактора некроза опухоли-α (TNF-α), интерферона-γ (IFN-γ) определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с последующим учетом результатов на спектрофотометре «Униплан-ТМ» в соответствии с утвержденными наставлениями к диагностическим наборам.

Для оценки баланса про- и противовоспалительных медиаторов вычислены индексы: общее соотношение про- и противовоспалительных цитокинов (ОЦИ) и медиаторов, продуцируемых Th-I и Th-II клетками (ЦИ Th-1/ Th-2) [12].

Морфологический анализ крови проводили на гематологическом анализаторе «ABX Micros 60».

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica, версия 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Под влиянием технологического стресса у поросят контрольной и опытной групп повысилась неспецифическая гуморальная защита: лизоцимная и комплементарная активность сыворотки крови на 86,7 и 93,3 %, в 2,1 ($p < 0,01$) и 2,4 раза ($p < 0,001$), при этом их значения у животных опытной группы превышали контрольные показатели на 3,6 и 10,4 % (табл. 1). В ранее проведенных экспериментальных исследованиях влияния пробиотических препаратов на иммунную систему крыс также было отмечено усиление активации белков системы комплемента [13].

Содержание общих иммуноглобулинов у животных обеих групп увеличилось на 5,0 и 18,1 % ($p < 0,05$) и у поросят опытной группы было выше 12,4 %. Уровень циркулирующих иммунных комплексов, представляющих собой комплекс антиген-антитело и являющихся маркером иммунного ответа, у поросят контрольной и опытной групп снизился, в том числе крупных (3,0 %) в 4 ($p < 0,001$) и 3,5 раза ($p < 0,001$), мелкодисперсных (7,0 %) — на 41,4 % ($p < 0,01$) и 48,3 % ($p < 0,001$), но увеличилась их патогенность (С7/С3) в 2,3 ($p < 0,001$) и 1,7 раза ($p < 0,001$) (табл. 1).

При этом у животных опытной группы содержание крупных ЦИК было больше на 14,3 %, чем в контроле, а мелкодисперсных ЦИК и их патогенность меньше на 11,8 и 27,3 % ($p < 0,02$), что свидетельствовало о более выраженной гуморальной защите. Клеточное звено неспецифической защиты под влиянием технологического стресса также претерпело изменения. Так, количество активных фагоцитирующих нейтрофилов, их поглотительная способность: ФИ и ФЧ у поросят контрольной группы имели тенденцию к снижению на 3,3; 5,1; и 8,6 %, а в опытной — ФАН не изменилась, ФИ повысился на 3,4 % и ФЧ уменьшилось на 3,7 % (табл. 1).

В то же время значения ФАН, ФИ ФЧ у животных, получавших «Пентапрол» превышали контрольные показатели на 3,7; 9,0 и 5,4 % соответственно, что обусловлено активностью компонентов системы комплемента, усиливающей поглотительную способность фагоцитов.

Это согласуется с исследованиями в различных биологических системах, которыми было доказано, что лактобациллы и бифидобактерии могут активировать фагоцитоз [14].

При изучении метаболической (функциональной) активности нейтрофилов установлено, что спонтанный НСТ-тест, отражающий состояние кислородзависимого механизма бактерицидности фагоцитов крови in vitro, у животных контрольной группы не изменился, а в опытной — уменьшился на 13,0 % и был ниже контроля на 13,8 %.

Таблица 1

Показатели гуморального и клеточного звена неспецифического иммунитета у поросят

Показатели	Возраст (дни), группы		
	26	43	43
	фон	контрольная	опытная
ЛАСК, мкг/мл	1,35 ± 0,96	2,52 ± 0,17	2,61 ± 0,19
КАСК, % гем.	6,29 ± 0,30	13,4 ± 1,68*	14,8 ± 0,96*
Общие Ig, мг/мл	19,9 ± 0,88	20,9 ± 0,91	23,5 ± 1,14*
ЦИК 3,0 % мг/мл	0,28 ± 0,02	0,07 ± 0,01*	0,08 ± 0,01*
ЦИК 7,0 % мг/мл	0,29 ± 0,021	0,17 ± 0,02*	0,15 ± 0,01*
С7/С3	1,07 ± 0,021	2,49 ± 0,20*	1,81 ± 0,11*+
ФАН, %	77,8 ± 0,93	75,2 ± 1,49	78,0 ± 1,41
ФИ	5,28 ± 0,22	5,01 ± 0,02	5,46 ± 0,02
ФЧ	4,28 ± 0,22	3,91 ± 0,20	4,12 ± 0,02
сп-НСТ, %	18,4 ± 0,84	18,4 ± 0,75	16,0 ± 0,98
ст-НСТ, %	36,3 ± 1,20	36,8 ± 0,87	39,6 ± 0,96
ПР	2,15 ± 0,11	2,11 ± 0,08	2,58 ± 0,28

* $p < 0,05$—0,001 — к отношению к предыдущему периоду
\+ $p < 0,05$—0,001 — по отношению к контролю

В то время как стимулированный НСТ-тест, рассматриваемый как критерий готовности нейтрофилов к завершенному фагоцитозу, у них превышал контрольный показатель на 7,6 %, также как и показатель резерва клеток на 22,3 %, что свидетельствует о повышении активности клеточного звена неспецифической резистентности.

В период адаптации к новым условиям у подопытных животных произошли изменения и в клеточном иммунитете. У поросят контрольной и опытной групп увеличилось содержание лейкоцитов на 20,0 и 24,7 %, незначительно превышая (на 3,9 %) в опыте (табл. 2).

Относительное количество лимфоцитов у животных обеих групп снизилось по сравнению с фоном на 10,6 % ($p < 0,001$) и 6,7 % ($p < 0,01$) и было выше у поросят опытной группы на 4,4 %. Абсолютное их содержание повысилось на 7,2 % ($p < 0,02$) и 16,3 % ($p < 0,001$) соответственно и превышало у животных опытной группы контроль на 8,5 %, что свидетельствовало о повышении клеточной защиты

У поросят контрольной группы уменьшилось относительное содержание Т-лимфоцитов на 8,4 %, а у животных опытной группы увеличилось абсолютное их количество на 19,1 % ($p < 0,05$), превысив контрольные показатели на 11,8 % ($p < 0,002$) и 21,4 % ($p < 0,001$), что указывало на более выраженную активацию клеточного иммунитета.

При определении субпопуляций Т-лимфоцитов установлено, что относительное количество теофиллинчувствительных Т-клеток, обладающих супрессивной активностью, у подопытных животных претерпели незначительные изменения.

Содержание теофиллинрезистентных Т-лимфоцитов, обеспечивающих формирование гуморального и клеточного иммунитета и активацию макрофагов, у поросят опытной группы превышало аналогичный показатель животных контрольной группы на 12,0 % ($p < 0,05$), значение которых по сравнению с фоном снизилось в контроле на 11,5 %.

При уменьшении иммунорегуляторного индекса (Ттфр/Ттфч) у подопытных животных на 12,6

и 6,8 % его значение у поросят опытной группы превышало аналогичный показатель поросят контрольной группы на 6,7 %.

Относительное и абсолютное количество В-лимфоцитов, играющих важную роль в реализации гуморального иммунного ответа и выработке специфических антител, у животных контрольной группы снизилось на 17,4 % $p < 0,05$) и 11,2 %, в опытной — соответственно уменьшилось на 6,5 % и повысилось на 9,0 %, при этом их значения у поросят опытной группы были выше, чем в контроле на 13,2 % ($p < 0,05$) и 22,7 % ($p < 0,01$).

Таблица 2

Показатели клеточного иммунитета у поросят

Показатели	Возраст (дни), группы		
	26	43	43
	фон	контрольная	опытная
Лейкоциты, 10^9/л	15,0 ± 1,46	18,0 ± 1,74	18,7 ± 1,710
Лимфоциты, %	56,4 ± 0,69	50,4 ± 0,97*	52,6 ± 0,87*
Лимфоциты, 10^9/л	8,46 ± 0,10	9,07 ± 0,17*	9,84 ± 0,16*
Т-лимфоциты, %	50,0 ± 2,92	45,8 ± 0,74	51,2 ± 0,87+
Т-лимфоциты, 10^9/л	4,23 ± 0,24	4,15 ± 0,07	5,04 ± 0,08+
Ттфч%	17,0 ± 1,54	16,6 ± 1,03	17,2 ± 0,70
Ттфр%	33,0 ± 1,38	29,2 ± 0,96	32,7 ± 0,67+
Ттфр/Ттфч	2,06 ± 0,24	1,80 ± 0,19	1,92 ± 0,11
В-лимфоциты, %	27,6 ± 1,70	22,8 ± 0,66*	25,8 ± 0,93+
В-лимфоциты, 10^9/л	2,33 ± 0,14	2,07 ± 0,06	2,54 ± 0,09+

* $p < 0,05$—0,001 — к отношению к предыдущему периоду
\+ $p < 0,05$—0,001 — по отношению к контролю

Ранее проведенными исследованиями установлена важная роль пробиотиков в регуляции как врожденной, так и адаптивной иммунной системы, проявляющаяся активацией макрофагов, NK-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов, стимуляцией toll-подобных рецепторов и модификацией профиля экспрессии цитокинов [15—17].

При изучении системы цитокинов, играющих важнейшую роль в обеспечении согласованного действия основных гомеостатических систем [9], у поросят обеих групп отмечено снижение уровня провоспалительного медиатора IL-1β более выраженное (на 12,0 %) в опытной группе и было меньше контроля на 8,5 %.

У животных обеих групп аналогичные изменение установлены в содержании TNFα -α и IL-2 которое снизилось на 10,0 % ($p < 0,0001$) и 20,5 % ($p < 0,0001$) и 10,4 и 14,3 % соответственно. Концентрация IFN-γ не претерпела изменений и не имела значимых различий между группами при этом уровень TNFα-α и IL-2 у поросят опытной группы был ниже на 11,7 и 4,4 % аналогичных показателей животных контрольной группы (табл. 3).

Количество IL-10, являющегося антагонистом провоспалительных цитокинов и индуцирующего гуморальный иммунитет, у поросят опытной группы увеличилось на 7,2 % и превышало контрольный показатель на 5,6 %.

Аналогичные результаты получены в опытах in vitro при изучении иммунорегуляторных свойств штаммов *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp*., выделенных из бактериальных культур при исследовании микробиоты толстого кишечника которые отличались преимущественным увеличением продукции IL-10 и снижением TNFα, IL-17 и IL-2 [18].

Таблица 3

Цитокиновый профиль у поросят

Цитокины, пг/мл	Возраст (дни), группы		
	26	43	43
	фон	контрольная	опытная
IL-1β	3,91 ± 0,075	3,76 ± 0,055	3,44 ± 0,063*+
IL-2	2,80 ± 0,093	2,51 ± 0,077	2,40 ± 0,021
IL-4	1,54 ± 0,003	1,63 ± 0,101	1,69 ± 0,057
IL-10	3,19 ± 0,127	3,24 ± 0,081	3,42 ± 0,0,057
TNFα -α	5,61 ± 0,08	5,05 ± 0,019*	4,46 ± 0,077*+
IFN-γ	11,7 ± 0,148	12,2 ± 0,194	12,0 ± 0,096
ОЦИ	5,1	4,75	4,44
ЦИ (ThI/ThII)	4,2	3,94	3,24

* $p < 0,05$—0,001 — к отношению к предыдущему периоду
\+ $p < 0,05$—0,001 — по отношению к контролю

В то же время при экспериментальном исследовании влияния пробиотиков на продукцию цитокинов установлена выраженная экспрессия генов, кодирующих IL-10 в клетках мезентериальных узлов крыс, получавших энтерококки [19].

При повышении количества IL-4 у животных обеих групп на 5,8 и 9,7 %, его значение у опытных поросят несколько (на 3,7 %) превышало контрольный показатель.

При этом у поросят обеих групп снизились общий цитокиновый индекс на 6,9 и 12,9 % и индекс соотношений ThI/ThII на 6,2 и 22,6 % соответственно и у животных опытной группы были ниже на 6,5 и 17,8 % значений контроля, что свидетельствует о более выраженной гуморальной защите. Клиническими исследованиями установлено, что в первую неделю после перевода на доращивание заболеваемость поросят желудочно-кишечными болезнями в контрольной группе составила 7,8 %, а в опытной была в 2,5 раза ниже (3,1 %).

При продолжительности лечения больных животных обеих групп с использованием антимикробного препарата лексофлона, внутрь в дозе 0,5 мл/20 кг массы тела один раз в сутки, равной соответственно 5 и 4 дней, количество выздоровевших поросят составило 76,0 и 80,0 % при летальности 24,0 и 20,0 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенными исследованиями установлено, что применение поросятам пробиотика «Пентапрол» при технологическом стрессе сопровождается повышением неспецифической гуморальной и клеточной защиты и адаптивного иммунитета. Уровень цитокинового профиля характеризовался снижением содержания провоспалительных цитокинов IL-1β, TNFα-α, IL-2 и индекса общего соотношения про- и противовоспалительных цитокинов и показателя ThI/ThII при увеличении концентрации противовоспалительных медиаторов IL-4 и IL-10, что свидетельствует о более выраженной гуморальной защите и способствует снижению заболеваемости их желудочно-кишечными болезнями и увеличению сохранности.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Гордеев В. В.* Интенсивные технологии в животноводстве и обеспечение экологических требований /В.В. Гордеев, Т. И. Гордеева // Техника и технологии в животноводстве. — 2013. — № 4 (12). — С. 159—163.

2. *Плаксин И. Е.* Перспективные направления развития технико-технологических решений для свиноводческих всех категорий / И. Е. Плаксин, А. В. Трифанов // Агро Экоинженерия. —2019. —№ 1(98). — С. 168—179.

3. *Шахов А. Г.* Особенности гуморального и клеточного иммунитета у поросят при технологическом стрес-

се /А.Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, Ю. Ю. Владимирова, М. И. Адодина, К. В. Тараканова // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2020. — № 2 (11). — С. 143—149. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.2.143

4. *Крячко О. В.* Влияние технологического стресса на иммунологическую реактивность поросят / О. В. Крячко, А. О. Будник //Международный вестник ветеринарии. — 2020. — № 2. — С. 155—161.

5. *Шахов А. Г.* Влияние технологического стресса на состояние клеточного иммунитета и цитокиновый профILь у поросят / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, М. И. Адодина, Ю. Ю. Владимирова, К. В. Тараканова // Вопросы нормативно-правового регулирования. — 2020. № 3. — С. 197—202.

6. *Шахов А. Г.* Иммуномодулирующая профILактика послеродовых болезней у свиноматок и влияние ее на иммунный и клинический статус поросят /А.Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, П. Оконевски, М. Ю. Жейнес, В. В. Владимирова, К. В. Тараканова //Ветеринарный фармакологический вестник. — 2020. — № 3 (12). — С. 207—222. DOI: 10.17238 /issn2541-8203.2020.3.207

7. *Петрянкин Ф. П.* Иммунотропные препараты для лечения и профILактики болезней животных / Ф. П. Петрянкин // Ветеринарная патология. — 2009. — № 2 (29). — С. 98—105.

8. *Семенов В. Г.* Активизация адаптогенеза и стимуляция роста поросят-отъемышей иммунопрофILактикой транспортного стресса / В. Г. Семенов, А. В. Успешный, Л. П. Гладких и др. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. — 2021. — Т. 246, № 2. — С. 197—201.

9. *Крапивина Е. В.* Иммунный статус телят под влиянием пробиотика провагена / Д. В. Иванов, А. И. Феськов, Ю. Н. Федоров, А. И. Албулов, О. В. Буханцев, О. А. Богомолова // Сельскохозяйственная биология. — 2012. — № 4. — С. 78—82.

10. *Николаева О. Н.* Иммуномодулирующий потенциал пробиотиков / О. Н. Николаева // Ветеринарный врач. — 2023. — № 3. — С. 44—54.

11. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Масьянов, М. И. Рецкий и др. — Воронеж: Истоки, 2005. — 115 с.

12. *Кожахметова Д. К.* Цитокиновый профиль как критерий эффективности терапии больных хроническим декомпенсированным бруцеллезом / Д. К. Кожахметова, С. Б. Маукаева, А. Г. Куанышева, Н. К. Кудайбергенова, К. Н. Тусупова, Г. И. Нуралинова // Современная медицина: актуальные вопросы. — 2014. — № 30. — С. 62—69.

13. *Бельтюков П. П.* Исследование влияния пробиотических эшерихий и энтерококков на иммунную систему здоровых крыс / П. П. Бельтюков, И. Н. Абдурасулова, Е. А. Тарасовой и др.// Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова. —2009. — Вып. 16, № 2. — С. 54—58.

14. *Olivares M.*, *Diaz-Ropero M. P.*, *Gomez N.* et al. The consumption of two new probiotic strains, Lactobacillus gasseri CECT 5714 and Lactobacillus coryniformis CECT 5711, boosts the immune system of healthy humans // Int. Microbiol. — 2006. — P. 47—52.

15. *Vandenplas Y.* Probiotics: an update / Y. Vandenplas, G. Huys, G. J. Daube // Pediatr (Rio J). — 2015. — N9. — P. 16—21.

16. *de Kivit S.* Regulation of intestinal immune responses through TLR activation: implications for pro- and prebiotics / S. de Kivit, MC. Tobin, CB. Forsyth, A. Keshavarzian, AL. Landay //Front Immunol. — 2014 -N5. — P. 60.

17. Amara AA. Role of probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management/ AA. Amara, A. Shibl // Saudi *Pharm J.* — 2015 -N23. — P. 107—14

18. *Бухарин О. В.* Сравнительная характеристика цитокинового профиля, индуцируемого супернатантами производственных и кишечных штаммов бифидо- и лактобактерий в условиях in vitro / О. В. Бухарин, Е. В. Иванова, И. Н. Чайникова, Н. Б. Перунова, Т. А. Бондаренко, А. В. Бекпергенова// Медицинская иммунология. — https://doi.org/10.15789/1563-0625-CCO-3015

19. *Eeckhaut V.* Butyricicoccus pullicaecorum in inflammatory bowel disease/ V. Eeckhaut, K. Machiels, C. Perrier, C. Romero, S. Maes, B. Flahou, M. Steppe, F. Haesebrouck, B. Sas, R. Ducatelle, S. Vermeire, F. Van Immerseel // Gut, 2013. — Vol. 62- N. 12. — P. 1745—1752.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. Г. Шахов — член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник;
Л. Ю. Сашнина — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;
В. Н. Коцарев — доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник;
И. В. Волкова — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник;
В. Ю. Боев — ветеринарный врач;
С. Н. Фурчаков — старший лаборант.

Статья поступила в редакцию 02.07.2025.

Original article
UDC 619:[612.017:615.03:591.51]:636.4

INCREASING THE IMMUNE STATUS OF PIGLETS WITH THE PROBIOTIC "PENTAPROL" UNDER TECHNOLOGICAL STRESS CAUSED BY WEANING AND TRANSFER TO REARING

Aleksey Gavrilovich Shakhov[*]✉, Larisa Yuryevna Sashnina[*], Vladimir Nikolaevich Kotsarev[*], Irina Vladimirovna Volkova[*], Vyacheslav Yuryevich Boev[**], Sergey Nikolaevich Furchakov[*]

[*]All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, vnivipat@mail.ru✉
[**]Vishnevskoye, Verkhne-Khavskiy r., Voronezh region, Russia

Abstract. The effect of the probiotic "Pentaprol" on the immune status of piglets under technological stress caused by weaning from sows and transfer to rearing was studied at an industrial pig breeding complex. The drug was administered to piglets for 14 days after exposure to technological stress. It had been found that the use of "Pentaprol" by animals was accompanied by an increase in non-specific humoral and cellular protection and specific cellular immunity, compared to the control that were not administered the probiotic, a decrease in the content of pro-inflammatory cytokines with an increase in the level of anti-inflammatory mediators, which had a positive effect on the clinical condition of the animals and contributed to a decrease in their morbidity and an increase in livability.

Keywords: piglets, technological stress, probiotic "Pentaprol", immune status

Intensive technologies at industrial pig breeding farms include early weaning of piglets from sows, their regrouping associated with transfer to rearing and fattening, changes in feeding and keeping conditions, large concentrations of animals in limited production areas [1, 2], which have an immunosuppressive effect on the body, manifested by the suppression of cellular and humoral immunity [3—5].

To improve the immune status of piglets during critical periods of rearing, accompanied by stress, adaptogens, stress correctors, vitamins, drugs based on nucleic acids and interferons with immunomodulatory properties are recommended [6—8].

The immunoregulatory effect on the immune system of animals has also been established for probiotics [9, 10].

The probiotic feed additive "Pentaprol", designed by Biona LLC, is for stabilizing the intestinal microflora, increasing the productivity and livability of pigs and poultry.

The research objective is to study the effect of the probiotic "Pentaprol" on the immune status of piglets under technological stress caused by weaning and transfer to rearing.

MATERIAL AND METHODS

The studies were conducted at an industrial pig breeding complex on 2 groups of piglets (experimental, $n = 320$, and control, $n = 320$) obtained from crossbred sows (Large White-Landrace + Duroc), which were weaned at the age of 28 days and transferred to rearing. The experiment was carried out in accordance with the requirements of current international and Russian legislation (Directive 2010/63/EU dtd. 22.09.2010, European Convention (ETS123)) (Strasburg, 1986), as well as the requirements of the Bioethics Commission of ARVRIPP&T (protocol No. 1-02/24 dtd. 1.02.2024).

The animals were kept under optimal microclimate parameters taking into account their physiological condition. During the rearing period, the piglets were fed with compound feeds SK-3 and SK-4, balanced in energy, protein, amino acids, vitamins, macro- and microelements. The animals of the experimental group, after transfer to rearing with drinking water through a medicator, were prescribed the probiotic "Pentaprol" daily at 3 ml for 14 days. The piglets of the control group were not administered the drug.

The probiotic "Pentaprol" contains biologically active metabolites, live vegetative cells and spores:

Lactobacillus acidophilus and *Lactobacillus plantarum* — $1 \cdot 10^8$ CFU/ml, *Lactococcus lactis subsp. lactis* and *Enterococcus faecium* — $1 \cdot 10^8$ CFU/ml, *Bifidobacterium pullorum* — at least $5 \cdot 10^7$ CFU/ml.

The animals were observed for 15 days, morbidity and mortality were recorded. Blood samples were taken from the piglets ($n = 5$) of the control and experimental groups before transfer to rearing and 47 days later for immunological studies, which were carried out in accordance with the Methodological Recommendations for the Assessment and Correction of the Immune Status of Animals [11]. The levels of cytokines (interleukin-1β (IL-1β), interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor-α (TNFα), interferon-γ (IFN-γ)) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with subsequent recording of the results on a Uniplan-TM spectrophotometer in accordance with the approved instructions for diagnostic kits. To assess the balance of pro- and anti-inflammatory mediators, the following indices were calculated: the total ratio of pro- and anti-inflammatory cytokines (TrPC) and mediators produced by Th-I and Th-II cells (CI Th-1/Th-2) [12]. Morphological blood analysis was performed on the hematological analyzer ABX Micros 60.

Statistical processing of the obtained results was performed using the Statistica software package, version 6.0.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

Under the effect of technological stress, non-specific humoral protection increased in the piglets of the control and experimental groups: serum lysozyme and complementary activity — by 86.7 and 93.3 %, by 2.1 ($p < 0.01$) and 2.4 times ($p < 0.001$), while their values in the animals of the experimental group exceeded the control indicators by 3.6 and 10.4 % (Table 1).

In previously conducted experimental studies of the effect of probiotic drugs on the immune system of rats, an increase in the protein activation of complement system was also noted [13]. The content of total immunoglobulins in the animals of both groups increased by 5.0 and 18.1 % ($p < 0.05$), and it was higher than 12.4 % in the piglets of the experimental group.

Table 1

Indicators of humoral and cellular links of non-specific immunity in piglets

Indicators	Age (days), groups		
	26	43	43
	baseline	control	experimental
SLA, μg/ml	1.35 ± 0.96	2.52 ± 0.17	2.61 ± 0.19
SCA, % hem.	6.29 ± 0.30	13.4 ± 1.68*	14.8 ± 0.96*
Total Ig, mg/ml	19.9 ± 0.88	20.9 ± 0.91	23.5 ± 1.14*
CIC3.0 % mg/ml	0.28 ± 0.02	0.07 ± 0.01*	0.08 ± 0.01*
CIC7.0 % mg/ml	0.29 ± 0.021	0.17 ± 0.02*	0.15 ± 0.01*
C7/C3	1.07 ± 0.021	2.49 ± 0.20*	1.81 ± 0.11*+
PAN, %	77.8 ± 0.93	75.2 ± 1.49	78.0 ± 1.41
PhI	5.28 ± 0.22	5.01 ± 0.02	5.46 ± 0.02
PhN	4.28 ± 0.22	3.91 ± 0.20	4.12 ± 0.02
spNBT, %	18.4 ± 0.84	18.4 ± 0.75	16.0 ± 0.98
stNBT, %	36.3 ± 1.20	36.8 ± 0.87	39.6 ± 0.96
RI	2.15 ± 0.11	2.11 ± 0.08	2.58 ± 0.28

* $p < 0.05$—0.001 — relative to the previous period
\+ $p < 0.05$—0.001 — relative to the control

The level of circulating immune complexes, which are an antigen-antibody complex and are a marker of the immune response, in the piglets of the control and experimental groups decreased, including large (3.0 %) — by 4 ($p < 0.001$) and 3.5 times ($p < 0.001$), fine (7.0 %) — by 41.4 % ($p < 0.01$) and 48.3 % ($p < 0.001$), but their pathogenicity (C7/C3) increased by 2.3 ($p < 0.001$) and 1.7 times ($p < 0.001$) (Table 1).

Moreover, in the animals of the experimental group, the content of large CIC was by 14.3 % higher than in the control, and the content of finely dispersed CIC and their pathogenicity was by 11.8 and 27.3 % lower ($p < 0.02$), which indicated a more pronounced humoral protection.

The cellular link of non-specific protection also underwent changes under the effect of technological stress. Thus, the number of active phagocytic neutrophils, their absorption capacity: PhI and PhN in the piglets of the control group tended to decrease by 3.3, 5.1 and 8.6 %, and in the experimental group — PAN did not change, PhI increased by 3.4 % and PhN decreased by 3.7 % (Table 1).

At the same time, the values of PAN, PhI, PhN in the animals receiving "Pentaprol" exceeded the control indicators by 3.7, 9.0 and 5.4 %, respectively, which was due to the activity of the components of the complement system, enhancing the absorption capacity of phagocytes.

This is consistent with the studies in various biological systems, which have shown that lactobacilli and bifidobacteria can activate phagocytosis [14].

When studying the metabolic (functional) activity of neutrophils, it had been found that the spontaneous NBT test, reflecting the state of the oxygen-dependent mechanism of bactericidal activity of blood phagocytes in vitro, did not change in the animals of the control group, but in the experimental group, it decreased by 13.0 % and was lower than the control by 13.8 %.

While the stimulated NBT test, considered as a criterion of neutrophil readiness for complete phagocytosis, exceeded the control value by 7.6 %, as well as the cell reserve value by 22.3 %, which indicated an increase in the activity of the cellular link of non-specific resistance.

During the period of adaptation to new conditions, changes in cellular immunity also occurred in the experimental animals. In the piglets of the control and experimental groups, the leukocyte content increased by 20.0 and 24.7 %, slightly exceeding (by 3.9 %) the experiment (Table 2).

Table 2

Indicators of cellular immunity in piglets

Indicators	Age (days), groups		
	26	43	43
	baseline	control	experimental
Leukocytes, 10^9/L	15.0 ± 1.46	18.0 ± 1.74	18.7 ± 1.710
Lymphocytes, %	56.4 ± 0.69	50.4 ± 0.97*	52.6 ± 0.87*
Lymphocytes, 10^9/L	8.46 ± 0.10	9.07 ± 0.17*	9.84 ± 0.16*
T-lymphocytes, %	50.0 ± 2.92	45.8 ± 0.74	51.2 ± 0.87+
T-lymphocytes, 10^9/L	4.23 ± 0.24	4.15 ± 0.07	5.04 ± 0.08+
Ttps%	17.0 ± 1.54	16.6 ± 1.03	17.2 ± 0.70
Ttpr%	33.0 ± 1.38	29.2 ± 0.96	32.7 ± 0.67+
Ttpr/Ttps	2.06 ± 0.24	1.80 ± 0.19	1.92 ± 0.11
B-lymphocytes, %	27.6 ± 1.70	22.8 ± 0.66*	25.8 ± 0.93+
B-lymphocytes, 10^9/L	2.33 ± 0.14	2.07 ± 0.06	2.54 ± 0.09+

* $p < 0.05$—0.001 — relative to the previous period
\+ $p < 0.05$—0.001 — relative to the control

The relative number of lymphocytes in the animals of both groups decreased by 10.6 % ($p < 0.001$) and 6.7 % ($p < 0.01$), compared to the baseline, and was higher in the piglets of the experimental group by 4.4 %. Their absolute content increased by 7.2 % ($p < 0.02$) and 16.3 % ($p < 0.001$), respectively, and exceeded the control in the animals of the experimental group by 8.5 %, indicating an increase in cellular protection. In the piglets of the control group, the relative content of T-lymphocytes decreased by 8.4 %, and in the animals of the experimental group, their absolute number increased by 19.1 % ($p < 0.05$), exceeding the control values by 11.8 % ($p < 0.002$) and 21.4 % ($p < 0.001$), indicating a more pronounced activation of cellular immunity.

When determining the subpopulations of T-lymphocytes, it was found that the relative number of theophylline-sensitive T-cells with suppressive activity in the experimental animals underwent minor changes.

The content of theophylline-resistant T-lymphocytes, which ensure the formation of humoral and cellular immunity and the activation of macrophages, in the piglets of the experimental group, exceeded the similar indicator of the animals of the control group by 12.0 % ($p < 0.05$), the value of which decreased in the control by 11.5 %, compared with the baseline.

With a decrease in the immunoregulatory index (Ttpr/Ttps) in the experimental animals by 12.6 and 6.8 %, its value in the piglets of the experimental group exceeded the same indicator in the piglets of the control group by 6.7 %.

The relative and absolute number of B-lymphocytes, which play an important role in the implementation of the humoral immune response and the production of specific antibodies, decreased by 17.4 % ($p < 0.05$) and 11.2 % in the animals of the control group, in the experimental group — it decreased by 6.5 % and increased by 9.0 %, respectively, while their values in the piglets of the experimental group were higher than in the control by 13.2 % ($p < 0.05$) and 22.7 % ($p < 0.01$).

Previous studies have established the important role of probiotics in the regulation of both the innate and adaptive immune systems, manifested by the activation of macrophages, NK cells and cytotoxic T-lymphocytes, stimulation of toll-like receptors and modification of the cytokine expression profile [15—17].

When studying the cytokine system, which plays a critical role in ensuring the coordinated action of the main homeostatic systems [9], the piglets of both groups showed a decrease in the level of the proinflammatory mediator IL-1β, which was more pronounced (by 12.0 %) in the experimental group and was less than the control by 8.5 %.

In the animals of both groups, similar changes were found in the content of TNFα and IL-2, which decreased by 10.0 % ($p < 0.0001$) and 20.5 % ($p < 0.0001$), and by 10.4 and 14.3 %, respectively. The concentration of IFN-γ did not change and did not have significant differences between the groups, while the level of TNFα and IL-2 in the piglets of the experimental group was lower by 11.7 and 4.4 % of similar indicators in the animals of the control group (Table 3).

Table 3

Cytokine profile in piglets

Cytokines, pg/ml	Age (days), groups		
	26	43	43
	baseline	control	experimental
1	2	3	4
IL-1β	3.91 ± 0.075	3.76 ± 0.055	3.44 ± 0.063*+
IL-2	2.80 ± 0.093	2.51 ± 0.077	2.40 ± 0.021
IL-4	1.54 ± 0.003	1.63 ± 0.101	1.69 ± 0.057
IL-10	3.19 ± 0.127	3.24 ± 0.081	3.42 ± 0.057
TNFα	5.61 ± 0.08	5.05 ± 0.019*	4.46 ± 0.077*+
IFN-γ	11.7 ± 0.148	12.2 ± 0.194	12.0 ± 0.096

Table 3 (the end)

1	2	3	4
TrPC	5.1	4.75	4.44
CP (ThI/ThII)	4.2	3.94	3.24

* $p < 0.05$—0.001 — relative to the previous period
\+ $p < 0.05$—0.001 — relative to the control

The amount of IL-10, which is an antagonist of proinflammatory cytokines and induces humoral immunity, increased by 7.2 % in the piglets of the experimental group and exceeded the control indicator by 5.6 %.

Similar results were obtained in in vitro experiments when studying the immunoregulatory properties of *Lactobacillus spp.* and *Bifidobacterium spp.* strains isolated from bacterial cultures during the study of the microbiota of the large intestine, which were characterized by a predominant increase in IL-10 production and a decrease in TNFα, IL-17 and IL-2 [18].

At the same time, in an experimental study of the effect of probiotics on cytokine production, a pronounced expression of genes encoding IL-10 was established in the cells of the mesenteric nodes of rats receiving enterococci [19].

With an increase in the amount of IL-4 in the animals of both groups by 5.8 and 9.7 %, its value in the experimental piglets was slightly (by 3.7 %) higher than the control value.

In this case, the total cytokine index of the piglets of both groups decreased by 6.9 and 12.9 %, and the ThI/ThII ratio index — by 6.2 and 22.6 %, respectively, and they were by 6.5 and 17.8 % lower in the experimental group than the control values, indicating a more pronounced humoral protection.

Clinical studies have shown that in the first week after transfer to rearing, the incidence of gastrointestinal diseases in the piglets of the control group was 7.8 %, and in the experimental group it was by 2.5 times lower (3.1 %). With the duration of treatment of sick animals of both groups using the antimicrobial drug leksoflon, orally at a dose of 0.5 ml / 20 kg of body weight once a day, equal to 5 and 4 days, respectively, the number of recovered piglets was 76.0 and 80.0 % with a mortality of 24.0 and 20.0 %.

CONCLUSION

The conducted studies have established that the use of the probiotic "Pentaprol" in piglets under technological stress is accompanied by an increase in non-specific humoral and cellular protection and adaptive immunity. The level of the cytokine profile has been characterized by a decrease in the content of pro-inflammatory cytokines (IL-1β, TNFα, IL-2) and the index of the total ratio of pro- and anti-inflammatory cytokines and the ThI/ThII indicator with an increase in the concentration of anti-inflammatory mediators IL-4 and IL-10, which indicates a more pronounced humoral protection and helps to reduce the incidence of gastrointestinal diseases and increase livability.

REFERENCES

1. *Gordeev V. V.* Intensive technologies in animal husbandry and ensuring environmental requirements / V. V. Gordeev, T. I. Gordeeva // Tekhnika i tekhnologii v zhivotnovodstve (Equipment and technologies in animal husbandry). — 2013. — No. 4 (12). — P. 159—163.

2. *Plaksin I. E.* Promising directions for the development of technical and technological solutions for pig breeding of all categories / I. E. Plaksin, A. V. Trifanov // Agro Ekoinzheneriya (Agro Ecoengineering). —2019. — No. 1 (98). — P. 168—179.

3. *Shakhov A. G.* The peculiarities of humoral and cellular immunity in piglets under a technological stress / A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, Yu.Yu. Vladimirova, M. I. Adodina, K. V. Tarakanova // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2020. — No. 2 (11). — P. 143—149. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2020.2.143

4. *Kryachko O. V.* Effect of technological stress on the immunological reactivity of piglets / O. V. Kryachko, A. O. Budnik // Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii (International Bulletin of Veterinary Medicine). — 2020. — No. 2. — P. 155—161.

5. *Shakhov A. G.* Effect of technological stress on the state of cellular immunity and the cytokine profile in piglets / A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, M. I. Adodina, Yu. Yu. Vladimirova, K. V. Tarakanova // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya (Normative-legal regulatory issues). — 2020. No. 3. — P. 197—202.

6. *Shakhov A. G.* Immunomodulatory prevention of postpartum diseases in sows and its effect on the immune and clinical status of piglets / A. G. Shakhov, L. Yu. Sash-

nina, P. Okoniewski, M. Yu. Zheynes, V. V. Vladimirova, K. V. Tarakanova // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2020. — No. 3 (12). — P. 207—222. DOI: 10.17238 / issn2541-8203.2020.3.207

7. *Petryankin F. P.* Immunotropic drugs for the treatment and prevention of animal diseases / F. P. Petryankin // Veterinarnaya patologiya (Veterinary pathology). — 2009. — No. 2 (29). — P. 98—105.

8. *Semenov V. G.* Activation of adaptogenesis and stimulation of growth of weaned piglets by immunoprophylaxis of transport stress / V. G. Semenov, A. V. Uspeshnyy, L. P. Gladkikh et al. // Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N. E. Baumana (Transactions of Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman). — 2021. — V. 246, No. 2. — P. 197—201.

9. *Krapivina E. V.* Immune status of calves under the effect of the probiotic Provagen / D. V. Ivanov, A. I. Feskov, Yu.N. Fedorov, A. I. Albulov, O. V. Bukhantsev, O. A. Bogomolova // Selskokhozyaystvennaya biologiya (Agricultural biology). — 2012. — No. 4. — P. 78—82.

10. *Nikolaeva O. N.* Immunomodulatory potential of probiotics / O. N. Nikolaeva // Veterinarnyy vrach (Veterinarian). — 2023. — No. 3. — P. 44—54.

11. Methodical recommendations for assessing and correcting the immune status of animals / A. G. Shakhov, Yu. N. Masyanov, M. I. Retskiy et al. — Voronezh: Istoki, 2005. — 115 p.

12. *Kozhakhmetova D. K.,* Cytokine profile as a criterion for the efficacy of therapy in patients with chronic decompensated brucellosis / D. K. Kozhakhmetova, S. B. Maukaeva, A. G. Kuanysheva, N. K. Kudaybergenova, K. N. Tusupova, G. I. Nuralinova // Sovremennaya meditsina: aktualnye voprosy (Modern medicine: topical issues). — 2014. — No. 30. — P. 62—69.

13. *Beltyukov P. P.* Study of the effect of probiotic Escherichia and Enterococci on the immune system of healthy rats / P. P. Beltyukov, I. N. Abdurasulova, E. A. Tarasova et al. // Uchenye zapiski Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta imeni akademika I. P. Pavlova (Transactions of Pavlov First St. Petersburg state medical university). — 2009. — Issue. 16, No. 2. — P. 54—58.

14. *Olivares M., Diaz-Ropero M. P., Gomez N.* et al. The consumption of two new probiotic strains, Lactobacillus gasseri CECT 5714 and Lactobacillus coryniformis CECT 5711, boosts the immune system of healthy humans // Int. Microbiol. — 2006. — P. 47—52.

15. *Vandenplas Y.* Probiotics: an update / Y. Vandenplas, G. Huys, G. J. Daube // Pediatr (Rio J). — 2015. — N9. — P. 16—21.

16. *de Kivit S.* Regulation of intestinal immune responses through TLR activation: implications for pro- and prebiotics / S. de Kivit, MC. Tobin, CB. Forsyth, A. Keshavarzian, AL. Landay //Front Immunol. — 2014 -N5. — P. 60.

17. *Amara A. A.* Role of probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management/ AA. Amara, A. Shibl // Saudi *Pharm J.* — 2015 -N23. — P. 107—14

18. *Bukharin O. V.* Comparative characteristics of the cytokine profile induced by supernatants of industrial and intestinal strains of bifido- and lactobacilli in vitro / O. V. Bukharin, E. V. Ivanova, I. N. Chaynikova, N. B. Perunova, T. A. Bondarenko, A. V. Bekpergenova // Meditsinskaya immunologiya (Medical Immunology). — https://doi.org/10.15789/1563-0625-CCO-3015

19. *Eeckhaut V.* Butyricicoccus pullicaecorum in inflammatory bowel disease/ V. Eeckhaut, K. Machiels, C. Perrier, C. Romero, S. Maes, B. Flahou, M. Steppe, F. Haesebrouck, B. Sas, R. Ducatelle, S. Vermeire, F. Van Immerseel // Gut, 2013. — Vol. 62- N. 12. — P. 1745—1752.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. G. Shakhov — Corresponding Member of the RAS, Chief Scientific Associate;
L. Yu. Sashnina — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;
V. N. Kotsarev — Doctor of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate;
I. V. Volkova — Candidate of Biological Sciences, Senior Scientific Associate;
V. Yu. Boev — Veterinarian;
S. N. Furchakov — Senior Laboratory Assistant.

The article was submitted 02.07.2025.

Научная статья
УДК 619:616-053.2:66.155.194:636.2.082.35
DOI: 000

ФАРМАКОКОРРЕКЦИЯ АНЕМИИ У ТЕЛЯТ-ГИПОТРОФИКОВ ПРЕПАРАТОМ АМИНОСЕЛЕФЕРОН-Б

Дмитрий Александрович Саврасов

Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I, Воронеж, Россия, dmitrij-savrasov@yandex.ru

Аннотация. В статье рассмотрен опыт применения комплексного препарата аминоселеферон-Б при коморбидной анемии у телят-гипотрофиков. Опыты были проведены на телятах голштинской породы с рождения и до 30-дневного возраста. В первой серии опытов было сформировано две группы животных: клинически здоровые новорожденные телята и телята-гипотрофики с анемией. Во второй серии опытов телят с пренатальной гипотрофией и анемией распределили на две группы: контрольную и опытную. Для восстановления эритропоэза телятам-гипотрофикам с анемией опытной группы применяли препарат аминоселеферон-Б подкожно двукратно в 1 и 3 сутки жизни в дозе 0,1 мл на 1 кг массы тела. Телятам контрольной группы и нормотрофикам препараты не вводили. У животных брали кровь для гематологического анализа из яремной вены до первой выпойки молозива и через 30 дней после применения амиинноселеферона-Б. После применения аминоселеферона-Б в крови телят отмечали увеличение количества эритроцитов на 28,3 %, гемоглобина в 1,6 раза, гематокрита на 24,2 % и цветового показателя на 40,5 %, сывороточного железа в 1,6 раза, меди на 38,6 % и марганца на 18,5 %, что свидетельствует о восстановлении гемопоэза у телят-гипотрофиков.

Ключевые слова: телята, гематологические показатели, гипотрофия, анемия, аминоселеферон-Б

Болезни молодняка в настоящее время широко распространены в животноводстве. Среди них значительное место занимают патологии крови и наиболее распространенными являются анемии различного происхождения. Часто анемия у телят развивается в результате нарушения синтеза гемоглобина из-за дефицита железа. Заболевание сопровождается расстройством функции кроветворных органов, уменьшением образования эритроцитов, низким содержанием гемоглобина, нарушением процесса обмена веществ, ведущих к отставанию в росте и снижению резистентности организма [1—5, 6].

Помимо этого, развитию железодефицитной анемии способствуют морфофункциональная незрелость молодняка — гипотрофия, а также несбалансированный рацион, раннее вскармливание неадаптированными заменителями цельного молока, введение в рацион грубых кормов и т. п.

Потребление железа коровами во время беременности влияет на уровень железа у телят. Патологическое течение беременности (гестоз), сопровождающееся нарушением маточно-плацентарного кровотока и плацентарной недостаточностью, приводит к уменьшению поступления железа в организм плода. Значимость каждой из перечисленных причин меняется в зависимости от возрастного периода [2—5, 7].

После рождения источниками железа являются: экзогенное железо в составе корма и утилизированное железо из эндогенных запасов, которые быстро истощаются. В течение первых месяцев жизни молоко является единственным продуктом, который обеспечивает организм животных железом, причем железо из молока усваивается более эффективно.

Факторы, нарушающие всасывание железа: заболевания желудочно-кишечного тракта, кормовые и лекарственные вещества, недостаток эритропоэтина. Уменьшение содержания железа в сыворотке крови, костном мозге и тканевых депо приводит к снижению темпов синтеза и нарушению образования гемоглобина, развитию гипохромной анемии, и, следовательно, к трофическим расстройствам в тканях, замедленному развитию и нарушению координации, поведенческим отклонениям и снижению активности [1, 2, 8, 9].

По нашим наблюдениям, в условиях хозяйств промышленного животноводства диагностика анемии практически не проводится, хотя методы для постановки предварительного диагноза, в частности, анемии алиментарного происхождения не представляют трудностей: необходимо определить количество эритроцитов и гемоглобина в крови животных, а также проанализировать полноценность рациона кормления по основным питательным компонентам. При этом железодефицитная анемия диагностируется до 100 % у телят с гипотрофией различной степени [3—5, 10]. Таким образом, разработка диагностических алгоритмов и способов терапии новорождённых телят-гипотрофиков с анемией, как проявление коморбидной патологии, является перспективной задачей и имеет практическую и научную значимость.

Целью исследования было определение эффективности фармакокоррекции анемии у телят в условиях коморбидности с помощью комплексного препарата аминоселеферон-Б.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыты были проведены в ООО «ЭкоНиваАгро» Каменского района Воронежской области. Клинические исследования проведены на телятах голштинской породы с рождения и до 30-дневного возраста. В первой серии опытов было сформировано две группы животных: клинически здоровые новорожденные телята и телята-гипотрофики с анемией. Во второй серии опытов телят с пренатальной гипотрофией и анемией распределили на две группы: контрольную и опытную. Для восстановления эритропоэза телятам-гипотрофикам с анемией опытной группы применяли препарат аминоселеферон-Б подкожно двукратно в 1 и 3 сутки жизни в дозе 0,1 мл на 1 кг массы тела. Телятам контрольной группы и нормотрофикам препараты не вводили.

У животных брали кровь для гематологического анализа из яремной вены до первой выпойки молозива и через 30 дней после применения амииноселеферона-Б. Лабораторные исследования проводили на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии». В крови определяли содержание эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, среднего объема эритроцитов (MCV), средней концентрации гемоглобина в одном эритроците (MCHC), среднего содержания гемоглобина в одном эритроците (MCH) на гематологическом анализаторе «ABX Micros 60», общую железосвязывающую способность сыворотки (ОЖСС) — на спектрофотометре Shimadzu UV-1700. Количество ретикулоцитов в крови подсчитывали в камере Горяева по методу А. С. Хрусталёва. Диаметр эритроцитов оценивали с помощью окуляр-микрометрии (путем прямого измерения 100 клеток). Вычисление цветового показателя проводили по формуле [11]. В сыворотке крови определяли содержание железа, меди и марганца с помощью биохимического анализатора «Hitachi-902».

Статистическую обработку данных проводили с использованием методов математической статистики, принятых в биологии и медицине с использованием прикладной программы «Statistica 10».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При исследовании крови у телят-гипотрофиков с анемией наблюдали достоверное снижение количества эритроцитов на 23,4 %; гемоглобина на 40,9 %; гематокрита на 32,7 % (табл. 1). Также было отмечено уменьшение диаметра эритроцитов на 28,2 %, среднего содержания гемоглобина в одном эритроците (MCH) на 16,5 %, цветового показателя на 25,0 %, средней концентрации гемоглобина в одном эритроците (MCHC) на 19,7 %, среднего объёма эритроцитов (MCV) на 15,9, что свидетельствовало о гипохромной анемии. Количество ретикулоцитов в крови телят-гипотрофиков было ниже здоровых животных на 45,3 %. Исследование мазков крови показало наличие микроцитов у 21,8 % животных. Довольно часто встречался анизо- и пойкилоцитоз, в среднем было выявлено 17,3 % изменённых клеток.

При анемии в крови у телят-гипотрофиков фиксировали достоверно низкие концентрации железа на 32,5 %, меди на 24,4 %, марганца на 16,1 % по сравнению со здоровыми животными. Вследствие уменьшения уровня железа отмечено увеличение общей железосвязывающей способности сыворотки крови на 23,7 %.

Недостаток железа в организме обусловливает нарушение функционирования электронно-транспортной цепи митохондрий, а также кислородтранспортной функции крови. В результате развития гипоксии в тканях замедляется рост телят, снижается среднесуточный привес и резистентность к инфекциям [3, 8, 9].

Таким образом, предлагаем рассматривать анемию у физиологически незрелых телят как патогенетически связанные и взаимоотягощающие коморбидные патологии с гипотрофией.

Таблица 1

Гематоморфологические показатели клинически здоровых и телят-гипотрофиков с анемией

Показатели	Группы животных	
	Больные телята	Здоровые телята
Гемоглобин, г/л	84,29 ± 4,92*	142,63 ± 7,70
Эритроциты, 10^{12}/л	6,11 ± 0,19*	7,98 ± 0,18
Гематокрит, %	0,33 ± 0,02*	0,49 ± 0,03
Диаметр эритроцита, мкм	5,11 ± 0,77*	7,12 ± 0,27
MCH, пг	16,80 ± 1,39	20,12 ± 1,74
MCV, фл	49,10 ± 2,8*	58,39 ± 2,19
MCHC, г/л	27,73 ± 1,44*	34,54 ± 1,31
Ретикулоциты, %	0,98 ± 0,11*	1,79 ± 0,19
Железо, мкмоль/л	15,63 ± 2,87	23,15 ± 5,93
Медь, мкмоль/л	9,56 ± 2,33	12,65 ± 4,01
Марганец, мкмоль/л	7,70 ± 1,98	9,18 ± 1,43
ОЖСС, мкмоль/л	88,23 ± 17,97	71,33 ± 15,32

* $P < 0,05$ — по сравнению со здоровыми телятами

В связи с этим, в стандарты обследования новорождённых телят с перинатальной гипотрофией необходимо включать определение их гематологического статуса и с учётом полученных результатов проводить фармакокоррекцию.

В качестве средства, положительно влияющего на гемопоэз, телятам-гиипотрофикам с анемией подкожно двукратно в 1 и 3 сутки жизни применяли комплексный препарат аминоселеферон-Б в дозе 0,1 мл на кг массы тела.

Установлено, что у животных контрольной группы содержание эритроцитов было ниже, чем у нормотрофиков на 38,9 %, гемоглобина на 35,5 %, гематокрита на 13,3 % и цветового показателя на 21,4 %, а в сыворотке крови отмечали более низкие концентрации железа на 23,2 %, меди на 19,8 % и марганца на 27,3 % (табл. 2).

После применения аминоселеферона-Б в крови телят отмечали увеличение количества эритроцитов на 28,3 %, гемоглобина в 1,6 раза, гематокрита на 24,2 % и цветового показателя на 40,5 %. Также у животных опытной группы фиксировали рост концентрации сывороточного железа в 1,6 раза, меди на 38,6 % и марганца на 18,5 %.

Таким образом, у телят контрольной группы гематоморфологические показатели не достигали значений клинически здоровых животных, в то время как у телят-гипотрофиков после применения аминоселеферона-Б отмечали восстановление гемопоэза.

Телята-гипотрофики с анемией опытной группы к концу наблюдений достигали породно-возрастных параметров и были переведены в общую возрастную группу, тогда как животные контрольной группы отставали в росте и развитии. В конце эксперимента у телят, которым применяли аминоселеферон-Б, среднесуточный прирост составил 750 г, а масса тела была больше на 25,2 % по сравнению с контролем. У гипотрофиков, которым не проводили фармакокоррекцию, диагностировали бронхопневмонию и они были переведены в госпитальную группу для дальнейшего лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При диагностике и выборе схемы лечения анемии у телят с антенатальной гипотрофией после рождения следует учитывать наличие коморбидности.

Таблица 2

Влияние препарата аминоселеферон-Б на гематологические показатели у телят-гипотрофиков с анемией

Показатели	Группы животных		
	Опытная	Контрольная	Телята-нормотрофики
Эритроциты, 10^{12}/л	7,84 ± 0,98	5,02 ± 0,51	8,21 ± 0,87
Гемоглобин, г/л	135,78 ± 5,91	90,10 ± 11,0	139,65 ± 6,11
Гематокрит, %	0,41 ± 0,03	0,39 ± 0,29	0,45 ± 0,26
Цветовой показатель	0,97 ± 0,11	0,77 ± 0,12	0,98 ± 0,10
Железо, мкмоль/л	24,61 ± 1,98	19,88 ± 2,00	25,90 ± 1,77
Медь, мкмоль/л	13,25 ± 1,01	11,32 ± 1,25	14,11 ± 0,87
Марганец, мкмоль/л	9,13 ± 0,76	7,10 ± 0,69	9,77 ± 0,81
ОЖСС, мкмоль/л	75,98 ± 9,87	80,98 ± 8,77	71,73 ± 8,71

Применение комплексного препарата аминоселеферон-Б телятам с коморбидными патологиями (анемия, гипотрофия) подкожно двукратно в первый и третий день жизни в дозе 0,1 мл на 1 кг массы тела способствует увеличению в их крови количества эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, цветового показателя, в сыворотке крови — концентрации железа, меди и марганца до значений физиологически зрелых животных. Нормализация гематологических показателей у телят, которым назначали аминоселеферон-Б, сопровождалась улучшением состояния их здоровья и физического развития.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Завалишина С. Ю.* Сосудистый гемостаз у новорожденных телят при железодефицитной анемии / С. Ю. Завалишина // Ветеринария. — 2012. — № 5. — С. 43—45.

2. *Карелин А. И.* Алиментарная железодефицитная анемия сельскохозяйственных животных: методические указания / А. И. Карелин, В. С. Буяров // Издательство: Московская ветеринарная академия. — Москва, 1993. — 54 с.

3. *Карашаев М. Ф.* Распространение анемии у телят / М. Ф. Карашаев // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. — 2007. — № 1. — С. 89—90.

4. *Ковалев С. П.* Анемия новорожденных телят: этиология, патогенез, диагностика и профилактика: автореф. дис. … доктора ветеринарных наук: 16.00.01 / С. П. Ковалев. — Санкт-Петербург, 1999. — 37 с.

5. *Макринова Н. Ю.* Клинико-лабораторная диагностика и лечебная эффективность гемофера и суиферровита при гипохромной микроцитарной анемии у телят: автореф. дис. … канд. вет. наук: 16.00.01 / Н. Ю. Макринова. — Белгород, 2003. — 21 с.

6. *Скачков Д. В.* Сравнительная характеристика показателей крови телят здоровых и с признаками анемии / Д. В. Скачков // Омский научный вестник. — 2010. — № 1 (94). — С. 186—188.

7. Методическое пособие по диагностике и профилактике нарушений антенатального и интранатального происхождения у телят / А. Г. Шахов, Ю. Н. Алехин, С. В. Шабунин [и др.]. — Воронеж: Издательство Истоки, 2013. — 92 с. — ISBN978—5—88242—990—3.

8. *Абрамов С. С.* Латентная железодефицитная анемия у телят / С. С. Абрамов, С. В. Засинец // Ветеринария. — 2004. — № 6. — С. 43—45.

9. Дефицит железа и железодефицитная анемия у детей первого года жизни / Р. А. Жетишев, Д. Р. Архестова, И. С. Жетишева, Е. А. Камышова // Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. — 2014. — Т. 93. — № 1. — С. 89—94.

10. *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.

11. *Кондрахин И. П.* Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / И. П. Кондрахин. — М.: КолосС, 2004. — 520 с.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

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

Статья поступила в редакцию 09.07.2025.

Original article
UDC 619:616-053.2:66.155.194:636.2.082.35

PHARMACOCORRECTION OF ANEMIA IN HYPOTROPHIC CALVES WITH AMINOSELEFERON-B

Dmitriy Aleksandrovich Savrasov

Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Voronezh, Russia, dmitrij-savrasov@yandex.ru

Abstract. The article describes the experience of using the complex drug aminoseleferon-B for comorbid anemia in hypotrophic calves. The experiments were conducted on Holstein calves from birth to 30 days of age. In the first series of experiments, two groups of animals were formed: clinically healthy newborn calves and hypotrophic calves with anemia. In the second series of experiments, the calves with prenatal hypotrophy and anemia were divided into two groups: control and experimental. To restore erythropoiesis, the hypotrophic calves with anemia of the experimental group were administered aminoseleferon-B subcutaneously twice on the 1st and 3rd days of life at a dose of 0.1 ml per 1 kg of body weight. The calves of the control group and normotrophic calves were not administered the drugs. Blood was taken from the jugular vein of animals for hematological analysis before the first colostrum feeding and 30 days after the use of aminoseleferon-B. After the use of aminoseleferon-B, the following was noted in the blood of calves: an increase in the number of erythrocytes by 28.3 %, hemoglobin — by 1.6 times, hematocrit — by 24.2 % and color index — by 40.5 %, serum iron — by 1.6 times, copper — by 38.6 % and manganese — by 18.5 %, which indicated the restoration of hematopoiesis in hypotrophic calves.
Keywords: calves, hematological indicators, hypotrophy, anemia, aminoseleferon-B

Diseases of young animals are currently widespread in animal husbandry. Among them, blood pathologies occupy a significant place, and the most common are anemias of various origins. Anemia in calves often develops as a result of a violation of hemoglobin synthesis due to iron deficiency. The disease is accompanied by a disorder of the function of the hematopoietic organs, a decrease in the formation of erythrocytes, low hemoglobin content, a violation of the metabolic process, leading to growth restriction and a decrease in the body's resistance [1—5, 6]. In addition, the development of iron deficiency anemia is facilitated by the morphofunctional immaturity of young animals — hypotrophy, as well as an unbalanced diet, early feeding with unadapted whole milk substitutes, the introduction of roughage into the diet, etc.

Iron consumption by cows during pregnancy affects the iron level in calves. Pathological pregnancy (gestosis), accompanied by disruption of uteroplacental blood flow and placental insufficiency, leads to a decrease in iron intake by the fetus. The significance of each of the listed reasons changes depending on the age period [2—5, 7].

After birth, the sources of iron are exogenous iron in the feed and utilized iron from endogenous reserves, which are quickly depleted. During the first months of life, milk is the only product that provides the animal's body with iron, and iron from milk is absorbed more effectively.

The factors that disrupt iron absorption are gastrointestinal tract diseases, feed and medicinal substances, erythropoietin deficiency. A decrease in the iron content in the blood serum, bone marrow and tissue depots leads to a decrease in the rate of synthesis and disruption of hemoglobin formation, the development of hypochromic anemia, and, consequently, to trophic disorders in tissues, restricted growth and impaired coordination, behavioral deviations and decreased activity [1, 2, 8, 9].

According to our observations, in conditions of industrial livestock farms, anemia diagnosis is practically not carried out, although the methods for establishing a preliminary diagnosis, in particular, anemia of alimentary origin, do not present difficulties. It is necessary to determine the number of erythrocytes and hemoglobin in the blood of animals, as well as to analyze the adequacy of the feed ration for the main nutritional components. At the same time, iron deficiency anemia is diagnosed in up to 100 % of calves with hypotrophy of varying degrees [3—5, 10]. Thus, the

development of diagnostic algorithms and methods of therapy for newborn hypotrophic calves with anemia, as a manifestation of comorbid pathology, is a promising task and has practical and scientific significance.

The research objective was to determine the efficacy of pharmacocorrection of anemia in calves in conditions of comorbidity using the complex drug aminoseleferon-B.

MATERIAL AND METHODS

The experiments were conducted at EkoNivaAgro LLC, Kamenskiy r., Voronezh region. Clinical studies were conducted on Holstein calves from birth to 30 days of age. In the first series of experiments, two groups of animals were formed: clinically healthy newborn calves and hypotrophic calves with anemia. In the second series of experiments, the calves with prenatal hypotrophy and anemia were divided into two groups: control and experimental. To restore erythropoiesis, the hypotrophic calves with anemia in the experimental group were administered aminoseleferon-B subcutaneously twice on the 1st and 3rd days of life at a dose of 0.1 ml per 1 kg of body weight. The calves in the control group and normotrophic calves were not administered any drugs.

Blood was taken from the jugular vein of animals for hematological analysis before the first colostrum feeding and 30 days after the administration of aminoseleferon-B. Laboratory studies were conducted at FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy". The blood was determined to contain erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), mean corpuscular hemoglobin (MCH) on an ABX Micros 60 hematological analyzer, and total iron-binding capacity (TIBC) on a Shimadzu UV-1700 spectrophotometer. The number of reticulocytes in the blood was counted in a Goryaev chamber using the method of A. S. Khrustalev.

The diameter of erythrocytes was estimated using ocular micrometry (by direct measurement of 100 cells). The color index was calculated using the formula [11]. The content of iron, copper and manganese in the blood serum was determined using a Hitachi-902 biochemical analyzer.

Statistical data processing was performed using the methods of mathematical statistics accepted in biology and medicine using the application program "Statistica 10".

STUDY RESULTS

When examining the blood of hypotrophic calves with anemia, there was observed a reliable decrease in the number of erythrocytes by 23.4 %, hemoglobin — by 40.9 %, hematocrit — by 32.7 % (Table 1). There was also noted a decrease in the diameter of erythrocytes by 28.2 %, mean corpuscular hemoglobin (MCH) — by 16.5 %, color index — by 25.0 %, mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) — by 19.7 %, mean corpuscular volume (MCV) — by 15.9, which indicated hypochromic anemia. The number of reticulocytes in the blood of hypotrophic calves was by 45.3 % lower than in healthy animals. A study of blood smears showed the presence of microcytes in 21.8 % of animals. Aniso- and poikilocytosis were quite common, with an average of 17.3 % of altered cells detected.

Table 1

Hematomorphological indicators of clinically healthy and hypotrophic calves with anemia

Indicators	Groups of animals	
	Sick calves	Healthy calves
1	2	3
Hemoglobin, g/L	84.29 ± 4.92*	142.63 ± 7.70
Erythrocytes, 10^{12}/L	6.11 ± 0.19*	7.98 ± 0.18
Hematocrit, %	0.33 ± 0.02*	0.49 ± 0.03
Erythrocyte diameter, μm	5.11 ± 0.77*	7.12 ± 0.27
MCH, pg	16.80 ± 1.39	20.12 ± 1.74
MCV, fl	49.10 ± 2.8*	58.39 ± 2.19

Table 1 (the end)

1	2	3
MCHC, g/L	27.73 ± 1.44*	34.54 ± 1.31
Reticulocytes, %	0.98 ± 0.11*	1.79 ± 0.19
Iron, μmol/L	15.63 ± 2.87	23.15 ± 5.93
Copper, μmol/l	9.56 ± 2.33	12.65 ± 4.01
Manganese, μmol/L	7.70 ± 1.98	9.18 ± 1.43
TIBC, μmol/l	88.23 ± 17.97	71.33 ± 15.32

* $P < 0.05$ — compared to healthy calves

In case of anemia in the blood of hypotrophic calves, there were recorded significantly low concentrations of iron by 32.5 %, copper — by 24.4 %, manganese — by 16.1 %, compared to healthy animals. Due to the decrease in the iron level, there was noted an increase in the total iron-binding capacity of the blood serum by 23.7 %.

Iron deficiency in the body causes a disruption in the functioning of the electron transport chain of mitochondria, as well as the oxygen transport function of the blood. As a result of the hypoxia development in tissues, the growth of calves slows down, the average daily weight gain and resistance to infections decrease [3, 8, 9]. Thus, we propose to consider anemia in physiologically immature calves as pathogenetically related and mutually aggravating comorbid pathologies with hypotrophy. In this regard, the standards for examining the newborn calves with perinatal hypotrophy must include determination of their hematological status and, taking into account the results obtained, carrying out pharmacocorrection. As a means of positively affecting hematopoiesis, the complex drug aminoseleferon-B was administered subcutaneously twice on the 1st and 3rd days of life to hypotrophic calves with anemia at a dose of 0.1 ml per kg of body weight.

It has been found that in the animals of the control group, the content of erythrocytes was lower than in normotrophic animals by 38.9 %, hemoglobin — by 35.5 %, hematocrit — by 13.3 % and color index — by 21.4 %, and in the blood serum, lower concentrations of iron by 23.2 %, copper — by 19.8 % and manganese — by 27.3 % were noted (Table 2).

Table 2

Effect of the drug aminoseleferon-B on hematological indicators in hypotrophic calves with anemia

Indicators	Groups of animals		
	Experimental	Control	Normotrophic calves
Erythrocytes, 10^{12}/L	7.84 ± 0.98	5.02 ± 0.51	8.21 ± 0.87
Hemoglobin, g/L	135.78 ± 5.91	90.10 ± 11.0	139.65 ± 6.11
Hematocrit, %	0.41 ± 0.03	0.39 ± 0.29	0.45 ± 0.26
Color index	0.97 ± 0.11	0.77 ± 0.12	0.98 ± 0.10
Iron, μmol/L	24.61 ± 1.98	19.88 ± 2.00	25.90 ± 1.77
Copper, μmol/L	13.25 ± 1.01	11.32 ± 1.25	14.11 ± 0.87
Manganese, μmol/L	9.13 ± 0.76	7.10 ± 0.69	9.77 ± 0.81
TIBC, μmol/L	75.98 ± 9.87	80.98 ± 8.77	71.73 ± 8.71

After the use of aminoseleferon-B, there was noted an increase in the number of erythrocytes by 28.3 %, hemoglobin — by 1.6 times, hematocrit — by 24.2 % and color index — by 40.5 % in the blood of calves. Also, in the animals of the experimental group, there was recorded an increase in the concentration of serum iron by 1.6 times, copper — by 38.6 % and manganese — by 18.5 %.

Thus, in the calves of the control group, hematomorphological indicators did not reach the values of clinically healthy animals, while in hypotrophic calves, after the use of aminoseleferon-B, there was noted the restoration of hematopoiesis.

By the end of the observation period, the calves with hypotrophy and anemia in the experimental group reached breed-age indicators and were transferred to the general age group, while the animals in the control group lagged in growth and development. At the end of the experiment, the calves that were administered aminoseleferon-B had an average daily weight gain of 750 g, and their body weight was by 25.2 % greater than in the control group. The calves with hypotrophy that did not undergo pharmacocorrection were diagnosed with bronchopneumonia and were transferred to the hospital group for further treatment.

CONCLUSION

When diagnosing and choosing a treatment regimen for anemia in the calves with antenatal hypotrophy, the presence of comorbidity should be taken into account after birth. The use of the complex drug aminoseleferon-B in the calves with comorbid pathologies (anemia, hypotrophy) subcutaneously twice on the 1st and 3rd days of life at a dose of 0.1 ml per 1 kg of body weight contributes to an increase in the number of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, color index in their blood, and in the blood serum — the concentration of iron, copper and manganese to the values of physiologically mature animals. The normalization of hematological indicators in the calves that were prescribed aminoseleferon-B was accompanied by an improvement in their health and physical development.

REFERENCES

1. *Zavalishina S. Yu.* Vascular hemostasis in newborn calves with iron deficiency anemia / S. Yu. Zavalishina // Veterinariya (Veterinary science). — 2012. — No. 5. — P. 43—45.

2. *Karelin A. I.* Alimentary iron deficiency anemia of farm animals: guidelines / A. I. Karelin, V. S. Buyarov // Publishing house: Moscow Veterinary Academy. — Moscow, 1993. — 54 p.

3. *Karashaev M. F.* Prevalence of anemia in calves / M. F. Karashaev // Vestnik Rossiyskoy akademii selskokhozyaystvennykh nauk (Bulletin of the Russian Academy of Agricultural Sciences). — 2007. — No. 1. — P. 89—90.

4. *Kovalev S. P.* Anemia of newborn calves: etiology, pathogenesis, diagnosis and prevention: abstract of a thesis … Doctor of Veterinary Sciences: 16.00.01 / S. P. Kovalev. — St. Petersburg, 1999. — 37 p.

5. *Makrinova N. Yu.* Clinical and laboratory diagnosis and therapeutic efficacy of hemofer and suiferrovit in case of hypochromic microcytic anemia in calves: abstract of a thesis … Candidate of Veterinary Sciences: 16.00.01 / N. Yu. Makrinova. — Belgorod, 2003. — 21 p.

6. *Skachkov D. V.* Comparative characteristics of blood indicators of healthy calves and calves with signs of anemia / D. V. Skachkov // Omskiy nauchnyy vestnik (Omsk Scientific Bulletin). — 2010. — No. 1 (94). — P. 186—188.

7. Methodological manual for diagnosis and prevention of disorders of antenatal and intranatal origin in calves / A. G. Shakhov, Yu. N. Alekhin, S. V. Shabunin [et al.]. — Voronezh: Istoki Publishing House, 2013. — 92 p. — ISBN978—5—88242—990—3.

8. *Abramov S. S.* Latent iron deficiency anemia in calves / S. S. Abramov, S. V. Zasinets // Veterinariya (Veterinary science). — 2004. — No. 6. — P. 43—45.

9. Iron deficiency and iron deficiency anemia in children of the first year of life / R. A. Zhetishev, D. R. Arkhestova, I. S. Zhetisheva, E. A. Kamyshova // Pediatriya. Zhurnal im. G. N. Speranskogo (Pediatrics. Journal named after G. N. Speransky). — 2014. — Vol. 93. — No. 1. — P. 89—94.

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

11. *Kondrakhin I. P.* Methods for veterinary clinical laboratory diagnosis: reference book / I. P. Kondrakhin. — M.: KolosS, 2004. — 520 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 09.07.2025.

СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ, ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ

Научная статья
УДК 615.28:579
DOI: 000

ОЦЕНКА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ КИШЕЧНИКА ПОРОСЯТ И МОЛОКА КОРОВ

Михаил Юрьевич Сыромятников[*,]✉, Сергей Викторович Шабунин[***], Екатерина Юрьевна Нестерова[*], Мария Ивановна Гладких[*], Ольга Владимировна Зверева[*], Евгений Владимирович Михайлов[***]**

[*]Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия
[**]Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия
[***]Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, mihan.vrn@mail.ru✉

Аннотация. Нерациональное использование противомикробных препаратов в сельском хозяйстве и ветеринарии способствует формированию, накоплению и миграции генов устойчивости в организме и окружающей среде. Резистентность формируется не только среди патогенных щтаммов, но и у пробиотических бактерий. В результате исследования, была проведена оценка фенотипической и генотипической резистентности штаммов бактерий с пробиотическим потенциалом, изолированных из кишечника свиней, молока и молозива коров микробиологическим и молекулярно-генетическим методами. Диско-диффузионный метод позволил выявить резистентность штаммов *Weissella confusa* к цефалоспоринам, макролидам и пенициллинам, а *Weizmannia coagulans* к амфениколам. *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus salivarius* из кишечника поросят были устойчивы к аминогликозидам, при этом *Lactobacillus plantarum* имел дополнительную устойчивость к тетрациклинам, а *Lactobacillus salivarius* к макролидам. По результатам ПЦР-анализа во всех исследуемых образцах выявлены гены устойчивости к эритромицину и тетрациклину. В бактериальных штаммах, изолированных из молозива и молока коров выявлены гены резистентности к кларитромицину. Наличие генотипической и фенотипической резистентности у молочнокислых бактерий кишечника и молока сельскохозяйственных животных может нести риски передачи антибиотикорезистентности патогенным микроорганизмам путем горизонтального переноса генов.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, ПЦР, диско-дифузионный метод, *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus salivarius, Weissella confusa, Weizmannia coagulans*

Благодарность: исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект FZGW-2024-0003)

За последнее десятилетие тема антибиотикорезистености как явления поднималась исследователями по всему миру. Такой интерес связан с активным применением антибиотиков, зачастую нерациональным, в сельском хозяйстве, ветеринарии и медицине [1]. Неконтролируемое использование противомикробных препаратов для лечения и профилактики микробных заболеваний способствует формированию, накоплению и миграции устойчивости внутри и вне живых организмов [2, 3]. Это осуществляется за счёт развившегося в процессе эволюции механизма горизонтального переноса генов. Таким способом через продукты жизнедеятельности гены резистентности попадают в грунтовые воды, заражая собой почву и растения, тем самым создавая угрозу уже для человека [4].

Патогенные бактерии и грибы, против которых нацелена антибиотикотерапия, со временем не только становятся невосприимчивы к антибиотикам, но и принимают непосредственное участие

в переносе генов резистеностности [5]. Например, устойчивые к различным классам антибиотиков бактерий рода *Staphylococcus* были изолированы из молока больных маститом коров [6]. При этом такие гены попадают не только в патогенные микроорганизмы, но также и передаются пробиотическим бактериям.

Молочнокислые бактерии (МКБ) являются важными компонентами микробиомов животных и встречаются на поверхности растений, а также активно используются для создания заквасок и пробиотиков. В случае если МКБ несут в себе гены устойчивости, употребляя ферментированные продукты, созданные на их основе, человек становится резервуаром для генов антибиотикорезистентности [7—9].

Регламент производства заквасок и пробиотиков подразумевает жесткий контроль безопасности, однако, это не исключает возможность попадания в готовые продукты бактерий, несущих в себе гены антибиотикорезистентности [10]. Так, установлено, у представителей *Lactobacillus*, *Streptococcus* и *Bifidobacterium*, активно применяющихся при изготовлении ферментированных продуктов, наиболее часто встречается устойчивость к антибиотикам гентамициновой, канамициновой, хлорамфениколовой и тетрациклиновой групп [11].

Микроорганизмы с пробиотической активностью обладают большим потенциалом для замены и сокращения использования антибиотиков в агрозоотехнической отрасли. Молоко является ценным источником пробиотических бактерий [12]. Например, из молока и молозива здоровых коров были изолированы такие полезные микроорганизмы, как *Weizmannia coagulans* и *Weissella confusa* соответственно [13]. Однако показано, что молоко, полученное от здоровых особей, может содержать обилие генов устойчивости к антибиотикам, таким как колистин, тетрациклин, препаратам цефалоспориновой и пенициллиновой групп [14].

Целью работы стало исследование фенотипической и генотипической антибиотикорезистентности пробиотических штаммов бактерий, изолированных из кишечника свиней, молока и молозива коров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве объектов исследования выступали четыре пробиотических штамма микроорганизмов, среди которых *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus salivarius*, изолированные из фекалий здоровых поросят возрастом 5 суток, *Weizmannia coagulans* и *Weissella confusa* выделенные из коровьего молока и молозива соответственно. Экстрагирование ДНК осуществлялось с помощью коммерческого набора ПРОБА-ГС (ДНК-технология, Россия) в соответствии с протоколом производителя.

Для проведения реакции амплификации с электрофоретической детекцией результатов использовалась реакционную смесь 5X ScreenMix-HS реакционная смесь (Евроген, Россия) с праймерами описанными ранее [14]. Визуализация результатов осуществлялась в 2 % агарозном геле.

ПЦР в реальном времени с использованием коммерческой реакционной смеси 5X qPCRmix-HS LowROX (Евроген, Россия) с праймерами и зондами описанными ранее [14]. Визуализация результатов проводилась по каналу флуоресценции FAM.

Для диско-диффузионного анализа использовали следующие антибиотики (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия): Азитромицин (30 мкг), Ампициллин (10 мкг), Амоксиклав (30 мкг), Амоксициллин (30 мкг), Гентамицин (50 мкг), Доксициклин (30 мкг), Канамицин (30 мкг), Левомицетин (10 мкг), Оксациллин (5 мкг), Тетрациклин (30 мкг), Цефаклор (30 мкг), Цефтизоксим (30 мкг), Цефоперазон (75 мкг), Цефалексин (30 мкг), Цефазолин (30 мкг).

Диски с антибиотиками хранили в герметичной упаковке в морозильной камере при температуре +4 °С. Для определения чувствительности диско-диффузионным методом в чашку Петри в среду MRS-агар вносили суспензию бактерий. Затем на поверхность получившейся среды с анализируемыми бактериями помещали диски, содержащие антибиотики. Готовые чашки Петри инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 24 часов. В процессе диффузии антибиотика в агар формируется зона задержки роста (ЗЗР) микроорганизмов вокруг дисков. Результат получали путем визуальной оценки наличия диаметра зоны подавления вокруг диска.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Пробиотические штаммы микрорганизмов *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus salivarius, Weissella confusa* и *Weizmannia coagulans*, изолированные из кишечника свиней, молозива и молока коров соответственно, были проанализированы молекулярно-генетическим и микробиологическим подходами.

Молекулярно-генетическая оценка резистентности пробиотических штаммов бактерий *L. plantarum, L. salivarius, W. confusa* и *W. coagulans* к различным группам антимикробных препаратов осуществлялась с помощью качественного и количественного ПЦР-анализа.

Анализ кривых флуоресценции, полученных в результате Real-time PCR, позволил установить распространенность гена устойчивости к эритромицину *ermB* во всех исследуемых образцах. В таблице 1 представлены результаты ПЦР-анализа.

Кривые амплификации, полученные от *L. plantarum, L. salivarius*, *W. confusa* и *W. coagulans* характеризовались значениями Ct не более 25. При этом наименьшее значение показателя Ct было у *L. salivarius* и составило 15,75 ± 0,38, что указывает на высокое относительное содержание этого гена у бактерии (рис. 1).

Таблица 1

Оценка распространенности генов антибиотикорезистентности в пробиотических штаммах L. plantarum, L. salivarius, W. confusa и W. coagulans с помощью ПЦР в реальном времени

Гены резистентности	Бактериальные штаммы			
	L. plantarum	*L. salivarius*	*W. confusa*	*W. coagulans*
ampC	–	–	–	–
Mec	–	–	–	–
NDM	–	–	–	–
vanA	–	–	–	–
KPC	–	–	–	–
ermB	+	+	+	+
floR	–	–	–	–

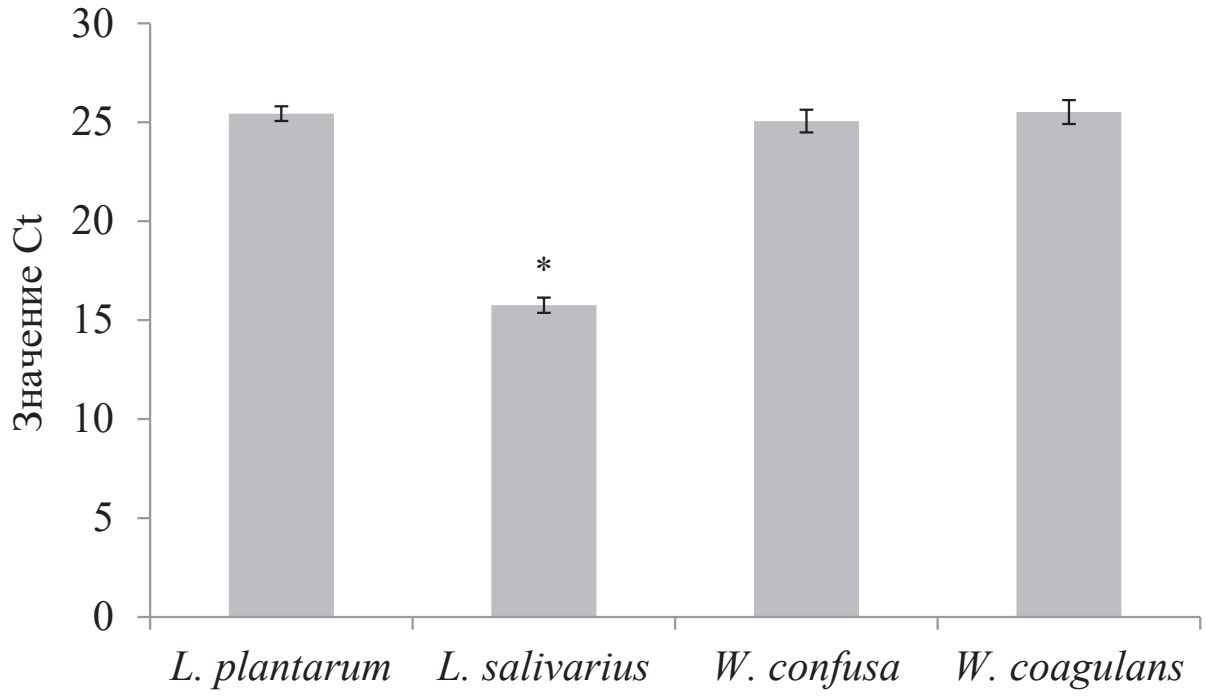


Рис. 1. Значения Ct, полученные в результате амплификации с специфическими праймерами к гену ermB.
* — различие параметра Ct по отношению к других бактериям статистически достоверно ($p < 0,05$)

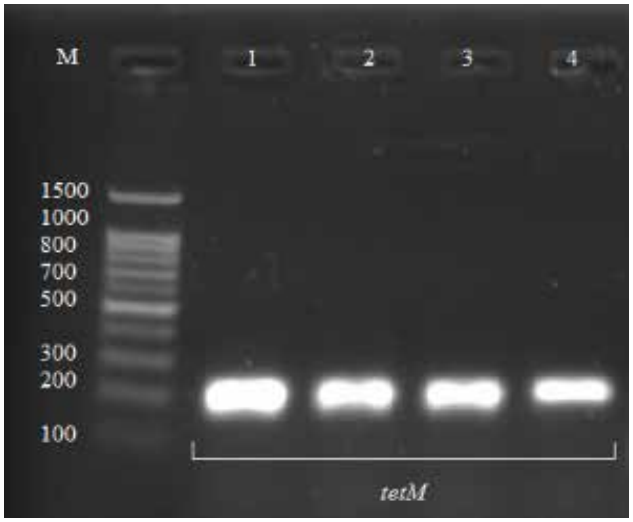


Рис. 2. Электрофореграмма распространенности гена tetM в пробиотических штаммах *L. plantarum*, *L. salivarius*, *W. confusa* и *W. coagulans*:

M — ДНК маркер; *1* — *L. plantarum*; *2* — *L. salivarius*; *3* — *W. confuse*; *4* — *W. coagulans*

ПЦР анализ с электрофоретической детекцией результатов позволил установить наличие специфических фрагментов ДНК, длина которых характерна для длины ампликонов генов устойчивости к тетрациклинам *TetM* (171 п. н.) во всех исследуемых штаммах (рис. 2).

На рисунке 3 представлена электрофореграмма результатов ПЦР анализа. Амплификация с праймерами CLR позволила получить гомогенный ПЦР продукт для образцов *W. confuse* и *W. coagulans*. Таким образом, штаммы бактерий, изолированные из молозива и коровьего молока имели ген резистентности к антибиотику кларитромицину.

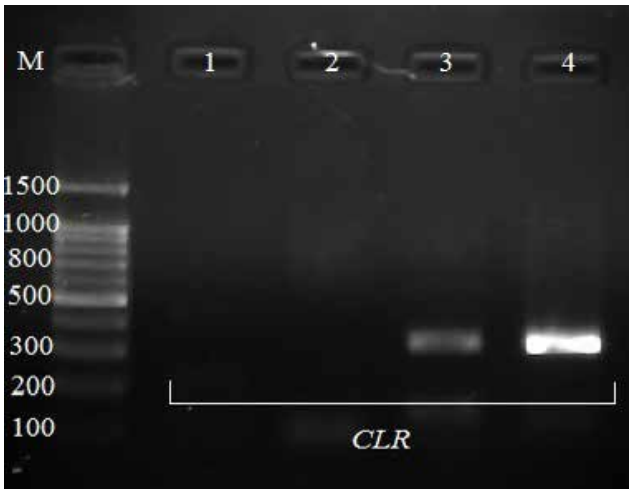


Рис. 3. Электрофореграмма распространенности гена CLR в пробиотических штаммах *L. plantarum*, *L. salivarius*, *W. confusa* и *W. coagulans*:

M — ДНК маркер; *1* — *L. plantarum*; *2* — *L. salivarius*; *3* — *W. confuse*; *4* — *W. coagulans*

Результаты диско-диффузионного метода позволили провести оценку фенотипической резистентности изолированных пробиотических штаммов. Результаты микробиологического скрининга представлены в таблице 2.

Таблица 2

Микробиологическая оценка антибиотикорезистентности исследуемых штаммов (ЗЗР, мм)

Группы антибиотиков	Антибиотик (терапевтическая доза)	*W. coagulans*	*W. confusa*	*L. plantarum*	*L. salivarius*
1	2	3	4	5	6
Аминогликозиды	Гентамицин (50 мкг/г)	+	21,0 ± 1,0	+	+
	Канамицин (30 мкг/г)	+	+	+	+
Амфеникол	Левомицетин (10 мкг/г)	19,0 ± 1,8	19,0 ± 1,0	13,0 ± 1,0	9,0 ± 0,2
Макролиды	Азитромицин (30 мкг/г)	+	+	8,8 ± 0,2	+
Цефалоспорины	Цефазолин (30 мкг/г)	+	17,0 ± 1,8	13,0 ± 0,6	7,4 ± 0,1
	Цефалексин (30 мкг/г)	+	+	12,4 ± 0,2	8,0 ± 0,1
	Цефаклор (30мкг/г)	+	+	17,0 ± 0,6	15,0 ± 0,1
	Цефтизоксим (30 мкг/г)	+	+	12,6 ± 0,8	11,0 ± 0,2

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6
Пенициллины	Ампициллин (10мкг/г)	+	+	17,0 ± 0,6	14,0 ± 0,2
	Амоксиклав (30мкг/г)	+	6,8 ± 0,2	18,0 ± 1,2	14,0 ± 0,4
	Амоксициллин (30 мкг/г)	+	+	20,6 ± 1,4	13,0 ± 1,2
	Оксациллин (1 мкг/г)	+	21,0 ± 1,8	10,0 ± 1,2	8,0 ± 0,2
Тетрациклин	Доксициклин (30мкг/г)	+	20,0 ± 0,2	10,0 ± 0,6	9,0 ± 0,1
	Тетрациклин (30 мкг/г)	+	6,0 ± 0,5	+	7,0 ± 0,4

«+» — штамм микроорганизма, полностью устойчивый к воздействию антибиотика в терапевтической концентрации (нет задержки роста исследуемого штамма)

Наибольшая устойчивость к антибиотикам была детектирована у бактерии *W. coagulans*, выделенной из молока, которая не проявила устойчивость только к антибиотикам амфениколовой группы. Спектр противомикробных препаратов, к которым проявила резистентность *W. confusa*, был существенно уже, чем у *W. coagulans*. Была выявлена резистентность *W. confusa* к группе цефалоспоринов, макролидов и пенициллинов.

Штаммы бактерии, выделенные из кишечника молочных поросят, проявили резистентность в отношении антибиотиков аминогликозидной группы, а также к тетрациклиновой у *L. plantarum* и макролидовой групп у *L. salivarius*.

ВЫВОДЫ

Исследование резистентности пробиотических штаммов бактерий, изолированных из кишечника свиней, молока и молозива коров микробиологическим и молекулярно-генетическим методами позволило детектировать гены устойчивости к противомикробным препаратам различных групп. С помощью диско-диффузионного метода была зарегистрирована резистентность штаммов *W. confusa* к цефалоспоринам, макролидам и пенициллинам, а *W. coagulans* к антибиотикам амфениколовой группы. *L. plantarum* и *L. salivarius* были устойчивы к аминогликозидам, при этом *L. plantarum* к тетрациклинам, а *L. salivarius* к макролидам. Результаты молекулярно-генетического анализа выявили распространенность гена устойчивости к эритромицину и тетрациклину во всех исследуемых образцах. В бактериальных штаммах, изолированных из молозива и молока коров зарегистрирован ген резистентности к кларитромицину. Наличие генов антибиотикорезистентности, а также фенотипической резистентности у молочнокислых бактерий кишечника и молока сельскохозяйственных животных может нести риски передачи антибиотикорезистентности патогенным микроорганизмам путем горизонтального переноса генов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Kelbrick M.* Cultivating antimicrobial resistance: how intensive agriculture ploughs the way for antibiotic resistance / M. Kelbrick, E. Hesse, S. O' Brien // Microbiology (Reading). 2023. № 8(169). — 001384 p. DOI: 10.1099/mic.0.001384

2. *Iwu C. D.* The incidence of antibiotic resistance within and beyond the agricultural ecosystem: a concern for public health / C. D. Iwu, L. Korsten, A. I. Okoh // Microbiologyopen. 2020. № 9(9). — e1035 p. DOI: 10.1002/mbo3.1035

3. *Salerno B.* Antibiotic resistance genes load in an antibiotic free organic broiler farm / B. Salerno, M. Furlan, R. Sabatino, A. Di Cesare, M. Leati, M. Volanti, L. Barco, M. Orsini, C. Losasso, V. Cibin // Poultry Science. 2022. № 3(101). — 101675 p. DOI: 10.1016/j.psj.2021.101675

4. *Abbas F.* Cattle-compost-soil: The transfer of antibiotic resistance in livestock agriculture / F. Abbas, P. Thomas, B. Cully-Duse, N. M. Andronicos, G. Winter // Microbiologyopen. 2023. № 4(12). — e1375 p. DOI: 10.1002/mbo3.1375

5. *Remes Troche J. M.* Reflections on antibiotic resistance and what to do about it / J. M. Remes Troche // Revista de Gastroenterologia de Mexico. 2016. № 1(81). — P. 1—2. DOI: 10.1016/j.rgmx.2016.01.001

6. *Сыромятников М. Ю.* Идентификация генов антибиотикорезистентности у бактерий рода *Staphylococcus*, изолированных из молока коров / М. Ю. Сыромятников, С. В. Шабунин, Е. Ю. Нестерова, М. И. Гладких, В. И. Зимников, О. А. Манжурина, Л. Ю. Сашнина // Ветеринарный фармакологический вестник. 2023.

№ 25(4). — С. 122—135. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.4.122

7. *Abriouel H.* New insights in antibiotic resistance of *Lactobacillus species* from fermented foods / H. Abriouel, M. D. C. C. Munoz, L. L. Lerma, B. P. Montoro, W. Bockelmann, R. Pichner, N. Benomar // Food Research International. 2015. (78). — P. 465—481. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.09.016

8. *Ammor M. S.* Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria / M. S. Ammor, A. B. Florez, B. Mayo // Food Microbiol. 2007. № 6(24). — P. 559—70. DOI: 10.1016/j.fm.2006.11.001

9. *Belletti N.* Antibiotic resistance of lactobacilli isolated from two Italian hard cheeses / N. Belletti, M. Gatti, B. Bottari, E. Neviani, G. Tabanelli, F. Gardini // The Journal of Food Protection. 2009. № 10(72). — P. 2162—9. DOI: 10.4315/0362-028x-72.10.2162

10. *Li T.* A critical review of antibiotic resistance in probiotic bacteria / T. Li, D. Teng, R. Mao, Y. Hao, X. Wang, J. Wang // Food Research International. 2020. (136). — 109571 p. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109571

11. *Nunziata L.* Antibiotic resistance in wild and commercial non-enterococcal lactic acid bacteria and Bifidobacteria strains of dairy origin: An update / L. Nunziata, M. Brasca, S. Morandi, T. Silvetti // Food Microbiology. 2022. (104). — 103999 p. DOI: 10.1016/j.fm.2022.103999

12. *Khorshidian N.* Fermented milk: the most popular probiotic food carrier / N. Khorshidian, M. Yousefi, A. M. Mortazavian // Advances in Food and Nutrition Research. 2020. (94). — P. 91—114. DOI: 10.1016/bs.afnr.2020.06.007

13. *Сыромятников М. Ю.* Анализ устойчивости и антагонистической активности пробиотических микроорганизмов, выделенных из молока и молозива коров / М. Ю. Сыромятников, С. В. Шабунин, А. С. Козликина, В. А. Олейникова, А. И. Петрухина, Е. Г. Абрамова, О. В. Бондарева, А. А. Толкачева, Е. В. Михайлов, О. С. Корнеева // Ветеринарный фармакологический вестник. 2024. № 26(1). — С. 109—120. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.1.109

14. *Гладких М. И.* Идентификация генов антибиотикорезистентности в молоке / М. И. Гладких, Е. Ю. Нестерова, М. Ю. Сыромятников, Е. В. Михайлов, В. Н. Попов // Ветеринарный фармакологический вестник. 2022. № 18(1). — С. 79—95. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.1.79

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

С. В. Шабунин — академик РАН, доктор ветеринарных наук, научный руководитель;

М. Ю. Сыромятников — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протомики; ведущий научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий;

О. В. Зверева — младший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий;

Е. В. Михайлов — кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией инновационных препаратов рекомбинантной протомики;

Е. Ю. Нестерова — младший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий;

М. И. Гладких — младший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий.

Статья поступила в редакцию 06.08.2025.

AGENTS FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION, DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION

Original article
UDC 615.28:579

ASSESSMENT OF ANTIBIOTIC RESISTANCE OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM THE INTESTINES OF PIGLETS AND COW'S MILK

Mikhail Yuryevich Syromyatnikov[*, **]✉, Sergey Viktorovich Shabunin[***], Ekaterina Yuryevna Nesterova[*], Mariya Ivanovna Gladkikh[*], Olga Vladimirovna Zvereva[*], Evgeniy Vladimirovich Mikhaylov[***]

[*]Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia
[**]Voronezh State University, Voronezh, Russia
[***]All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, mihan.vrn@mail.ru✉

Abstract. Irrational use of antimicrobial drugs in agriculture and veterinary medicine contributes to the formation, accumulation and migration of resistance genes in the body and environment. Resistance is formed not only among pathogenic strains, but also among probiotic bacteria. As a result of the study, an assessment of the phenotypic and genotypic resistance of bacterial strains with probiotic potential isolated from the intestines of pigs, milk and colostrum of cows was carried out using microbiological and molecular and genetic methods. The disk diffusion test allowed to identify the resistance of *Weissella confusa* strains to cephalosporins, macrolides and penicillins; and *Weizmannia coagulans* — to amphenicols. *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus salivarius* from the intestines of piglets were resistant to aminoglycosides, while *Lactobacillus plantarum* had additional resistance to tetracyclines, and *Lactobacillus salivarius* — to macrolides. According to the results of the PCR analysis, the erythromycin and tetracycline resistance genes were detected in all the studied samples. The clarithromycin resistance genes were detected in bacterial strains isolated from colostrum and milk of cows. The presence of genotypic and phenotypic resistance in lactic acid bacteria of the intestines and milk of farm animals may carry risks of transferring antibiotic resistance to pathogenic microorganisms by horizontal gene transfer.
Keywords: antibiotic resistance, PCR, disk diffusion test, *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus salivarius, Weissella confusa, Weizmannia coagulans*
Acknowledgment: the study was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project FZGW-2024-0003)

Over the past decade, the topic of antibiotic resistance as a phenomenon has been raised by researchers around the world. This interest is associated with the active (often irrational) use of antibiotics in agriculture, veterinary science and medicine [1].

The uncontrolled use of antimicrobial drugs for the treatment and prevention of microbial diseases contributes to the formation, accumulation and migration of resistance inside and outside living organisms [2, 3].

This is achieved through the horizontal gene transfer mechanism that has developed in the process of evolution. In this way, resistance genes enter groundwater through waste products, contaminating the soil and plants, thereby creating a threat to humans [4].

Pathogenic bacteria and fungi, against which antibiotic therapy is aimed, over time not only become resistant to antibiotics, but also take direct part in the transfer of resistance genes [5].

For example, bacteria of the genus *Staphylococcus* resistant to various classes of antibiotics were isolated from the milk of cows with mastitis [6].

Moreover, such genes enter not only pathogenic microorganisms, but are also transferred to probiotic bacteria.

Lactic acid bacteria (LAB) are important components of animal microbiomes and are found on the surface of plants, and are also actively used to create starters and probiotics. If the LAB carry resistance genes, then by consuming fermented products created on their basis, a person becomes a reservoir for antibiotic resistance genes [7—9]. The regulations for the production of starters and probiotics imply strict safety control, however, this does not exclude the possibility of bacteria carrying antibiotic resistance genes getting into finished products [10]. Thus, it has been established that the representatives of *Lactobacillus, Streptococcus* and *Bifidobacterium*, actively used in the manufacture of fermented products, most often have resistance to antibiotics of the gentamicin, kanamycin, chloramphenicol and tetracycline groups [11].

Microorganisms with probiotic activity have great potential to replace and reduce the use of antibiotics in the agro-zootechnical industry. Milk is a valuable source of probiotic bacteria [12]. For example, beneficial microorganisms such as *Weizmannia coagulans* and *Weissella confusa*, respectively, were isolated from the milk and colostrum of healthy cows [13]. However, it has been shown that the milk obtained from healthy individuals may contain an abundance of resistance genes to antibiotics of such groups as colistin, tetracycline, cephalosporin and penicillin [14].

The work objective was to study the phenotypic and genotypic antibiotic resistance of probiotic bacterial strains isolated from the intestines of pigs, milk and colostrum of cows.

MATERIAL AND METHODS

The objects of the study were four probiotic strains of microorganisms, including *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus salivarius*, isolated from the feces of healthy piglets aged 5 days, *Weizmannia coagulans* and *Weissella confusa* isolated from cow's milk and colostrum, respectively.

The DNA extraction was carried out using the commercial PROBA-GS kit (DNA-technology, Russia) in accordance with the manufacturer's protocol.

To carry out the amplification reaction with electrophoretic detection of results, there was used the 5X ScreenMix-HS reaction mixture (Evrogen, Russia) with the primers described earlier [14]. The results were visualized in 2 % agarose gel.

Real-time PCR using the commercial 5X qPCRmix-HS LowROX reaction mixture (Evrogen, Russia) with the primers and probes described earlier [14]. The results were visualized using the FAM fluorescence channel.

The following antibiotics were used for disk diffusion analysis (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, India): Azithromycin (30 mcg), Ampicillin (10 mcg), Amoksiklav (30 mcg), Amoxicillin (30 mcg), Gentamicin (50 mcg), Doxycycline (30 mcg), Kanamycin (30 μg), Levomycetin (10 mcg), Oxacillin (5 mcg), Tetracycline (30 mcg), Cefaclor (30 mcg), Ceftizoxime (30 mcg), Cefoperazone (75 mcg), Cephalexin (30 mcg), Cefazolin (30 mcg).

The antibiotic discs were stored in a sealed package in a freezer at a temperature of +4 °C. To determine sensitivity using the disk diffusion test, a bacterial suspension was added to a Petri dish in the MRS agar medium. Then, the disks containing antibiotics were placed on the surface of the resulting medium with the analyzed bacteria. The prepared Petri dishes were incubated in a thermostat at 37 °C for 24 hours. During the diffusion of the antibiotic into the agar, a growth inhibition zone (GIZ) of microorganisms is formed around the disks. The result was obtained by visually assessing the presence of the diameter of the inhibition zone around the disk.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

Probiotic strains of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Weissella confusa* and *Weizmannia coagulans* microorganisms isolated from pig intestines, colostrum and milk of cows, respectively, were analyzed using molecular and genetic and microbiological approaches.

Molecular and genetic assessment of the resistance of probiotic strains of bacteria *L. plantarum, L. salivarius, W. confusa* and *W. coagulans* to various groups of antimicrobial drugs was carried out using qualitative and quantitative PCR analysis.

The analysis of the fluorescence curves obtained as a result of Real-time PCR allowed to establish the prevalence of the erythromycin resistance gene *ermB* in all the studied samples. Table 1 presents the results of the PCR analysis.

The amplification curves obtained *from L. plantarum*, *L. salivarius*, *W. confusa* and *W. coagulans* were characterized by Ct values of no more than 25. The lowest Ct value was found in *L. salivarius* and amounted to 15.75 ± 0.38, which indicated a high relative content of this gene in the bacterium (Fig. 1).

The PCR analysis with electrophoretic detection of results made it possible to establish the presence of specific DNA fragments, the length of which is characteristic of the length of the amplicons of the tetracycline resistance genes *TetM* (171 bp) in all the studied strains (Fig. 2).

Table 1

Assessment of the prevalence of antibiotic resistance genes in probiotic strains L. plantarum, L. salivarius, W. confusa and W. coagulans using Real-time PCR

Resistance genes	Bacterial strains			
	L. plantarum	*L. salivarius*	*W. confusa*	*W. coagulans*
ampC	–	–	–	–
Mec	–	–	–	–
NDM	–	–	–	–
vanA	–	–	–	–
KPC	–	–	–	–
ermB	+	+	+	+
floR	–	–	–	–

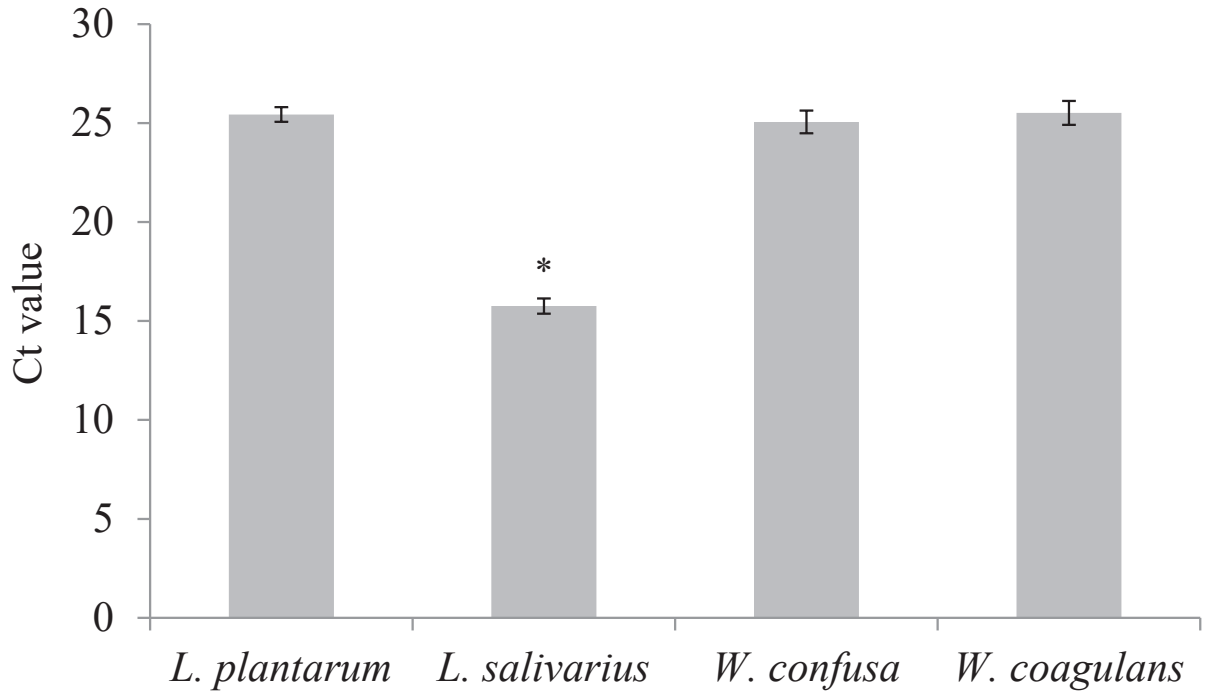


Fig. 1. Ct values obtained as a result of amplification with specific primers to the gene ermB. * — the difference in the Ct parameter in relation to other bacteria is statistically significant ($p < 0.05$)

Fig. 3 shows an electropherogram of the PCR analysis results. The amplification with CLR primers allowed to obtain a homogeneous PCR product for *W. confusa* and *W. coagulans* samples.

Thus, the bacterial strains isolated from colostrum and milk of cows had a gene for resistance to the antibiotic clarithromycin.

The results of the disk diffusion test allowed to assess the phenotypic resistance of the isolated probiotic strains. The results of the microbiological screening are presented in Table 2. The highest antibiotic resistance was detected in the bacterium *W. coagulans* isolated from milk, which showed no resistance only to antibiotics of the amphenicol group. The spectrum of antimicrobial drugs, to which *W. confusa* showed resistance was significantly narrower than that of *W. coagulans*. Resistance of *W. confusa* to a group of cephalosporins, macrolides and penicillins was detected.

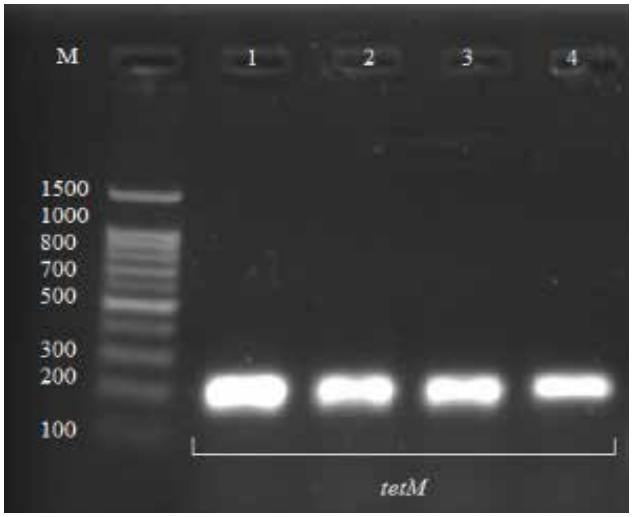


Fig. 2. Electropherogram of the tetM gene prevalence in probiotic strains L. plantarum, L. salivarius, W. confusa and W. coagulans:

M — DNA marker; *1 — L. plantarum*; *2 — L. salivarius*; *3 — W. confusa*; *4 — W. coagulans*

The strains of the bacterium isolated from the intestines of suckling pigs showed resistance to antibiotics of the aminoglycoside group, as well as to the tetracycline group in *L. plantarum,* and the macrolide group — in *L. salivarius*.

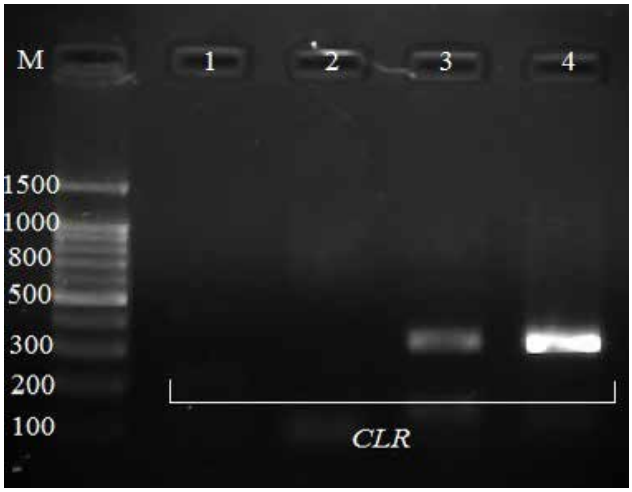


Fig. 3. Electropherogram of the CLR gene prevalence in probiotic strains L. plantarum, L. salivarius, W. confusa and W. coagulans:

M — DNA marker; *1 — L. plantarum*; *2 — L. salivarius*; *3 — W. confusa*; *4 — W. coagulans*

Table 2

Microbiological assessment of antibiotic resistance of the studied strains (ZZR, mm)

Antibiotic groups	Antibiotic (therapeutic dose)	*W. coagulans*	*W. confusa*	*L. plantarum*	*L. salivarius*
1	2	3	4	5	6
Aminoglycosides Amphenicol	Gentamicin (50 mcg/g)	+	21.0 ± 1.0	+	+
	Kanamycin (30 mcg/g)	+	+	+	+
Macrolides	Levomycetin (10 mcg/g)	19.0 ± 1.8	19.0 ± 1.0	13.0 ± 1.0	9.0 ± 0.2
Cephalosporins	Azithromycin (30 mcg/g)	+	+	8.8 ± 0.2	+
Penicillins Antibiotic groups Aminoglycosides	Cefazolin (30 mcg/g)	+	17.0 ± 1.8	13.0 ± 0.6	7.4 ± 0.1
	Cephalexin (30 mcg/g)	+	+	12.4 ± 0.2	8.0 ± 0.1
	Cefaclor (30 mcg/g)	+	+	17.0 ± 0.6	15.0 ± 0.1
	Ceftizoxime (30 mcg/g)	+	+	12.6 ± 0.8	11.0 ± 0.2
Amphenicol Macrolides Cephalosporins Penicillins	Ampicillin (10 mcg/g)	+	+	17.0 ± 0.6	14.0 ± 0.2
	Amoksiklav (30 mcg/g)	+	6.8 ± 0.2	18.0 ± 1.2	14.0 ± 0.4
	Amoxicillin (30 mcg/g)	+	+	20.6 ± 1.4	13.0 ± 1.2
	Oxacillin (1 mcg/g)	+	21.0 ± 1.8	10.0 ± 1.2	8.0 ± 0.2

Table 2 (the end)

1	2	3	4	5	6
Tetracycline	Doxycycline (30 mcg/g)	+	20.0 ± 0.2	10.0 ± 0.6	9.0 ± 0.1
	Tetracycline (30 mcg/g)	+	6.0 ± 0.5	+	7.0 ± 0.4

"+" — the microorganism strain is completely resistant to the effects of the antibiotic at a therapeutic concentration (there is no growth restriction of the studied strain)

CONCLUSION

The study of resistance of probiotic bacterial strains isolated from the intestines of pigs, milk and colostrum of cows using microbiological and molecular and genetic methods allowed to detect the antimicrobial drug resistance genes of various groups. Using the disk diffusion test, resistance of *W. confusa* strains to cephalosporins, macrolides and penicillins was registered, and *W. coagulans* — to the antibiotics of the amphenicol group. *L. plantarum* and *L. salivarius* were resistant to aminoglycosides, while *L. plantarum* — to tetracyclines, and *L. salivarius* — to macrolides. The results of molecular genetic analysis revealed the prevalence of erythromycin and tetracycline resistance genes in all the studied samples. In bacterial strains isolated from colostrum and milk of cows, the clarithromycin resistance gene was registered. The presence of antibiotic resistance genes, as well as phenotypic resistance in lactic acid bacteria of the intestine and milk of farm animals, may carry risks of transmitting antibiotic resistance to pathogenic microorganisms through horizontal gene transfer.

REFERENCES

1. *Kelbrick M.* Cultivating antimicrobial resistance: how intensive agriculture ploughs the way for antibiotic resistance / M. Kelbrick, E. Hesse, S. O'Brien // Microbiology (Reading). 2023. No. 8(169). — 001384 p. DOI: 10.1099/mic.0.001384

2. *Iwu C. D.* The incidence of antibiotic resistance within and beyond the agricultural ecosystem: a concern for public health / C. D. Iwu, L. Korsten, A. I. Okoh // Microbiologyopen. 2020. No. 9(9). — e1035 p. DOI: 10.1002/mbo3.1035

3. *Salerno B.* Antibiotic resistance genes load in an antibiotic free organic broiler farm / B. Salerno, M. Furlan, R. Sabatino, A. Di Cesare, M. Leati, M. Volanti, L. Barco, M. Orsini, C. Losasso, V. Cibin // Poultry Science. 2022. № 3(101). — 101675 p. DOI: 10.1016/j.psj.2021.101675

4. *Abbas F.* Cattle-compost-soil: The transfer of antibiotic resistance in livestock agriculture / F. Abbas, P. Thomas, B. Cully-Duse, N. M. Andronicos, G. Winter // Microbiologyopen. 2023. No. 4(12). — e1375 p. DOI: 10.1002/mbo3.1375

5. *Remes Troche J. M.* Reflections on antibiotic resistance and what to do about it / J. M. Remes Troche // Revista de Gastroenterologia de Mexico. 2016. No. 1(81). — P. 1—2. DOI: 10.1016/j.rgmx.2016.01.001

6. *Syromyatnikov M. Yu*. Identification of antibiotic resistance genes in the bacteria of the genus *Staphylococcus* isolated from cow's milk / M. Yu. Syromyatnikov, S. V. Shabunin, E. Yu. Nesterova, M. I. Gladkikh, V. I. Zimnikov, O. A. Manzhurina, L. Yu. Sashnina // Bulletin of Veterinary Pharmacology. 2023. No. 4 (25). — P. 122—135. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.4.122

7. *Abriouel H.* New insights in antibiotic resistance of *Lactobacillus species* from fermented foods / H. Abriouel, M. D. C. C. Munoz, L. L. Lerma, B. P. Montoro, W. Bockelmann, R. Pichner, N. Benomar // Food Research International. 2015. (78). — P. 465—481. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.09.016

8. *Ammor M. S.* Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria / M. S. Ammor, A. B. Florez, B. Mayo // Food Microbiol. 2007. № 6(24). — P. 559—70. DOI: 10.1016/j.fm.2006.11.001

9. *Belletti N.* Antibiotic resistance of lactobacilli isolated from two Italian hard cheeses / N. Belletti, M. Gatti, B. Bottari, E. Neviani, G. Tabanelli, F. Gardini // The Journal of Food Protection. 2009. No. 10(72). — P. 2162—9. DOI: 10.4315/0362-028x-72.10.2162

10. *Li T.* A critical review of antibiotic resistance in probiotic bacteria / T. Li, D. Teng, R. Mao, Y. Hao, X. Wang, J. Wang // Food Research International. 2020. (136). — 109571 p. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109571

11. *Nunziata L.* Antibiotic resistance in wild and commercial non-enterococcal lactic acid bacteria and Bifidobacteria strains of dairy origin: An update / L. Nunziata, M. Brasca, S. Morandi, T. Silvetti // Food Microbiology. 2022. (104). — 103999 p. DOI: 10.1016/j.fm.2022.103999

12. *Khorshidian N.* Fermented milk: the most popular probiotic food carrier / N. Khorshidian, M. Yousefi, A. M. Mortazavian // Advances in Food and Nutrition Research. 2020. (94). — P. 91—114. DOI: 10.1016/bs.afnr.2020.06.007

13. *Syromyatnikov M. Yu.* Stability analysis of the antagonistic activity of probiotic microorganisms isolated from

milk and colostrum of cows / M. Yu. Syromyatnikov, S. V. Shabunin, A. S. Kozlikina, V. A. Oleynikova, A. I. Petrukhina, E. G. Abramova, O. V. Bondareva, A. A. Tolkacheva, E. V. Mikhaylov, O. S. Korneeva // Bulletin of Veterinary Pharmacology. 2024. No. 1 (26). — P. 109—120. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2024.1.109

14. *Gladkikh M. I.* Identification of antibiotic resistance genes in milk / M. I. Gladkikh, E. Yu. Nesterova, M. Yu. Syromyatnikov, E. V. Mikhaylov, V. N. Popov // Bulletin of Veterinary Pharmacology. 2022. No. 1 (18). — P. 79—95. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.1.79

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

M. Yu. Syromyatnikov — Candidate of Biological Sciences, Senior Scientific Associate of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics; Principal Scientific Associate of the Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology;

S. V. Shabunin — Academician of the RAS, Doctor of Veterinary Sciences, Academic Director;

E. Yu. Nesterova — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology;

M. I. Gladkikh — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology;

O. V. Zvereva — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology;

E. V. Mikhaylov — Candidate of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;

The article was submitted 06.08.2025.

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Научная статья
УДК 619:[618.19-002:618.7]:636.2
DOI: 000

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА ПРИ МАСТИТЕ У КОРОВ В ЗАПУСКЕ И В ПОСЛЕРОДОВЫЙ ПЕРИОД

Виталий Иванович Зимников[*]✉, Ольга Борисовна Павленко[*], Оксана Владимировна Фенич[*, **], Дмитрий Игоревич Шабанов[*]

[*]Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, ivanovich.vitalick@yandex.ru✉
[**]Донбасская аграрная академия, Донецк, Россия

Аннотация. В статье отражены результаты исследований по изучению системы свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты у коров в разные технологические периоды лактации. Установлено, что у клинически здоровых и больных маститом коров в запуске и в ранний послеродовый период были выявлены более глубокие изменения в их метаболическом статусе в сравнении с коровами середины лактации. Данные изменения свидетельствуют о том, что у лактирующих коров в период запуска и в ранний послеродовый период активизируются реакции пероксидации липидов, связанные с развитием напряжения в метаболических процессах, обоснованных окончанием лактации, формированием родовой доминанты и последующей инволюцией в молочной железе отелившейся коровы. Это приводит к возрастанию уровня эндогенной интоксикации за счет увеличения продуктов перекисного окисления липидов. На этом фоне происходит ослабление уровня антиоксидантной защиты за счет расхода ее резервов на нейтрализацию продуктов свободнорадикального окисления.

Ключевые слова: коровы, мастит, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, период запуска, послеродовый период

Основополагающей мерой по сохранению генетически заложенного потенциала высокопродуктивных коров молочного направления является систематичный контроль заболеваемости маститом, поскольку именно воспалительные процессы молочной железы являются лимитирующими факторами в получении большого количества молока высокого качества [2].

Поскольку современные методы ведения молочного хозяйства подразумевают повышенную интенсивность производства, на многие системы организма лактирующих коров (пищеварительная, эндокринная, половая, а также система секреции молока) оказывается чрезмерная нагрузка. В частности, одним из этиологических факторов возникновения мастита принято считать несбалансированное кормление, к примеру, такое как скармливание высококонцентратного типа рационов, в которых доминирующее положение занимают протеины, нарушающие баланс анаболизма и катаболизма в организме лактирующих коров [1, 3, 4].

Сохранение гомеостаза у коров различных производственных и физиологических групп, изучение закономерностей течения биохимических реакций в организме высокопродуктивных животных и их влияние на этиопатогенетические аспекты воспаления молочной железы является крайне приоритетным направлением для изучения [1, 2, 6].

Одним из показателей, характеризующих интенсивность биохимических процессов, и влияющих на развитие афизиологической реакции организма, является уровень оксидантно-антиоксидантного статуса, поскольку данный показатель характеризует также массив процессов свободнорадикального окисления липидов и системы антиоксидантной защиты [2, 3, 14].

Протекающие в организме животных свободнорадикальные реакции, участвующие в регуляции проницаемости клеточных мембран, инкреции гормонов и стероидов в период длительного стресса различного генеза, инфекционных поражениях, воспалительных процессах, нарушениях ферментативных свойств клеток, как правило, переходят в патологическое течение, что ведёт к нарушению функционирования различных органов и тканей [11, 17].

За баланс в течении свободнорадикальных реакций в организме отвечает система антиоксидантной защиты, имеющая многоуровневую многокомпонентную структуру, состоящую из ферментативных и неферментативных звеньев, контролирующих уровень молекулярных продуктов, активных форм кислорода [3, 13, 15]. Отсюда следует важность физиологического протекания реакций в системе антиоксидантной защиты, поскольку она регулирует интенсивность окислительно-восстановительных реакций в клеточных органеллах, что непосредственно влияет на уровень интенсивности и времени продолжительности патологического процесса в молочной железе коров, в особенности у высокопродуктивных животных [1, 2].

В связи с этим остается актуальным изучение процессов свободнорадикального окисления липидов и системы антиоксидантной защиты при возникновении мастита у высокопродуктивных коров в разные физиологические периоды их эксплуатации.

Цель исследований. Изучить систему свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантнаной защиты при мастите у коров в запуске и в послеродовый период.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для проведения исследований было сформировано 3 группы животных, клинически здоровые ($n = 10$), больные субклиническим маститом ($n = 10$) и клинически выраженным катаральным ($n = 10$), находящихся на разных технологических периодах эксплуатации (послеродовый период, 100—120 дней лактации и запуск). От всех животных были отобраны пробы крови для изучения показателей системы свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты.

Показатели системы ПОЛ-АОЗ определяли согласно Методическим положениям по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма (М. И. Рецкий и др.). — Воронеж, 2010 год [5].

Количество малонового диальдегида (МДА) определяли по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенного триметинового комплекса (ТМК), имеющего максимум поглощения 532 нм. Индекс эндогенной интоксикации (ИЭИ) рассчитывали по спектральной характеристике супернатанта после освобождения плазмы крови от содержащихся в ней высокомолекулярных пептидов и белков с использованием 10 % раствора трихлоруксусной кислоты [2, 5].

Оценку активности ферментативного и неферментативного звеньев анитиоксидантной защиты проводили путем исследования активности каталазы по способности пероксида водорода образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс, а активность глутатионпероксидазы (ГПО) — по уменьшению количества восстановленного глутатиона (донора водорода) в среде инкубации при восстановлении гидроперекисей глутатионпероксидазой. О состоянии неферментативного звена судили по содержанию в сыворотке крови витаминов А, Е и С. Определение витамина А проводили на основе щелочного гидролиза и экстракции витамина из сыворотки крови и измерений до и после его разрушения ультрафиолетом. Витамина Е — на основании определения ионов двухвалентного железа, образующихся при взаимодействии α- токоферола с хлорным железом (Fe^{3+}) в виде окрашенного комплекса Fe^{2+} с фенантролином. Витамина С — пределяли на основе восстановления трехвалентного железа в двухвалентное с образованием с α, α’-дипиридилом окрашенного комплекса [2, 5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенными исследованиями установлено (табл. 1), что у клинически здоровых коров в период запуска процессы свободнорадикального окисления липидов протекают интенсивнее, в сравнении с коровами середины лактации, это характеризуется повышенным содержанием в крови малонового диальдегида — на 17,7 % ($P < 0,05$), средних молекулярных пептидов — на 19,6 % ($P < 0,05$), индекса эндогенной интоксикации — на 19,7 % ($P < 0,05$), при снижении, активности каталазы — на 16,0 % ($P < 0,05$), глутатионпероксидазы — на 16,7 % ($P < 0,05$), концентрации витамина А — на 20,0 %, ($P < 0,05$) и витамина С — на 14,1 %.

Таблица 1

Показатели системы ПОЛ-АОЗ клинически здоровых коров в разные периоды лактации

Показатели, ед. измерения	Ранний послеродовый	100—120 дней лактации	Период запуска (n = 5)
МДА, мкМ/л	3,73 ± 0,22**	3,1 ± 0,2	3,65 ± 0,04*
СМП, у. е.	0,642 ± 0,024**	0,505 ± 0,113	0,604 ± 0,015*
ИЭИ	17,59 ± 0,3*	15,03 ± 0,26	17,99 ± 0,66*
Каталаза, мкМ H_2O_2/л·мин·10^3	37,87 ± 0,50*	45,73 ± 0,21	39,4 ± 0,4*
ГПО, мкМ GSH/л·мин·10^3	40,23 ± 1,12*	47,9 ± 0,4	39,92 ± 0,69*
Витамин А, мкМ/л	1,4 ± 0,04*	1,8 ± 0,3	1,44 ± 0,07*
Витамин Е, мкМ/л	12,1 ± 0,8*	14,1 ± 0,5	12,9 ± 0,8
Витамин С, мкМ/л	19,5 ± 0,8*	23,3 ± 1,4	20,0 ± 0,4

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$ — степень достоверности в группах ранний послеродовый период и период запуска по отношению к периоду середины лактации

После отела у клинически здоровых коров продолжается нарастание процессов свободнорадикального окисления липидов, которые также характеризовались повышением в крови малонового диальдегида — на 20,3 % ($P < 0,01$), средних молекулярных пептидов — на 27,1 % ($P < 0,01$), индекса эндогенной интоксикации — на 17,0 % ($P < 0,05$). В этот период продолжает снижаться активность ферментативной защиты, что выражается в снижении активности каталазы — на 20,7 % ($P < 0,05$), глутатионпероксидазы — на 19,1 % ($P < 0,05$), а также показателей неферментативного звена антиоксидантной защиты: витамина А — на 22,2 % ($P < 0,05$), витамина Е — на 14,2 % ($P < 0,05$) и витамина С — на 16,3 % ($P < 0,05$).

Учитывая результаты проведенных исследований, можно констатировать, что наиболее сложным периодом в технологическом цикле молочных коров в отношении обменных процессов в целом, и системы антиоксидантной защиты в частности, являются первые дни лактации и период запуска. Именно с инволюцией молочной железы, началом молокоотдачи и связанным с этим нарушением внутреннего гомеостаза в организме коров могут происходить изменения качественных и количественных показателей в свободнорадикальном окислении. При этом с нарастанием сроков беременности и окончанием лактации так же отмечается интенсификация перекисного окисления и снижение антиоксидантной защиты [4, 9].

Выявленные изменения в системе ПОЛ-АОЗ у исследуемых коров могут свидетельствовать о том что, в период запуска и в период после отела у коров развивается окислительный стресс, связанный с нейро-эндокринной перестройкой и развитием максимального напряжения метаболических процессов в организме животного [1, 10].

Заболевание коров субклиническим маститом в период запуска сопровождалось (табл. 2) интенсификацией протекания реакций перекисного окисления липидов в сравнении с коровами середины лактации, что выражалось в более высоком содержании в крови, малонового диальдегида — на 42,5 % ($P < 0,01$), средних молекулярных пептидов — на 32,6 % ($P < 0,01$), индекса эндогенной интоксикации — на 47,9 % ($P < 0,001$), при более низкой активности каталазы — на 26,2 % ($P < 0,05$), глутатионпероксидазы — на 25,4 % ($P < 0,05$), содержания витамина Е — на 20,0 % ($P < 0,01$) и витамина С — на 14,9 % ($P < 0,05$).

В ранний послеродовый период у коров, больных субклиническим маститом, были установлены те же изменения, что у коров середины лактации, но они были более выраженного характера. Так, в крови данных животных отмечалось превышение малонового диальдегида на 40,3 % ($P < 0,001$), средних молекулярных пептидов — на 32,9 % ($P < 0,01$), индекса эндогенной интоксикации — на 40,3 % ($P < 0,001$), при снижении активности каталазы на 23,1 % ($P < 0,05$), глутатионпероксида-

зы — на 26,7 % ($P < 0,05$), витамина Е — на 33,5 % ($P < 0,01$) и витамина С — на 22,3 % ($P < 0,05$).

При изучении гомеостаза больных катаральным маститом коров в разные периоды лактации (табл. 3), изменения в системе ПОЛ-АОЗ были так же более выражены в период запуска, в сравнении с коровами середины лактации. Так, у данных животных в крови отмечено более высокое содержание малонового диальдегида — на 48,2 % ($P < 0,001$), средних молекулярных пептидов — на 33,0 % ($P < 0,01$), индекса эндогенной интоксикации — на 61,4 % ($P < 0,001$), при снижении активности каталазы на 25,7 % ($P < 0,05$), глутатионпероксидазы — на 28,8 % ($P < 0,05$), содержания витамина Е — на 26,7 % ($P < 0,05$), витаминов А и С — до 0,96 и 17,4 мкМ/л соответственно.

Таблица 2

Показатели системы ПОЛ-АОЗ у коров больных субклиническим маститом, в разные периоды лактации

Показатели, ед. измерения	Ранний послеродовый	100—120 дней лактации	Период запуска
МДА, мкМ/л	5,18 ± 0,21***	3,69 ± 0,11	5,26 ± 0,19**
СМП, у. е.	0,852 ± 0,036**	0,641 ± 0,026	0,850 ± 0,017**
ИЭИ	27,57 ± 0,77***	18,01 ± 0,56	26,64 ± 0,58***
Каталаза, мкМ H_2O_2/л·мин·10^3	29,69 ± 0,3*	38,60 ± 0,75	30,58 ± 0,31*
ГПО, мкМ GSH/л·мин·10^3	30,97 ± 0,34*	39,25 ± 0,32	31,30 ± 0,57*
Витамин А, мкМ/л	1,16 ± 0,05	1,3 ± 0,04	1,2 ± 0,04
Витамин Е, мкМ/л	10,3 ± 0,2**	15,5 ± 0,6	12,4 ± 0,4**
Витамин С, мкМ/л	16,7 ± 0,6*	21,5 ± 0,3	18,3 ± 0,7*

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$ — степень достоверности в группах ранний послеродовый период и период запуска по отношению к периоду середины лактации

В ранний послеродовый период у коров, больных клинически выраженным катаральным маститом, отмечено более высокое содержание малонового диальдегида — на 50,0 % ($P < 0,02$), средних молекулярных пептидов — на 37,1 % ($P < 0,01$), индекса эндогенной интоксикации — на 55,6 % ($P < 0,001$), при снижении каталазы на 29,3 % ($P < 0,05$), глутатионпероксидазы — на 26,3 % ($P < 0,05$), витамина А — на 30,4 % ($P < 0,05$), витамина Е и витамина С — на 36,5 и 38,4 % ($P < 0,05$) соответственно.

Таблица 3

Показатели системы ПОЛ-АОЗ у коров больных катаральным маститом, в разные периоды лактации

Показатели, ед. измерения	Ранний послеродовый ($n = 5$)	100—120 дней лактации ($n = 5$)	Период запуска ($n = 5$)
1	2	3	4
МДА, мкМ/л	8,67 ± 0,2**	5,78 ± 0,15	8,57 ± 0,14***
СМП, у. е.	0,964 ± 0,01**	0,703 ± 0,06	0,935 ± 0,02**
ИЭИ	38,6 ± 1,3***	24,8 ± 0,4	40,04 ± 1,04***
Каталаза, мкМ H_2O_2/л·мин·10^3	22,35 ± 0,45*	31,64 ± 0,9	23,5 ± 1,2*
ГПО, мкМ GSH/л·мин·10^3	28,66 ± 0,91	38,92 ± 0,66	30,2 ± 0,9*

Окончание табл. 3

1	2	3	4
Витамин А, мкМ/л	0,92 ± 0,05*	1,2 ± 0,01	0,96 ± 0,02*
Витамин Е, мкМ/л	10,4 ± 0,2*	14,2 ± 0,2	11,2 ± 0,1*
Витамин С, мкМ/л	13,8 ± 0,2*	19,1 ± 0,2	17,4 ± 0,4

* $P < 0,05$
** $P < 0,01$
*** $P < 0,001$ — степень достоверности в группах ранний послеродовый период и период запуска по отношению к периоду середины лактации

Общепризнанно, что развитие воспалительного процесса в молочной железе во все периоды лактации связано ее инфицированием ассоциациями различных патогенных и условно патогенных микроорганизмов: Staph. aureus, Str. agalactiae, E. Coli, Corynebacterium и многие другие, часто в сочетании с грибами Candida, Mucor, Aspergilus. Токсины этих бактерий и грибов оказывают повреждающее действие на ткани и иммунокомпетентные клетки молочной железы и формируют развитие воспалительного процесса с типичными признаками альтерации, экссудации и пролиферации. Критическим механизмом, создающим объективные предпосылки для активации жизнедеятельности микрофлоры, является состояние антиоксидантной защиты животных и интенсивность процессов ПОЛ на заключительном этапе беременности, во время родов и в ранний послеродовой период. Именно в эти физиологические периоды репродукции организм животных находится в состоянии высокого стресса. В этих условиях баланс естественного постоянного существования и взаимодействия макро- и микроорганизмов неизбежно нарушается и склоняется в сторону усиления патогенного действия инфекционных агентов [6, 9].

Причиной повышения продуктов пероксидации в организме больных маститом коров считается как усиление генерации активных форм кислородных метаболитов, так и недостаточная эффективность антиоксидантной защиты. Снижение показателей антиоксидантной системы указывает на истощение резервов ферментативного и неферментативного звеньев [2, 8].

Полученные нами данные согласуются с исследованиями многих ученых которые считают одной из причин более тяжелого протекания воспалительных процессов в критические периоды жизни продуктивных животных активизацию свободнорадикального окисления, развитие окислительного стресса и свободнорадикальной патологии на фоне несбалансированных изменений в генерации оксида азота и глутатионовом звене антиоксидантной защиты и относят их к одним из основных механизмов приводящих к нарушению воспроизводительной функции и заболеванию высокопродуктивных коров маститом [7,14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие как скрытого, так и клинически выраженного воспаления в молочной железе у высокопродуктивных коров в финальный период лактации и в период после отела протекает на фоне истощения ресурсов системы антиоксидантной защиты, что выражается в снижении уровня ее показателей. Осложнение воспалительного процесса у коров в данные периоды происходит за счет развития напряжения в метаболических процессах, в связи с развитием беременности, окончанием лактации и последующей инволюцией в молочной железе, а также во всем организме отелившейся коровы. Данные изменения требуют колоссального количества энергии, что в свою очередь, приводит к возрастанию уровня эндогенной интоксикации за счет увеличения продуктов перекисного окисления липидов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Венцова И. Ю.* Показатели антиоксидантного статуса у высокопродуктивных коров в динамике сухостойного и послеродового периодов / И. Ю. Венцова // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. — 2012. — № 4. — С. 46—48. — EDN OZEGMD.

2. *Зимников В. И.* Оксидантный и антиоксидантный статус коров при лечении мастита с использованием препарата «АМСФ» / В. И. Зимников, Н. Т. Климов, О. Б. Павленко, Л. В. Ческидова, Т. Г. Ермолова // Уче-

ные записки УО ВГАВМ. — 2021. — т. 57. — вып. 3. — С. 82—85. — doi: 10.52368/2078-0109-2021-57-3-82-85

3. *Зимников В. И.* Динамика показателей системы ПОЛ-АОЗ при применении рекомбинантных интерферонов для терапии субклинического мастита у коров / В. И. Зимников, Л. В. Ческидова, Т. Г. Ермолова // Ветеринарный фармакологический вестник № 3 (20) 2022 С 82—91 DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.82

4. *Киреев И. В.* Антиоксидантный статус высокопродуктивных коров в различные периоды эксплуатации / И. В. Киреев, В. А. Оробец, Б. В. Пьянов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. — 2022. — Т. 252, № 4. — С. 117—121. — DOI 10.31588/2413_4201_1883_4_252_117. — EDN JOJCAL

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

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

7. *Сафонов В. А.* Свободнорадикальное окисление липидов и репродуктивное здоровье коров / В. А. Сафонов, А. Г. Нежданов, М. И. Рецкий, С. В. Шабунин, Г. Н. Близнецова // Сельскохозяйственная биология, 2014, № 6, с. 107—115.

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

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

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

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

12. *Chen Y.* Vitexin mitigates Staphylococcus aureus-induced mastitis via regulation of ROS/ER stress/NF-κB/MAPK pathway / Y. Chen, J. Yang, Z. Huang, B. Yin, T. Umar, C. Yang, X. Zhang, H. Jing, S. Guo, M. Guo, G. Deng, C. Qiu // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. — 2022. — v. 2022. — p. 7977433. — doi: 10.1155/2022/7977433

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

14. *Dizdaroglu M.* Mechanisms of free radical-induced damage to DNA / M. Dizdaroglu, P. Jaruga // Free radical research. — 2012. — v. 46 (4). — p. 382—419. — doi: 10.3109/10715762.2011.653969

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

16. *Kienhöfer D.* Reactive oxygen homeostasis — the balance for preventing autoimmunity / D. Kienhöfer, S. Boeltz, M. H. Hoffmann // Lupus. — 2016. — v. 25 (8). — p. 943—954. — doi: 10.1177/0961203316640919

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

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

В. И. Зимников — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;

О. Б. Павленко — доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник;

О. В. Фенич — старший преподаватель кафедры анатомии, физиологии, акушерства и хирургии животных;

Д. И. Шабанов — научный сотрудник лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем.

Статья поступила в редакцию 23.07.2025.

Original article
UDC 619:[618.19-002:618.7]:636.2

FREE RADICAL OXIDATION OF LIPIDS AND ANTIOXIDANT DEFENSE IN CASE OF BOVINE MASTITIS IN COW DRYING OFF AND POSTPARTUM PERIODS

Vitaliy Ivanovich Zimnikov[*]✉, Olga Borisovna Pavlenko[*], Oksana Vladimirovna Fenich[*, **], Dmitriy Igorevich Shabanov[*]

[*]All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, ivanovich.vitalick@yandex.ru✉
[**]Donbass Agrarian Academy, Donetsk, Russia

Abstract. The article presents the results of studies on the system of free radical oxidation of lipids and antioxidant defense in cows in different technological periods of lactation. It had been found that clinically healthy cows and cows with mastitis in cow drying off and early postpartum periods showed more profound changes in their metabolic status, compared to the cows in mid-lactation. These changes indicate that in lactating cows in cow drying off and early postpartum periods, lipid peroxidation reactions are activated, associated with the development of stress in metabolic processes, justified by the end of lactation, the formation of a parturient dominant and subsequent involution in the mammary gland of a calved cow. This leads to an increase in the level of endogenous intoxication due to an increase in lipid peroxidation products. Against this background, the level of antioxidant defense weakens due to the expenditure of its reserves on the neutralization of free radical oxidation products.
Keywords: cows, mastitis, lipid peroxidation, antioxidant defense, cow drying off period, postpartum period

The fundamental measure for preserving the genetic potential of high yielding dairy cows is a systematic control of mastitis, since these are the inflammatory processes of the mammary gland that are limiting factors in obtaining large quantities of high-quality milk [2].

Since modern methods of dairy farming imply increased production intensity, many systems of the body of lactating cows (digestive, endocrine, reproductive and milk secretion systems) are subjected to excessive stress. In particular, one of the etiological factors for the mastitis occurrence is considered to be unbalanced feeding, for example, such as feeding a highly concentrated type of diet, in which proteins dominate, disrupting the balance of anabolism and catabolism in the body of lactating cows [1, 3, 4].

Maintaining homeostasis in cows of various production and physiological groups, studying the patterns of biochemical reactions in the body of high yielding animals and their effect on the etiopathogenetic aspects of mammary gland inflammation is an extremely high-priority area for study [1, 2, 6].

One of the indicators characterizing the intensity of biochemical processes and affecting the development of the nonphysiological reaction of the body is the level of oxidant-antioxidant status, since this indicator also characterizes the array of processes of free radical oxidation of lipids and the antioxidant defense system [2, 3, 14].

Free radical reactions occurring in the animal body, participating in the regulation of cell membrane permeability, hormone and steroid incretion during prolonged stress of various origins, infectious lesions, inflammatory processes and disturbances in the enzymatic properties of cells, as a rule, become pathological, which leads to the disruption of various organs and tissues functioning [11, 17].

The antioxidant defense system is responsible for the balance in the course of free radical reactions in the body. It has a multi-level multicomponent structure consisting of enzymatic and non-enzymatic links that control the level of molecular products, active oxygen forms [3, 13, 15].

Hence the importance of the physiological course of reactions in the antioxidant defense system, since it regulates the intensity of oxidation-reduction reactions in cellular organelles that directly affects the level of intensity and duration of the pathological process in the mammary gland of cows, especially in high yielding animals [1, 2].

In this regard, it remains relevant to study the processes of free radical oxidation of lipids and the antioxidant defense system in case of mastitis occurrence in high yielding cows in different physiological periods of their exploitation.

Research objective. To study the system of free radical oxidation of lipids and antioxidant defense in case of bovine mastitis in cow drying off and postpartum periods.

MATERIAL AND METHODS

For the research, 3 groups of animals were formed: clinically healthy (n = 10), sick with subclinical mastitis (n = 10) and clinically expressed catarrhal mastitis (n = 10), being at different technological periods (postpartum period, 100—120 days of lactation and cow drying off). Blood samples were taken from all animals to study the indicators of the free radical oxidation of lipids and antioxidant defense system.

The indicators of the LPO-AOD system were determined according to the Methodological Provisions for the Study of Free Radical Oxidation Processes and the Antioxidant Defense System of the Body (M. I. Retskiy et al.). — Voronezh, 2010 [5].

The amount of malondialdehyde (MDA) was determined by the reaction with 2-thiobarbituric acid to form a stained trimetypic complex (TMC) with an absorption maximum of 532 nm. The index of endogenous intoxication (IEI) was calculated based on the spectral characteristics of the supernatant after the blood plasma was freed from high-molecular peptides and proteins using 10 % trichloroacetic acid solution [2, 5].

The activity of the enzymatic and non-enzymatic links of antioxidant defense was assessed by studying the activity of catalase based on the ability of hydrogen peroxide to form a stable stained complex with ammonium molybdate, and the activity of glutathione peroxidase (GPx) based on the decrease in the amount of reduced glutathione (hydrogen donor) in the incubation medium during the reduction of hydroperoxides by glutathione peroxidase. The state of the non-enzymatic link was assessed based on the content of vitamins A, E and C in the blood serum. Vitamin A was determined based on alkaline hydrolysis and extraction of the vitamin from the blood serum and measurements before and after its destruction by ultraviolet light. Vitamin E was determined based on the determination of divalent iron ions formed during the interaction of α-tocopherol with ferric chloride (Fe^{3+}) in the form of a stained complex of Fe^{2+} with phenanthroline. Vitamin C was determined based on the reduction of trivalent iron to divalent iron with the formation of a stained complex with α, α′-dipyridyl [2, 5].

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

The conducted studies have established (Table 1) that in clinically healthy cows during the cow drying off period, the processes of free radical oxidation of lipids are more intense, in comparison with the cows in mid-lactation, this is characterized by an increased content of malondialdehyde in the blood — by 17.7 % ($P < 0.05$), medium molecular peptides — by 19.6 % ($P < 0.05$), the index of endogenous intoxication — by 19.7 % ($P < 0.05$), with a decrease in catalase activity by 16.0 % ($P < 0.05$), glutathione peroxidase — by 16.7 % ($P < 0.05$), the concentration of vitamin A — by 20.0 %, ($P < 0.05$) and vitamin C — by 14.1 %.

Table 1

Indicators of the LPO-AOD system in clinically healthy cows in different periods of lactation

Indicators, units of measurement	Early postpartum period	100—120 days of lactation	Cow drying off period (n = 5)
1	2	3	4
MDA, μM/L	3.73 ± 0.22**	3.1 ± 0.2	3.65 ± 0.04*
MMP, c. u.	0.642 ± 0.024**	0.505 ± 0.113	0.604 ± 0.015*
IEI	17.59 ± 0.3*	15.03 ± 0.26	17.99 ± 0.66*
Catalase, μM H_2O_2/L·min·10^3	37.87 ± 0.50*	45.73 ± 0.21	39.4 ± 0.4*

Table 1 (the end)

1	2	3	4
GPx, μM GSH/L·min·10^3	40.23 ± 1.12*	47.9 ± 0.4	39.92 ± 0.69*
Vitamin A, μM/L	1.4 ± 0.04*	1.8 ± 0.3	1.44 ± 0.07*
Vitamin E, μM/L	12.1 ± 0.8*	14.1 ± 0.5	12.9 ± 0.8
Vitamin C, μM/L	19.5 ± 0.8*	23.3 ± 1.4	20.0 ± 0.4

* $P < 0.05$
** $P < 0.01$
*** $P < 0.001$ — degree of reliability in the groups of the early postpartum and the cow drying off periods in relation to the mid-lactation period

After calving, clinically healthy cows continue to experience an increase in free radical lipid oxidation processes, which were also characterized by an increase in malondialdehyde in the blood — by 20.3 % ($P < 0.01$), medium molecular peptides — by 27.1 % ($P < 0.01$), index of endogenous intoxication — by 17.0 % ($P < 0.05$). During this period, the activity of enzymatic defense continues to decrease, which is expressed in a decrease in the activity of catalase — by 20.7 % ($P < 0.05$), glutathione peroxidase — by 19.1 % ($P < 0.05$), as well as the indicators of the non-enzymatic link of antioxidant defense: vitamin A — by 22.2 % ($P < 0.05$), vitamin E — by 14.2 % ($P < 0.05$) and vitamin C — by 16.3 % ($P < 0.05$).

Taking into account the results of the conducted studies, it can be stated that the most difficult period in the technological cycle of dairy cows in relation to metabolic processes in general, and the antioxidant defense system in particular, are the first days of lactation and the cow drying off period.

It is with the involution of the mammary gland, the beginning of milk flow and the associated violation of internal homeostasis in the body of cows that the changes in the qualitative and quantitative indicators of free radical oxidation can occur. At the same time, with the increase in the terms of pregnancy and the end of lactation, an intensification of peroxidation and a decrease in the antioxidant defense are also noted [4, 9].

The identified changes in the LPO-AOD system in the cows studied may indicate that during the cow drying off period and in the period after calving, the oxidative stress associated with neuroendocrine restructuring and the development of maximum stress of metabolic processes in the animal's body develops in cows [1, 10].

The incidence of subclinical mastitis in cows during the cow drying off period was accompanied (Table 2) by an intensification of lipid peroxidation reactions, compared to mid-lactation cows, which was expressed in a higher content of malondialdehyde in the blood — by 42.5 % ($P < 0.01$), medium molecular peptides — by 32.6 % ($P < 0.01$), index of endogenous intoxication — by 47.9 % ($P < 0.001$), in case of a lower catalase activity by 26.2 % ($P < 0.05$), glutathione peroxidase — by 25.4 % ($P < 0.05$), vitamin E content — by 20.0 % ($P < 0.01$) and vitamin C — by 14.9 % ($P < 0.05$).

In the early postpartum period, cows with subclinical mastitis showed the same changes as those in mid-lactation cows, but they were more pronounced. Thus, in the blood of these animals, malondialdehyde was increased by 40.3 % ($P < 0.001$), medium molecular peptides — by 32.9 % ($P < 0.01$), index of endogenous intoxication — by 40.3 % ($P < 0.001$), with a decrease in catalase activity by 23.1 % ($P < 0.05$), glutathione peroxidase — by 26.7 % ($P < 0.05$), vitamin E — by 33.5 % ($P < 0.01$) and vitamin C — by 22.3 % ($P < 0.05$).

When studying homeostasis of cows with catarrhal mastitis in different periods of lactation (Table 3), changes in the LPO-AOD system were also more pronounced during the cow drying off period, compared to the cows in mid-lactation. Thus, these animals had a higher content of malondialdehyde in the blood — by 48.2 % ($P < 0.001$), medium molecular peptides — by 33.0 % ($P < 0.01$), index of endogenous intoxication — by 61.4 % ($P < 0.001$), with a decrease in catalase activity by 25.7 % ($P < 0.05$), glutathione peroxidase — by 28.8 % ($P < 0.05$), vitamin E content — by 26.7 % ($P < 0.05$), vitamins A and C — up to 0.96 and 17.4 μM/L, respectively.

Table 2

Indicators of the LPO-AOD system in cows with subclinical mastitis in different periods of lactation

Indicators, units of measurement	Early postpartum period	100—120 days of lactation	Cow drying off period
MDA, μM/L	5.18 ± 0.21***	3.69 ± 0.11	5.26 ± 0.19**
MMP, c. u.	0.852 ± 0.036**	0.641 ± 0.026	0.850 ± 0.017**
IEI	27.57 ± 0.77***	18.01 ± 0.56	26.64 ± 0.58***
Catalase, μM H_2O_2/L·min·10^3	29.69 ± 0.3*	38.60 ± 0.75	30.58 ± 0.31*
GPx, μM GSH/L·min·10^3	30.97 ± 0.34*	39.25 ± 0.32	31.30 ± 0.57*
Vitamin A, μM/L	1.16 ± 0.05	1.3 ± 0.04	1.2 ± 0.04
Vitamin E, μM/L	10.3 ± 0.2**	15.5 ± 0.6	12.4 ± 0.4**
Vitamin C, μM/L	16.7 ± 0.6*	21.5 ± 0.3	18.3 ± 0.7*

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$

*** $P < 0.001$ — degree of reliability in the groups of the early postpartum and the cow drying off periods in relation to the mid-lactation period

In the early postpartum period, cows with clinically expressed catarrhal mastitis showed a higher content of malondialdehyde — by 50.0 % ($P < 0.02$), medium molecular peptides — by 37.1 % ($P < 0.01$), index of endogenous intoxication — by 55.6 % ($P < 0.001$), with a decrease in catalase by 29.3 % ($P < 0.05$), glutathione peroxidase — by 26.3 % ($P < 0.05$), vitamin A — by 30.4 % ($P < 0.05$), vitamin E and vitamin C — by 36.5 and 38.4 % ($P < 0.05$), respectively.

Table 3

Indicators of the LPO-AOD system in cows with catarrhal mastitis in different periods of lactation

Indicators, units of measurement	Early postpartum period ($n = 5$)	100—120 days of lactation ($n = 5$)	Cow drying off period ($n = 5$)
MDA, μM/L	8,67 ± 0,2**	5,78 ± 0,15	8,57 ± 0,14***
MMP, c. u.	0,964 ± 0,01**	0,703 ± 0,06	0,935 ± 0,02**
IEI	38,6 ± 1,3***	24,8 ± 0,4	40,04 ± 1,04***
Catalase, μM H_2O_2/L·min·10^3	22,35 ± 0,45*	31,64 ± 0,9	23,5 ± 1,2*
GPx, μM GSH/L·min·10^3	28,66 ± 0,91	38,92 ± 0,66	30,2 ± 0,9*
Vitamin A, μM/L	0,92 ± 0,05*	1,2 ± 0,01	0,96 ± 0,02*
Vitamin E, μM/L	10,4 ± 0,2*	14,2 ± 0,2	11,2 ± 0,1*
Vitamin C, μM/L	13,8 ± 0,2*	19,1 ± 0,2	17,4 ± 0,4

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$

*** $P < 0.001$ — degree of reliability in the groups of the early postpartum and the cow drying off periods in relation to the mid-lactation period

It is generally recognized that the development of the inflammatory process in the mammary gland during all periods of lactation is associated with its infection with associations of various pathogenic and opportunistic microorganisms: Staph. aureus, Str. agalactiae, E. Coli, Corynebacterium and many others, often in combination with Candida, Mucor, Aspergilus fungi. The toxins of these bacteria and fungi have a damaging effect on the tissues and immunocompetent cells of the mammary gland and form the development of an inflammatory process with typical signs of alteration, exudation and proliferation. The critical mechanism that creates objective prerequisites for the activation of the vital activity of microflora is the state of antioxidant defense of animals and the intensity of lipid peroxidation processes at the final stage of pregnancy, during calving and in the early postpartum period. It is during these physiological periods of reproduction that the animal organism is in a state of high stress. Under these conditions, the balance of the natural constant existence and interaction of macro- and microorganisms is inevitably disturbed and tends to increase the pathogenic effect of infectious agents [6, 9].

The reason for the increase in peroxidation products in the body of cows with mastitis is considered to be both an increase in the generation of active forms of oxygen metabolites and insufficient efficacy of antioxidant defense. A decrease in the antioxidant system indicates the depletion of the reserves of the enzymatic and non-enzymatic links [2, 8].

The data we obtained are consistent with the studies of many scientists who believe that one of the reasons for the more severe course of inflammatory processes during critical periods of life of productive animals is the activation of free radical oxidation, the development of oxidative stress and free radical pathology against the background of unbalanced changes in the generation of nitric oxide and the glutathione link of antioxidant defense and attribute them to one of the main mechanisms leading to disruption of the reproductive function and the morbidity of high yielding cows with mastitis [7, 14].

CONCLUSION

The development of both latent and clinically expressed inflammation in the mammary gland of high yielding cows in the final period of lactation and in the period after calving occurs against the background of depletion of the resources of the antioxidant defense system, which is expressed in a decrease in the level of its indicators. Complication of the inflammatory process in cows in these periods occurs due to the development of stress in metabolic processes, in connection with the development of pregnancy, the end of lactation and subsequent involution in the mammary gland, as well as in the entire body of the calved cow. These changes require a colossal amount of energy, which in turn leads to an increase in the level of endogenous intoxication due to an increase in lipid peroxidation products.

REFERENCES

1. *Ventsova I. Yu.* Antioxidant status indicators in high yielding cows in the dynamics of the dry and postpartum periods / I. Yu. Ventsova // Doklady Rossiyskoy akademii selskokhozyaystvennykh nauk (Reports of the Russian Academy of Agricultural Sciences). — 2012. — No. 4. — P. 46—48. — EDN OZEGMD.

2. *Zimnikov V. I.* Oxidant and antioxidant status of cows in the treatment of mastitis using the drug "AMSF" / V. I. Zimnikov, N. T. Klimov, O. B. Pavlenko, L. V. Cheskidova, T. G. Ermolova // Uchenye zapiski UO VGAVM (Transactions of EE VSAVM). — 2021. — Vol. 57. — issue. 3. — P. 82—85. — doi: 10.52368/2078-0109-2021-57-3-82-85

3. *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 No. 3 (20) 2022 P 82—91 DOI: 10.17238/issn2541-8203.2022.3.82

4. *Kireev I. V.* Antioxidant status of high yielding cows in different periods of exploitation / I. V. Kireev, V. A. Orobets, B. V. Pyanov // Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N. E. Baumana (Transactions of Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman). — 2022. — Vol. 252, No. 4. — P. 117—121. — DOI 10.31588/2413_4201_1883_4_252_117. — EDN JOJCAL

5. Methodological 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, T. E. Rogacheva, T. G. Ermolova, O. Yu. Fomenko, E. V. Bratchenko, V. Yu. Dubovtsev, N. N. Kaverin, O. I. Tsebrzhinskiy. — Voronezh, VNIVIPFIT (ARVRIP-P&T), 2010. — 70 p.

6. *Nezhdanov A. G.* Pathogenetic and clinical substantiation of rational methods of pharmacoprophylaxis of postpartum uterine inflammatory diseases in dairy cows / A. G. Nezhdanov, V. N. Skorikov, V. I. Mikhalev, V. A. Safonov, K. A. Lobodin // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii (Normative-legal regulatory issues in veterinary medicine). — 2019. — No. 3. — P. 110—115.

7. *Safonov V. A.* Free radical oxidation of lipids and reproductive health of cows / V. A. Safonov, A. G. Nezhdanov, M. I. Retskiy, S. V. Shabunin, G. N. Bliznetsova //

Selskokhozyaystvennaya biologiya (Agricultural Biology), 2014, No. 6, P. 107—115.

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

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

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

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

12. *Chen Y.* Vitexin mitigates Staphylococcus aureus-induced mastitis via regulation of ROS/ER stress/NF-κB/MAPK pathway / Y. Chen, J. Yang, Z. Huang, B. Yin, T. Umar, C. Yang, X. Zhang, H. Jing, S. Guo, M. Guo, G. Deng, C. Qiu // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. — 2022. — v. 2022. — p. 7977433. — doi: 10.1155/2022/7977433

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

14. *Dizdaroglu M.* Mechanisms of free radical-induced damage to DNA / M. Dizdaroglu, P. Jaruga // Free radical research. — 2012. — v. 46 (4). — p. 382—419. — doi: 10.3109/10715762.2011.653969

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

16. *Kienhöfer D.* Reactive oxygen homeostasis — the balance for preventing autoimmunity / D. Kienhöfer, S. Boeltz, M. H. Hoffmann // Lupus. — 2016. — v. 25 (8). — p. 943—954. — doi: 10.1177/0961203316640919

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

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

V. I. Zimnikov — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;
O. B. Pavlenko — Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Chief Scientific Associate;
O. V. Fenich — Senior Lecturer of the Department of Anatomy, Physiology, Obstetrics and Surgery of Animals;
D. I. Shabanov — Scientific Associate of the Laboratory of Preclinical Studies and Simulation of Biological Systems.

The article was submitted 23.07.2025.

Научная статья
УДК 619:615.2/.3:616-056.54:636.2-053.2
DOI: 000

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ С ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ НА СИСТЕМУ ПОЛ-АОЗ У ТЕЛЯТ-ГИПОТРОФИКОВ С КОМОРБИДНЫМИ ПАТОЛОГИЯМИ

Дмитрий Александрович Саврасов[*]✉, Галина Анатольевна Востроилова[**]

[*]Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I, Воронеж, Россия, dmitrij-savrasov@yandex.ru✉
[**]Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия

Аннотация. В статье представлены результаты изучения влияния препаратов из гидрофильной криофракции селезёнки КРС и бычьих рекомбинантных α- и γ-интерферонов на показатели системы ПОЛ-АОЗ у телят-гипотрофиков с коморбидной патологией. Были сформированы четыре группы больных животных с коморбидной патологией (гипотрофия, анемия, иммунодефицит) и одна группа клинически здоровых телят-нормотрофиков (по $n = 6$). Телятам 1-й группы после рождения двукратно с интервалом 48 часов подкожно вводили препарат из гидрофильной криофракции селезёнки КРС в дозе 0,1 мл на 1 кг массы тела; 2-й группы — аналогично применяли препарат α- и γ-интерферона бычьего рекомбинантного в дозе 0,1 мл на 1 кг; 3-й группы — вводили комплексный препарат из гидрофильной криофракции селезёнки КРС и бычьих рекомбинантных α- и γ-интерферонов в дозе 0,1 мл на 1 кг; телятам-гипотрофикам 4-й группы (контроль) и здоровым животным 5-й группы препараты не применяли. От всех подопытных телят была взята кровь для проведения исследований в 1-е, 7-е и 30-е сутки жизни. У телят-гипотрофиков с коморбидными патологиями было установлено увеличение показателей перекисного окисления липидов: малонового диальдегида, диенового конъюгата и кетодиенов по сравнению с клинически здоровыми животными, регистрировали уменьшение активности ферментативного звена антиоксидантной защиты: каталазы, глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы. В результате проведения фармакокоррекции с помощью препаратов с иммуномодулирующими свойствами на седьмой день исследований произошла активизация системы АОЗ, что отразилось на снижении продуктов ПОЛ. В течение опыта показатели антиоксидантного гомеостаза находились в пределах физиологических границ, свойственных клинически здоровым животным, однако при применении комплексного препарата, содержащего гидрофильную криофракцию селезёнки КРС и бычьи рекомбинантные α- и γ-интерфероны, изменения носили более выраженный и устойчивый характер.

Ключевые слова: телята, коморбидность, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, гидрофильная криофракция селезёнки КРС, бычьи рекомбинантные α- и γ-интерфероны

Процессы свободнорадикального окисления липидов и белков, функциональное состояние системы антиоксидантной защиты имеют важное значение в осуществлении защитно-приспособительных реакций организма животных в период постнатальной адаптации, при действии стресс-факторов различной природы, развитии патологических состояний различной этиологии [1, 2].

Ранний постнатальный период развития клинически здоровых телят сопровождается явлениями окислительного стресса, которые выражаются в смещении оксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону интенсификации свободнорадикального окисления липидов и белков, причем, в первую очередь окислительной модификации подвергаются белки. Увеличение синтеза глюкокортикоидов и снижение минералокортикоидов и инсулина характерно для хронической стрессовой реакции. При этом быстро расходуются углеводы, а для энергетического обеспечения механиз-

мов долговременной адаптации более активно используются липиды [4].

У новорождённых телят-гипотрофиков с более выраженными явлениями оксидативного стресса затруднен пассивный перенос в кишечнике колостральных иммуноглобулинов, а всосавшиеся иммуноглобулины подвергаются окислительной модификации, что нарушает их функцию в обеспечении противоинфекционной защиты и усугубляет развитие вторичного иммунодефицита [3, 5, 6]. В связи с этим, при фармакокоррекции коморбидных состояний у таких животных рекомендуется использовать препараты разных фармакологических групп, обладающих иммуномодулирующими, антиоксидантными и другими биологически активными свойствами.

Целью исследования было изучение влияния препаратов с иммуномодулирующими свойствами на состояние системы ПОЛ-АОЗ у телят-гипотрофиков с коморбидной патологией.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для изучения эффективности фармакокоррекции с помощью препаратов с иммуномодулирующими свойствами были подобраны четыре группы телят-гипотрофиков с коморбидной патологией (анемия, иммунодефицит) и одна группа клинически здоровых животных (нормотрофики). В первые и третьи сутки жизни телятам 1-й группы вводили гидрофильную криофракцию селезёнки КРС подкожно в дозе 0,1 мл на 1 кг массы тела; 2-й группы — аналогично интерфероны α и γ бычьи рекомбинантные в дозе 0,1 мл на 1 кг массы тела; 3-й группы — комплексный препарат, включающий гидрофильную криофракцию селезёнки КРС и интерфероны α и γ бычьи рекомбинантные, в дозе 0,1 мл на 1 кг массы животного; телятам-гипотрофикам 4-й группы (контроль) и здоровым животным 5-й группы препараты не применяли.

У телят брали кровь из ярёмной вены на первые, седьмые и тридцатые сутки жизни. Концентрацию в крови животных малонового диальдегида (МДА), кетодиенов (КД) и диеновых конъюгатов (ДК), активность каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО) и супероксиддисмутазы (СОД) определяли в соответствии с «Методическими положениями по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма» [2]. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Statistica 6.0, оценку достоверности по критерию Стьюдента (при $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

У телят-гипотрофиков с коморбидными патологиями была проведена оценка изменений показателей системы ПОЛ-АОЗ до и после проведения фармакокоррекции (табл. 1).

Таблица 1

Показатели системы ПОЛ-АОЗ у телят-гипотрофиков с коморбидными патологиями при фармакокоррекции

Показатели	Группы животных				
	1	2	3	4	5
1	2	3	4	5	6
Через сутки после рождения					
МДА, мкМ/л	3,21 ± 0,08*				1,85 ± 0,03
ДК, ед. опт. пл./мг липидов	0,294 ± 0,01*				0,199 ± 0,02
КД, ед. опт. пл./мг липидов	0,079 ± 0,01*				0,049 ± 0,01
Каталаза, мкМ H_2O_2/л·мин·10^3	41,30 ± 0,93*				49,22 ± 0,47
ГПО, мкМ G-SH/ л·мин·10^3	7,50 ± 0,06*				13,70 ± 0,17

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6
СОД, у. е.	1,27 ± 0,02*				1,61 ± 0,03
7 суток					
МДА, мкМ/л	1,74 ± 0,06▲	2,08 ± 0,07*▲	1,88 ± 0,09▲	2,55 ± 0,11*	1,79 ± 0,07
ДК, ед. опт. пл./мг липидов	0,168 ± 0,01▲	0,188 ± 0,03	0,171 ± 0,01▲	0,281 ± 0,04*	0,170 ± 0,02
КД, ед. опт. пл./мг липидов	0,036 ± 0,001▲	0,044 ± 0,01▲	0,040 ± 0,01▲	0,071 ± 0,001*	0,037 ± 0,004
Каталаза, мкМ H_2O_2/л·мин·10^3	49,11 ± 0,60▲	46,92 ± 0,50▲	48,0 ± 0,42▲	41,90 ± 0,51*	48,70 ± 0,80
ГПО, мкМ G-SH/ л·мин·10^3	12,0 ± 0,44▲	10,10 ± 0,36*▲	12,80 ± 0,37▲	7,89 ± 0,48*	12,95 ± 0,55
СОД, у. е.	1,89 ± 0,03▲	1,59 ± 0,03▲	1,90 ± 0,03▲	1,49 ± 0,06*	1,91 ± 0,02
30 суток					
МДА, мкМ/л	1,70 ± 0,03▲	1,49 ± 0,07▲	1,59 ± 0,04▲	2,44 ± 0,06*	1,61 ± 0,04
ДК, ед. опт. пл./мг липидов	0,157 ± 0,03	0,161 ± 0,03	0,149 ± 0,01▲	0,221 ± 0,03	0,166 ± 0,02
КД, ед. опт. пл./мг липидов	0,035 ± 0,001▲	0,043 ± 0,001▲	0,036 ± 0,002▲	0,069 ± 0,001*	0,039 ± 0,002
Каталаза, мкМ H_2O_2/л·мин·10^3	50,19 ± 1,20*▲	42,60 ± 2,00▲	44,21 ± 0,88▲	33,27 ± 0,87*	43,10 ± 0,44
ГПО, мкМ G-SH/ л·мин·10^3	13,17 ± 0,49▲	11,0 ± 0,22▲	12,70 ± 0,53▲	9,70 ± 0,77*	13,24 ± 0,49
СОД, у. е.	1,90 ± 0,04▲	1,67 ± 0,03*▲	1,98 ± 0,04▲	1,39 ± 0,03*	1,89 ± 0,04

* $p < 0,05$—0,0001 относительно показателей у телят-нормотрофиков

▲ $p < 0,01$—0,0001 относительно показателей у гипотрофиков контрольной группы

У физиологически незрелых телят с коморбидными патологиями по сравнению с нормотрофиками установлено увеличение концентрации МДА, ДК, КД на 73,5, 47,7 и 61,2 % соответственно, что свидетельствует об усилении процессов свободнорадикального окисления липидов в их организме в ранний неонатальный период. Также у гипотрофиков по сравнению со здоровыми животными регистрировали снижение активности ферментативного звена антиоксидантной защиты: каталаза была ниже 16,1 %, ГПО — на 45,3 %, СОД — на 21,1 %, что указывает на развитие в их организме оксидативного стресса и обосновывает необходимость применения препаратов, нормализующих про- и антиоксидантный баланс.

После фармакокоррекции у телят 1-й, 2-й и 3-й опытных групп по сравнению с гипотрофиками 4-й группы на седьмые сутки установлено снижение концентрации ДК — на 40,2, 33,1 и 39,1 %, КД — на 49,3, 38,0 и 43,7 %, МДА — на 31,8, 18,4 и 26,3 % соответственно. К концу опыта у животных наблюдали дальнейшую динамику уменьшения исследуемых показателей: ДК — на 29,0, 27,1 и 32,6 %, КД — на 49,3, 37,7 и 47,8 %, МДА — на 30,3, 38,9 и 34,8 % соответственно, которые достигали границ нормы клинически здоровых живот-

ных. При этом у физиологически незрелых телят, которым препараты не применяли, уровень продуктов ПОЛ оставался высоким на всем протяжении эксперимента.

Для телят-гипотрофиков с коморбидными патологиями характерна низкая по сравнению с нормотрофиками активность ферментативного звена антиоксидантной защиты. Так, активность ГПО в организме животных, которым не применяли препараты, была достоверно ниже нормы в течение опыта на 39,1 и 26,7 %. В то же время к седьмому дню исследований в 1-й, 2-й и 3-й опытных группах активность селеносодержащего фермента возрастала на 52,1, 28,0 и 62,2 % соответственно, а к тридцатому дню превосходила данный показатель у телят-гипотрофиков контрольной группы на 35,8, 11,4 и 30,9 % соответственно.

Активность СОД у здоровых животных достоверно повышалась на седьмые сутки исследований на 18,6 % и оставалась на этом уровне до конца опыта. На седьмые сутки наблюдений у телят 1-й, 2-й и 3-й опытных групп происходило увеличение активности СОД относительно аналогичных показателей гипотрофиков четвёртой группы на 26,8, 6,7 и 27,5 % соответственно, а на тридцатые сутки — на 36,7, 20,1 и 42,4 % соответственно. При этом в контрольной группе телят-гипотрофиков по сравнению с клинически здоровыми телятами зарегистрирована более низкая активность СОД во все сроки исследования: на седьмые сутки — на 22,0 % и на тридцатые сутки — на 26,5 %.

Было установлено синхронное изменение активности СОД и каталазы, которая препятствует избыточному накоплению в клетках пероксида водорода посредством его разложения. Так, к седьмому дню активность каталазы у животных 1-й, 2-й и 3-й опытных групп превышала показатель у телят-гипотрофиков с коморбидными патологиями контрольной группы на 17,2, 12,0 и на 14,6 %, а на тридцатый день — на 50,9, 28,0 и 32,9 % соответственно. При этом в организме телят четвёртой группы в эти сроки активность фермента была достоверно ниже значений здоровых животных на 14,0 и 22,8 % соответственно.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у телят к месячному возрасту происходит снижение продуктов ПОЛ. В первые сутки после рождения у них усилены свободно-радикальные реакции, что обусловлено изменением кислородного режима и перестройкой метаболизма в связи с переходом в новую среду обитания и на лёгочный тип дыхания. В дальнейшем в организме здоровых животных происходит физиологическое снижение процессов перекисного окисления липидов [1]. Однако у телят телят-гипотрофиков с коморбидными патологиями (анемия, иммунодефицит) в первые сутки жизни наблюдали развитие оксидативного стресса на фоне пониженной активности системы антиоксидантной защиты.

Несмотря на то, что интенсивность процессов перекисного окисления липидов в течение эксперимента у телят-гипотрофиков, которым не проводили фармакокоррекцию, постепенно снижалась, уровень свободнорадикальных процессов был высок в связи с недостаточностью системы АОЗ, о чём свидетельствует низкая активность ферментативного звена.

Применение препаратов с иммуномодулирующими свойствами способствовало ограничению свободнорадикального окисления и обеспечило оптимальное протекание перестройки метаболических процессов в организме телят с коморбидными патологиями. Более выраженное увеличение активности АОЗ регистрировали у телят 1-й и 3-й групп уже на седьмой день исследований, что, по-видимому связано с действием гидрофильной криофракции селезёнки КРС. Стоит отметить, что использование комплексного препарата оказало более длительное действие и на тридцатые сутки показатели ПОЛ-АОЗ находились в пределах физиологических границ, свойственных клинически здоровым животным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение препаратов с иммуномодулирующими свойствами при фармакокоррекции коморбидной патологии у телят-гипотрофиков снижает степень эндогенной интоксикации и способствует активизации антиоксидантного статуса. Введение телятам препарата, содержащего гидрофильную криофракцию селезёнки КРС и интерфероны α и γ бычьи рекомбинантные, в дозе 0,1 мл/кг двукратно с интервалом 48 часов обеспечивает восстановление системы антиоксидантной защиты на 7-е сутки исследований, нормализацию и поддержание интенсивности процессов свободнорадикального окисления на физиологическом уровне в течение всего эксперимента.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Комплексная терапия при гипотрофии телят / Е. В. Кузьминова, М. П. Семененко, О. Н. Тюпенькова, Т. А. Шах-Меликьян // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственно-

го аграрного университета. — 2011. — № 70. — С. 814—823.

2. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М. И. Рецкий, С. В. Шабунин, Г. Н. Близнецова [и др.]. — Воронеж: Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук, 2010. — 70 с.

3. Методическое пособие по диагностике и профилактике нарушений антенатального и интранатального происхождения у телят / А. Г. Шахов, Ю. Н. Алехин, С. В. Шабунин, Л. Ю. Сашнина [и др.]. — Воронеж: Истоки, 2013. — 92 с.

4. Методические рекомендации по оптимизации формирования колострального иммунитета у новорожденных животных / А. Г. Шахов, С. В. Шабунин, М. И. Рецкий, А. И. Золотарёв [и др.]. — Воронеж. — 2009. — 41 с.

5. *Неудахин Е. В.* Углубление представлений о некоторых механизмах формирования хронического стресса / Е. В. Неудахин, И. Г. Морено // Вопросы практической педиатрии. — 2016. — Т. 11, № 5. — С. 28—37.

6. *Рецкий М. И.* Метаболические адаптации телят в ранний постнатальный период / М. И. Рецкий, Г. Н. Близнецова, С. В. Шабунин. — Воронеж: Воронежский государственный университет, 2010. — 228 с.

7. Формирование кишечного микробиоценоза у телят с синдромом гипотрофии в молочный период / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, Д. В. Федосов, Т. А. Ерина [и др.]. // Сельскохозяйственная биология. — 2014. — № 2. — С. 105—111.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Д. А. Саврасов — кандидат ветеринарных наук, доцент, заведующий кафедрой терапии и фармакологии;
Г. А. Востроилова — доктор биологических наук, главный научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 09.07.2025.

Original article
UDC 619:615.2/.3:616-056.54:636.2-053.2

EFFECT OF PREPARATIONS WITH IMMUNOMODULATORY PROPERTIES ON THE LPO-AOD SYSTEM IN HYPOTROPHIC CALVES WITH COMORBID PATHOLOGIES

Dmitriy Aleksandrovich Savrasov[*]✉, Galina Anatolyevna Vostroilova[**]

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

Abstract. The article presents the results of studying the effect of preparations from hydrophilic cryofraction of bovine spleen and recombinant bovine interferons -α and –γ on the indicators of the LPO-AOD system in hypotrophic calves with comorbid pathology. Four groups of sick animals with comorbid pathology (hypotrophy, anemia, immunodeficiency) and one group of clinically healthy normotrophic calves (n = 6 each) were formed. The calves of group 1 were injected subcutaneously with the preparation from hydrophilic cryofraction of bovine spleen twice after birth with an interval of 48 hours at a dose of 0.1 ml per 1 kg of body weight; group 2 — similarly used the preparation of recombinant bovine interferons -α and –γ at a dose of 0.1 ml per 1 kg; group 3 — a complex preparation containing hydrophilic cryofraction of bovine spleen and recombinant bovine interferons -α and -γ was administered at a dose of 0.1 ml per 1 kg; hypotrophic calves of group 4 (control) and healthy animals of group 5 were not administered the preparations. Blood was taken from all experimental calves for research on the 1st, 7th and 30th days of life. In hypotrophic calves with comorbid pathologies, there was found an increase in lipid peroxidation indicators (malondialdehyde, diene conjugate and ketodienes), compared to clinically healthy animals, there was recorded a decrease in the activity of the enzymatic link of antioxidant protection (catalase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase). As a result of pharmacocorrection using the preparations with immunomodulatory properties, on the 7th day of the study, the AOD system was activated, which was reflected in a decrease in the LPO products. During the experiment, the antioxidant homeostasis indicators were within the physiological limits characteristic of clinically healthy animals, but when using a complex preparation containing hydrophilic cryofraction of bovine spleen and recombinant bovine interferons -α and -γ, the changes were more pronounced and stable.

Keywords: calves, comorbidity, lipid peroxidation, antioxidant defense, hydrophilic cryofraction of bovine spleen, recombinant bovine interferons -α and -γ

The processes of free radical oxidation of lipids and proteins, the functional state of the antioxidant defense system are of great importance in the implementation of protective and adaptive reactions of the animal body during the period of postnatal adaptation, under the effect of stress factors of various origin, the development of pathological conditions of various etiologies [1, 2].

The early postnatal period of development of clinically healthy calves is accompanied by oxidative stress phenomena, which are expressed in a shift in the oxidant-antioxidant balance towards the intensification of free radical oxidation of lipids and proteins. The proteins are the first to undergo oxidative modification. An increase in the synthesis of glucocorticoids and a decrease in mineralocorticoids and insulin are characteristic of a chronic stress reaction. In this case, carbohydrates are quickly consumed, and lipids are more actively used to provide energy for the mechanisms of a long-term adaptation [4].

In newborn hypotrophic calves with more pronounced oxidative stress phenomena, passive transfer of colostrum immunoglobulins in the intestine is difficult, and absorbed immunoglobulins undergo oxidative modification, which disrupts their function in providing anti-infective protection and aggravates the development of secondary immunodeficiency [3, 5, 6]. In this regard, in case of pharmacocorrection of comorbid conditions in such animals, it is recommended to use preparations of different pharmacological groups

with immunomodulatory, antioxidant and other biologically active properties.

The research objective was to study the effect of preparations with immunomodulatory properties on the state of the LPO-AOD system in hypotrophic calves with comorbid pathology.

MATERIAL AND METHODS

To study the efficacy of pharmacocorrection using preparations with immunomodulatory properties, four groups of hypotrophic calves with comorbid pathology (anemia, immunodeficiency) and one group of clinically healthy animals (normotrophics) were selected.

On the first and third days of life, the calves of group 1 were injected with hydrophilic cryofraction of bovine spleen subcutaneously at a dose of 0.1 ml per 1 kg of body weight; group 2 — similarly, recombinant bovine interferons -α and -γ at a dose of 0.1 ml per 1 kg of body weight; group 3 — a complex preparation including hydrophilic cryofraction of bovine spleen and recombinant bovine interferons -α and -γ, at a dose of 0.1 ml per 1 kg of animal weight; the preparations were not administered to the hypotrophic calves of group 4 (control) and to the healthy animals of group 5.

Blood was taken from the jugular vein of calves on the first, seventh and thirtieth days of life. The concentration of malondialdehyde (MDA), ketodienes (KD) and diene conjugates (DC) in the blood of animals, the activity of catalase, glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) were determined in accordance with the Methodological Provisions for the Study of Free Radical Oxidation Processes and the Antioxidant Defense System of the Body [2]. Statistical processing of the obtained data was carried out using the Statistica 6.0 program, the reliability was assessed using the Student criterion (at $p < 0.05$).

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

In hypotrophic calves with comorbid pathologies, an assessment of changes in the LPO-AOD system indicators was carried out before and after pharmacocorrection (Table 1).

Table 1

Indicators of the LPO-AOD system in hypotrophic calves with comorbid pathologies in case of pharmacocorrection

Indicators	Groups of animals				
	1	2	3	4	5
1	2	3	4	5	6
One day after birth					
MDA, μM/L	3.21 ± 0.08*				1.85 ± 0.03
DC, units of OD/mg of lipids	0.294 ± 0.01*				0.199 ± 0.02
KD, units of OD/mg of lipids	0.079 ± 0.01*				0.049 ± 0.01
Catalase, μM H_2O_2/L·min·10^3	41.30 ± 0.93*				49.22 ± 0.47
GPx, μM G-SH/ L·min·10^3	7.50 ± 0.06*				13.70 ± 0.17
SOD, c. u.	1.27 ± 0.02*				1.61 ± 0.03
7 d					
MDA, μM/L	1.74 ± 0.06▲	2.08 ± 0.07*▲	1.88 ± 0.09▲	2.55 ± 0.11*	1.79 ± 0.07
DC, units of OD/mg of lipids	0.168 ± 0.01▲	0.188 ± 0.03	0.171 ± 0.01▲	0.281 ± 0.04*	0.170 ± 0.02
KD, units of OD/mg of lipids	0.036 ± 0.001▲	0.044 ± 0.01▲	0.040 ± 0.01▲	0.071 ± 0.001*	0.037 ± 0.004
Catalase, μM H_2O_2/L·min·10^3	49.11 ± 0.60▲	46.92 ± 0.50▲	48.0 ± 0.42▲	41.90 ± 0.51*	48.70 ± 0.80

Table 1 (the end)

1	2	3	4	5	6
GPx, μM G-SH/ L·min·10^3	12.0 ± 0.44▲	10.10 ± 0.36*▲	12.80 ± 0.37▲	7.89 ± 0.48*	12.95 ± 0.55
SOD, c. u.	1.89 ± 0.03▲	1.59 ± 0.03▲	1.90 ± 0.03▲	1.49 ± 0.06*	1.91 ± 0.02
30 d					
MDA, μM/L	1.70 ± 0.03▲	1.49 ± 0.07▲	1.59 ± 0.04▲	2.44 ± 0.06*	1.61 ± 0.04
DC, units of OD/mg of lipids	0.157 ± 0.03	0.161 ± 0.03	0.149 ± 0.01▲	0.221 ± 0.03	0.166 ± 0.02
KD, units of OD/mg of lipids	0.035 ± 0.001▲	0.043 ± 0.001▲	0.036 ± 0.002▲	0.069 ± 0.001*	0.039 ± 0.002
Catalase, μM H_2O_2/L·min·10^3	50.19 ± 1.20*▲	42.60 ± 2.00▲	44.21 ± 0.88▲	33.27 ± 0.87*	43.10 ± 0.44
GPx, μM G-SH/ L·min·10^3	13.17 ± 0.49▲	11.0 ± 0.22▲	12.70 ± 0.53▲	9.70 ± 0.77*	13.24 ± 0.49
SOD, c. u.	1.90 ± 0.04▲	1.67 ± 0.03*▲	1.98 ± 0.04▲	1.39 ± 0.03*	1.89 ± 0.04

* $p < 0.05$—0.0001 relative to the indicators in normotrophic calves
▲ $p < 0.01$—0.0001 relative to the indicators in the hypotrophic calves of the control group

In physiologically immature calves with comorbid pathologies, compared to normotrophic animals, an increase in the concentration of MDA, DC, KD by 73.5, 47.7 and 61.2 %, respectively, was found, which indicated an increase in the processes of free radical oxidation of lipids in their bodies in the early neonatal period. Also, in hypotrophic animals, compared to healthy animals, a decrease in the activity of the enzymatic link of antioxidant defense was recorded: catalase was lower than 16.1 %, GPx — by 45.3 %, SOD — by 21.1 %, which indicated the development of oxidative stress in their bodies and justified the need to use preparations that normalize the pro- and antioxidant balance.

After pharmacocorrection, in the calves of the experimental groups 1, 2 and 3, compared to the hypotrophic calves of group 4, on day 7, there was detected a decrease in the concentration of DC — by 40.2, 33.1 and 39.1 %, KD — by 49.3, 38.0 and 43.7 %, MDA — by 31.8, 18.4 and 26.3 %, respectively. By the end of the experiment, further dynamics of decrease in the studied indicators was observed in animals: DC — by 29.0, 27.1 and 32.6 %, KD — by 49.3, 37.7 and 47.8 %, MDA — by 30.3, 38.9 and 34.8 %, respectively, which reached the normal limits of clinically healthy animals. Moreover, in physiologically immature calves, which were not given the preparations, the level of lipid peroxidation products remained high throughout the experiment.

Hypotrophic calves with comorbid pathologies are characterized by low activity of the enzymatic link of antioxidant protection, compared to normotrophic calves. Thus, the GPx activity in the body of animals, which were not administered the preparations, was significantly lower than the norm during the experiment by 39.1 and 26.7 %. At the same time, by day 7 of the study in the experimental groups 1, 2 and 3, the activity of the selenium-containing enzyme increased by 52.1, 28.0 and 62.2 %, respectively, and by day 30 it exceeded this indicator in the hypotrophic calves of the control group by 35.8, 11.4 and 30.9 %, respectively.

The SOD activity in healthy animals significantly increased on day 7 of the study by 18.6 % and remained at this level until the end of the experiment. On day 7 of observation, the calves of the experimental groups 1, 2 and 3 showed an increase in the SOD activity relative to the hypotrophic calves of group 4 by 26.8, 6.7 and 27.5 %, respectively, and on day 30 — by 36.7, 20.1 and 42.4 %, respectively. At the same time, in the control group of hypotrophic calves, compared to clinically healthy calves, lower SOD activity was recorded at all study periods: on day 7 — by 22.0 % and on day 30 — by 26.5 %.

There has been established a synchronous change in the activity of SOD and catalase, which prevents excessive accumulation of hydrogen peroxide in cells by decomposing it. Thus, by day 7, the catalase activity

in the animals of the experimental groups 1, 2 and 3 exceeded the indicator in the hypotrophic calves with comorbid pathologies of the control group by 17.2, 12.0 and 14.6 %, and on day 30 — by 50.9, 28.0 and 32.9 %, respectively. At the same time, in the body of the calves of group 4 at this period, the enzyme activity was significantly lower than the values of healthy animals by 14.0 and 22.8 %, respectively.

The obtained data indicate that in calves by the age of one month, there is a decrease in lipid peroxidation products. In the first day after birth, their free-radical reactions are enhanced, which is caused by a change in the oxygen regime and the restructuring of metabolism due to the transition to a new habitat and to the pulmonary type of breathing. Subsequently, in the body of healthy animals, there is a physiological decrease in lipid peroxidation processes [1]. However, in hypotrophic calves with comorbid pathologies (anemia, immunodeficiency), depletion of the antioxidant defense system and the oxidative stress development were observed in the first day of life.

Despite the fact that the intensity of lipid peroxidation processes in the hypotrophic calves, which did not undergo pharmacocorrection, gradually decreased during the experiment, the level of free radical processes was high due to the insufficiency of the AOD system, as evidenced by the low activity of the enzymatic link.

The use of preparations with immunomodulatory properties helped to limit free radical oxidation and ensured the optimal course of the metabolic processes restructuring in the body of calves with comorbid pathologies. A more pronounced increase in the AOD activity was recorded in the calves of groups 1 and 3 on day 7 of the study, which was apparently due to the action of hydrophilic cryofraction of bovine spleen. It is worth noting that the use of a complex preparation had a longer effect, and on day 30, the LPO-AOD indicators were within the physiological limits characteristic of clinically healthy animals.

CONCLUSION

The use of preparations with immunomodulatory properties in the pharmacocorrection of comorbid pathology in hypotrophic calves reduces the degree of endogenous intoxication and promotes the activation of the antioxidant status. The administration of a preparation containing hydrophilic cryofraction of bovine spleen and recombinant bovine interferons -α and -γ to calves at a dose of 0.1 ml/kg twice with an interval of 48 hours ensures the restoration of the antioxidant defense system on day 7 of research, normalization and maintenance of the intensity of free radical oxidation processes at the physiological level throughout the experiment.

REFERENCES

1. Complex therapy for calf hypotrophy / E. V. Kuzminova, M. P. Semenenko, O. N. Tyupenkova, T. A. Shakh-Melikyan // Politematicheskiy setevoy elektronnyy nauchnyy zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Polythematic online electronic scientific journal of Kuban State Agrarian University). — 2011. — No. 70. — P. 814—823.

2. Methodological 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: State Scientific Institution All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the Russian Academy of Agricultural Sciences, 2010. — 70 p.

3. Methodological manual for diagnostics and prevention of disorders of antenatal and intranatal origin in calves / A. G. Shakhov, Yu.N. Alekhin, S. V. Shabunin, L. Yu. Sashnina [et al.]. — Voronezh: Istoki, 2013. — 92 p.

4. Methodological recommendations for optimization of colostral immunity formation in newborn animals / A. G. Shakhov, S. V. Shabunin, M. I. Retskiy, A. I. Zolotarev [et al.]. — Voronezh. — 2009. — 41 p.

5. *Neudakhin E. V.* Deepening the understanding of some mechanisms of chronic stress formation / E. V. Neudakhin, I. G. Moreno // Voprosy prakticheskoy pediatrii (Issues of practical pediatrics). — 2016. — V. 11, No. 5. — P. 28—37.

6. *Retskiy M. I.* Metabolic adaptations of calves in the early postnatal period / M. I. Retskiy, G. N. Bliznetsova, S. V. Shabunin. — Voronezh: Voronezh State University, 2010. — 228 p.

7. Formation of intestinal microbiocenosis in hypotrophic calves in the preweaning period / A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, D. V. Fedosov, T. A. Erina [et al.]. // Selskokhozyaystvennaya biologiya (Agricultural biology). — 2014. — No. 2. — P. 105—111.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

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

The article was submitted 09.07.2025.

Научная статья
УДК 636.2.053:577.21:612.017.1:615.37
DOI: 000

ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ДИНАМИКЕ У ТЕЛЯТ С КОМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ (ГИПОТРОФИЯ И ИММУНОДЕФИЦИТ) ПОСЛЕ ПРОВЕДЕННОЙ ФАРМАКОКОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТОМ НА ОСНОВЕ ВИДОСПЕЦИФИЧНЫХ ИНТЕРФЕРОНОВ «ПРОАУТОВАК»

Евгений Сергеевич Животов✉, Николай Алексеевич Стрельников, Татьяна Игоревна Ермакова

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, pakmen15@mail.ru✉

Аннотация. В статье представлены результаты проведенных исследований по оценке относительного уровня экспрессии генов ИЛ-2, ИЛ-10, ИЛ-1β, ИФН-α, ИФН-γ в динамике у телят с коморбидной патологией (гипотрофия и иммунодефицит) после проведенной фармакокоррекции препаратом на основе видоспецифичных интерферонов «Проаутовак». По итогам исследования уровень экспрессии ИЛ-2 на 24-е сутки снизился в 4,1 раза, ИЛ-1β в 2,2 раза, ИЛ-10 повысился на 20,0 %, а ИФН-α и ИФН-γ, после кратного повышения экспрессии, к концу фармакокоррекции были близки к значениям здоровых телят. Препарат «Проаутовак» обладает более сбалансированным действием, обеспечивает адекватную стимуляцию иммунной системы и эффективную противовоспалительную активность у телят с коморбидными патологиями.
Ключевые слова: ИЛ-2, ИЛ-10, ИЛ-1 β, ИФН-α, ИФН-γ, экспрессия, Проаутовак, телята, коморбидная патология, гипотрофия, иммунодефицит

ВВЕДЕНИЕ

Коморбидные патологии у телят представляют собой сочетание нескольких заболеваний, которые возникают одновременно и взаимно отягощают друг друга. Наиболее часто встречающимися являются гипотрофия, анемия и иммунодефицит. Основными причинами их возникновения являются неблагоприятные условия внутриутробного развития, недостаток питательных веществ в рационе, а также несоблюдение зоогигиенических норм содержания [3].

Иммунная система новорожденных телят является одной из самых слаборазвитых среди сельскохозяйственных животных. Это связано с тем, что у коров плацента имеет синдесмохориальную структуру, что предотвращает трансфер иммуноглобулинов (Ig) от матери к плоду. В результате телята рождаются практически без антител и не имеют сформированного адаптивного иммунитета [2].

Цитокиновый профиль является одним из наиболее важных элементов иммунной системы. Их можно подразделить на интерлейкины, интерфероны и также к ним относятся несколько факторов роста. Интерлейкин-1 бета (IL-1β) и интерлейкин-2 (IL-2) являются провоспалительными цитокинами. IL-1β отвечает за весь провоспалительный эффект и его острую фазу: стимулирует синтез остеокластов и резорбцию костей, повышает количество лейкоцитов, гаптоглобина и фибриногена, уменьшение цинка в плазме крови, также усиливает активацию нейтрофилов. IL-2 по своей роли является одним из регуляторов адаптивного иммунитета: стимулирует пролиферацию Т-лимфоцитов ($CD4^+$, $CD8^+$, регуляторные) и активность NK-клеток; участвует в создании иммунологической памяти. Также одним из первых реагирует при вакцинациях [1, 4, 5].

Интерлейкин-10 (IL-10), напротив, является противовоспалительным цитокином, не допускающим чрезмерного воспаления. Он подавляет продукцию фактора некроза опухоли альфа (TNF-α), IL-1, IL-6, IL-12, интерферона-гамма (IFN-γ) и других про-воспалительных факторов моноцитами/макрофагами, а также регулирует активность Th1/Treg-клеток [1, 7, 8].

Интерферон-альфа (IFN-α) участвует в первичной антивирусной защите: индуцируется при инфекции, активирует индуцируемые гены-регуляторы интерферонов: IFN-гены (ISG), NK-клетки и дендритные клетки, ускоряет иммунный ответ против вирусов. Также стимулирует иммунный ответ Т-хелперов 1-го типа совместно с IL-12 и IFN-γ. В свою очередь IFN-γ отвечает за иммуномодуляцию: активирует макрофаги, секретируется естественными клетками-киллерами, CD4 и CD8-клетками. Также активирует янус-киназный сигнальный путь (JAK-STAT) и усиливает экспрессию генов главного комплекса гистосовместимости I и II классов, а также индуцирует продукцию реактивных кислородных форм [5].

Целью данной работы являлось изучение относительного уровня экспрессии генов ИЛ-2, ИЛ-10, ИЛ-1β, ИФН-α, ИФН-γ в динамике у телят с коморбидной патологией (гипотрофия и иммунодефицит) после проведенной фармакокоррекции препаратом на основе видоспецифичных интерферонов «Проаутовак».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Был проведен двухэтапный производственный опыт. В первом этапе производственного опыта для проведения фоновых исследований было отобрано 30 телят: 10 клинически здоровых телят и, после постановки диагноза коморбидная патология (гипотрофия и иммунодефицит),20 больных телят. На следующем этапе телята с установленным диагнозом коморбидная патология (гипотрофия и иммунодефицит) были разделены на две группы: Первая группа опытная — больные телята, которым вводили внутримышечно экспериментальный препарат на основе видоспецифичных интерферонов «Проаутовак» в дозировке 1 мл на 10кг живой массы двукратно с интервалом 48 часов (n = 10). Вторая группа сравнения — больные телята, которым вводили внутримышечно препарат на основе невидоспецифичных интерферонов «Миксоферон», примененный в схеме лечения хозяйства, 10 доз на голову двукратно с интервалом 48 часов и «Тетрагидровит» 1мл на 10кг живой массы двукратно с двухнедельным интервалом(n = 10). Третья группа контрольная- клинически здоровые телята (n = 10). На 1-е сутки жизни до применения препаратов, а также на 10-е, 17-е и 24-е сутки после введения препаратов проводился забор крови из яремной вены у всех исследуемых групп, кровь помещали в пробирки Эппендорфа и подвергали глубокой заморозке с использованием жидкого азота для проведения молекулярно-генетических исследований.

Полимеразную цепную реакцию осуществляли на приборах Bio-Rad CFX 96 (Bio-rad, США), Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) и DTLite 4S1 (ДНК-Технология, Россия) с готовой коммерчески доступной смесью для PCR5X qPCRmix-HS LowROX (Евроген, Россия). Выделение тотальной РНК осуществлено набором «РНК-Экстран» (Синтол, Россия) по утвержденной инструкции. Оценку качества выделенной РНК проводили с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле. Исследование проводили посредством ПЦР-анализа с добавлением красителя SYBR Green. Экспрессия генов рассчитывалась по методике 2-ΔΔCt, где сначала рассчитывается разница между геном домашнего хозяйства (контроля) и исследуемым геном (ΔCt = Ct (β-actin) — Ct (исследуемый ген)). Полученное значение возводилось в степень -ΔΔCt. Для оценки экспрессии изучаемых генов использовалась панели специфичных праймеров для исследования уровней экспрессии генов, ответственных за иммунную систему. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программного пакета Microsoft Excel 2019 с применением встроенных функций статистического анализа и надстройки «Анализ данных».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Динамика изменений относительного уровня экспрессии ИЛ-2 после проведенной фармакокоррекции представлена на рисунке 1

Относительный уровень экспрессии ИЛ-2 в группе Проаутовак на 1-е сутки снижался на 24.2 % относительно контроля, к 10-м суткам разница составляла 7.3 %, к 17-м суткам наблюдалось превышение контрольных значений на 59.7 %, (* — $P \leq 0{,}05$) а к 24-м суткам — снижение на 75.7 %. При сравнении с группой Миксоферон данный показатель в группе Проаутовак на 10-е сутки был ниже на 15.6 %, к 17-м суткам превышал на 54.7 %, а к 24-м суткам был ниже на 85.2 %. Препарат

«Проаутовак» демонстрирует фазовую регуляцию ИЛ-2 с пиком активации на 17-е сутки (превышение контроля на 60 %), что указывает на контролируемую стимуляцию Т-клеточной пролиферации в оптимальные сроки. Последующее резкое снижение к 24-м суткам свидетельствует о саморегулирующемся механизме, предотвращающем избыточную активацию иммунной системы.

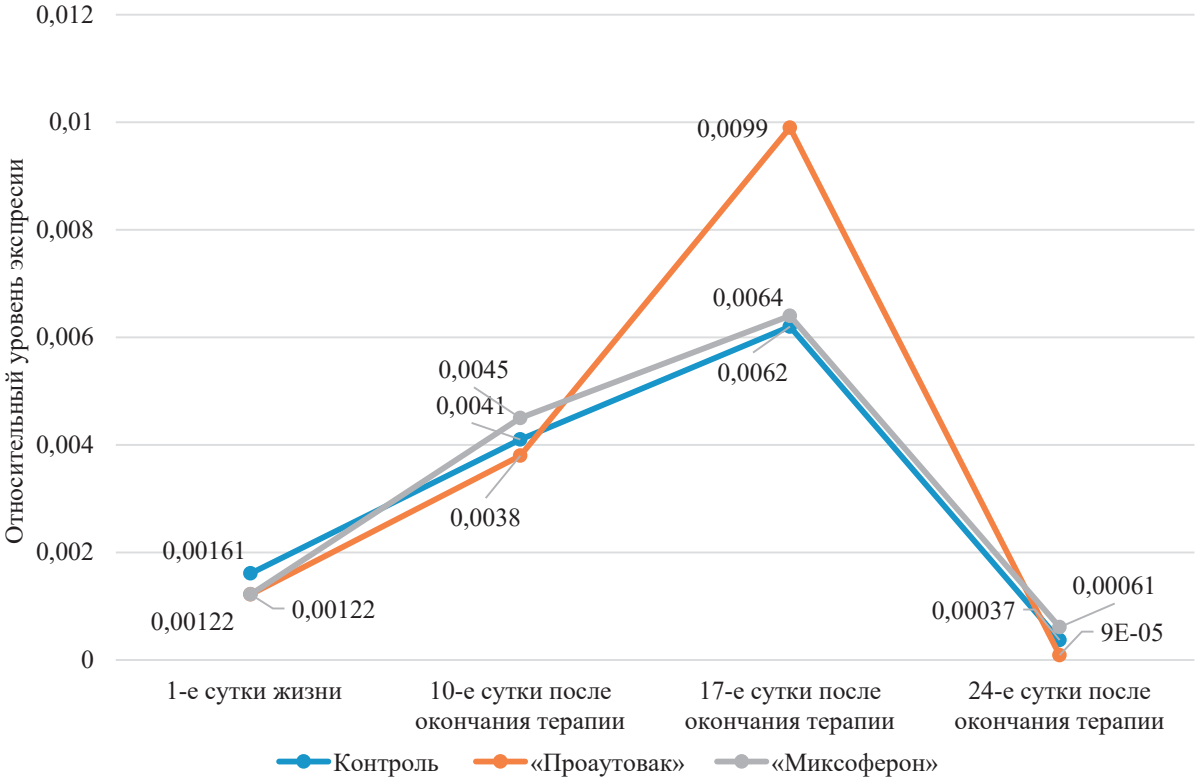


Рис. 1. Относительный уровень экспрессии ИЛ-2 в динамике

Динамика изменений относительного уровня экспрессии ИЛ-10 после проведенной фармакокоррекции представлена на рисунке 2.

Относительный уровень экспрессии ИЛ-10 в группе Проаутовак был снижен на 44.4 % относительно контроля в первые сутки, на 10-е сутки наблюдалось достоверное снижение на 37.0 % (* — $P \leq 0{,}05$), к 17-м суткам — 21.7 %, а к 24-м суткам наблюдалось тенденция к повышение на 20.0 %. По сравнению с группой Миксоферон данный показатель в группе Проаутовак на 10-е сутки был ниже на 14.7 %, к 17-м суткам превышал в 2 раза, а к 24-м суткам — в 2,3 раза соответственно. Такая динамика на наш взгляд указывает на двухфазный эффект препарата «Проаутовак» — первоначальное снижение противовоспалительной активности сменяется мощной компенсаторной реакцией, превышающей эффект комплексной терапии «Миксоферон» + «Тетрагидровит» более чем в 2 раза.

Динамика изменений относительного уровня экспрессии ИЛ-1β после проведенной фармакокоррекции представлена на рисунке 3.

Относительный уровень экспрессии ИЛ-1β в группе Проаутовак в первые сутки превышал контроль в 2,3 раза, к 10-м суткам — на 48.4 %, 17-м суткам — в 2 раза, а к 24-м суткам наблюдалось тенденция к снижению экспрессии на 54.5 % соответственно. Сравнивая с группой Миксоферон данный показатель в группе Проаутовак на 10-е сутки достоверно превышал на 39.4 % (* — $P \leq 0{,}05$), к 17-м суткам — в 2,25 раза, а к 24-м суткам был ниже на 56.5 %. Это свидетельствует о способности препарата инициировать активную воспалительную реакцию с дальнейшим переходом к противовоспалительному эффекту, что может указывать на формирование адаптивного иммунного ответа.

Динамика изменений относительного уровня экспрессии ИФН-α после проведенной фармакокоррекции представлена на рисунке 4.

Относительный уровень экспрессии ИФН-α в группе Проаутовак был снижен относительно контроля в первые сутки на 96.8 %, к 10-м суткам на 16.7 %, к 17-м суткам на 11.8 %, а к 24-м суткам повышена на 18.9 %. По сравнению с группой

Миксоферон в группе Проаутовак на 10-е сутки был ниже на 11.8 %, к 17-м суткам превышал в 2.5 раза, а к 24-м суткам — на 23.5 %. Эти данные указывают на формирование отсроченного противовирусного ответа в группе Проаутовак, который может обеспечивать пролонгированную защиту в отличие от быстрой, но кратковременной активации в группе Миксоферон.

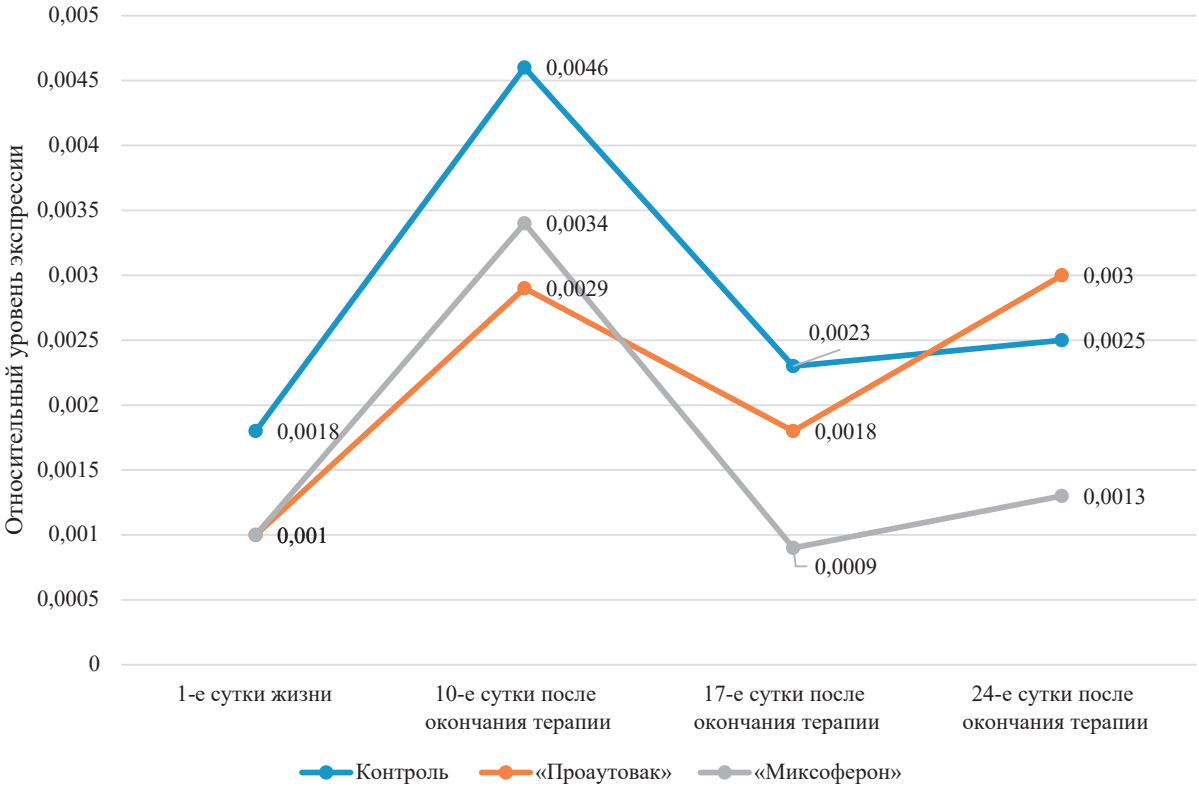


Рис. 2. Относительный уровень экспрессии ИЛ-10 в динамике

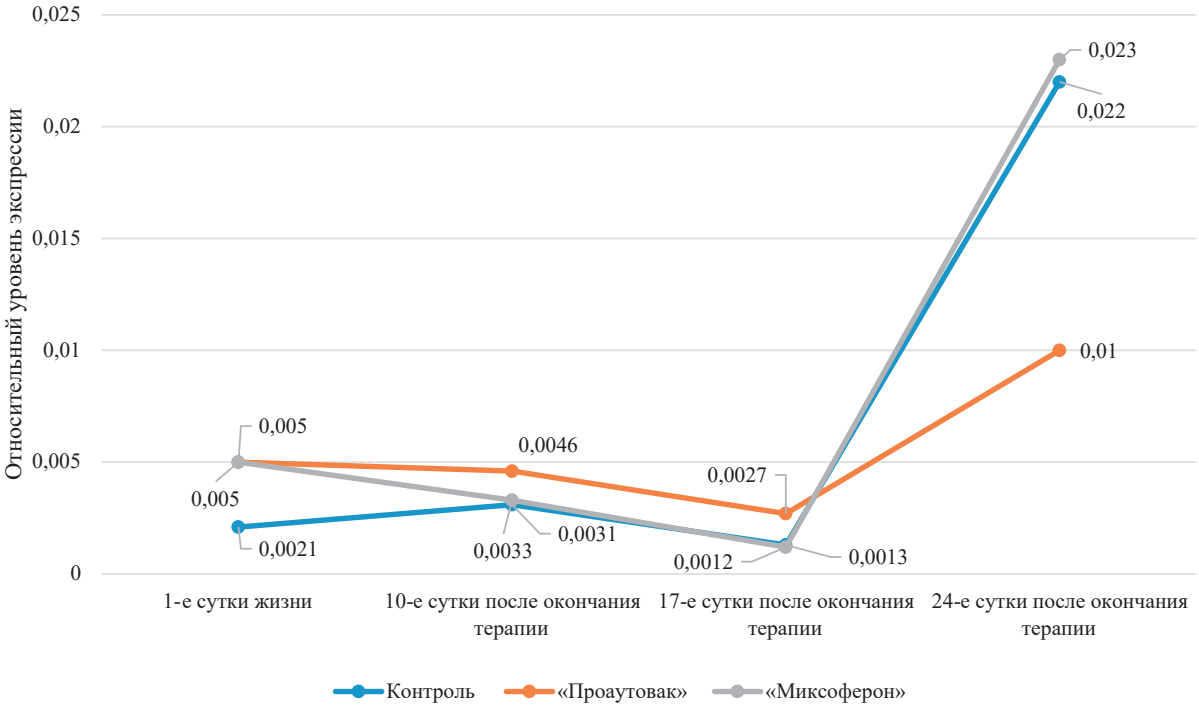


Рис. 3. Относительный уровень экспрессии ИЛ-1β в динамике

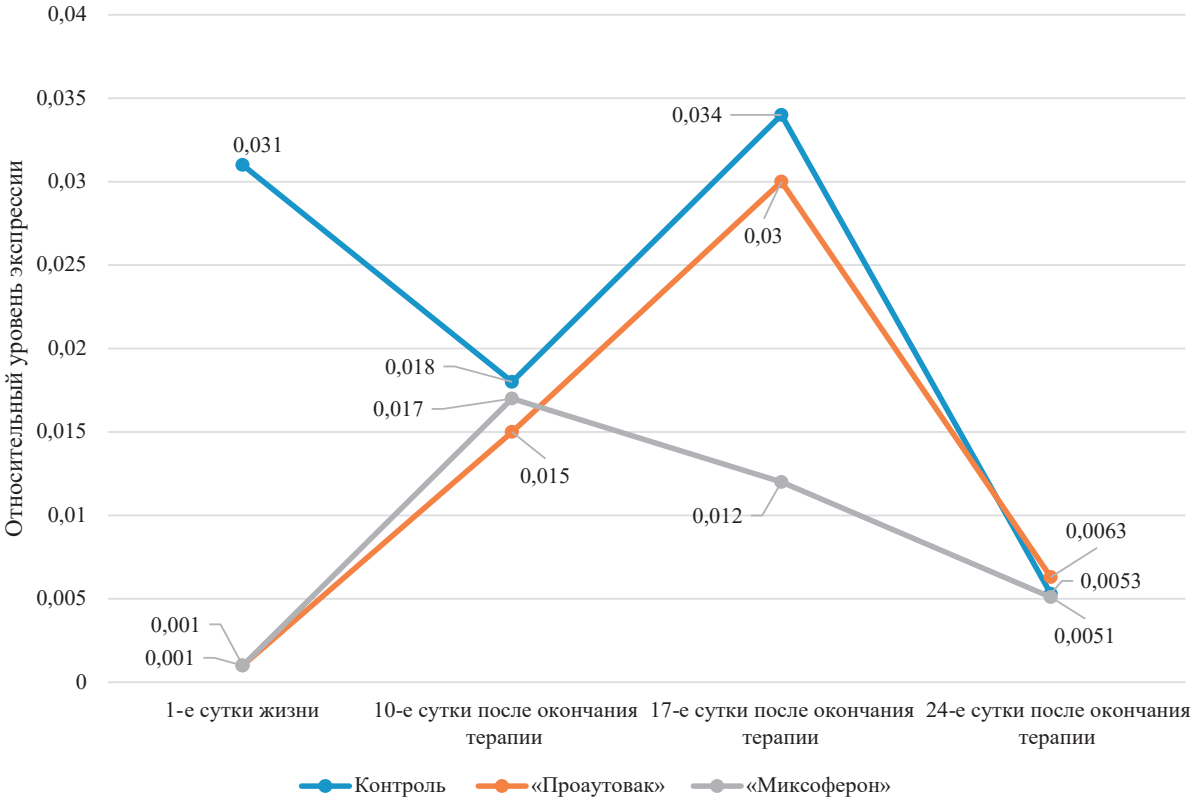


Рис. 4. Относительный уровень экспрессии ИФН-α в динамике

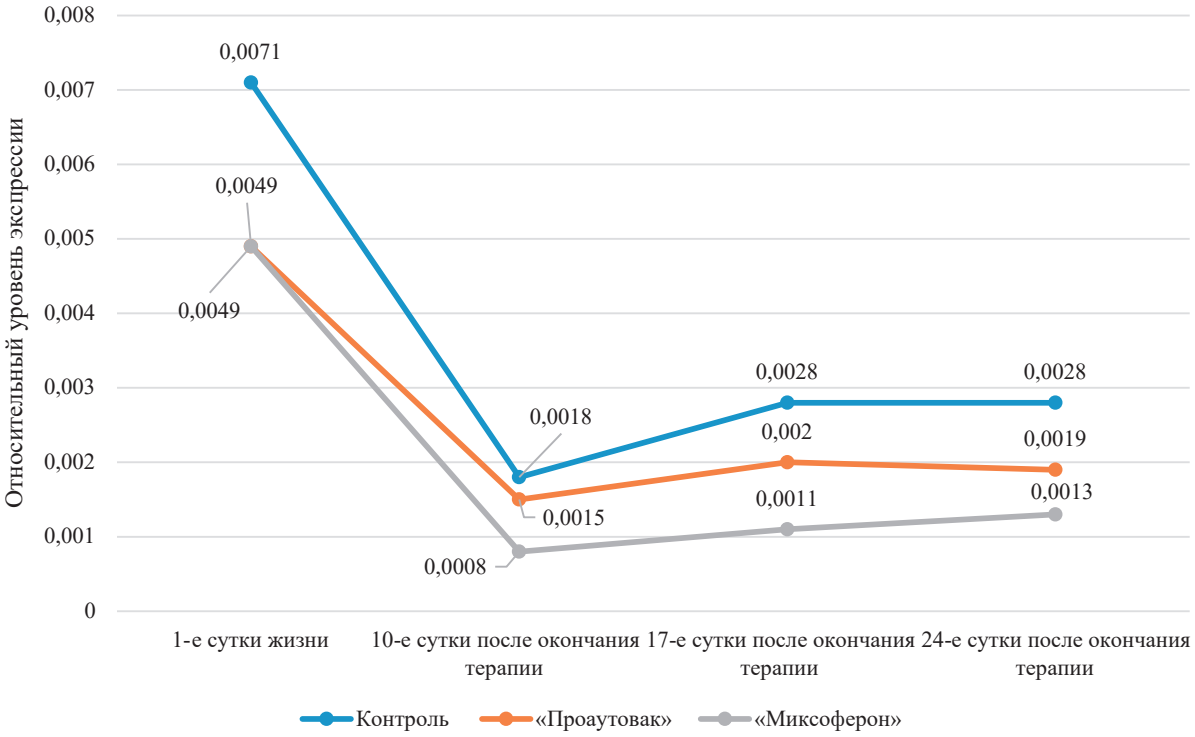


Рис. 5. Относительный уровень экспрессии ИФН-γ в динамике

Динамика изменений относительного уровня экспрессии ИФН-γ после проведенной фармакокоррекции представлена на рисунке 5.

Относительный уровень экспрессии ИФН-γ в группе Проаутовак был ниже в первые сутки на 31.0 % относительно контроля, к 10-м суткам на

16.7 %, к 17-м суткам на 28.6 %, а к 24-м суткам на 32.1 %. При сравнении с группой Миксоферон в группе Проаутовак на 10-е сутки изучаемый показатель превышал на 87.5 %, к 17-м суткам — на 81.8 %, а к 24-м суткам — достоверно повышался на 46.2 % (* — $P \leq 0{,}05$) соответственно. Препарат «Проаутовак» демонстрирует умеренное подавление ИФН-γ относительно контроля на всех сроках наблюдения (16—32 %), что указывает на сдерживание избыточной Th1-активации. Однако значительное превосходство над группой Миксоферон (46—88 %) свидетельствует о сохранении адекватного клеточного иммунного ответа с более сбалансированной регуляцией воспалительных процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Через 17 дней после введения «Проаутовак» у больных телят активность гена ИЛ-2 была выше в 1,6 раза по сравнению со здоровыми животными, а через 24 дня происходило компенсаторное снижение его экспрессии в 4,1 раза. У телят с коморбидной патологией (гипотрофия и иммунодефицит) через 10 и 17 дней после применения «Проаутовака» уровень экспрессии гена ИЛ-1β был выше в 1,5 и 2,1 раза, а через 24 дня ниже в 2,2 раза. В опытной группе животных через 17 дней после введения видоспецифического интерферона активность гена ИЛ-10 была выше в 2,0 раза, чем при применении схемы лечения хозяйства, а через 24 дня выше на 20,0 % по сравнению со здоровыми животными. Через 10 дней после применения «Проаутовака» у телят с коморбидной патологией (гипотрофия и иммунодефицит) отмечали повышение уровня экспрессии гена ИФНα в 15,0 раз и снижение активности гена ИФН-γ в 3,3 раза по сравнению с показателями новорожденных животных, но в течение опыта они были близки к значениям здоровых телят.

Обобщая полученные результаты, можно сделать вывод, что «Проаутовак» обладает более сбалансированным действием по сравнению с комплексной схемой «Миксоферон» + «Тетрагидровит», обеспечивает адекватную стимуляцию иммунной системы без избыточной активации иммунной системы и эффективную противовоспалительную активность у телят с коморбидными патологиями.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Болотова В. С.* Изменение уровня экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов в крови коров при терапии хронического эндометрита / В. С. Болотова, В. И. Михалев, Н. В. Пасько // Ученые записки учреждения образования Витебская ордена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. — 2024. — Т. 60, № 3. — С. 4—8.

2. *Петренко А. А.* Иммунологические особенности организма телят / А. А. Петренко // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. — 2024. — № 4(234). — С. 55—62.

3. *Саврасов Д. А.* Оценка маркеров окислительного стресса у телят-гипотрофиков с коморбидными патологиями (анемия, иммунодефицит) и их фармакокоррекция комбинированными интерферонсодержащими препаратами / Д. А. Саврасов, П. А. Паршин, Г. А. Востроилова // Ученые записки КГАВМ им. Н. Э. Баумана. — 2023. — № 4.

4. *Alluwaimi A. M.* The cytokines of bovine mammary gland: prospects for diagnosis and therapy / A. M. Alluwaimi // Research in veterinary science. — 2004. — Т. 77. — № 3. — С. 211—222.

5. *Boby J.* et al. Pre-partum serum cytokine levels as a potential tool for the prediction of retention of fetal membranes in cross-bred cows. — 2013.

6. *Islam R.* et al. Determination of anti-inflammatory cytokine in periparturient cows for prediction of postpartum reproductive diseases // Theriogenology. — 2013. — Т. 79. — № 6. — С. 974—979.

7. *Mallikarjunappa S.* et al. Functional analysis of bovine interleukin-10 receptor alpha in response to Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis lysate using CRISPR/Cas9 // BMC genetics. — 2020. — Т. 21. — № 1. — С. 121.

8. *Zhang Z.*, *Doel C.*, *Bashiruddin J. B.* Interleukin-10 production at the early stage of infection with foot-and-mouth disease virus related to the likelihood of persistent infection in cattle / Z. Zhang, C. Doel, J. B. Bashiruddin // Veterinary Research. — 2015. — Т. 46. — № 1. — С. 132.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Е. В. Животов — младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики;

Н. А. Стрельников — младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики;

Т. И. Ермакова — кандидат биологических наук.

Статья поступила в редакцию 14.08.2025 г.

Original article
UDC 636.2.053: 577.21: 612.017.1: 615.37

RELATIVE LEVEL OF IMMUNE SYSTEM GENE EXPRESSION IN DYNAMICS IN CALVES WITH COMORBID PATHOLOGY (HYPOTROPHY AND IMMUNODEFICIENCY) AFTER PHARMACOCORRECTION WITH THE SPECIES-SPECIFIC INTERFERON-BASED DRUG "PROAUTOVAK"

Evgeniy Sergeevich Zhivotov✉, Nikolay Alekseevich Strelnikov, Tatyana Igorevna Ermakova

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, pakmen15@mail.ru✉

Abstract. The article presents the results of the conducted studies on the assessment of the relative level of expression of the genes IL-2, IL-10, IL-1β, IFN-α, IFN-γ in dynamics in calves with comorbid pathology (hypotrophy and immunodeficiency) after the pharmacocorrection with the species-specific interferon-based drug "Proautovak". According to the results of the study, the level of IL-2 expression on day 24 decreased by 4.1 times, IL-1β — by 2.2 times, IL-10 increased by 20.0 %, and IFN-α and IFN-γ were close to the values of healthy calves by the end of pharmacocorrection after a multiply increase in expression. The drug "Proautovak" has a more balanced effect, provides adequate stimulation of the immune system and effective anti-inflammatory activity in calves with comorbid pathologies.

Keywords: IL-2, IL-10, IL-1 β, IFN-α, INF-γ, expression, Proautovak, calves, comorbid pathology, hypotrophy, immunodeficiency

INTRODUCTION

Comorbid pathologies in calves are a combination of several diseases that occur simultaneously and mutually aggravate each other. The most common are hypotrophy, anemia and immunodeficiency. The main reasons for their occurrence are unfavorable conditions of intrauterine development, lack of nutrients in the diet, as well as non-compliance with zoohygienic standards of keeping [3].

The immune system of newborn calves is one of the most underdeveloped among farm animals. This is due to the fact that the placenta of cows has a syndesmochorial structure, which prevents the transfer of immunoglobulins (Ig) from the mother to the fetus. As a result, calves are born practically without antibodies and do not have formed adaptive immunity [2].

The cytokine profile is one of the most important elements of the immune system. They can be divided into interleukins, interferons, and also include several growth factors. Interleukin-1 beta (IL-1β) and interleukin-2 (IL-2) are proinflammatory cytokines. IL-1β is responsible for the entire proinflammatory effect and its acute phase. It stimulates the synthesis of osteoclasts and bone resorption, increases the number of leukocytes, haptoglobin and fibrinogen, decreases zinc in the blood plasma, and also enhances the activation of neutrophils. IL-2, by its role, is one of the regulators of adaptive immunity: it stimulates the proliferation of T-lymphocytes ($CD4^+$, $CD8^+$, regulatory) and the activity of NK cells. It participates in the creation of immunological memory. It is also one of the first to react to vaccinations [1, 4, 5].

Interleukin-10 (IL-10), on the other hand, is an anti-inflammatory cytokine that prevents excessive inflammation. It suppresses the production of tumor necrosis factor alpha (TNF-α), IL-1, IL-6, IL-12, interferon-gamma (IFN-γ) and other pro-inflammatory factors by monocytes/macrophages, and regulates the activity of Th1/Treg cells [1, 7, 8].

Interleukin-10 (IL-10), on the contrary, is an anti-inflammatory cytokine that prevents excessive inflammation. It suppresses the production of tumor necrosis factor alpha (TNF-α), IL-1, IL-6, IL-12, interferon-gamma (IFN-γ) and other pro-inflammatory factors by monocytes/macrophages, and also regulates the activity of Th1/Treg cells [1, 7, 8].

Interferon-alpha (IFN-α) is involved in primary antiviral defense. It is induced during infection, activates

inducible interferon regulatory genes (IFN-stimulated genes (ISG), NK cells and dendritic cells), accelerates the immune response against viruses. It also stimulates the immune response of T-helpers type 1 together with IL-12 and IFN-γ. In turn, IFN-γ is responsible for immunomodulation. It activates macrophages, it is secreted by natural killer cells, CD4 and CD8 cells. It also activates the Janus kinase signaling pathway (JAK-STAT) and enhances the gene expression of the major histocompatibility complex of classes I and II, and induces the production of reactive oxygen species [5].

The work objective was to study the relative expression level of the genes IL-2, IL-10, IL-1β, IFN-α, IFN-γ in dynamics in calves with comorbid pathology (hypotrophy and immunodeficiency) after pharmacocorrection with the species-specific interferon-based drug "Proautovak".

MATERIAL AND METHODS

A two-stage production experiment was conducted. In the first stage of the production experiment, 30 calves were selected for baseline studies: 10 clinically healthy calves and 20 sick calves after the diagnosis of comorbid pathology (hypotrophy and immunodeficiency). At the next stage, the calves with an established diagnosis of comorbid pathology (hypotrophy and immunodeficiency) were divided into two groups. The first experimental group consisted of sick calves, which were injected intramuscularly with an experimental species-specific interferon-based drug "Proautovak" at a dosage of 1 ml per 10 kg of live weight twice with an interval of 48 hours (n = 10). The second comparison group consisted of sick calves, which were injected intramuscularly with the non-species-specific interferon-based drug "Mixoferon" used in the treatment regimen of the farm, 10 doses per animal twice with an interval of 48 hours and "Tetrahydrovit" 1 ml per 10 kg of live weight twice with a two-week interval (n = 10). The third control group consisted of clinically healthy calves (n = 10). On the 1st day of life, before the administration of the drugs, as well as on the 10th, 17th and 24th days after the administration of the drugs, blood was taken from the jugular vein in all study groups, the blood was placed into Eppendorf tubes and deep frozen using liquid nitrogen for molecular and genetic studies.

Polymerase chain reaction was performed on Bio-Rad CFX 96 (Bio-rad, USA), Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Australia) and DTLite 4S1 (DNA-Technology, Russia) devices with a ready-to-use commercially available PCR mixture 5X qPCRmix-HS LowROX (Evrogen, Russia). Total RNA was isolated using the RNA-Extran kit (Syntol, Russia) according to the approved instructions. The quality of the isolated RNA was assessed by electrophoresis in 2 % agarose gel. The study was performed using PCR analysis with the addition of SYBR Green dye. Gene expression was calculated using the 2-ΔΔCt method, where the difference between the housekeeping gene (control) and the gene under study is first calculated (ΔCt = Ct (β-actin) — Ct (gene under study)). The obtained value was raised to the power of -ΔΔCt. To assess the expression of the studied genes, a panel of specific primers was used to study the expression levels of genes responsible for the immune system. Statistical processing of the obtained data was carried out using the Microsoft Excel 2019 software package using built-in statistical analysis functions and the Data Analysis add-in.

STUDY RESULTS

* The dynamics of changes in the relative level of IL-2 expression after pharmacocorrection is shown in Fig. 1.

The relative level of IL-2 expression in the Proautovak group on the 1st day decreased by 24.2 % relative to the control; by the 10th day, the difference was 7.3 %; by the 17th day, there was an excess of control values by 59.7 % (* — $P \leq 0.05$); and by the 24th day, there was a decrease by 75.7 %. When compared to the Mixoferon group, this indicator in the Proautovak group on the 10th day was lower by 15.6 %; by the 17th day, it exceeded by 54.7 %; and by the 24th day, it was lower by 85.2 %. The drug "Proautovak" demonstrates phase regulation of IL-2 with an activation peak on the 17th day (exceeding the control by 60 %) that indicates controlled stimulation of T-cell proliferation at the optimal time. The subsequent sharp decrease by day 24 indicates a self-regulating mechanism preventing excessive activation of the immune system.

The dynamics of changes in the relative level of IL-10 expression after the pharmacocorrection is shown in Fig. 2.

The relative level of IL-10 expression in the Proautovak group was reduced by 44.4 % relative to the control on the first day; on the 10th day, there was a reliable decrease by 37.0 % (* — $P \leq 0.05$); by the 17th day — by 21.7 %; and by the 24th day, there was a tendency to increase by 20.0 %. Compared to the Mixoferon group, this indicator in the Proautovak group was lower by 14.7 % on the 10th day; by the 17th day — by 2 times; and by the 24th day — by 2.3 times, respectively. In our opinion, such dynamics indicates a two-phase effect of the drug "Proautovak" — the initial decrease in anti-inflammatory activity is replaced by a

powerful compensatory reaction, exceeding the effect of the complex therapy "Mixoferon" + "Tetrahydrovit" by more than 2 times.

The dynamics of changes in the relative level of IL-1β expression after pharmacocorrection is presented in Fig. 3.

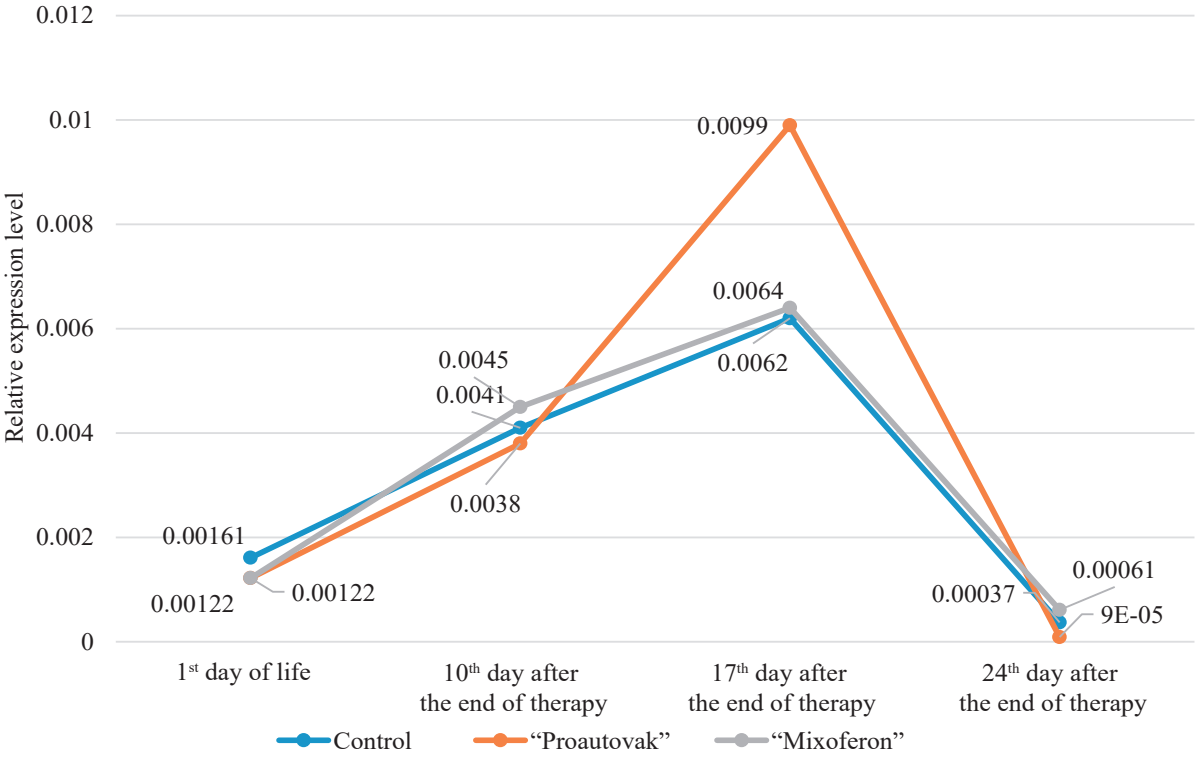


Fig. 1. Relative level of IL-2 expression in dynamics

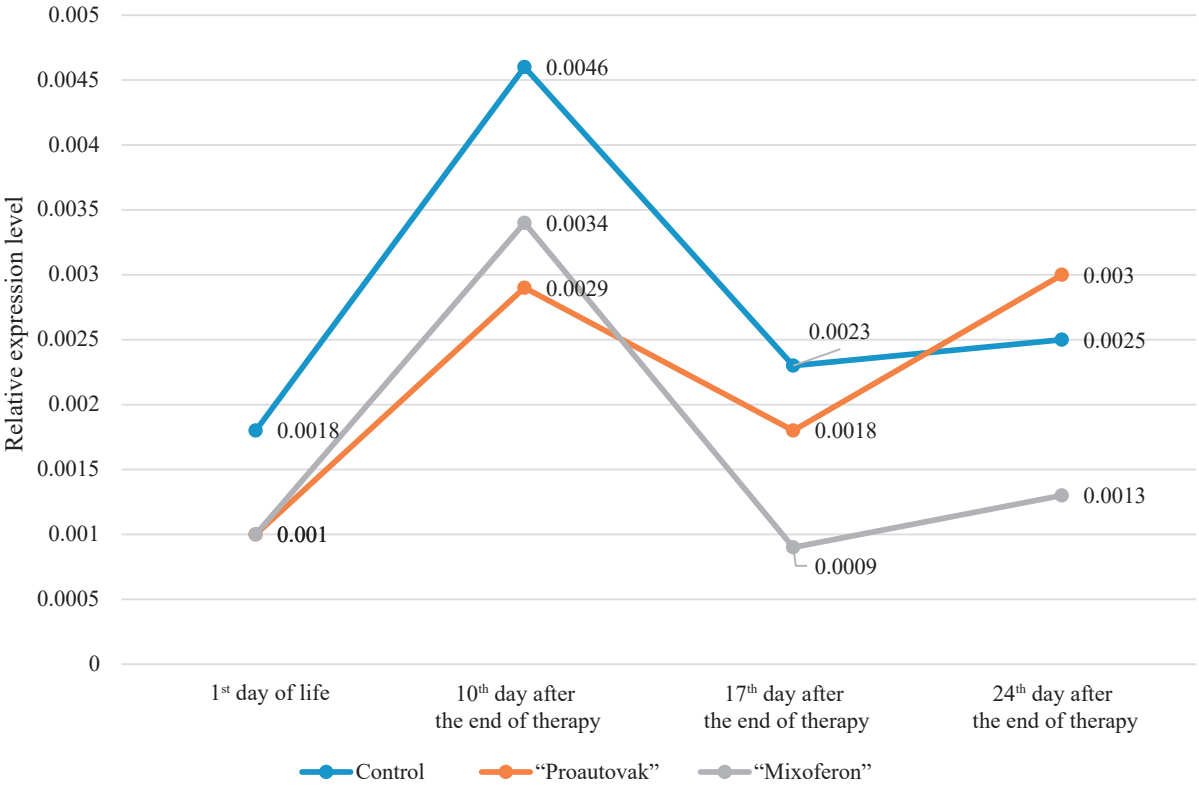


Fig. 2. Relative level of IL-10 expression in dynamics

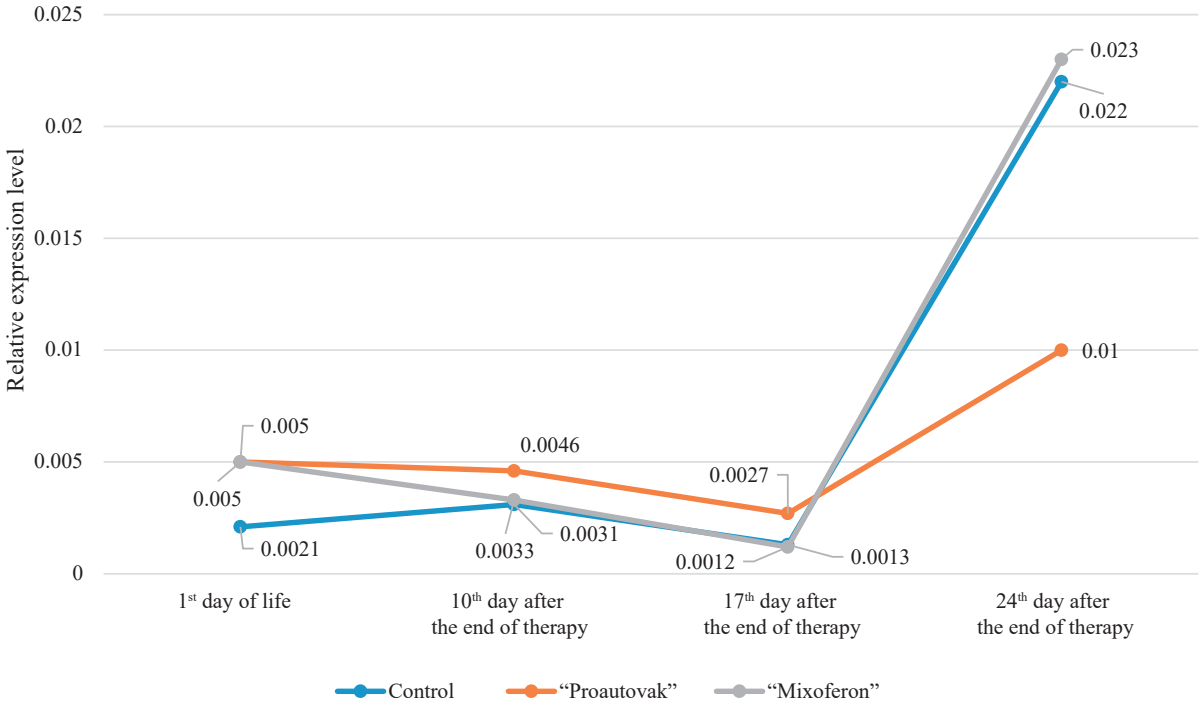


Fig. 3. Relative level of IL-1β expression in dynamics

The relative level of IL-1β expression in the Proautovak group on the first day exceeded the control by 2.3 times; by the 10th day — by 48.4 %; by the 17th day — by 2 times; and by the 24th day, there was a tendency to decrease in expression by 54.5 %, respectively. Comparing with the Mixoferon group, this indicator in the Proautovak group on the 10th day reliably exceeded by 39.4 % (* — $P \leq 0.05$); by the 17th day — by 2.25 times; and by the 24th day, it was lower by 56.5 %.

This indicates the ability of the drug to initiate an active inflammatory reaction with a further transition to an anti-inflammatory effect that may indicate the formation of an adaptive immune response.

The dynamics of changes in the relative level of IFN-α expression after pharmacocorrection is presented in Fig. 4.

The relative level of IFN-α expression in the Proautovak group was reduced relative to the control on the first day by 96.8 %; by the 10th day — by 16.7 %; by the 17th day — by 11.8 %; and by the 24th day, it was increased by 18.9 %. Compared to the Mixoferon group, in the Proautovak group, on the 10th day, it was lower by 11.8 %; by the 17th day, it exceeded it by 2.5 times; and by the 24th day — by 23.5 %. These data indicate the formation of a delayed antiviral response in the Proautovak group that can provide prolonged protection in contrast to the rapid but short-term activation in the Mixoferon group.

The dynamics of changes in the relative level of IFN-γ expression after the pharmacocorrection is shown in Fig. 5.

The relative level of IFN-γ expression in the Proautovak group was lower on the first day by 31.0 %, compared to the control; by the 10th day — by 16.7 %; by the 17th day — by 28.6 %; and by the 24th day — by 32.1 %. When compared to the Mixoferon group, in the Proautovak group, on the 10th day, the studied indicator exceeded by 87.5 %; by the 17th day — by 81.8 %; and by the 24th day — significantly increased by 46.2 % (* — $P \leq 0.05$), respectively. The drug "Proautovak" demonstrates moderate suppression of IFN-γ, compared to the control at all observation periods (16—32 %) that indicates the containment of excessive Th1 activation. However, a significant superiority over the Mixoferon group (46—88 %) indicates the preservation of an adequate cellular immune response with a more balanced regulation of inflammatory processes.

CONCLUSION

Seventeen (17) days after the administration of "Proautovak", the activity of the gene IL-2 in sick calves was by 1.6 times higher than in healthy animals, and in 24 days, there was a compensatory decrease in its expression by 4.1 times. In calves with comorbid pathology (hypotrophy and immunodeficiency), 10 and 17 days after the use of "Proautovak", the level of IL-1β expression was by 1.5 and 2.1 times higher,

and in 24 days, it was by 2.2 times lower. In the experimental group of animals, 17 days after the administration of species-specific interferon, the activity of the gene IL-10 was by 2.0 times higher than when using treatment regimen of the farm, and 24 days later, it was by 20.0 % higher, compared to healthy animals.

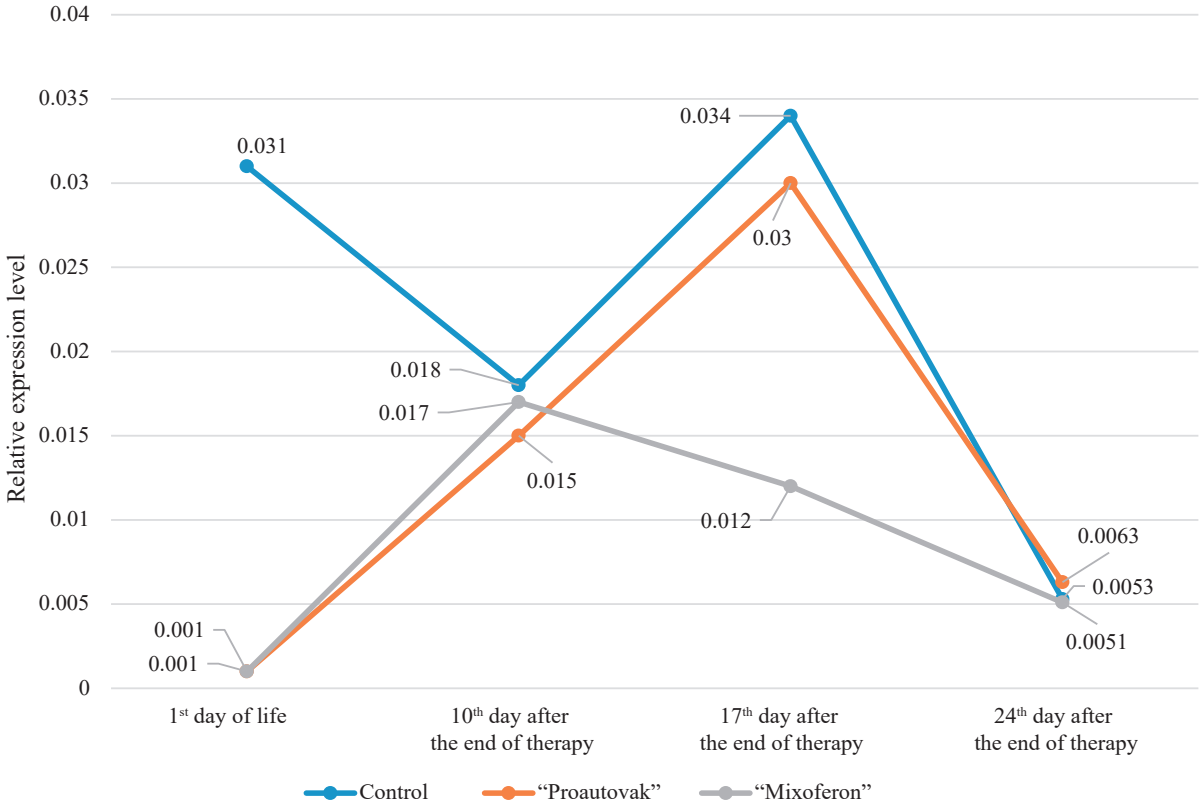


Fig. 4. Relative level of IFN-α expression in dynamics

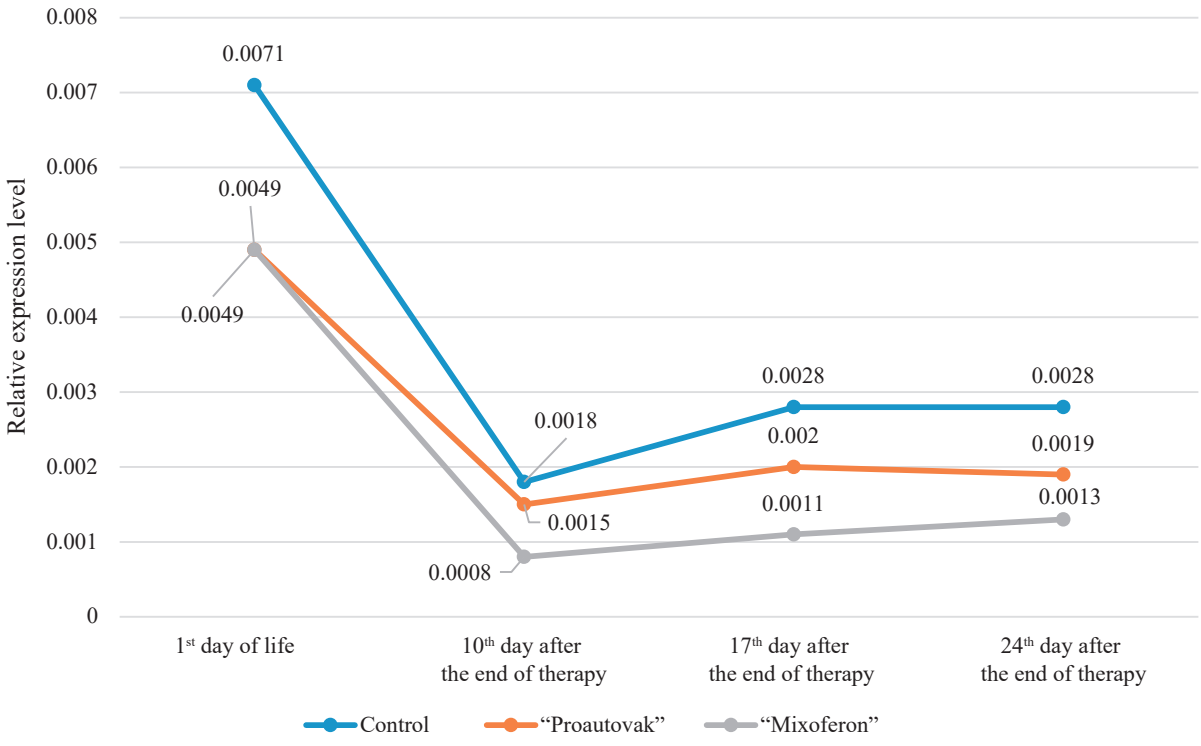


Fig. 5. Relative level of IFN-γ expression in dynamics

Ten days after the use of "Proautovak", calves with comorbid pathology (hypotrophy and immunodeficiency) showed an increase in the expression level of the gene IFN-α by 15.0 times and a decrease in the activity of the gene IFN-γ by 3.3 times, compared to the values of newborn animals, but during the experiment they were close to the values of healthy calves.

Summarizing the obtained results, it can be concluded that "Proautovak" has a more balanced effect, compared to the complex scheme "Mixoferon" + "Tetrahydrovit", provides adequate stimulation of the immune system without excessive activation of the immune system and effective anti-inflammatory activity in calves with comorbid pathologies.

REFERENCES

1. *Bolotova V. S.* Changes in the expression level of genes of pro- and anti-inflammatory cytokines in the blood of cows during the treatment of chronic endometritis / V. S. Bolotova, V. I. Mikhalev, N. V. Pasko // Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny (Transactions of the educational establishment "Vitebsk the Order of 'the Badge of Honor' State Academy of Veterinary Medicine"). — 2024. — Vol. 60, No. 3. — P. 4—8.

2. *Petrenko A. A.* Immunological features of the body of calves / A. A. Petrenko // Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Bulletin of Altai State Agrarian University). — 2024. — No. 4 (234). — P. 55—62.

3. *Savrasov D. A.* Assessment of oxidative stress markers in hypotrophic calves with comorbid pathologies (anemia, immunodeficiency) and their pharmacocorrection with combined interferon-containing drugs / D. A. Savrasov, P. A. Parshin, G. A. Vostroilova // Uchenye zapiski KGAVM im. N. E. Baumana (Transactions of KSAVM named after N. E. Bauman). — 2023. — No. 4.

4. *Alluwaimi A. M.* The cytokines of bovine mammary gland: prospects for diagnosis and therapy / A. M. Alluwaimi // Research in veterinary science. — 2004. — V. 77. — No. 3. — P. 211—222.

5. *Boby J. et al.* Pre-partum serum cytokine levels as a potential tool for the prediction of retention of fetal membranes in cross-bred cows. — 2013.

6. *Islam R. et al.* Determination of anti-inflammatory cytokine in periparturient cows for prediction of postpartum reproductive diseases // Theriogenology. — 2013. — V. 79. — No. 6. — P. 974—979.

7. *Mallikarjunappa S. et al.* Functional analysis of bovine interleukin-10 receptor alpha in response to Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis lysate using CRISPR/Cas9 // BMC genetics. — 2020. — V. 21. — No. 1. — P. 121.

8. *Zhang Z., Doel C., Bashiruddin J. B.* Interleukin-10 production at the early stage of infection with foot-and-mouth disease virus related to the likelihood of persistent infection in cattle / Z. Zhang, C. Doel, J. B. Bashiruddin // Veterinary Research. — 2015. — V. 46. — No. 1. — P. 132.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

E. V. Zhivotov — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;
N. A. Strelnikov — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;
T. I. Ermakova — Candidate of Biological Sciences.

The article was submitted 14.08.2025.

Научная статья
УДК 619:[616-079:618.33-001.8]:636.2
DOI: 000

МАРКЕРЫ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ГИПОКСИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПЛОДА ПРИ РАЗВИТИИ ЭМБРИОПАТИЙ У КОРОВ

Виталий Иванович Михалёв✉, Галина Германовна Чусова, Николай Алексеевич Стрельников, Галина Николаевна Близнецова

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

Аннотация. В статье представлены материалы по разработке критериев ранней диагностики гипоксического состояния плода при осложнённом течении беременности у коров. Исследования выполнены на 22 коровах с физиологическим и осложнённым течением беременности, включённых в опыт с 60—75 дней гестации до её завершения. Установлено, что маркерами ранней диагностики гипоксического состояния у новорождённых телят являются: повышение относительного уровня экспрессии генов HIF-1α в крови коров в 2,0 месяца беременности в 1,97 раза, в 5 месяцев — в 1,63 раза, в 7 месяцев — в 2,03 раза в сравнении с физиологически протекающей гестацией; содержание молочной кислоты в 135—150 дней беременности на уровне 0,88 мМ/л и выше, в 210 дней — 0,97 мМ/л и выше; концентрация пировиноградной кислоты в 135—150 дней беременности на уровне 163,6 мкМ/л и ниже, в 210 дней — 177,9 мкМ/л и ниже; соотношение лактат: пируват в 135—150 дней беременности 5,38:1 и выше, в 210 дней — 5,45:1 и выше.
Ключевые слова: коровы, беременность, гипоксическое состояние, маркеры ранней диагностики, молочная и пировиноградные кислоты

Получение здорового молодняка с высокими показателями жизнеспособности невозможно без физиологически протекающей беременности. Осложнения гестации, часто проявляемые в форме синдрома задержки развития, позднего токсикоза беременных накладывают своё негативное влияние на качество получаемого молодняка. Одним из осложнений внутриутробного развития плода является гипоксическое состояние организма матери, регистрируемое у 7,0—25,0 % беременных животных. Гипоксическое состояние плода служит одной из причин мёртворождаемости [1, 2].

Нехватка кислорода в период эмбрионального развития приводит к значительным изменениям в органах и тканях развивающегося зародыша, которые на начальных этапах носят компенсаторный характер, а в дальнейшем, при не устранении причины, патологический [3, 4].

В условиях нехватки кислорода в период беременности в организме зародыша констатируются изменения уровня окислительно-восстановительных процессов, приводящие к накоплению недоокисленных продуктов метаболизма, сдвигу кислотно-щелочного равновесия в кислую сторону. При кислородной недостаточности возрастает частота пульса у плода до 180 ударов/минуту, повышению уровня молочной кислоты до 1,8—2,4 мМ/л [5, 6].

Для оценки состояния обеспеченности плода кислородом используют определение содержания молочной и пировиноградной кислот в крови и околоплодной жидкости. У коров с осложнённой беременностью с первые 60—75 дней констатируется также повышенное содержание молочной кислоты и пониженное пировиноградной [7, 8].

Ещё одним показателем, используемым для оценки обеспеченности плода и материнского организма кислородом, служит индуцируемый гипоксией фактор — HIF-1α, который при нормальном содержании кислорода подвергается протеасомной деградации. При снижении уровня кислорода молекула HIF-1α не гидроксилируется, остаётся свободной и накапливается. Увеличение уровня HIF-1α при гипоксическом состоянии способствует повышению экспрессии генов эритропоэтина, фактора роста эндотелия сосудов и др. [9, 10]. Поэтому изы-

скание маркеров, характеризующих гипоксическое состояние плода во время беременности, является актуальной задачей ветеринарной науки.

Цель исследований — разработать маркеры ранней диагностики гипоксического состояния плода при развитии эмбриопатий у коров.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалом для исследований служили коровы, начиная с 60—75 дней после осеменения, которые были разделены на две группы: с осложнённым течением беременности (n = 10) и с физиологической гестацией (n = 12). Разделение на группы осуществлялось на основании результатов клинико-эхографических исследований с применением ультразвукового сканера Easy-Scan-5, а также критериев диагностики нарушений эмбрионального развития у коров [11].

От всех животных, включённых в опыт, отобраны пробы крови для проведения лабораторных исследований. В крови определено содержание молочной и пировиноградной кислот и их соотношения. Пробы крови отобраны от коров в 60—75, 135—150 и 210 дней беременности. По окончании беременности проведены гемоморфологические исследования новорождённого молодняка, полученного от коров с физиологическим и осложнённым течением гестации. В крови телят определено: содержание общего белка и его фракций, мочевины, общих липидов, глюкозы, молочной и пировиноградной кислот, общего кальция, неорганического фосфора, меди, цинка, марганца, железа, магния, кобальта, молекул средней массы (МСМ), индекса эндогенной интоксикации (ИЭИ), бактерицидная активность сыворотки крови, фагоцитарная активность нейтрофилов, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс, активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ). В крови коров с различным характером гестации также определён относительный уровень экспрессии генов HIF-1α. Биохимические показатели определены на анализаторе «Hitachi-902», показатели эндогенной интоксикации — в соответствии с методическим положением [12].

Полученные результаты подвергали статистической обработке с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для разработки маркеров ранней диагностики гипоксии новорождённого молодняка проведён корреляционный анализ результатов лабораторных исследований крови беременных коров с различным характером течения гестации. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Содержание молочной кислоты у коров с различным характером течения беременности представлено на рисунке 1.

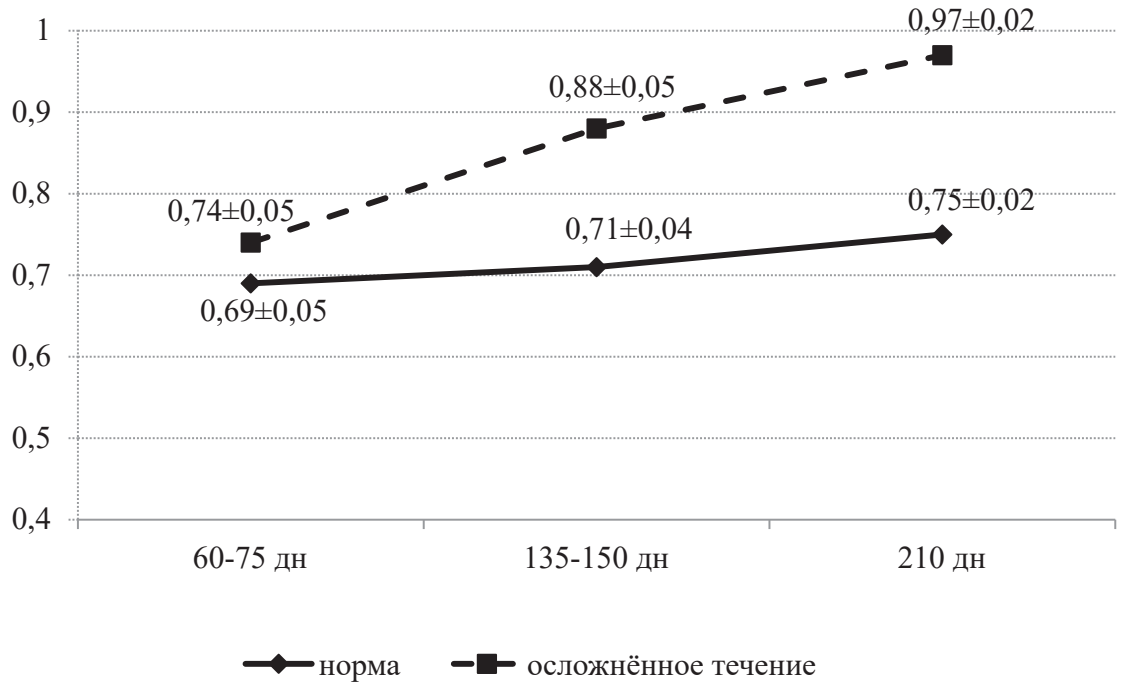


Рис. 1. Содержание молочной кислоты в крови коров с различным характером течения беременности, мМ/л

Установлено, что уровень молочной кислоты в крови коров с осложнённым течением беременности достоверно ниже в 135—150 и 210 дней по сравнению с физиологической гестацией.

Если данный показатель в 135—150 дней составляет 0,88 мМ/л и выше, в 210 дней — 0,97 мМ/л и выше, то животное имеет большой риск развития гипоксического состояния плода. Точность данного метода составляет 87,8 %, специфичность — 86,0 %, чувствительность — 87,5 %. Между уровнем молочной кислоты в крови и развитием гипоксического синдрома установлена достоверная положительная коррелятивная связь — $r = –0,89$ ($P < 0,001$). Коэффициент детерминации составляет 0,792.

Концентрация пировиноградной кислоты являющейся источником образования молочной при анаэробных процессах представлена на рисунке 2.

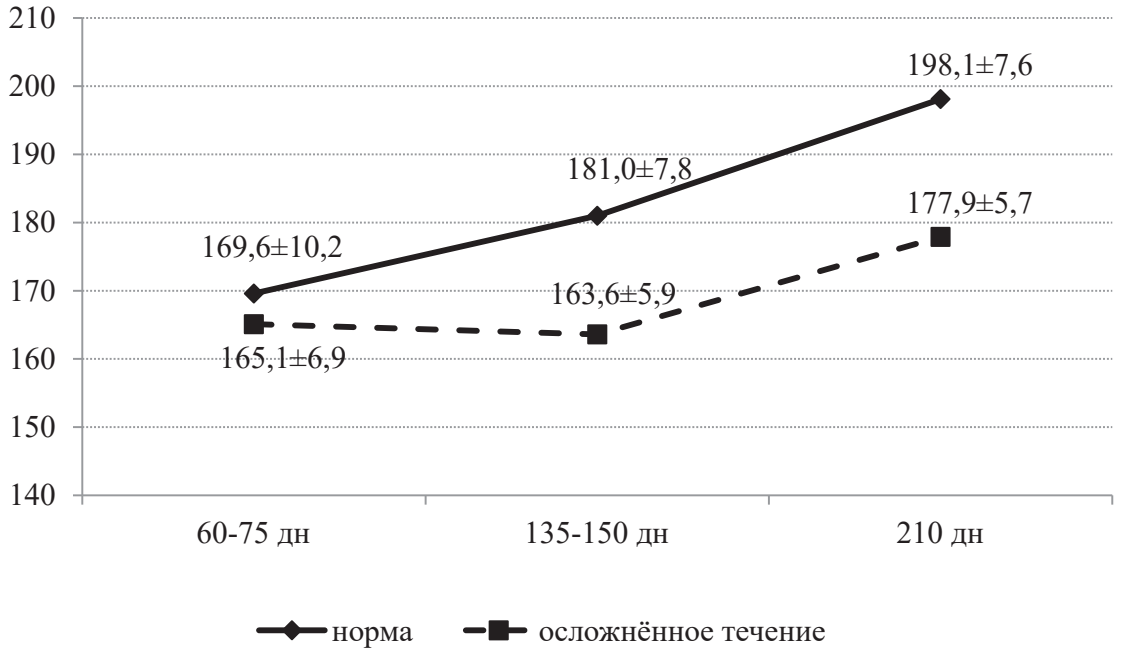


Рис. 2. Содержание пировиноградной кислоты в крови коров с различным характером течения беременности, мкМ/л

Снижение концентрации пировиноградной кислоты в крови коров с осложнённым течением беременности в 135—150 дней до 163,6 мкМ/л и менее, в 210 дней — до 177,9 мкМ/л и менее, при одновременном повышении молочной кислоты, свидетельствует о повышенном её метаболизме при анаэробных процессах и может являться одним из маркеров, характеризующих гипоксическое состояние, с точностью метода 91,7 %, специфичностью — 88,7 % и чувствительностью — 86,1 %. Коэффициент корреляции между уровнем пировиноградной кислоты и синдромом задержки развития плода составляет –0,76 ($P < 0,05$), коэффициент детерминации –0,578.

Соотношение молочной и пировиноградной кислот, являющееся интегральным показателем интенсивности аэробно-анаэробных процессов, представлено на рисунке 3. Если данный показатель в 135—150 дней гестации находится на уровне 5,38:1 и выше, в 210 дней — 5,45:1 и выше, то беременное животное имеет большой риск развития гипоксии плода с точностью метода 95,7 %, специфичностью — 93,1 %, чувствительностью — 94,1 %. Коэффициент корреляции составляет +0,91 ($P < 0,01$), коэффициент детерминации — 0,828.

Уровень экспрессии гена HIF-1α у беременных коров с различным характером течения беременности представлен на рисунке 4. Установлено, что уровень экспрессии гена HIF-1α в крови коров с физиологическим течением беременности на протяжении лактации повышается к 5 месяцам гестации в 1,46 раза, к 7 месяцам — в 1,92 раза, при осложнённой гестации — соответственно в 1,21 и 1,98 раза. Осложнённая беременность протекает на фоне повышенного уровня экспрессии генов HIF-1α, в том числе в 2 месяца беременности он превышает аналогичный показатель при физиологическом течении гестации в 1,97 раза ($P < 0,001$), в 5 месяцев — в 1,63 раза ($P < 0,01$), в 7 месяцев — в 2,03 раза ($P < 0,001$), свидетельствующее о гипок-

сическом состоянии плода с одной стороны, а с другой — как компенсаторный механизм по сохранению беременности.

Точность метода составляет 90,9 %, специфичность — 95,5 %, чувствительность — 90,0 %. Между уровнем экспрессии генов HIF-1α развитием осложненного течения гестации установлена положительная коррелятивная связь — $r = +0{,}92$ ($P < 0{,}001$). Коэффициент детерминации составляет 0,846.

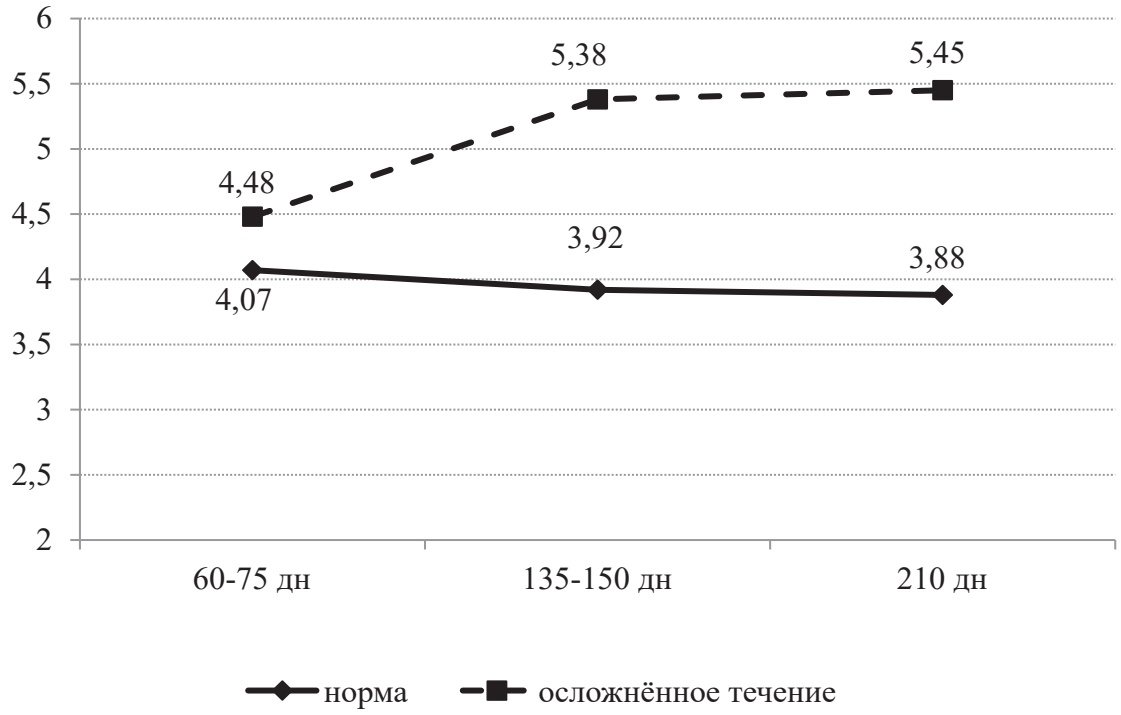


Рис. 3. Соотношение лактат: пируват в крови коров с различным характером течения беременности

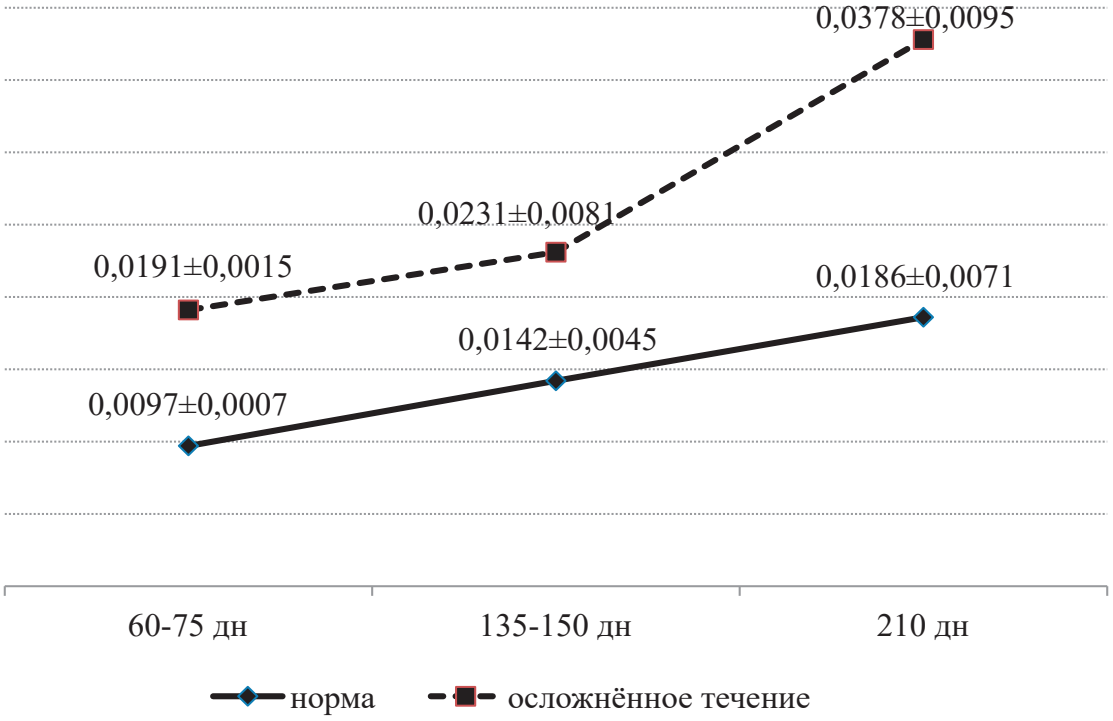


Рис. 4. Уровень относительной экспрессии генов HIF-1α в крови коров с различным характером течения беременности

Констатированное гипоксическое состояние плода на протяжении осложнённой гестации отразилось на гемоморфологических показателях новорождённых телят (табл.).

Таблица

Гемоморфологический статус телят, рождённых от коров с физиологическим и осложнённым течением беременности

Показатели	Физиологическое течение беременности, *n* = 12	Осложнённое течение беременности, *n* = 10
1	2	3
Общий белок, г/л	57,1 ± 1,1	52,1 ± 1,6$^{* 0,02}$
Альбумины, %	58,4 ± 1,3	55,9 ± 1,1
α-глобулины, %	17,4 ± 0,7	17,6 ± 0,5
β-глобулины, %	15,4 ± 0,9	19,8 ± 0,7***
γ-глобулины, %	8,8 ± 0,6	6,7 ± 0,7*
АсАТ, Е/л	22,4 ± 1,7	35,9 ± 2,5***
АлАТ, Е/л	14,5 ± 1,1	20,2 ± 1,2**
Гамма-ГТ, Е/л	34,2 ± 2,5	66,7 ± 5,3***
Мочевина, мМ/л	4,65 ± 0,21	3,61 ± 0,16***
Общие липиды, г/л	3,51 ± 0,11	2,94 ± 0,21*
Глюкоза, мМ/л	3,44 ± 0,14	3,12 ± 0,17
Лактат, мМ/л	0,68 ± 0,02	0,83 ± 0,05*
Пируват, мкМ/л	132,6 ± 6,4	97,6 ± 4,9***
Лактат: Пируват, ед	5,1	8,5
МСМ, 254 нм	0,26 ± 0,01	0,33 ± 0,01***
ИЭИ	16,7 ± 1,2	21,7 ± 1,6*
Общий кальций, мМ/л	2,97 ± 0,09	2,82 ± 0,06
Фосфор неорганический, мМ/л	2,29 ± 0,08	2,07 ± 0,06*
Медь, мкМ/л	15,04 ± 0,6	14,6 ± 0,5
Цинк, мкМ/л	52,3 ± 3,6	41,4 ± 2,9*
Марганец, мкМ/л	3,16 ± 0,11	2,93 ± 0,13
Железо, мМ/л	4,19 ± 0,12	4,26 ± 0,16
Магний, мг%	2,29 ± 0,04	2,21 ± 0,03
Кобальт, мкМ/л	0,94 ± 0,01	0,75 ± 0,02***

Окончание табл.

1	2	3
БАСК, %	87,2 ± 3,2	77,2 ± 1,6*
ЛАСК, мкг/мл	1,74 ± 0,11	1,49 ± 0,07
ФАН, %	79,8 ± 4,1	66,5 ± 3,9*
ФИ	7,2 ± 0,37	6,3 ± 0,29
ФЧ	5,7 ± 0,28	4,2 ± 0,19***

* $P < 0,05$
** $P < 0,01$
*** $P < 0,001$ — по сравнению с физиологическим течением беременности

Установлено, что в крови телят с гипоксическим состоянием, рождённых от коров с осложнённым течением гестации, содержание общего белка ниже на 8,8 % ($P < 0,05$), мочевины — на 22,4 % ($P < 0,001$), общих липидов — на 16,2 % ($P < 0,05$), пировиноградной кислоты — на 26,4 % ($P < 0,001$), неорганического фосфора — на 9,6 % ($P < 0,05$), цинка — на 20,8 % ($P < 0,05$), кобальта — на 20,2 % ($P < 0,001$), бактерицидная активность сыворотки крови — на 11,5 % ($P < 0,02$), фагоцитарная активность нейтрофилов — на 16,7 % ($P < 0,05$), фагоцитарное число — на 26,3 % ($P < 0,001$), при повышении активности АсАТ на 60,3 % ($P < 0,001$), АлАТ — на 39,3 % ($P < 0,01$), гамма-ГТ — в 1,95 раза ($P < 0,001$), содержания молочной кислоты — на 22,1 % ($P < 0,02$), молекул средней массы — на 26,9 % ($P < 0,001$), индекса эндогенной интоксикации — на 29,9 % ($P < 0,02$).

Выявленные изменения показателей крови телят свидетельствуют о дефиците общего белка, липидов, минеральных веществ, нехватке кислорода и преобладании анаэробных процессов над аэробными, эндогенной интоксикации, функциональных нарушениях в работе печени, снижении показателей гуморального и клеточного звена общей неспецифической резистентности организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, гипоксическое состояние плода при осложнённом течении беременности можно диагностировать, начиная в 2 месяцев гестации, которое происходит на всём её протяжении, что приводит к рождению приплода с пониженными показателями жизнеспособности. Маркерами ранней диагностики гипоксического состояния у новорождённых телят являются:

— содержание молочной кислоты в 135—150 дней беременности на уровне 0,88 мМ/л и выше, в 210 дней — 0,97 мМ/л и выше;

— концентрация пировиноградной кислоты в 135—150 дней беременности на уровне 163,6 мкМ/л и ниже, в 210 дней — 177,9 мкМ/л и ниже;

— соотношение лактат: пируват в 135—150 дней беременности 5,38:1 и выше, в 210 дней — 5,45:1 и выше;

— повышение относительного уровня экспрессии генов HIF-1α в крови коров в 2,0 месяца беременности в 1,97 раза, в 5 месяцев — в 1,63 раза, в 7 месяцев — в 2,03 раза в сравнении с физиологически протекающей гестацией.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Янчуков И.* Пренатальные потери у высокопродуктивных коров / И. Янчуков, В. Панфёров, Т. Мороз // Молочное и мясное скотоводство. — 2011. — № 8. — С. 2—4.

2. *Brooks K.* Conceptus elongation in ruminants: roles of progesterone, prostaglandin, interferon-tau and cortisol / K. Brooks, G. Burns, T. E. Spencer // J. Anim. Sei. Biotechnol. — 2014. — 5(1):53.

3. *Lew V. L.* On the Mechanism of human red blood cell longevity: roles of calcium, the sodium pump, PIEZO1, and gardos channels / V. L. Lew, T. Tiffert // Frontiers in Physiology. — 2017. — Dec 12; 8. DOI 10.3389/fphys.2017.00977

4. *Михалёв В. И.* / Показатели биохимического статуса крови коров, предрасположенных к развитию внутриутробной гипоксии плода В. И. Михалёв, Г. Г. Чусова, Е. М. Степанов и др. // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2025. — № 2 (31). — С. 136—146.

5. *Шерстенников И. Л.* Диагностика, лечение и профилактика гипоксии плода у коров / И. Л. Шерстенни-

ков // Методические рекомендации. — М.: МГАВМиБ им. К. И. Скрябина, 1997. — 20 с.

6. *Алехин Ю. Н.* Причины возникновения асфиксии у новорожденных телят / Ю. Н. Алехин, И. Р. Сидельникова // Современные проблемы, перспективы и инновационные тенденции развития аграрной науки. Матер. Международ. науно-практич. конф., посвящённой 85-летию со дня рождения чл.-корр. РАСХН, проф. М. М. Джамбулатова, Махачкала, 25—26 ноября 2010 г. — Махачкала, 2010. — Ч. 1. — С. 30—32.

7. *Аляутдина О. С.* Значение исследование системы гомеостаза при осложнённом течении беременности и прогнозировании тромбогеморагических осложнений / О. С. Аляутдина и др. // Акушерство и гинекология. — 1999. — № 2. — С. 18—23.

8. *Пигарева Г. П.* Система гомеостаза организма коров при физиологически протекающей беременности и акушерской патологии / Г. П. Пигарева // Ветеринарная патология. — 2012. — № 2. — С. 17—21.

9. *Новиков В. Е.* Гипоксией индуцируемый фактор (HIF-1α) как мишень фармакологического воздействия / В. Е. Новиков, О. С. Левченкова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. — 2013. — № 2. — Том 11. — С. 8—16.

10. *Sendoel A.* HIF-1 antagonizes p53-mediated apoptosis through a secreted neuronal tyrosinase / A. Sendoel, I. Kohler, C. Fellmann et al. // Nature. — 2010. — Vol. 465. — P. 577—583.

11. Диагностика и профилактика внутриутробной задержки развития и гибели эмбрионов у коров / В. И. Михалёв, С. В. Шабунин, П. А. Паршин и др. // Методическое пособие. — Воронеж, 2022. — 44 с.

12. Методическое положение по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М. И. Рецкий, С. В. Шабунин, Г. Н. Близнецова и др. // Методические положения. — Воронеж, 2010. — 70 с.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

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

Г. Г. Чусова — кандидат биологических наук, заведующая лабораторией;

Н. А. Стрельников — младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики;

Г. Н. Близнецова — доктор биологических наук, заведующая лабораторией.

Статья поступила в редакцию 18.07.2025.

Original article
UDC 619:[616-079:618.33-001.8]:636.2

MARKERS FOR THE EARLY DIAGNOSIS OF A HYPOXIC CONDITION OF A FETUS IN THE DEVELOPMENT OF BOVINE EMBRYOPATHIES

Vitaliy Ivanovich Mikhalev✉, Galina Germanovna Chusova, Nikolay Alekseevich Strelnikov, Galina Nikolaevna Bliznetsova

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

Abstract. The article presents the data on the development of criteria for the early diagnosis of fetal hypoxia in case of a complicated gestation in cows. The studies were performed on 22 cows with a physiological and complicated gestation, included in the experiment from 60—75 days of gestation until its completion. It has been established that the markers for the early diagnosis of hypoxia in newborn calves are the increase by 1.97 times in the relative level of the HIF-1α gene expression in the blood of cows at 2.0 months of gestation, at 5 months — by 1.63 times, at 7 months — by 2.03 times, in comparison with a physiological gestation; lactic acid content at 135—150 days of gestation at the level of 0.88 mM/L and higher, at 210 days — 0.97 mM/L and higher; concentration of pyruvic acid at 135—150 days of gestation at the level of 163.6 μM/L and below, at 210 days — 177.9 μM/L and below; lactate/pyruvate ratio at 135—150 days of gestation at the level of 5.38:1 and above, at 210 days — 5.45:1 and above.

Keywords: cows, gestation, hypoxic condition, markers for the early diagnosis, lactic and pyruvic acids

Obtaining healthy young animals with high viability rates is impossible without a physiologically normal gestation. Gestation complications, often manifested in the form of intrauterine growth restriction syndrome, late toxicosis, have a negative effect on the quality of the young animals. One of the complications of intrauterine fetal development is the hypoxic condition of the mother's body, recorded in 7.0—25.0 % of pregnant animals. The hypoxic condition of the fetus is one of the causes of stillbirth [1, 2].

Lack of oxygen during embryonic development leads to significant changes in the organs and tissues of the developing embryo, which are compensatory at the initial stages, and later, if the cause is not eliminated, pathological [3, 4].

Under conditions of oxygen deficiency during gestation, changes in the level of oxidation-reduction processes are observed in the embryo's body, leading to the accumulation of under-oxidized metabolic products, a shift in the acid-base balance to the acidic side. With oxygen deficiency, the fetal pulse rate increases to 180 bpm, and the lactic acid level increases to 1.8—2.4 mmol/L [5, 6].

To assess the condition of the fetus's oxygen supply, the content of lactic and pyruvic acids in the blood and amniotic fluid is determined. In the cows with a complicated gestation, an increased content of lactic acid and a decreased pyruvic acid content are also observed from the first 60—75 days [7, 8].

Another indicator used to assess the oxygen supply to the fetus and the mother's body is the hypoxia-induced factor (HIF-1α), which is subject to proteasomal degradation under normal oxygen conditions. When the oxygen level decreases, the HIF-1α molecule is not hydroxylated, remains free and accumulates. An increase in the HIF-1α level in a hypoxic condition promotes an increase in the erythropoietin gene expression, vascular endothelial growth factor, etc. [9, 10]. Therefore, the search for the markers characterizing the hypoxic condition of the fetus during gestation is an urgent task for veterinary science.

The research objective is to develop the markers for the early diagnosis of the hypoxic condition of the fetus in case of the bovine embryopathies development.

MATERIAL AND METHODS

The material for the study was cows, starting from 60—75 days after insemination, which were divided into two groups: with a complicated gestation (n = 10) and with a physiological gestation (n = 12). The divi-

sion into groups was carried out on the basis of the results of clinical and echographic studies using the Easy-Scan-5 ultrasound scanner, as well as the diagnostic criteria for embryonic developmental disorders in cows [11].

Blood samples were taken from all animals included in the experiment for laboratory tests. The content of lactic and pyruvic acids and their ratios were determined in the blood. Blood samples were taken from cows at 60—75, 135—150 and 210 days of gestation. At the end of gestation, hemomorphological studies of the newborn calves obtained from the cows with a physiological and complicated gestation were carried out. The following indicators were determined in the blood of calves: the content of total protein and its fractions, urea, total lipids, glucose, lactic and pyruvic acids, total calcium, inorganic phosphorus, copper, zinc, manganese, iron, magnesium, cobalt, medium-weight molecules (MWM), index of endogenous intoxication (IEI), serum bactericidal activity, phagocytic activity of neutrophils, phagocytic number, phagocytic index, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma-glutamyl transferase (GGT) activity. The relative level of the HIF-1α gene expression was also determined in the blood of cows with different gestation patterns. Biochemical indicators were determined using the Hitachi-902 analyzer, and endogenous intoxication indicators were determined in accordance with the methodological provisions [12].

The obtained results were statistically processed using the Statistica 6.0 software package. To develop the markers for early diagnosis of hypoxia in newborn young animals, a correlation analysis of the laboratory test results of the blood of pregnant cows with different gestation patterns was performed. The differences were considered statistically significant at $P < 0.05$.

STUDY RESULTS

The lactic acid content in cows with different gestation patterns is shown in Fig. 1.

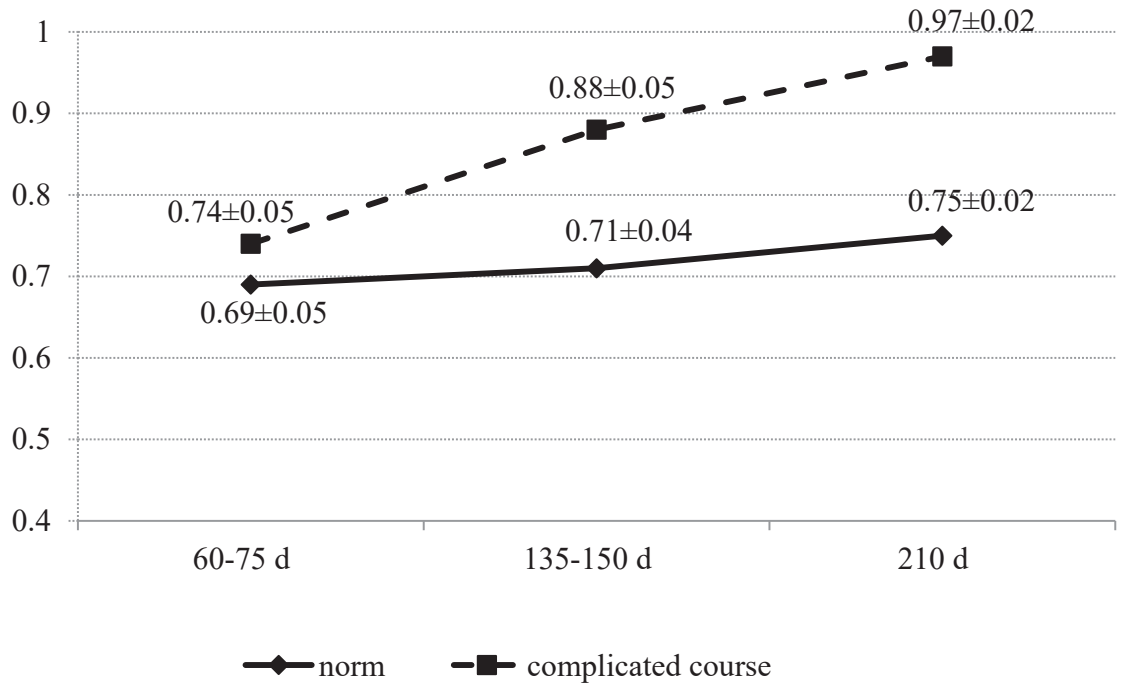


Fig. 1. Lactic acid content in the blood of cows with different gestation patterns, mmol/L

It has been established that the level of lactic acid in the blood of cows with a complicated gestation is significantly lower at 135—150 and 210 days, compared to physiological gestation. If this indicator at 135—150 days is 0.88 mmol/L and higher, at 210 days — 0.97 mmol/L and higher, then the animal has a high risk of a hypoxic condition development in the fetus. The accuracy of this method is 87.8 %, specificity — 86.0 %, sensitivity — 87.5 %. A reliable positive correlation has been established between the level of lactic acid in the blood and the development of hypoxic syndrome — $r = –0.89$ ($P < 0.001$). The determination coefficient is 0.792.

The concentration of pyruvic acid, which is the source of lactic acid formation during anaerobic processes, is shown in Fig. 2.

A decrease in the concentration of pyruvic acid in the blood of the cows with a complicated gestation at

135—150 days to 163.6 μM/L and less, at 210 days — to 177.9 μM/L and less, with a simultaneous increase in lactic acid, indicates its increased metabolism during anaerobic processes and can be one of the markers characterizing the hypoxic condition, with the accuracy of the method of 91.7 %, specificity — 88.7 % and sensitivity — 86.1 %. The correlation coefficient between the level of pyruvic acid and fetal growth restriction syndrome is –0.76 ($P < 0.05$), the determination coefficient is –0.578.

The ratio of lactic and pyruvic acids, which is an integral indicator of the intensity of aerobic-anaerobic processes, is shown in Fig. 3. If this indicator is at the level of 5.38:1 and higher at 135—150 days of gestation, and 5.45:1 and higher at 210 days, then the pregnant animal has a high risk of the fetal hypoxia development with the accuracy of the method of 95.7 %, specificity of 93.1 %, and sensitivity of 94.1 %. The correlation coefficient is +0.91 ($P < 0.01$), the determination coefficient is 0.828.

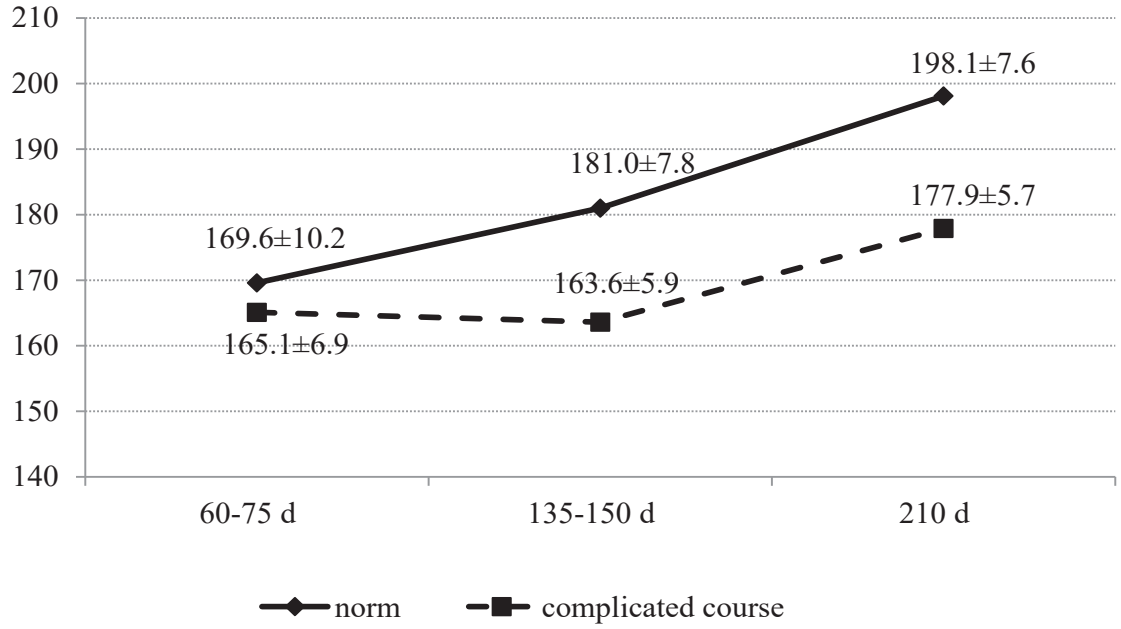


Fig. 2. Pyruvic acid content in the blood of cows with different gestation patterns, μM/L

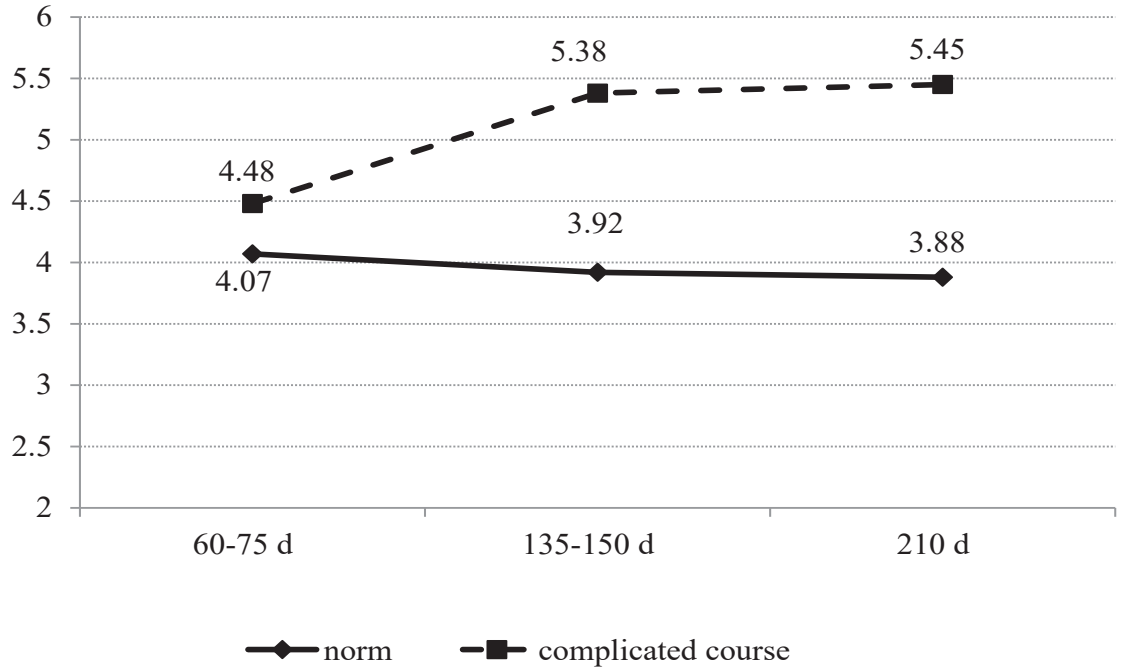


Fig. 3. Lactate/pyruvate ratio in the blood of cows with different gestation patterns

The level of the HIF-1α gene expression in pregnant cows with different types of gestation is shown in Fig. 4. It has been found that the level of the HIF-1α gene expression in the blood of the cows with a physiological gestation during lactation increases by 1.46 times by 5 months of gestation, by 1.92 times — by 7 months, and by 1.21 and 1.98 times, respectively, in case of a complicated gestation. A complicated gestation occurs against the background of an increased level of the HIF-1α gene expression, including that at 2 months of gestation it exceeds a similar indicator during the physiological course of gestation by 1.97 times ($P < 0.001$), at 5 months — by 1.63 times ($P < 0.01$), at 7 months — by 2.03 times ($P < 0.001$), indicating a hypoxic condition of the fetus, on the one hand, and as a compensatory mechanism for maintaining gestation, on the other. The accuracy of the method is 90.9 %, specificity — 95.5 %, sensitivity — 90.0 %. A positive correlation was established between the level of the HIF-1α gene expression and the development of a complicated gestation — $r = +0.92$ ($P < 0.001$). The determination coefficient is 0.846.

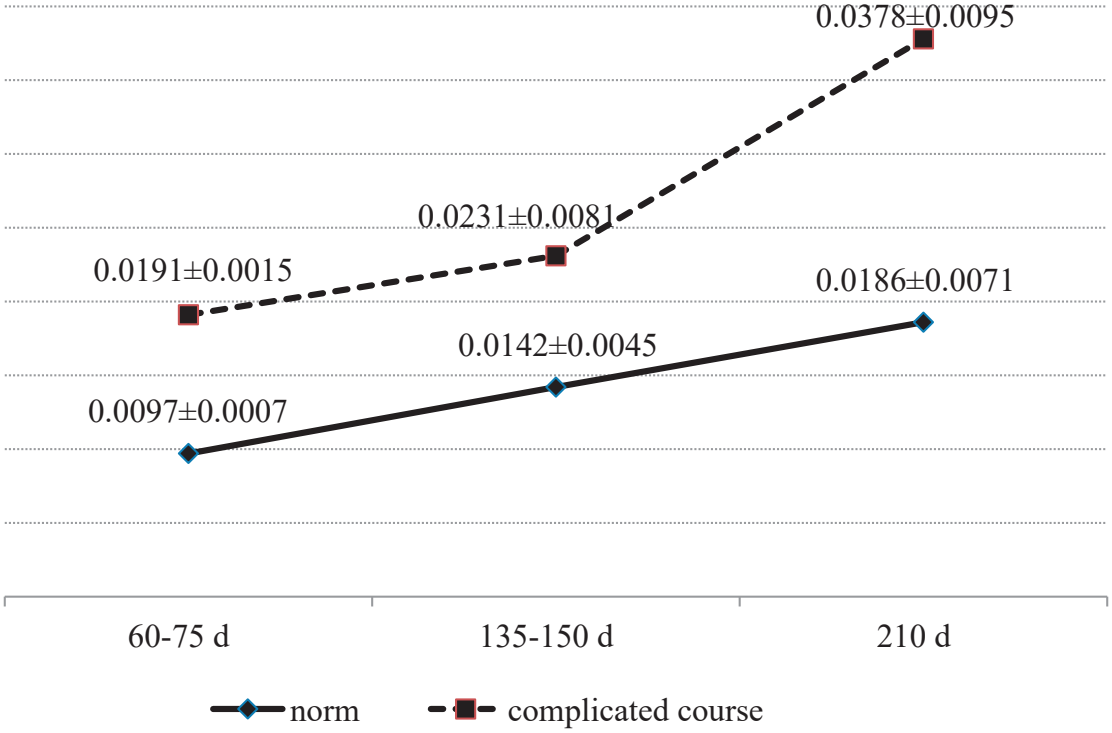


Fig. 4. Level of the relative HIF-1α gene expression in the blood of cows with different gestation patterns

The established hypoxic condition of the fetus during a complicated gestation was reflected in the hemomorphological indicators of newborn calves (Table).

Table

Hemomorphological status of the calves born from the cows with a physiological and complicated gestation

Indicators	Physiological course of gestation, $n = 12$	Complicated course of gestation, $n = 10$
1	2	3
Total protein, g/L	57.1 ± 1.1	52.1 ± 1.6$^{* 0.02}$
Albumin, %	58.4 ± 1.3	55.9 ± 1.1
α-globulins, %	17.4 ± 0.7	17.6 ± 0.5
β-globulins, %	15.4 ± 0.9	19.8 ± 0.7***

Table (the end)

1	2	3
γ-globulins, %	8.8 ± 0.6	6.7 ± 0.7*
AST, U/L	22.4 ± 1.7	35.9 ± 2.5***
ALT, U/L	14.5 ± 1.1	20.2 ± 1.2**
Gamma-GT, U/L	34.2 ± 2.5	66.7 ± 5.3***
Urea, mM/L	4.65 ± 0.21	3.61 ± 0.16***
Total lipids, g/L	3.51 ± 0.11	2.94 ± 0.21*
Glucose, mM/L	3.44 ± 0.14	3.12 ± 0.17
Lactate, mM/L	0.68 ± 0.02	0.83 ± 0.05*
Pyruvate, μM/L	132.6 ± 6.4	97.6 ± 4.9***
Lactate/Pyruvate, units	5.1	8.5
MWM, 254 nm	0.26 ± 0.01	0.33 ± 0.01***
IEI	16.7 ± 1.2	21.7 ± 1.6*
Total calcium, mM/L	2.97 ± 0.09	2.82 ± 0.06
Inorganic phosphorus, mM/L	2.29 ± 0.08	2.07 ± 0.06*
Copper, μM/L	15.04 ± 0.6	14.6 ± 0.5
Zinc, μM/L	52.3 ± 3.6	41.4 ± 2.9*
Manganese, μM/L	3,16 ± 0.11	2.93 ± 0,13
Iron, mM/L	4.19 ± 0.12	4.26 ± 0.16
Magnesium, mg%	2.29 ± 0.04	2.21 ± 0.03
Cobalt, μM/L	0.94 ± 0.01	0.75 ± 0.02***
SBA, %	87.2 ± 3.2	77.2 ± 1.6*
SLA, μg/ml	1.74 ± 0.11	1.49 ± 0.07
PAN, %	79.8 ± 4.1	66.5 ± 3.9*
PhI	7.2 ± 0.37	6.3 ± 0.29
PhN	5.7 ± 0.28	4.2 ± 0.19***

* $P < 0.05$
** $P < 0.01$
*** $P < 0.001$ — compared to the physiological course of gestation

It has been established that in the blood of the calves with a hypoxic condition, born from the cows with a complicated gestation, the content of total protein is lower by 8.8 % ($P < 0.05$), urea — by 22.4 % ($P < 0.001$), total lipids — by 16.2 % ($P < 0.05$), pyruvic acid — by 26.4 % ($P < 0.001$), inorganic phosphorus — by 9.6 % ($P < 0.05$), zinc — by 20.8 % ($P < 0.05$), cobalt — by 20.2 % ($P < 0.001$), serum bactericidal activity — by 11.5 % ($P < 0.02$), phagocytic activity of neutrophils — by 16.7 % ($P < 0.05$), phagocytic number — by 26.3 %. ($P < 0.001$), with an increase in the activity of AST by 60.3 % ($P < 0.001$), ALT — by 39.3 % ($P < 0.01$), gamma-GT — by 1.95 times ($P < 0.001$), lactic acid content — by 22.1 %

($P < 0.02$), medium-weight molecules — by 26.9 % ($P < 0.001$), index of endogenous intoxication — by 29.9 % ($P < 0.02$).

The revealed changes in the blood indicators of calves indicate a deficiency of total protein, lipids, minerals, oxygen deficiency and the predominance of anaerobic processes over aerobic ones, endogenous intoxication, functional disorders in the liver, a decrease in the humoral and cellular links of the general nonspecific resistance of the body.

CONCLUSION

Thus, the hypoxic condition of a fetus in case of a complicated gestation can be diagnosed starting at 2 months of gestation, which occurs throughout its entire duration, which leads to the birth of the offspring with reduced viability indicators. The markers for the early diagnosis of hypoxic condition in newborn calves are:

— lactic acid content at 135—150 days of gestation at a level of 0.88 mM/L and above, at 210 days — 0.97 mM/L and above;

— pyruvic acid concentration at 135—150 days of gestation at a level of 163.6 μM/L and below, at 210 days — 177.9 μM/L and below;

— lactate/pyruvate ratio at 135—150 days of gestation is 5.38:1 and higher, at 210 days — 5.45:1 and higher;

— increase in the relative level of the HIF-1α gene expression in the blood of cows at 2.0 months of gestation by 1.97 times, at 5 months — by 1.63 times, at 7 months — by 2.03 times, in comparison with a physiological course of gestation.

REFERENCES

1. *Yanchukov I.* Prenatal losses in high yielding cows / I. Yanchukov, V. Panferov, T. Moroz // Molochnoe i myasnoe skotovodstvo (Dairy and beef cattle breeding). — 2011. — No. 8. — P. 2—4.

2. *Brooks K.* Conceptus elongation in ruminants: roles of progesterone, prostaglandin, interferon-tau and cortisol / K. Brooks, G. Burns, T. E. Spencer // J. Anim. Sei. Biotechnol. — 2014. — 5(1):53.

3. *Lew V. L.* On the Mechanism of human red blood cell longevity: roles of calcium, the sodium pump, PIEZO1, and gardos channels / V. L. Lew, T. Tiffert // Frontiers in Physiology. — 2017. — Dec 12; 8. DOI 10.3389/fphys.2017.00977

4. *Mikhalev V. I.* Indicators of blood biochemical status of cows predisposed to the development of intrauterine fetal hypoxia V. I. Mikhalev, G. G. Chusova, E. M. Stepanov et al. // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2025. — No. 2 (31). — P. 136—146.

5. *Sherstennikov I. L.* Diagnosis, treatment and prevention of fetal hypoxia in cows / I. L. Sherstennikov // Methodical recommendations. — M.: Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K. I. Skryabin, 1997. — 20 p.

6. *Alekhin Yu.N.* Causes of asphyxia in newborn calves / Yu.N. Alekhin, I. R. Sidelnikova // Current problems, prospects and innovative trends in the development of agricultural science. Mat. of Int. scientific and practical. conf., dedicated to the 85th anniversary since the birth of the Corresponding Member of the RAAS, prof. M. M. Dzhambulatov, Makhachkala, November 25—26, 2010. — Makhachkala, 2010. — Part 1. — P. 30—32.

7. *Alyautdina O. S.* Importance of studying the homeostasis system in case of a complicated gestation and predicting thrombohemorrhagic complications / O. S. Alyautdina et al. // Akusherstvo i ginekologiya (Obstetrics and Gynecology). — 1999. — No. 2. — P. 18—23.

8. *Pigareva G. P.* Homeostasis system of the cow's body during physiological gestation and obstetric pathology / G. P. Pigareva // Veterinarnaya patologiya (Veterinary pathology). — 2012. — No. 2. — P. 17—21.

9. *Novikov V. E.* Hypoxia-inducible factor (HIF-1α) as a target for pharmacological action / V. E. Novikov, O. S. Levchenkova // Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii (Reviews of clinical pharmacology and drug therapy). — 2013. — No. 2. — Vol. 11. — P. 8—16.

10. *Sendoel A.* HIF-1 antagonizes p53-mediated apoptosis through a secreted neuronal tyrosinase / A. Sendoel, I. Kohler, C. Fellmann et al. // Nature. — 2010. — Vol. 465. — P. 577—583.

11. Diagnosis and prevention of intrauterine growth restriction and embryo death in cows / V. I. Mikhalev, S. V. Shabunin, P. A. Parshin, et al. // Methodological manual. — Voronezh, 2022. — 44 p.

12. Methodological provisions for the study of the free radical oxidation processes and antioxidant defense system of the body / M. I. Retskiy, S. V. Shabunin, G. N. Bliznetsova, et al. // Metodicheskie polozheniya (Methodological provisions). — Voronezh, 2010. — 70 p.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

V. I. Mikhalev — Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Sector;
G. G. Chusova — Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory;
N. A. Strelnikov — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;
G. N. Bliznetsova — Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory.

The article was submitted 18.07.2025.

УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ И ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Редакция журнала «Ветеринарный фармакологический вестник» Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии приглашает научных сотрудников, преподавателей вузов, соискателей ученых степеней и практикующих специалистов для публикации результатов экспериментальных исследований, теоретических и обзорных статей, касающихся актуальных вопросов ветеринарной фармакологии.

Цель журнала «Ветеринарный фармакологический вестник» — представление основных направлений развития ветеринарной фармакологии, привлечение внимания научных работников и специалистов к актуальным проблемам, продвижение инновационных разработок.

Основные тематические направления журнала:

1. Экспериментальная фармакология.
2. Клиническая фармакология.
3. Биохимическая и молекулярная фармакология.
4. Фармация.
5. Новые лекарственные средства и препараты для терапии и профилактики болезней.
6. Средства зоогигиены, дезинфекции, дезинсекции и дератизации.
7. Лечебные премиксы и кормовые добавки.
8. Патофизиология, патобиохимия и экспериментальная терапия.

Тематическое содержание журнала может меняться в зависимости от текущих задач науки и практики.

УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ

Авторам необходимо предоставить в редакцию следующие материалы:

1. Статью, оформленную в соответствии с требованиями, на почту vetfarm.journal@yandex.ru («В редакцию журнала «Ветеринарный фармакологический вестник»).

Материал, предлагаемый для публикации, должен быть тщательно **отредактирован и подписан всеми авторами**.

Статьи, направляемые в редакцию, проходят рецензирование и выносятся на рассмотрение редколлегии. При необходимости редакция связывается с авторами по телефону или электронной почте. По результатам обсуждения принимается решение о возможности включения статьи в журнал, об отказе или доработке.

Статья, направленная автору на доработку, должна быть возвращена в исправленном виде в максимально короткие сроки. К рукописи необходимо приложить письмо от авторов, содержащие ответы на все замечания. Статья, требующая повторной доработки, рассматривается как вновь поступившая. При этом датой поступления считается дата получения редакцией окончательного варианта статьи.

Плата с авторов за публикацию не взимается.

Авторское вознаграждение за размещение статей в печатной и электронной версии журнала авторам статей не выплачивается.

Материалы, поступившие в редакцию, авторам не возвращаются.

2. Сведения об авторах:

Фамилия, имя, отчество

Ученая степень

Ученое звание

Должность

Полное название организации

Адрес, телефон, e-mail

Отдельно необходимо указать лицо и его контактные данные, с которым редакция будет вести переговоры и переписку.

3. Направление от учреждения, в котором выполнена работа по форме:

В редакцию журнала
«Ветеринарный фармакологический вестник»

Прошу (просим) опубликовать в открытой печати мою (нашу) статью «_____
_____».

Материалы статьи частично или полностью не были ранее опубликованы*.

Авторы подтверждают достоверность и оригинальность материалов, изложенных в статье; дают согласие на сбор, обработку и распространение своих персональных данных в соответствии с требованиями Федерального закона № 152-ФЗ от 27 июля 2006 года «О персональных данных»; гарантируют, что не нарушают ничьих авторских прав; не включают материалы, не подлежащие к публикации в открытой печати в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации.

Вместе со статьей автор передает редакции на неограниченный срок следующие права: право на размещение, воспроизведение и распространение статьи любым способом; право на переработку статьи и внесение изменений в статью; право на публичное использование материалов статьи и демонстрацию их в информационных, рекламных и прочих целях.

Также авторы подтверждают, что согласны с правилами редакции по подготовке рукописи к изданию. После публикации ее цитирование возможно только со ссылкой на журнал «Ветеринарный фармакологический вестник».

_____ _____
_____ _____
подпись (подписи) автора (авторов) фамилия, имя, отчество

Подпись (подписи) _____заверяю.

_____
подпись и ФИО лица, заверившего подписи
М.П. организации
«___»_____г.

* Если были опубликованы частично, то указать название издания, год выпуска, номер, страницы.

Для ускорения публикации статьи в редакцию необходимо предоставить рецензию доктора наук, заверенную в отделе кадров по месту работы.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

Текст статьи объемом до 15 страниц предоставляется в программе Microsoft Word: шрифт — Times New Roman, кегль — 14 пт, межстрочный интервал — 1,5, абзацный отступ — 1,25, без переносов. Формат страницы — А4; поля: левое — 3 см, верхнее, правое и нижнее — 2 см.

Элементами издательского оформления статей являются:

— сведения об издании, в котором опубликована статья;

— название рубрики или раздела издания;

— тип статьи (научная статья, обзорная статьи, редакционная статья, дискуссионная статья, персоналии, редакторская заметка, рецензия на книгу, рецензия на статью, спектакль и т. п., краткое сообщение);

— индекс Универсальной десятичной классификации (УДК);

— цифровой идентификатор объекта (Digital Object Identifier — DOI); его приводят по ГОСТ Р ИСО 26324 и располагают после индекса УДК отдельной строкой слева. В конце DOI точку не ставят;

— заглавие статьи;

— подзаголовочные данные статьи;

— сведения об авторе (авторах);

— аннотация (резюме);
— ключевые слова (словосочетания);
— благодарности;
— знак охраны авторского права;
— перечень затекстовых библиографических ссылок;
— сведения о продолжении или окончании статьи;
— приложение (приложения);
— примечания;
— дата поступления рукописи в редакцию издания, дата одобрения после рецензирования, дата принятия статьи к опубликованию.

Дополнительно могут быть приведены:
— библиографическая запись на статью для дальнейшего цитирования;
— сведения о вкладе каждого автора, если статья имеет несколько авторов;
— указание об отсутствии или наличии конфликта интересов и детализация такого конфликта в случае его наличия.

Слова и словосочетания в элементах издательского оформления статьи не сокращают, кроме сведений об ученой степени и звании автора, слов и словосочетаний в библиографических ссылках и списках по ГОСТ 7.11, ГОСТ Р 7.0.12.

Основной текст статьи может быть структурирован и состоять из следующих частей:
— введение;
— текст статьи (с выделением разделов «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение» и др.);
— заключение.

Допускается деление основного текста статьи на тематические рубрики и подрубрики.

Надписи и подписи к иллюстративному материалу приводят на языке текста статьи и, как правило, повторяют на английском языке. Основной текст статьи в издании может быть только на одном языке. Смешивать в одной статье текст на двух языках не допускается.

До основного текста статьи приводят на языке текста статьи и затем повторяют на английском языке следующие элементы издательского оформления: сведения об издании, в котором опубликована статья, название рубрики или раздела, тип статьи, ее заглавие и подзаголовочные данные, основные сведения об авто-ре (авторах), аннотацию, ключевые слова, благодарности, библиографическую запись для цитирования. Имена приводят в транслитерированной форме на латинице по ГОСТ 7.79 или в той форме, в какой ее установил автор или редакция издания.

После основного текста статьи приводят на языке текста статьи и затем повторяют на английском языке следующие элементы издательского оформления: дополнительные сведения об авторе (авторах), сведения о вкладе каждого автора, указание об отсутствии или наличии конфликта интересов и детализация такого конфликта в случае его наличия, а также даты поступления рукописи в редакцию, одобрения после рецензирования, принятия статьи к опубликованию.

Основные сведения об авторе содержат:
— имя, отчество, фамилию автора (полностью);
— наименование организации (учреждения), ее подразделения, где работает или учится автор (без обозначения организационно-правовой формы юридического лица: ФГБУН, ФГБОУ ВО, ПАО, АО и т. п.);
— адрес организации (учреждения), ее подразделения, где работает или учится автор (город и страна);
— электронный адрес автора (e-mail);
— открытый идентификатор ученого (Open Researcher and Contributor ID — ORCID) (при наличии). Адрес организации (учреждения), где работает или учится автор, может быть указан в полной форме. Электронный адрес автора приводят без слова «e-mail», после электронного адреса точку не ставят. ORCID приводят в форме электронного адреса в сети Интернет. В конце ORCID точку не ставят. Наименование организации (учреждения), ее адрес, электронный адрес и ORCID автора отделяют друг от друга запятыми.

В случае, когда автор работает (учится) в нескольких организациях (учреждениях), сведения о каждом месте работы (учебы), указывают после имени автора на разных строках и связывают с именем с помощью надстрочных цифровых обозначений.

Если у статьи несколько авторов, то сведения о них приводят с учетом нижеследующих правил. Имена авторов приводят в принятой ими последовательности.

Автор, ответственный за переписку, и его электронный адрес могут быть обозначены условным изображением конверта, в электронных изданиях — также и другими средствами, реализуемыми программным обеспечением публикации издания.

Возможно приведение электронного адреса только одного автора, с которым планируется переписка, или отдельное указание автора для корреспонденции по форме: «Автор, ответственный за переписку:» («Corresponding author:»).

Дополнительные сведения об авторе (авторах) могут содержать:

— полные имена, отчества и фамилии, электронные адреса и ORCID авторов, если они не указаны на первой полосе статьи;

— ученые звания;

— ученые степени;

— другие, кроме ORCID, международные идентификационные номера авторов. Дополнительные сведения об авторе (авторах) приводят с предшествующими словами «Информация об авторе (авторах)» («Information about the author (authors)») и указывают в конце статьи после «Списка источников».

Сведения о месте работы (учебы), электронные адреса, ORCID авторов указывают после имен авторов на разных строках и связывают с именами с помощью надстрочных цифровых обозначений Индекс УДК располагается в левом верхнем углу без абзацного отступа.

Далее без абзацного отступа располагается название статьи — заглавными буквами, полужирным шрифтом, выравнивание по центру.

Фамилия, имя, отчество автора — без абзацного отступа, по центру, строчными буквами, полужирным шрифтом.

Аннотацию формируют по ГОСТ Р 7.0.99. Объем аннотации не превышает 250 слов. Перед аннотацией приводят слово «Аннотация» («Abstract»).

Ключевые слова (словосочетания) должны соответствовать теме статьи и отражать ее предметную, терминологическую область. Не используют обобщенные и многозначные слова, а также словосочетания, содержащие причастные обороты.

Количество ключевых слов (словосочетаний) не должно быть меньше 3 и больше 15 слов (словосочетаний). Их приводят, предваряя словами «Ключевые слова:» («Keywords:»), и отделяют друг от друга запятыми. После ключевых слов точку не ставят.

После ключевых слов приводят слова благодарности организациям (учреждениям), научным руководителям и другим лицам, оказавшим помощь в подготовке статьи, сведения о грантах, финансировании подготовки и публикации статьи, проектах, научно-исследовательских работах, в рамках или по результатам которых опубликована статья.

Эти сведения приводят с предшествующим словом «Благодарности:». На английском языке слова благодарности приводят после ключевых слов на английском языке с предшествующим словом «Acknowledgments:».

Текст статьи должен включать введение (без указания названия раздела), материалы и методы, результаты исследований, обсуждение и выводы (заключение).

Библиографическую запись для пристатейного библиографического списка составляют по ГОСТ 7.80, ГОСТ Р 7.0.100.. Ссылки на источники даются по тексту цифрой в квадратных скобках и указываются в порядке цитирования. В списке литературы желательно наличие как минимум 20 % иностранных источников и включение в список современных авторов.

Таблицы должны быть выполнены в Microsoft Word и содержать статистически обработанный материал. Каждая таблица должна иметь номер, тематический заголовок и ссылку в тексте.

Графики, диаграммы, рисунки и фотографии необходимо предоставлять в формате jpeg, tif или gif (с разрешением не менее 300 точек) с соответствующими подписями и пронумерованными.

Сокращения терминов, отличные от нормированных, должны приводиться только после упоминания в тексте их полного значения.

Единицы измерений даются в соответствии с Международной системой СИ по ГОСТ 8.417—2002 «Единицы величин».