
ЗООТЕХНИЯ, БИОЛОГИЯ И ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

**Оценка уровня нитрита и трансферрина в крови коров
с субклиническим маститом методом
электронного парамагнитного резонанса**

**Зинаида Сергеевна Артюшина^{1✉}, Сергей Васильевич Федотов²,
Владимир Анатольевич Сереженков³, Никита Юрьевич Сиднев²,
Николай Анатольевич Ткачев³, Наталья Сергеевна Белозерцева²**

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии –
МВА имени К.И. Скрябина, Москва, Россия

²Российский государственный аграрный университет –
МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

³Институт химической физики имени Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия

✉Автор, ответственный за переписку: artyshina.zinaida@yandex.ru

Аннотация

Большая проблема в оказании ветеринарной помощи заключается в недостаточно своевременной и количественной диагностике субклинических маститов у высокопродуктивных коров. В настоящее время основным показателем для диагностики патологии вымени является анализ молока на содержание лейкоцитов, то есть нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, и эпителиальных клеток. Воспаление в молочной железе напрямую связано с синтезом оксида азота, и парамагнитный комплекс NO с гемоглобином имеет характерные спектроскопические параметры сверхтонкого расщепления. Величина $(NO)_x$ в молоке коров с субклиническим маститом существенно отличалась от таковой в молоке здоровых коров. Были проведены исследования уровня оксида азота NO по стабильному продукту окисления нитриту и трансферрина в крови коров с субклиническим маститом с помощью метода электронного парамагнитного резонанса. Обнаружено по ЭПР-сигналу трансферрина с $g = 4,3$, что в крови контрольной группы содержится больше трансферрина и, соответственно, железа, а в крови контрольной группы – значительно меньше. Следовательно, изменения в концентрации нитрита и трансферрина наряду с Fe и ферритином в крови могут служить в качестве биомаркеров воспалительных заболеваний, в том числе у коров с субклиническим маститом.

Ключевые слова

Крупный рогатый скот, субклинический мастит, метод электронного парамагнитного резонанса, оксида азота, трансферрин

Благодарности

Работа выполнена в рамках гранта РНФ № 23–76–01050 от 8 августа 2023 г.

Для цитирования

Артюшина З.С., Федотов С.В., Сереженков В.А., Сиднев Н.Ю. и др. Оценка уровня нитрита и трансферрина в крови коров с субклиническим маститом методом электронного парамагнитного резонанса // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2025. № 2. С. 136–150.

**Assessment of nitrite and transferrin levels in the blood of cows
with subclinical mastitis by the electron paramagnetic resonance method**

**Zinaida S. Artyushina^{1✉}, Sergey V. Fedotov², Vladimir A. Serezhenkov³,
Nikita Yu. Sidnev², Nikolay A. Tkachev³, Natalya S. Belozertseva²**

¹Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology
named after K.I. Skryabin, Moscow, Russia

²Russian State Agrarian University –
Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

³N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics,
Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

✉ **Corresponding author:** artyushina.zinaida@yandex.ru

Abstract

A major problem in veterinary medicine is the lack of timely and quantitative diagnosis of subclinical mastitis in highly productive cows. Currently, the main indicator for diagnosis of udder pathology is milk analysis for leukocytes (i.e., neutrophils, macrophages, lymphocytes) and epithelial cells. Inflammation in the mammary gland is directly related to nitric oxide synthesis and the paramagnetic NO complex with hemoglobin has characteristic spectroscopic parameters of hyperfine cleavage. The level of (NO)_x in the milk of cows with subclinical mastitis differed significantly from that of healthy cows. The electron paramagnetic resonance method was used to study the level of nitric oxide NO by the stable oxidation product nitrite and transferrin in the blood of cows with subclinical mastitis. From the EPR signal of transferrin with $g = 4.3$, it was found that the blood of the control group contains more transferrin, and consequently iron, and the blood of the control group contains significantly less. Therefore, changes in nitrite and transferrin concentrations, along with blood Fe and ferritin, may serve as biomarkers of inflammatory diseases, including in cows with subclinical mastitis.

Keywords

Cattle, subclinical mastitis, electron paramagnetic resonance method, nitric oxide, transferrin

Acknowledgments

The work was carried out within the framework of the Russian Scientific Fund grant No. 23–76–01050 dated August 08, 2023.

For citation

Artyushina Z.S., Fedotov S.V., Serezhenkov V.A. et al. Assessment of nitrite and transferrin levels in the blood of cows with subclinical mastitis by the electron paramagnetic resonance method. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2025. No. 2. P. 136–150.

**Введение
Introduction**

Восстановление численности маточного поголовья и, соответственно, повышение уровня его продуктивности требуют инновационных и экономически выгодных технологий, которые могут обеспечить высокие темпы воспроизводства животных с отличными племенными и продуктивными качествами. Достичь желаемых

результатов можно на фоне полноценного кормления, физиологически обоснованных условий содержания, целенаправленной селекционной работы и технологии искусственного осеменения, своевременно проведенных гинекологической диспансеризации и лечебно-профилактических работ [1]. Улучшение племенной работы в скотоводстве предъявляет повышенные требования к продуктивным качествам коров, предназначенных для лактации. Установлено, что от 27,0 до 51,0% лактирующих коров выбраковывается по причине патологии молочной железы [2–4].

Бактериальная внутренняя инфекция вымени является основной причиной мастита у крупного рогатого скота [5, 6]. Возбудители мастита – такие, как *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus agalactiae*, и менее распространенные виды – такие, как *Mycoplasma bovis* и *Corynebacterium*, обитают на вымени и коже сосков коров и способны проникать в сосковой канал. Патогены окружающей среды – такие, как *Escherichia coli* (*E. Coli*), *Streptococcus spp.*, размножаются в вымени коровы, индуцируя иммунный ответ, и могут быстро элиминироваться. Бактерии, а именно *Streptococcus spp.* (например, *Strep. uberis*), *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* и др., вызывают экологический мастит.

Мастит, вызванный эндотоксином *E. coli*, обусловлен связыванием липополисахарида с toll-подобным рецептором (TLR4) в ассоциации с другими молекулами – такими, как LPS-связывающий рецептор и ряд других белков, что индуцирует многочисленные сигнальные пути [7]. Модуляция активности фактора NF-κB является важным этапом одного из них, контролирующим транскрипцию ДНК, выработку цитокинов и выживаемость клеток. Связывание NF-κB с последовательностью ДНК приводит к транскрипции мРНК и трансляции воспалительных цитокинов (таких, как TNF-α, интерлейкин IL-1β, IL-6, IL-8); маркеров воспаления – таких, как циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2) и индуцибельной синтазы оксида азота NO (iNOS), что в итоге вызывает воспалительную реакцию.

St. aureus способен вызвать у коровы такой же сильный иммунный ответ, как эндотоксин *E. coli*, поэтому заражение *St. aureus* проходит в легкой форме и может приводить к хроническому маститу, длительность которого варьируется. При этом индуцируются ферменты и токсины, которые необратимо повреждают ткань молочной железы [8].

Поскольку мастит крупного рогатого скота является воспалительным заболеванием, то выделяют клинический мастит с признаками покраснения вымени, отека, горячего и болезненного вымени, изменения цвета и запаха молока, снижения надоев и уплотнения вымени. В случае субклинического мастита отмечаются изменения в молоке – такие, как увеличение количества соматических клеток и повышенная бакобсемененность. Острый мастит характеризуется внезапным повышением температуры тела животного до +41,5...+43°C с явлениями тяжелой токсемии. Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что антибиотики не являются эффективным методом лечения мастита ввиду резистентности, развивающейся у возбудителя на фоне β-лактамных антибиотиков. Согласно последним данным литературы о распространенности мастита крупного рогатого скота во всем мире субклинический мастит является наиболее часто регистрируемым и вызывающим крупные экономические потери [9].

Таким образом, раннее выявление субклинических форм мастита имеет основополагающее значение для адекватного лечения заболевших животных в стаде в связи со строгими ограничениями на использование противомикробных препаратов для профилактики контроля роста и распространения явлений резистентности. В прошлом профилактическое использование противомикробных препаратов в молочных стадах применялось часто, особенно в период сухостоя.

В связи с этим требуются альтернативные решения для контроля мастита включая геномную селекцию на устойчивость, новые диагностические и терапевтические инструменты.

В последние годы внеклеточные везикулы (ВВ) широко исследовались в медицине и ветеринарии. ВВ представляют собой ограниченные мембраной наночастицы, участвующие в межклеточной коммуникации, и их присутствие было доказано в нескольких биологических жидкостях – таких, как кровь, моча, молоко и слюна. Среди ВВ выделяют три основных класса: экзосомы, эктосомы и апоптотические тельца [10].

Способность ВВ регулировать клеточные и органные процессы обусловлена наличием различных типов молекул внутри ВВ – таких, как некодирующая РНК, микроРНК, ДНК, белки и липиды, которые могут быть доставлены в целевую клетку-реципиент [11].

В патогенезе мастита коров микроРНК являются чрезвычайно важной группой малых некодирующих РНК длиной от 20 до 22 нуклеотидов, которые регулируют экспрессию генов посредством подавления мРНК на посттранскрипционном уровне [12]. Было проведено несколько исследований на экспериментально инфицированных коровах и идентифицировано несколько предполагаемых микроРНК, которые дифференцированно регулируются, в основном при инфекции *Staphylococcus aureus* или *Escherichia coli*. Отмечено также, что некоторые miRNAs по-разному экспрессируются во время воспаления молочной железы.

Четыре микроRNA (а именно miR-455, miR-361, miR-1301 и miR-503) были обнаружены участвующими в регуляции процессов экспрессии генов и иммунного ответа, которые можно регистрировать в молоке во время мастита. Эти микроRNA могут иметь различное происхождение в зависимости от клеток молочной железы, то есть эпителиальные клетки молочной железы, адипоциты, фибробласты [13]. Дальнейшие разработки в этом направлении позволят перейти от экспериментальных работ к практической ветеринарной практике, где требуются масштабные и, как правило, срочные оценки заболеваемости стада.

Как в медицинской практике, так и в ветеринарии для количественной оценки тяжести воспалительного процесса по уровню вырабатываемого оксида азота традиционно применяется методика Грисса [14]. Исторически сложилось так, что не измерение оксида азота проводят (NO-газ при нормальных условиях), а оценивают концентрацию нитратов и нитритов. Это в литературе обозначается как NO_x и применяется для определения нормы и заболевания. К сожалению, значение таких измерений NO_x (нитрат + нитрит), определенных по Гриссу, строго говоря, является невысоким. Смысл указанного подхода заключается в том, что нитрат преобразуется в нитрит под действием нитратредуктазы или химического катализатора. Подкисленный нитрит реагирует с сульфаниловой кислотой с образованием ионов диазония. Ионы диазония в сочетании с N(1-нафтил) этилендиамином образуют хромофорный азокраситель, интенсивность которого измеряют спектрофотометрически при 550 нм. Этот интегральный показатель не является адекватным, что убедительно доказано физическим методом масс-спектрометрии рядом исследователей [15].

В литературе имеются данные по оценке (NO)_x при заболеваниях животных и человека, которые варьируют в диапазоне (мкМ) до 9–14 мкМ в сыворотке. Эта величина включает в себя долю нитрата в 60–70%. Для молока больных коров маститом эти цифры существенно выше порядка 30 мкМ. Оценка уровня (NO)_x, а в статьях вопрос формулируется как оценка именно оксида азота (NO), не позволяет дифференцировать норму от заболевания даже в случае исследования больших выборок животных, хотя многочисленные данные опытов на лабораторных животных прямо

указывают на увеличенный синтез NO [16]. В действительности вклад истинных количеств нитрата и нитрита в показатель $(NO)_x$ определяется множеством иных факторов, в том числе, например, распадом перокснитрита OONO- и поступлением нитрата и нитрита с пищей. В литературе также имеются данные об измерении концентрации нитрозотиолов (RSNO), которые относили к показателям метаболизма оксида азота при активации иммунной системы и паракринного модулятора биохимических процессов.

В настоящее время не определена система управляемого синтеза RSNO, транспорта и удаления из организма, поэтому вопрос об измерении концентрации потерял свою актуальность [14]. Целью статьи не является рассмотрение и других метаболитов оксида азота (например, динитрозильных комплексов железа (ДНКЖ) или биядерных (Б-ДНКЖ) с тиоловыми лигандами), так как уникальные свойства и количественные оценки в тканях хорошо описаны в литературе [17].

Есть устоявшаяся точка зрения, заключающаяся в том, что наиболее корректной оценкой уровня оксида азота NO в тканях и средах организма как в норме, так и при патологических состояниях следует считать измерение продукта его окисления кислородом – нитрита [18].

Важными молекулярными ловушками NO являются ионы переходных металлов. NO связывается с ионами переходных металлов, образуя комплексы нитрозил-металл. Аддукт нитрозил- Fe^{2+} , например, в гемме, особенно стабилен, поскольку связывание нитрозильного лиганда с Fe^{2+} является очень прочным, что важно для регуляторных процессов. Соответствующие примеры белков, в которых образование комплексов нитрозил-металл влияет на биологическую функцию, включают в себя растворимую гуанилатциклазу, гемоглобин, цитохромы и т.д. [19]. NO после окисления кислородом играет важную роль в образовании нитропроизводных белков и липидов.

Таким образом, количественные оценки уровня оксида азота $(NO)_x$, полученные различными исследователями, весьма неоднозначны. Мы предполагаем, что это связано с низкой специфичностью используемых методик определения NO и с модификацией исследуемых соединений в процессе очистки и подготовки образца биологической жидкости.

Прямое измерение газообразной молекулы обусловлено рядом трудностей, в том числе малым размером молекулы NO, коротким временем жизни и физико-химическими реакциями в тканях и жидкостях организма. Поскольку NO является радикалом, имеет парамагнитную природу, метод спектроскопии (ЭПР) электронного парамагнитного резонанса является наиболее подходящим инструментом для прямого обнаружения NO в организме.

Ранее применение нами метода спиновых ловушек (ЭПР-метода) позволило изучить влияние мутации гена «hairless» (безволосость), характеризующегося плеiotропными свойствами, что определяет дефект иммунной системы и влияет на метаболизм оксида азота. Также метод ЭПР и спиновых ловушек позволил исследовать скорость продукции оксида азота при инфицировании мышей высоковирулентным штаммом туберкулеза [20]. Важные с нашей точки зрения, с большим практическим результатом проведены исследования раневого процесса на модели полнослойной раны крысы [21]. Полученные результаты позволили выяснить механизм действия оксида азота при заживлении раны. Эксперименты на мышах, крысах показали, что гидрофобный комплекс Fe^{2+} с диэтилдитиокарбаматом (ДЭТК) и оксидом азота является эффективной селективной ловушкой NO, и это связано с высокой стабильностью парамагнитного моонитрозильного комплекса (МНИК) железа с ДЭТК в тканях животных *in vivo*. Методический прием с диэтилдитиокарбаматом применили

при оценке уровня оксида азота в случае хронического парадонтоза у человека. Замена ДЭТК, образующего нерастворимый комплекс с железом в воде, на производное N-метил-D, L-глутаминдителиокарбамат (МГД) сделало ловушку оксида азота водорастворимой, что позволило исследовать содержимое парадонтозного кармана методом ЭПР.

Основываясь на многолетнем опыте, мы разработали экспериментальную методику оценки оксида азота по нитриту в крови лошадей [22]. В работе подробно описана процедура перевода нитритов крови в стабильные комплексы МНИК – МГД, исследованные методом ЭПР.

Большая проблема в оказании ветеринарной помощи заключается в недостаточно своевременной и количественной диагностике субклинических маститов. Как известно, характерным показателем является анализ молока на содержание лейкоцитов (то есть нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов) и эпителиальных клеток. Были проведены исследования соотношения somatic cell count (SCC) – количество соматических клеток и оксида азота. Величина $(NO)_x$ в молоке коров с субклиническим маститом существенно отличалась от таковой в молоке здоровых коров ($17,97 \pm 0,42$ и $11,07 \pm 0,19$ соответственно). Подобные исследования проведены в 2004 г. [23].

Цель исследований: определение уровня оксида азота NO по стабильному продукту окисления нитриту и трансферрина в крови коров с субклиническим маститом с помощью метода электронного парамагнитного резонанса.

Методика исследований

Research method

Всего в исследованиях было использовано 29 лактирующих коров, животные содержались на молочном комплексе ОАО Племенное хозяйство «Леднево» во Владимирской области. После постановки диагноза на субклинический мастит с использованием Калифорнийского теста были сформированы 2 группы животных: 14 коров с субклиническим маститом (положительная реакция секрета вымени с диагностическим раствором на молочно-контрольной пластине) и 15 здоровых коров.

Определение оксида азота (нитрита). Для определения NO (нитрита) в плазме крови использован метод спиновых ловушек, основанный на применении дителиокарбамата и железа (II). В статье нами дополнительно подробно описывается последовательность работ с возможностью быстрого ее воспроизведения.

Метод определения NO, примененный в данной работе, основан на реакции образования нитрозотиола – нитрозоцистеина (RSNO) в кислой среде ($pH = 3,5$) из аниона нитрита NO_2^- и гидрохлорида цистеина. Нитрозоцистеин в присутствии железа (2^+) и N-метил-D, L-глутаминдителиокарбамата (МГД), образует водорастворимый парамагнитный монокислотный комплекс железа МНКЖ МГД-Fe-NO. Определение аниона нитрита NO_2^- проводили следующим образом: белки плазмы с весом более 30 кД после разморозки удаляли фильтрованием через фильтр Microcon 30 kD, Millipore Corporation, USA в течение 20 мин при 14500 об/мин на центрифуге Mini Spinplus, Eppendorf.

Разработанный метод позволяет контролировать влияние белков плазмы на реакцию образования МНКЖ МГД. К 50 мкл цистеина концентрацией 400 мМ добавляли 10–120 мкл сыворотки после фильтрования, pH такого раствора доводили до 3,5 ед. добавлением 0,01 мМ HCl. Спустя 5 мин добавляли 50 мкл 40 мМ сульфата железа (II), 200 мкл 400 мМ буфера HEPES и 200 мкл МГД концентрацией 250 мМ.

Затем pH раствора повышали до 7,6 ед. 0,06%-ным раствором NaOH. В этих условиях образуется МНКЖ МГД-Fe-NO.

Для построения калибровочной кривой к 50 мкл цистеина гидрохлорида концентрацией 400 мМ добавляем раствор нитрита натрия концентрацией 480 мкМ различного объема (2–40 мкл), pH раствора довели до 3,5 ед. добавлением 0,01 мМ HCl. Спустя 5 мин добавляли 50 мкл 40 мМ железа сульфата, 200 мкл 200 мМ Перес, 200 мкл 250 мМ МГД, pH довели до 7,6 ед. 0,06%-ным раствором NaOH. Через 10 мин регистрируется ЭПР-спектр МНКЖ МГД-Fe-NO. Оценку концентрации нитрита в образце осуществляли методом двойного интегрирования и сопоставления площадей ЭПР-сигналов исследуемого и стандартного образцов. В качестве последнего использован синтезированный комплекс МГД с железом (2+) и оксидом азота: МНКЖ МГД-Fe-NO.

Расчеты площадей (S) ЭПР-сигналов производили с помощью программного обеспечения ЭПР-спектрометра Bruker ECS-106.

Полагаем, что имеющиеся высоко- и низкомолекулярные RSNO, которые могут присутствовать в крови коров с маститом, не вносят существенного вклада в измерение нитрита.

Приготовление образцов. Для исследований отбирают пробы крови из вены в пробирки с гепарином и центрифугируют в течение 10 мин на центрифуге модели CH80–2S «Armed» со скоростью 3000 об/мин для осаждения эритроцитов. Пробы плазмы хранятся в жидком азоте (77К). Для измерения концентрации нитрозогемоглобина цельная кровь с гепарином замораживается в пластиковых контейнерах цилиндрической формы длиной 35 мм и диаметром 4 мм.

Результаты и их обсуждение

Results and discussion

Концентрация нитрита в плазме была выше в субклинической группе – $5,76 \pm 2,11$ мкмоль/л ($M \pm m$), тогда как средняя концентрация NO_2^- в крови контрольной группы составила $3,31 \pm 1,69$ мкмоль/л. В исследованиях установлены статистически значимые отличия (достоверность по методу Холмогорова-Смиронова $p < 0,03$) в концентрации нитрита в крови здоровых животных и с субклиническим маститом, что указывает на связь воспаления в молочной железе с концентрацией NO.

Чтобы определить концентрацию оксида азота NO в крови, нами исследованы образцы цельной крови коров методом ЭПР. Известно, что воспаление в организме напрямую связано с синтезом оксида азота, и парамагнитный комплекс NO с гемоглобином имеет характерные спектроскопические параметры сверхтонкого расщепления (СТС) 17 Гаус и $g = 2,007$ и может регистрироваться методом ЭПР. К сожалению, нам не удалось зарегистрировать достоверные уровни оксида азота в крови как здоровых, так и больных маститом животных. Мы полагаем, что уровень нитрозогемоглобина является значительно низким в данных образцах: ниже 2×10^{-7} М (спектры не приводятся). Одновременно с исследованием образцов крови на наличие нитрозогемоглобина был оценен уровень трансферрина. Было обнаружено отличия в содержании трансферрина с $g = 4,3$. На рисунке показаны типичные спектры ЭПР трансферрина крови $g = 4,3$ зарегистрированные при температуре 77К. Можно увидеть, что у животных опытной группы (спектр 1 – здоровые животные) уровень трансферрина в крови ниже, чем в контроле (спектр 2 – больные животные). Отличия между контрольной $19,46 \pm 2,94 \times 10^6$ отн. ед. и опытной группами составляют $12,91 \pm 3,24 \times 10^6$ (отн. ед.) (достоверность отличий по методу Холмогорова-Смиронова $p < 0,01$).

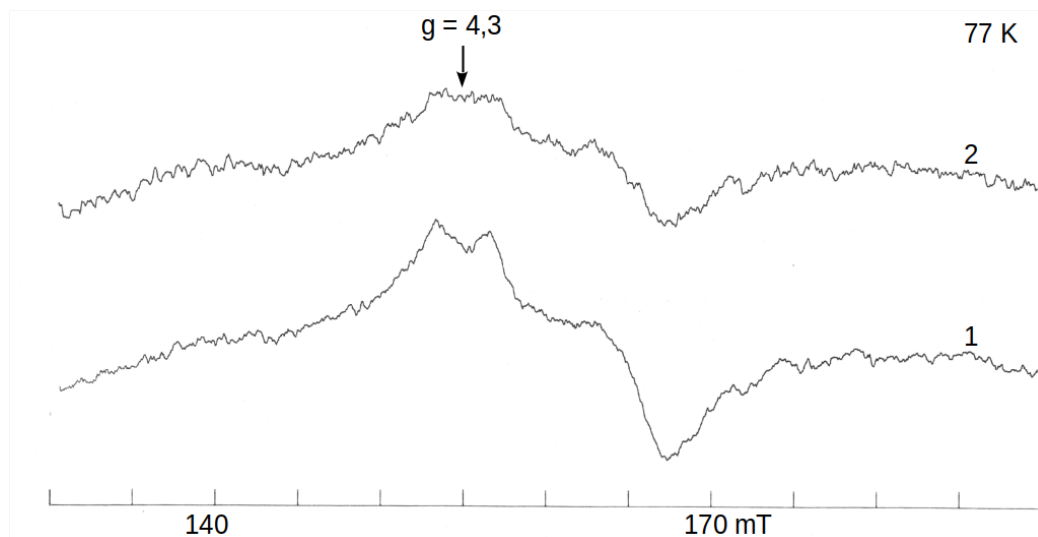


Рис. 1. Спектр электронной достоверности парамагнитного резонанса трансферрина в крови коров с субклиническим маститом (спектр 1 – контроль, спектр 2 – опыт); условия регистрации: температура – 77K; центр поля – 160 мТ; амплитуда модуляции – 5G; усиление – 2×10^6

Figure 1. Electron paramagnetic resonance spectrum of transferrin in the blood of cows with subclinical mastitis: spectrum 1 – control, spectrum 2 – experiment; recording conditions: temperature – 77K, center field– 160 mT, modulation amplitude– 5G, amplification – 2×10^6

Задача исследований заключалась в определении в крови здоровых коров и коров с субклиническим маститом уровня нитрита NO_2 (оксида азота NO), что позволило бы говорить, во-первых, об интенсивности воспалительных процессов при развитии субклинического мастита, во-вторых – о возможности использования данного параметра в качестве диагностического критерия.

Нами показано, что количество оксида азота (NO)_x в крови при мастите не меняется в пределах нормальных значений, зарегистрированных для животных. Также установлена положительная связь между увеличением количества соматических клеток в молоке и оксидом азота (NO)_x при воспалении вымени. Подобный результат показан в работе С. Гера и А. Гуха [24]. NO_x в образцах инфицированного молока увеличился значительно: NO_x (nitrate + nitrite) – $11,07 \pm 0,19$ и $17,97 \pm 0,42$ (μM) ($p < 0,01$). Аналогичное наблюдение было сделано такими исследователями, как А. Бюльбюль и Б. Йылмаз [23], которые связали возрастание NO_x с увеличением количества макрофагов.

В литературе имеются многочисленные исследования сопоставления уровня белков острой фазы – таких, как трансферрин, лактоферрин, ферритин, гаптоглобин [25, 26], в сыворотке крови или в молоке и диагностически установленного субклинического мастита.

Концентрацию Tf в плазме считают плохим биомаркером ввиду его слабой реакции на воспаление (снижение в 1,4 раза) [25] и медленного ответа у жвачных животных. Экспериментальные исследования [27] выявили снижение концентрации Tf в сыворотке через 120 ч после заражения. Механизм снижения концентрации Tf в плазме в ответ на воспаление заключается не в ускорении деградации, а в подавлении синтеза белков острой фазы APP в гепатоцитах [26]. Как известно, белки острой фазы (БОП) (APP) представляют собой группу белков крови, которые способствуют

восстановлению гомеостаза и ограничению роста микробов антителонезависимым образом у животных, подвергшихся инфекции, воспалению.

Нами обнаружено по ЭПР-сигналу трансферрина с $g = 4,3$, что в крови контрольной группы содержится больше трансферрина и, соответственно, железа, а в крови контрольной группы – меньше. В связи с активацией биохимических процессов (синтез белков защиты) и повышенной потребностью в железе можно предположить, что идет процесс переноса Fe^{3+} в клетки, а этот процесс не скомпенсирован поступлением из кишечника. Воспаление может также влиять на уровни самого белка трансферрина крови (Tf), который играет важную роль в транспорте Fe [25], что может отражать тяжесть субклинического мастита у коров. В качестве объяснения приведенных данных можно предположить, что количественно при воспалении становится меньше самого белка трансферрина [28].

Многочисленные работы доказывают, что при воспалении происходят сложные взаимозависимые процессы с участием железа, трансферрина и оксида азота (NO) [29]. Последний увеличивает сродство внутриклеточного белка, регулирующего железо (IRP), к элементам, реагирующим на железо (IRE) в мРНК трансферринового рецептора, и таким образом он может действовать как регулятор клеточного метаболизма железа.

Известно, что железо (Fe) – важный металл в энергетике клетки, дыхании, белках антиоксидантной защиты, одновременно являющийся необходимым микроэлементом для тех же целей у патогенных бактерий [29]. Концентрация Fe быстро снижается в ответ на воспаление, и это можно объяснить как защитный механизм хозяина. Понижение уровня Fe является следствием ограничения доступности Fe в организме для размножения бактерий. Следует отметить, что в экспериментах на мышах было непосредственно показано, что при введении метронидазола или нитрита в качестве доноров оксида азота снижался уровень ЭПР-сигнала трансферрина, то есть происходила потеря железа трансферрином. В настоящее время проблема высвобождения железа из гемсодержащих белков или железосерных центров при непосредственном участии оксида азота достаточно хорошо изучена и представлена в многочисленных публикациях.

При анализе данных об уровне железа в крови коров с субклиническим маститом нельзя не сказать об уровне ферритина, а также лактоферрина в крови и молоке. Так, отмечается [30], что уровень ферритина у коров с субклиническим маститом выше в 7 раз в молоке и в 2 раза – в крови. Таким образом, определение ферритина в сыворотке животных может служить полезным индикатором для обнаружения и прогностического прогноза инфекций молочной железы у коров.

Большое значение имеют результаты опытов по индукции воспаления молочной железы (фактически модель острого мастита коровы) с помощью бактериального липополисахарида LPS *Escherichia coli* 055: B5, Sigma Chemical Co. Было показано, что возрастание уровня NO_x в молоке спустя 3 ч составляет 24,4 μM против 12,9 μM для опытной и контрольной четверти соответственно. Обращает на себя внимание существенная разница в уровне $(NO)_x$, и этот факт связан с продукцией супероксид анион радикала.

Полиморфноядерные нейтрофилы, мигрирующие в зону воспаления молочной железы, отвечают за уничтожение патогенов супероксид анион радикалом O_2^- и при этом процесс не зависит от оксида азота. Пероксинитрит, возникающий в процессе взаимодействия, при распаде дает нитрат и нитрит анионы в соотношении 3:1 [31]. По-видимому, именно в случае острого мастита доля образующегося нитрата мала, так как индукция оксида азота высокая, а O_2^- – нет. По мере развития процесса воспаления поступление аргинина ограничено, что увеличивает долю возникающего

пероксинитрита и, соответственно, долю образующегося нитрата. Идет процесс, который называют сниженной биодоступностью оксида азота при переходе воспаления в хроническую стадию.

Таким образом, сказанное выше позволяет объяснить малое различие в уровне $(\text{NO})_x$ при анализе крови или молока у коров с субклиническим маститом в ряде работ.

Выводы

Conclusions

Изменения в концентрации нитрита и трансферрина наряду с Fe и ферритином в крови могут служить в качестве биомаркеров воспалительных заболеваний, в том числе у коров с субклиническим маститом. Есть все основания для пересмотра методов лечения данного заболевания с влиянием на метаболизм обмена железа. Данные исследования внесли значимый вклад в понимание патогенеза, поэтому есть необходимость более глубокого анализа механизмов развития заболевания и пересмотра подходов к диагностике с учетом новых данных и технологий.

Список источников

1. Trukhachev V.I., Oleinik S.A., Zlydnev N.Z., Morozov V.Yu. Adaptation of the Recommendations of the International Committee for Animal Recording (Icar) in Evaluating the Quality of Milk. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015;6(6):1317-1320. EDN: UWNRFR
2. Авдеенко В.С., Федотов С.В., Белозерцева Н.С. и др. Прогнозирование репродуктивных качеств и предрасположенности к маститам коров голштинской и симментальской пород // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2020. № 3. С. 107–121. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2020-3-107-120>
3. Филатова А.В., Тшивале Б.М., Федотов С.В., Авдеенко В.С. Инфекционный фактор в этиологии маститов у высокопродуктивных лактирующих коров // *Ученые записки учреждения образования Витебской ордена Знак Почета государственной ветеринарной академии*. 2022. Т. 58. С. 86–89. <https://doi.org/10.52368/2078-0109-2022-58-4-86-91>
4. Федотов С.В., Симонов П.Г., Алиев А.Ю. Особенности терапии гнойно-катаральных эндометритов и маститов у коров // *Ветеринария Кубани*. 2023. № 2. С. 15–18. <https://doi.org/10.33861/2071-8020-2023-2-15-18>
5. Ashraf A., Imran M. Causes, Types, Etiological Agents, Prevalence, Diagnosis, Treatment, Prevention, Effects on Human Health and Future Aspects of Bovine Mastitis. *Anim. Health Res. Rev.* 2020;21:36-49. <https://doi.org/10.1017/S1466252319000094>
6. Cheng W.N., Han S.G. Bovine Mastitis: Risk Factors, Therapeutic Strategies, and Alternative Treatments. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 2020;33(11):1699-1713. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0156>
7. Chow J.C., Young D.W., Golenbock D.T. et al. Toll-like Receptor-4 Mediates Lipopolysaccharide-induced Signal Transduction. *J. Biol. Chem.* 1999; 274:10689-10692. <http://doi.org/10.1074/jbc.274.16.10689>
8. Федотов С.В., Сиднев Н.Ю., Редди Г.Р. и др. Современные методы диагностики маститов у коров в условиях интенсивного производства // *Ветеринария*. 2022. № 4. С. 51–56. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2022.25.4.51-56>
9. Алиев А.Ю., Федотов С.В., Белозерцева Н.С. Изменения белкового состава молока коров при субклиническом мастите // *Проблемы*

- ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2022. № 4. С. 471–477. <https://doi.org/10.36871/vet.san.hyг.ecol.202204010>
10. Dang X.T.T., Kavishka J.M., Zhang D.X. et al. Extracellular Vesicles as an Efficient and Versatile System for Drug Delivery. *Cells*. 2020;9(10):2191. <https://doi.org/10.3390/cells9102191>
 11. Zempleni J., Aguilar-Lozano A., Sadri M. et al. Biological Activities of Extracellular Vesicles and Their Cargos from Bovine and Human Milk in Humans and Implications for Infants. *J. Nutr.* 2017;147(1):3-10. <https://doi.org/10.3945/jn.116.238949>
 12. Do D.N., Dudemaine P.L., Mathur M. et al. miRNA Regulatory Functions in Farm Animal Diseases, and Biomarker Potentials for Effective Therapies. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(6):3080. <https://doi.org/10.3390/ijms22063080>
 13. Chen Y., Jing H., Chen M. et al. Transcriptional Profiling of Exosomes Derived from Staphylococcus aureus-infected Bovine Mammary Epithelial Cell Line MAC-T by RNA-seq Analysis. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2021;2021:8460355. <https://doi.org/10.1155/2021/8460355>
 14. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Analysis of Nitrate, Nitrite and (15N) Nitrate in Biological Fluids. *Anal. Biochem.* 1982. 126(1):131-138. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(82\)90118-X](https://doi.org/10.1016/0003-2697(82)90118-X)
 15. Tsikas D. A Critical Review and Discussion of Analytical Methods in the Larginine/Nitric Oxide Area of Basic and Clinical Research. *Anal. Biochem.* 2008;379:139-163. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.04.018>
 16. Li D., Liu Y., Li Y. et al. Significance of Nitric Oxide Concentration in Plasma and Uterine Secretes with Puerperal Endometritis in Dairy Cows. *Vet Res Commun.* 2010;34:315-321. <https://doi.org/10.1007/s11259-010-9355-8>
 17. Prusakov V.E., Maksimov Y.V., Burbaev D.Sh. et al. EPR and Mössbauer Characteristics of Aqueous Solutions of 57Fe-dinitrosyl Iron Complexes with Glutathione and Hydroxyl Ligands. *Appl. Magn. Reson.* 2019;50(7):861-888. <https://doi.org/10.1007/s00723-019-1112-8>
 18. Malmström R.E., Björne H., Oldner A. et al. Intestinal Nitric Oxide in the Normal and Endotoxemic Pig. *Shock*. 2002;18:456-460. <https://doi.org/10.1097/00024382-200211000-00012>
 19. Liu R., Kang Y., Chen L. Activation Mechanism of Human Soluble Guanylatecyclase by Stimulators and Activators. *Nature Communications*. 2021;12:5492. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25617-0>
 20. Vanin A.F., Sanina N.A., Serezhenkov V.A. et al. Dinitrosyl-iron Complexes with Thiol-containing Ligands: Spatial and Electronic Structures. *Biol. Chem.* 2007;19(16):82-93. <https://doi.org/10.1016/J.NIOX.2006.07.005>
 21. Vanin A.F., Selitskaya R.P., Serezhenkov V.A., Mozhokina G.N. Direct EPR Detection of Nitric Oxide in Mice Infected with the Pathogenic Mycobacterium Mycobacterium tuberculosis. *Appl Magn Reson.* 2010;38(1):95-104. <https://doi.org/10.1007/s00723-009-0038-y>
 22. Serezhenkov V.A., Tkachev N.A., Artyushinab Z.S. et al. Reduced Nitric Oxide Bioavailability in Horses with Colic: Evaluation by ESR Spectroscopy. *Biophysics*. 2020;65(5):869-875. <https://doi.org/10.1134/S0006350920050176>
 23. Bülbül A., Yılmaz B. Relationship between the Level of Nitric Oxide and Somatic Cell Count in the Cow Milk with Mastitis. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*. 2004;20(2):95-102
 24. Gera S., Guha A. Assessment of Acute Phase Proteins and Nitric Oxide as Indicator of Subclinical Mastitis in Holstein × Haryana Cattle. *Indian Journal of Animal Sciences*. 2011;81(10):1029-1031

25. Murata H., Shimada N., Yoshioka M. Current Research on Acute Phase Proteins in Veterinary Diagnosis: an Overview. *The Veterinary Journal*. 2004;168:28-40. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00119-9)
26. Santana A.M., Silva D.G., Thomas F.C. et al. Blood Serum Acute Phase Proteins and Iron Dynamics During Acute Phase Response of Salmonella enterica Serotype Dublin Experimentally Infected Buffalo Calves. *Vet. Immunol. Immunopathol*. 2018;203:30-39. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2018.07.014>
27. McNair J., Elliott C., Bryson D.G., Mackie D.P. Bovine Serum Transferrin Concentration During Acute Infection with Haemophilus somnus. *Vet. J*. 1998;155:251-255. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(05\)80020-6](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(05)80020-6)
28. Oria R., Sánchez L., Houston T. et al. Effect of Nitric Oxide on Expression of Transferrin Receptor and Ferritin and on Cellular Iron Metabolism in K562 Human Erythroleukemia Cells. *Blood*. 1995;85(10):2962-2966. <https://doi.org/10.1182/blood.V85.10.2962.bloodjournal85102962>
29. Ong S.T., Ho J.Z., Ho B., Ding J.L. Iron-withholding Strategy in Innate Immunity. *Immunobiology*. 2006;211: 295-314. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2006.02.004>
30. Ali A., Rehman M.U., Mushtaq S. et al. Biochemical and Computational Assessment of Acute Phase Proteins in Dairy Cows Affected with Subclinical Mastitis. *Curr. Issues. Mol. Biol*. 2023;45:5317-5346. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12261>
31. Li J., LoBue A., Heuser S.K., Cortese-Krott M.M. Determination of Nitric Oxide and Its Metabolites in Biological Tissues Using Ozone-Based Chemiluminescence Detection: A State-of-the-Art Review. *Antioxidants*. 2024;13(2):179. <https://doi.org/10.3390/antiox13020179>

References

1. Trukhachev V.I., Oleinik S.A., Zlydnev N.Z., Morozov V.Yu. Adaptation of the Recommendations of the International Committee for Animal Recording (Icar) in Evaluating the Quality of Milk. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015;6(6):1317-1320.
2. Avdeyenko V.S., Fedotov S.V., Belozertseva N.S., Filatova A.V. et al. Forecasting reproductive qualities and predisposition to mastitis in cows of the Holstein and Semental breed. *Izvestiya of the Timiryazev Agricultural Academy*. 2020;3:107-121. (In Russ.) <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2020-3-107-120>
3. Filatova A.V., Tshivale B.M., Fedotov S.V., Avdeenko V.S. et al. Infectious factor in the etiology of mastitis in highly productive lactating cows. *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskoy ordena Znak pocheta gosudarstvennoy veterinarnoy akademii*. 2022;58:86-89. (In Russ.) <https://doi.org/10.52368/2078-0109-2022-58-4-86-91>
4. Fedotov S.V., Simonov P.G., Aliev A.Yu. Features of therapy of purulent-catarrhal endometritis and mastitis in cows. *Veterinaria Kubani*. 2023;2:15-18. (In Russ.) <https://doi.org/10.33861/2071-8020-2023-2-15-18>
5. Ashraf A., Imran M. Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. *Anim. Health Res. Rev*. 2020;21:36-49. <https://doi.org/10.1017/S1466252319000094>
6. Cheng W.N., Han S.G. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments. *Asian-Australas J. Anim. Sci*. 2020;33(11):1699-1713. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0156>
7. Chow J.C., Young D.W., Golenbock D.T., Christ W.J. et al. Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *J. Biol. Chem*. 1999;274:10689-10692. <http://doi.org/10.1074/jbc.274.16.10689>

8. Fedotov S.V., Sidnev N.Yu., Reddy G.R., Fouad S. et al. Modern methods for diagnosing mastitis in cows under conditions of intensive production. *Veterinary Medicine*. 2022;4:51-56. (In Russ.) <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2022.25.4.51-56>
9. Aliev A.Yu., Fedotov S.V., Belozertseva N.S. Changes in the protein composition of cows' milk with subclinical mastitis. *Russian Journal Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2022;4:471-477. (In Russ.) <https://doi.org/10.36871/vet.san.hygy.ecol.202204010>
10. Dang X.T.T., Kavishka J.M., Zhang D.X., Pirisinu M. et al. Extracellular Vesicles as an Efficient and Versatile System for Drug Delivery. *Cells*. 2020;9(10):2191. <https://doi.org/10.3390/cells9102191>
11. Zempleni J., Aguilar-Lozano A., Sadri M., Sukreet S. et al. Biological Activities of Extracellular Vesicles and Their Cargos from Bovine and Human Milk in Humans and Implications for Infants. *J. Nutr*. 2017;147(1):3-10. <https://doi.org/10.3945/jn.116.238949>
12. Do D.N., Dudemaine P.L., Mathur M., Suravajhala P. et al. miRNA Regulatory Functions in Farm Animal Diseases, and Biomarker Potentials for Effective Therapies. *Int. J. Mol. Sci*. 2021;22(6):3080. <https://doi.org/10.3390/ijms22063080>
13. Chen Y., Jing H., Chen M., Liang W. et al. Transcriptional Profiling of Exosomes Derived from Staphylococcus aureus-infected Bovine Mammary Epithelial Cell Line MAC-T by RNA-seq Analysis. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2021;2021:8460355. <https://doi.org/10.1155/2021/8460355>
14. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J., Skipper P.L. et al. Analysis of nitrate, nitrite and (15N) nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem*. 1982;126(1):131-138. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(82\)90118-X](https://doi.org/10.1016/0003-2697(82)90118-X)
15. Tsikas D.A. Critical review and discussion of analytical methods in the L-arginine/nitric oxide area of basic and clinical research. *Anal. Biochem*. 2008;379:139-163. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.04.018>
16. Li D., Liu Y., Li Y. et al. Significance of nitric oxide concentration in plasma and uterine secretates with puerperal endometritis in dairy cows. *Vet Res Commun*. 2010;34:315-321. <https://doi.org/10.1007/s11259-010-9355-8>
17. Prusakov V.E., Maksimov Y.V., Burbaev D.Sh., Serezhenkov V.A. et al. EPR and Mössbauer Characteristics of Aqueous Solutions of ⁵⁷Fe-dinitrosyl Iron Complexes with Glutathione and Hydroxyl Ligands. *Appl. Magn. Reson*. 2019;50(7):861-888. <https://doi.org/10.1007/s00723-019-1112-8>
18. Malmström R.E., Björne H., Oldner A., Wanecek M. et al. Intestinal Nitric Oxide in the Normal and Endotoxemic Pig. *Shock*. 2002;18:456-460. <https://doi.org/10.1097/00024382-200211000-00012>
19. Liu R., Kang Y., Chen L. Activation mechanism of human soluble guanylatecyclase by stimulators and activators. *Nature Communications*. 2021;12:5492. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25617-0>
20. Vanin A.F., Sanina N.A., Serezhenkov V.A., Burbaev D.Sh. et al. Dinitrosyl-iron complexes with thiol-containing ligands: spatial and electronic structures. *Biol. Chem*. 2007;19(16):82-93. <https://doi.org/10.1016/J.NIOX.2006.07.005>
21. Vanin A.F., Selitskaya R.P., Serezhenkov V.A., Mozhokina G.N. Direct EPR Detection of Nitric Oxide in Mice Infected with the Pathogenic Mycobacterium Mycobacterium tuberculosis. *Appl Magn Reson*. 2010;38(1):95-104. <https://doi.org/10.1007/s00723-009-0038-y>
22. Serezhenkov V.A., Tkachev N.A., Artyushinab Z.S., Kuznetsova M.I. et al. Reduced Nitric Oxide Bioavailability in Horses with Colic: Evaluation by ESR Spectroscopy. *Biophysics*. 2020;65(5):869-875. <https://doi.org/10.1134/S0006350920050176>

23. Bülbül A., Yılmaz B. Relationship between the Level of Nitric Oxide and Somatic Cell Count in the Cow Milk with Mastitis. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*. 2004;20(2):95-102.
24. Gera S., Guha A. Assessment of acute phase proteins and nitric oxide as indicator of subclinical mastitis in Holstein × Haryana cattle. *Indian Journal of Animal Sciences*. 2011;81(10):1029-1031.
25. Murata H., Shimada N., Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal*. 2004;168:28-40. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00119-9)
26. Santana A.M., Silva D.G., Thomas F.C., Bernardes P.A. et al. Blood serum acute phase proteins and iron dynamics during acute phase response of *Salmonella enterica* Serotype Dublin experimentally infected buffalo calves. *Vet. Immunol. Immunopathol*. 2018;203:30-39. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2018.07.014>
27. McNair J., Elliott C., Bryson D.G., Mackie D.P. Bovine serum transferrin concentration during acute infection with *Haemophilus somnus*. *Vet. J*. 1998;155:251-255. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(05\)80020-6](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(05)80020-6)
28. Oria R., Sánchez L., Houston T., Hentze M.W. et al. Effect of nitric oxide on expression of transferrin receptor and ferritin and on cellular iron metabolism in K562 human erythroleukemia cells. *Blood*. 1995;85(10):2962-2966. <https://doi.org/10.1182/blood.V85.10.2962.bloodjournal85102962>
29. Ong S.T., Ho J.Z., Ho B., Ding J.L. Iron-withholding strategy in innate immunity. *Immunobiology*. 2006;211:295-314. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2006.02.004>
30. Ali A., Rehman M.U., Mushtaq S., Ahmad Sh.B. et al. Biochemical and Computational Assessment of Acute Phase Proteins in Dairy Cows Affected with Subclinical Mastitis. *Curr. Issues. Mol. Biol*. 2023;45:5317-5346. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12261>
31. Li J., LoBue A., Heuser S.K., Cortese-Krott M.M. Determination of Nitric Oxide and Its Metabolites in Biological Tissues Using Ozone-Based Chemiluminescence Detection: A State-of-the-Art Review. *Antioxidants*. 2024;13(2):179. <https://doi.org/10.3390/antiox13020179>

Сведения об авторах

Зинаида Сергеевна Артюшина, канд. ветеринар. наук, доцент кафедры диагностики болезней, терапии, акушерства и репродукции животных, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»; Российская Федерация, 109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23; e-mail: artyshina.zinaida@yandex.ru

Сергей Васильевич Федотов, д-р ветеринар. наук, заведующий кафедрой ветеринарной медицины, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; Российская Федерация, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: s.fedotov@rgau-mcsa.ru

Владимир Анатольевич Сerezhenkov, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории физической химии биополимеров, Институт химической физики имени Н.Н. Семенова РАН; Российская Федерация, 119334, г. Москва, ул. Косыгина, 4; e-mail: serezhenkov@polymer.chph.ras.ru

Никита Юрьевич Сиднев, ассистент кафедры ветеринарной медицины, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; Российская Федерация, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: sidnev.nick2014@gmail.com

Николай Анатольевич Ткачев, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории физической химии биополимеров, Институт химической физики имени Н.Н. Семенова РАН; Российская Федерация, 119334, г. Москва, ул. Косыгина, 4; e-mail: serezhnikov@polymer.chph.ras.ru

Наталья Сергеевна Белозерцева, канд. биол. наук, доцент кафедры ветеринарной медицины, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»; Российская Федерация, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: nsfetisova@mail.ru

Information about the authors

Zinaida S. Artyushina, CSc (Vet), Associate Professor at the Department of Disease Diagnostics, Therapy, Obstetrics and Reproduction of Animals, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin; 23 Academica Skryabina St., Moscow, 109472, Russian Federation; e-mail: artyshina.zinaida@yandex.ru

Sergey V. Fedotov, DSc (Vet), Head of the Department of Veterinary Medicine, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy; 49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127550, Russian Federation; e-mail: s.fedotov@rgaumcxa.ru

Vladimir A. Serezhnikov, CSc (Bio), Senior Research Associate at the Laboratory of Physical Chemistry of Biopolymers, N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences; 4 Kosygina St., Moscow, 119334, Russian Federation; e-mail: serezhnikov@polymer.chph.ras.ru

Nikita Yu. Sidnev, Assistant at the Department of Veterinary Medicine, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy; 49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127550, Russian Federation; e-mail: sidnev.nick2014@gmail.com

Nikolay A. Tkachev, CSc (Bio), Research Associate at the Laboratory of Physical Chemistry of Biopolymers, N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences; 4 Kosygina St., Moscow, 119334, Russian Federation; e-mail: serezhnikov@polymer.chph.ras.ru

Natalya S. Belozertseva, CSc (Bio), Associate Professor at the Department of Veterinary Medicine, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy; 49 Timiryazevskaya St., Moscow, 127550, Russian Federation; e-mail: nsfetisova@mail.ru