

<https://www.protocols.io/view/colorimetric-lamp-rt-lamp-protocol-5qrvor3x7v4o/v1y>. – Заглавие с экрана. – (Дата обращения: 30.09.2024.).

6. Golabi, M., Flodrops, M., Grasland, B., Vinayaka, A.C., Quyen, T.L., Nguyen, T, Bang, D.D., Wolff A. Development of Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Rapid and On-Site Detection of Avian Influenza Virus. Front Cell Infect Microbiol. 2021 Apr 19;11:652048. doi: 10.3389/fcimb.2021.652048.

7. Spackman, E., Senne, D.A., Myers, T.J., Bulaga, L.L., Garber, L.P., Perdue, M.L., Lohman, K., Daum, L.T., Suarez, D.L.. Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. J Clin Microbiol. 2002 Sep;40(9):3256-60. doi: 10.1128/JCM.40.9.3256-3260.2002.

8. Zhang, S., Shin, J., Shin, S., & Chung, Y. J. (2020). Development of reverse transcription loopmediated isothermal amplification assays for point-of-care testing of avian influenza virus subtype H5 and H9. Genomic sand Informatics, 18(4), 1–8. doi:10.5808/GI.2020.18.4.E40.

УДК 619:636.92:612.1:612.2

ИНЪЕКЦИИ ТРИПСИНА ИЗМЕНЯЮТ ГЕМОДИНАМИКУ И БИОХИМИЮ КРОВИ У КРОЛИКОВ

Вертипрахов Владимир Георгиевич, д.б.н., зав. кафедрой, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Галыга Семен Дмитриевич, аспирант, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Полина Светлана Игоревна, аспирант, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева.

Аннотация. Эксперимент по изучению влияния на организм кроликов отечественного препарата трипсин кристаллический в дозе 0,3 мг/кг живой массы и разработанного в нашей лаборатории лиофилизата из ткани поджелудочной железы свиней в дозе 3,0 мг/кг живой массы показал, что препараты по-разному действуют на организм кроликов, но обладают биологической активностью, которую следует в дальнейшем изучать.

Ключевые слова: кролики, трипсин, лиофилизат, давление крови, биохимия крови.

Проблема поиска препаратов, альтернативных антибиотикам, сегодня чрезвычайно актуальна. Практически до 2006 года, когда Евросоюз отказался от использования антибиотиков в животноводстве из-за риска появления устойчивых штаммов бактерий в пищевых продуктах животного происхождения, они занимали прочные позиции в качестве добавок в корма [1]. Для того чтобы найти эффективную замену кормовым антибиотикам, необходи-

мо, на наш взгляд, разобраться в причинах возникновения расстройств пищеварения у животных незаразной этиологии и разработать новые методы диагностики заболевания. На сегодняшний день заболевания, сопровождающиеся снижением ферментативной функции поджелудочной железы и слизистой оболочки тонкого кишечника, занимают значительное место в структуре болезней желудочно-кишечного тракта [2, 3]. Использование ферментных препаратов из тканей животных, в том числе приготовленных из желез поджелудочной железы, имеет ограниченное применение в практике животноводства. Это обусловлено различными причинами, но основной из них является интенсивное развитие биотехнологических методов получения ферментов из сырья микробиологического синтеза. В настоящее время, когда активно изучается роль трипсина как гормоноподобного вещества, границы применения препаратов из желез поджелудочной железы должны быть расширены. Установлено [4], что трипсин является активатором PAR-рецепторов, модулирует активность кининкаликреиновой и ренин-ангиотензиновой систем в регуляции сосудистого тонуса и проницаемости эндотелия, гемостаза и т.д., участвует в механизмах воспалительных процессов и иммунологических реакций. В то же время имеются единичные данные о том, что активация PAR-2 вызывает поведенческие изменения (на моделях тревоги, активного и пассивного избегания и т.д.). Исследования, выполненные на кроликах, дают основание полагать, что кристаллический трипсин оказывает влияние на парасимпатическую нервную систему, изменяя гемодинамику [5]. Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы сравнить действие фармакопейного препарата кристаллического трипсина с новым аналогом, разработанным в лаборатории кафедры физиологии, этологии и биохимии животных на гемодинамику и показатели биохимического состава крови кроликов.

Материал и методы. Опыт выполняли на 3 группах лабораторных кроликов породы шиншилла (по 10 животных в каждой), с живой массой тела 3000-3200 г. Животных содержали в виварии с оптимальными условиями окружающей среды: температура 18-26°C, относительная влажность 30-70%, 15-часовой световой период. Животные содержались в металлических клетках марки КР-ВПО-3.6 (РФ). Кормили кроликов полнорационным комбикормом (ГОСТ 32897-2014) в количестве 100-110 г ежедневно при даче 2 раза сутки. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим нормам, утвержденным законодательными актами Российской Федерации, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по биоэтике Института зоотехнии и биологии Российской государственной сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева имени К.А. Тимирязева (протокол № 7 от 07.04.2023 г.).

Опыты выполняли методом групп-периодов. Перед инъекцией препарата определяли частоту сердечных сокращений (ЧСС), затем сразу после инъекции и через 30 мин после внутримышечной инъекции препарата. Кровь для анализа брали через один час после инъекции трипсина из ушной вены, используя специальные вакуумные пробирки, содержащие наполнитель ок-

сид кремния (SiO_2), и с антикоагулянтом (КЗ-ЭДТА) для гематологического анализа. Активность трипсина определяли биохимическим методом на анализаторе BS-3000M (Sinnova, КНР) с использованием субстрата N-бензоил-DL-аргинин-p-нитроанилид (БАПНА) [6]. Биохимические показатели крови определяли с помощью автоматического биохимического анализатора BioChem FC-120 (High Technology, Inc, США) с использованием наборов реактивов данной компании. Гематологические показатели у кроликов определяли с помощью автоматического гематологического анализатора MicroCC вариант исполнения MicroCC20Plus, MCC-2002-VO-RU. (Производитель: High Technology, Inc, США).

Статистическую обработку данных проводили по алгоритмам программы Excel с использованием t критерия Стьюдента для малых групп, изменения показателей считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследований.

Опыт 1. Изучение влияния трипсина, разведенного физиологическим раствором на показатели кровообращения и дыхания у кроликов.

Для оценки базовых показателей болевой чувствительности у кроликов при введении внутримышечно раствора кристаллического трипсина был испытан вариант с инъекцией физиологического раствора. Показатели до введения физиологического раствора были следующие: систолического давления (СД) составило $153 \pm 11,3$, диастолическое (ДД) – $103 \pm 10,1$ мм рт.ст., частота сердечных сокращений (ЧСС) была равна $234 \pm 6,5$ уд/мин, частота дыхательных движений (ЧДД) – $147 \pm 7,5$ движений/мин. Результаты эксперимента показали, что болевой реакции при введении физиологического раствора не отмечалось. Показатели существенно не изменялись через 30, 60 и 180 минут после внутримышечной инъекции.

В опыте с применением трипсина в дозе 0,3 мг/кг живой массы, разбавленного физиологическим раствором, наблюдали следующие изменения. Показатели до внутримышечной инъекции были следующими: СД - $166 \pm 4,9$; ДД - $111 \pm 3,8$ мм рт.ст., ЧСС - $234 \pm 4,4$ уд/мин, ЧДД - $154 \pm 5,7$ дв/мин. Кристаллический трипсин разбавляли 5,0 мл физиологического раствора и вводили в мышцу тазовой конечности кролика в количестве 0,5 мл. В этом случае отмечалась болевая реакция, которая проявлялась отдергиванием конечности, происходили изменения в показателях кровообращения: через 30 минут после инъекции СД составило $158 \pm 2,4$, ДД - $104 \pm 0,2$ мм рт.ст. Показатель ДД через 60 минут после инъекции снижался на 10,8% ($p < 0,05$). ЧСС снижалась до $213 \pm 3,3$ уд/мин (на 9,0%, $p < 0,05$), а через 60 минут после инъекции до $187 \pm 4,7$ уд/мин – на 20,1% ($p < 0,05$) по сравнению с исходным уровнем.

Через 180 минут после внутримышечной инъекции трипсина все показатели возвращаются к исходному уровню. Следовательно, трипсин при разведении препарата физиологическим раствором оказывает болевой эффект, который проявляется не увеличением частоты сердечных сокращений и артериального давления, а, наоборот, оказывает влияние на вегетативную нерв-

ную систему, которая проявляется торможением функции сердечно-сосудистой системы, не влияя на частоту дыхательных движений у кроликов.

В активности амилазы при введении внутримышечно трипсина наблюдалась тенденция снижения активности фермента: в опытной группе – на 10,1%, ($p < 0,05$). Активность трипсина в опытной группе увеличивалась на 108,4% ($p < 0,05$). Значительное увеличение в опытной группе связано с использованием в качестве растворителя для трипсина физиологического раствора, который обеспечивает стимуляцию активности трипсина в крови за счет активизации парасимпатической нервной системы, поскольку частота сердечных сокращений после введения препарата значительно снижается.

Опыт 2. Результаты исследований влияния инъекции кроликам лиофилизата, приготовленного из поджелудочных желез свиней.

После введения лиофилизата из ткани поджелудочной железы свиньи в дозе 3,0 мг/кг живой массы систолическое давление крови в опытной группе снизилось на 10,4% ($p < 0,05$), диастолическое давление – на 10,1% ($p < 0,05$), среднее давление – на 10,7% ($p < 0,05$), частота сердечных сокращений существенно не изменилась. После инъекций препарата в течение недели в опытной группе показатели снизились на 10,0% ($p < 0,05$), 9,1% ($p < 0,05$), 8,9% ($p < 0,05$), соответственно. Следовательно, препарат оказывает действие через вегетативную нервную систему, повышая роль парасимпатической системы, что способствует расширению сосудов и снижению артериального давления. Для уточнения этой гипотезы были проведены биохимические исследования сыворотки крови кроликов после введения лиофилизата.

Введение лиофилизата оказывает негативное влияние на активность трипсина, показатель которого на второй неделе применения препарата снизился на 40,5% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольным периодом. Это свидетельствует о снижении обменных процессов в организме кроликов и отражается на всех аспектах метаболизма. Активность амилазы снизилась через 7 дней ежедневного введения лиофилизата на 9,1% ($p < 0,05$), в последующие 7 дней наблюдалось повышение до уровня контрольного периода. Динамика содержания глюкозы в крови кроликов увеличивалась в каждый последующий период на 7,9 и 17,5%. Содержание холестерина, наоборот, снижалось на 14 сутки введения препарата на 51,9% по сравнению с контрольным периодом. Аналогичная динамика наблюдалась и по количеству мочевой кислоты, которое снизилось на 11,4%. Изменение биохимических показателей крови у кроликов свидетельствует о реакции организма на введение лиофилизата, которую можно охарактеризовать как адаптацию к биологически активному веществу.

В контрольном периоде отмечалась лимфопения, снижение по сравнению с нормой составило 32,6%. После применения лиофилизата из тканей поджелудочной железы свиней содержание лимфоцитов возвращалось к норме. Количество гранулоцитов в крови кроликов в контрольный период, наоборот, характеризовалось повышенным показателем, который к третьей неделе приема лиофилизата значительно снижался. Из приведенной таблицы

видно, что при введении препарата лиофилизата кроликам в течение первой недели количество лимфоцитов в крови увеличивается на 10,4%, при введении препарата в течение двух недель лимфоцитоз увеличивается на 17,7% по сравнению с контрольным периодом. Напротив, количество гранулоцитов снижается в крови кроликов на 11,4% и 18,1% соответственно. Это приводит к изменению соотношения гранулоцитов к лимфоцитам с 2,29 до 1,03, что свидетельствует о повышении функции иммунной системы. Эритроциты (эритроциты) выполняют основную функцию транспорта кислорода, их количество после введения лиофилизата не изменилось. Но количество гемоглобина увеличивается в 3-м опытном периоде на 5,2% ($p < 0,05$), в то время как средняя концентрация гемоглобина в них увеличилась в 3-й опытной группе на 7,4% по сравнению с контрольным периодом, что свидетельствует об активизации обмена веществ за счет улучшения снабжения кислородом. В 3 опытный период у кроликов активизировалась защитная функция, связанная со свертыванием крови, показатель в 3 опытный период увеличился на 57,1% по сравнению с контрольным периодом. Существует тенденция к увеличению тромбоцитов. Динамика изменения показателей к третьей неделе применения препарата свидетельствует об адаптации к действию ферментов лиофилизата.

Заключение. Следовательно, трипсин при разведении препарата физиологическим раствором оказывает болевой эффект, который проявляется не увеличением частоты сердечных сокращений и артериального давления, а, наоборот, оказывает влияние на вегетативную нервную систему, которая проявляется торможением функции сердечно-сосудистой системы, не влияя на частоту дыхательных движений у кроликов. При этом отмечены изменения в биохимических показателях крови кроликов опытной группы: увеличиваются такие показатели, как активность трипсина, щелочной фосфатазы, повышение уровня триглицеридов в крови и холестерина, — все это признаки повышения обмена веществ в организме кроликов, которые указывают на парасимпатические влияния, снижающие частоту сердечных сокращений.

Результаты эксперимента по изучению лиофилизатсодержащих ферментов поджелудочной железы свиней показали, что у кроликов в течение двух недель, получающих инъекции этого препарата, снижалось артериальное давление на 10,7-8,9%, изменялся углеводный, жировой и белковый обмен, наблюдался лимфоцитоз, повышалась концентрация гемоглобина в эритроцитах на 7,4% и увеличивалось количество крупных тромбоцитов в крови на 57,1% по сравнению с контрольным периодом. Все это свидетельствует о наличии в лиофилизате биологически активного вещества, действие которого требует дальнейших исследований на животных с целью разработки новых ветеринарных препаратов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФ №23-26-00124 «Разработка способа снижения болевого синдрома при внутримышечном введении трипсина животным».

Библиографический список

1. Ghimpețeanu OM, Pogurschi EN, Popa DC, Dragomir N, Drăgotoiu T, Mihai OD, Petcu CD. Antibiotic Use in Livestock and Residues in Food-A Public Health Threat: A Review. *Foods*. 2022 May 16;11(10):1430. doi: 10.3390/foods11101430.
2. Dossin O. Laboratory tests for diagnosis of gastrointestinal and pancreatic diseases. *Top Companion Anim Med*. 2011 May;26(2):86-97. doi: 10.1053/j.tcam.2011.02.005. PMID: 21596348; PMCID: PMC7104967.
3. Cridge H, Williams DA, Barko PC. Exocrine pancreatic insufficiency in dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc*. 2023 Nov 9;262(2):246-255. doi: 10.2460/javma.23.09.0505. PMID: 37944252.
4. Kuzmina I V, Ovchinnikova N V, Tolpygo S M [et al] Activity of the proteolytic enzyme trypsin in blood serum during the implementation of motivationally colored forms of behavior (drinking, eating) in rats. *Modern Problems of Neurobiology: Proceedings of the IV International Scientific Conference, Yaroslavl, May 18-20, 2023*. Yaroslavl: FGBOU VO "Yaroslavl State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2023 : 36-37
5. Гематологические и гемодинамические показатели у кроликов (*Oryctolagus cuniculus subsp. domesticus*) под влиянием внутримышечной инъекции трипсина / В. Г. Вертипрахов, С. И. Полина, Е. С. Седлецкая, Н. А. Сергеевкова // *Сельскохозяйственная биология*. – 2024. – Т. 59, № 2. – С. 366-374. – DOI 10.15389/agrobiology.2024.2.366rus.
3. Вертипрахов, В.Г., Грозина, А.А. Оценка состояния поджелудочной железы методом определения активности трипсина в крови птицы. *Ветеринария*. – 2018. – №6. – С. 51-54. Doi: 10.30896/0042-4846.2018.21.12.51-54.

УДК 577.171.5: 612.398.12

ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У НЕТЕЛЕЙ

Вальциферова Светлана Владимировна, к.б.н., доцент, ФГБОУ ВО МГАВ-МиБ – МВА им. К.И. Скрябина

Аннотация. *Нейроэндокринно-иммунная система (NEI) – многокомпонентная, морфофункциональная система регуляции гомеостаза млекопитающих. В данной работе, проведен анализ уровня гормонов щитовидной железы и показателей активности отделов вегетативной нервной системы (ВНС) у здоровых, молодых животных, в начале их хозяйственного использования.*

Ключевые слова: *вегетативная нервная система, тироксин, трийодтиронин, нетели.*

Гормоны щитовидной железы занимают одно из центральных мест в регуляции метаболических процессов организма животных, участвуют во всех видах обмена веществ. Они активируют внутриклеточные лизосомаль-