

9. Flachskampf, F.A. Prakticheskaya ehkhokardiografiya: Rukovodstvo po ehkhokardiograficheskoyj diagnostike / pod red. F. A. Flakskampfa ;per. s nem.; pod obth. red. akad. RAN, prof. V.A. Sandrikova. – 2-e izd. – Moskva: MEDpress-inform, 2019. – 872 s. – Tekst: neposredstvennyj.

10. Ehlenhleger, A. A. Otsenka kardiogram-mih pri giperkaliemii u novorozhdyonnikh telyat / A. A. Ehlenhleger, A. S. Danilenko. – Tekst: neposredstvennyj // Vestnik altajjskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2014. – № 3. – S. 82-85.



УДК 619:576.08:616-006.441:611.41:599.323.4

**А.В. Красников, Е.С. Красникова,
А.С. Рыхлов**
A.V. Krasnikov, Ye.S. Krasnikova,
A.S. Rykhlov

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ СЕЛЕЗЕНКИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ BLV-ИНФЕКЦИИ

CYTO MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SPLEEN CELL ELEMENTS OF LABORATORY RATS UNDER EXPERIMENTAL BLV-INFECTION

Ключевые слова: энзоотический лейкоз, лабораторные крысы, селезенка, тельца Кебо, тельца Жоли, тельца Папенгеймера, миелобласты, атипичные промиелоциты, реактивные лимфоциты, «беркиттоподобные» клетки.

Представлена актуальная для ветеринарной лейкологии и онкологии тематика – исследование цитоморфологической картины мазков-отпечатков из селезенки лабораторных крыс при экспериментальной BLV-инфекции. Заражение крыс осуществляли двукратным внутрибрюшинным введением взвеси лимфоцитов BLV-инфицированных коров. Спустя 6 месяцев от начала эксперимента из селезенки крыс готовили мазки-отпечатки, которые окрашивали набором Лейкодиф 200. При микроскопии мазков-отпечатков были выявлены патологические формы клеток различного происхождения. Патологические формы лейкоцитов были представлены миелобластами, атипичными промиелоцитами, реактивными лимфоцитами, «беркиттоподобными» клетками, а также агранулярными нейтрофилами и нейтрофилами с нарушенной сегментацией. Патологические формы эритроцитов характеризовались присутствием в клетках телец Кебо, Жоли и Папенгеймера, также встречались эритроциты с «изъеденными» краями. Полученные нами данные могут свидетельствовать о полигостальности возбудителя энзоотического лейкоза крупного рогатого скота и требуют проведения более глубоких исследо-

ваний для выяснения механизмов возникновения и развития этого процесса.

Keywords: *enzootic leukemia, laboratory rats, spleen, Kebo bodies, Jolly bodies, Pappenheimer bodies, myeloblasts, atypical promyelocytes, reactive lymphocytes, "burkitt-like" cells.*

The article is devoted to the topic relevant for veterinary leukosology and oncology - the study of the cytomorphological pattern of impression smears from the spleen of laboratory rats with experimental BLV infection. Infection of rats was carried out by double intraperitoneal injection of the lymphocytes suspension from BLV-infected cows. After six months from the beginning of the experiment, impression smears of the rats' spleen were prepared and stained with the Leukodif 200 kit. Microscopy of impression smears revealed pathological forms of cells of various origins. Pathological forms of leukocytes were represented by myeloblasts, atypical promyelocytes, reactive lymphocytes, "burkitt-like" cells, as well as agranular neutrophils and neutrophils with impaired segmentation. Pathological forms of erythrocytes were characterized by the presence of Kebo, Jolly and Pappenheimer bodies in the cells. Erythrocytes with "pitted" edges were also found. The data obtained by us may indicate the polyhostality of the causative agent of enzootic cattle leukemia and require deeper studies to clarify the mechanisms of the genesis and development of this process.

Красников Александр Владимирович, д.в.н., доцент, Мичуринский ГАУ, г. Мичуринск, Российская Федерация, e-mail: krasnikov.77@mail.ru.

Красникова Екатерина Сергеевна, д.в.н., доцент, Мичуринский ГАУ, г. Мичуринск, Российская Федерация, e-mail: krasnikovaes77@yandex.ru.

Рыхлов Андрей Сергеевич, д.в.н., профессор, Саратовский ГАУ, г. Саратов, Российская Федерация, e-mail: ryhlov.andrej@yandex.ru.

Krasnikov Aleksandr Vladimirovich, Dr. Vet. Sci., Assoc. Prof., Michurinsk State Agricultural University, Michurinsk, Russian Federation, e-mail: krasnikov.77@mail.ru.

Krasnikova Yekaterina Sergeevna, Dr. Vet. Sci., Assoc. Prof., Michurinsk State Agricultural University, Michurinsk, Russian Federation, e-mail: krasnikovaes77@yandex.ru.

Rykhlov Andrey Sergeevich, Dr. Vet. Sci., Prof., Saratov State Agricultural University, Saratov, Russian Federation, e-mail: ryhlov.andrej@yandex.ru.

Введение

Возбудитель энзоотического лейкоза крупного рогатого скота (ЭЛ КРС) – *BLV*-вирус, тропный к лимфоидным клеткам, в первую очередь к циркулирующим в крови или локализованным в лимфатических узлах и селезенке лимфоцитам. Поэтому именно в них обнаруживаются цитологические изменения, характерные для данного заболевания: бластные и реактивные клетки, атипичные и опухолевые формы лимфоцитов [1, 2]. Морфологические особенности и функциональная активность лимфоцитов КРС являются показателями иммунного статуса животных [3].

Ряд исследователей сообщают о вовлечении и других форменных элементов крови в патологический процесс при лейкозах у человека и животных, что может быть связано с нарушением процессов образования и созревания клеток [4]. В частности, отмечают пойкилоцитоз и анизоцитоз, присутствие полихромных эритроцитов, сфероцитов и нормоцитов, а также эритроцитов с тельцами Гейнца [5, 6]. Исследования, связанные с изучением морфологии клеток при *BLV*-инфекции, были и остаются актуальными с момента выявления данного заболевания.

Другим немаловажным направлением в рамках изучения ЭЛ КРС является разработка приемов моделирования инфекции на лабораторных животных. Наши предварительные исследования показали, что лабораторные крысы линии Wistar могут быть использованы для воспроизведения *BLV*-инфекции в лабораторных условиях *in vivo*, так как изменения

клинико-морфологических и биохимических показателей крови *BLV*-инфицированных крыс коррелируют с таковыми у крупного рогатого скота при энзоотическом лейкозе [7, 8].

Цель исследований – дать цитоморфологическую оценку клеточным элементам селезенки лабораторных крыс при экспериментальной *BLV*-инфекции.

В задачи исследования входило:

- осуществить инфекцию экспериментальных животных взвесью лимфоцитов *BLV*-инфицированного КРС;
- подтвердить *BLV*-инфекцию у лабораторных крыс;
- спустя 6 месяцев от начала эксперимента приготовить мазки-отпечатки из селезенки экспериментальных животных;
- охарактеризовать клеточные элементы селезенки лабораторных крыс при экспериментальной *BLV*-инфекции.

Объекты и методы

Объектом исследования явились 6-месячные крысы линии Wistar, которых разделили на 2 равноценные группы и содержали в клетках по 2-3 самки на 1 самца.

Для приготовления инфицирующей взвеси кровь *BLV*-инфицированных коров центрифугировали при 1500 об/мин. 10 мин., отбирали фракцию мононуклеаров и разбавляли ее по стандарту мутности МакФарланда 0,5 стерильным физиологическим раствором. Экспериментальную группу животных (n=20) инфицировали внутрибрюшинно 0,5 мл приготовленной взвеси двукратно с интервалом 2 недели. Крысам

контрольной группы (n=10) вводили в том же объеме стерильный физиологический раствор. Наличие или отсутствие BLV-инфекции у крыс устанавливали методом ПЦР с использованием набора «Лейкоз» (ИЛС, Россия) на оборудовании BioRad (USA).

По истечении 6 мес. эксперимента крыс декапитировали после предварительного эфирного наркоза. Из селезенки животных готовили мазки-отпечатки, окрашивали их набором Лейкодиф 200 и исследовали на микроскопе Micray BF-300 (Китай) при 1000-кратном увеличении с последующей фотовизуализацией.

Результаты

Данные молекулярно-генетических исследований, представленные в таблице, свидетельствовали, что у инфицированных крыс развивалась BLV-инфекция. По результатам ПЦР-анализа около 70% исследуемых животных экспериментальной группы показали присутствие провирусной ДНК уже после первой инокуляции. После повторной инокуляции лимфоцитами BLV-инфицированных коров у 100% экспериментального поголовья крыс в крови детектировался провирус BLV. Животные контрольной группы оставались при этом интактными.

Таблица

Результаты ПЦР-исследований крыс

Группа	Время исследования от начала эксперимента	
	2 недели	4 недели
Экспериментальная	+/-	+
Контрольная	-	-

Примечание. «+» – реакция положительная у 100% поголовья; «+/-» – реакция положительная в 70% случаев; «-» – реакция отрицательная у 100% поголовья.

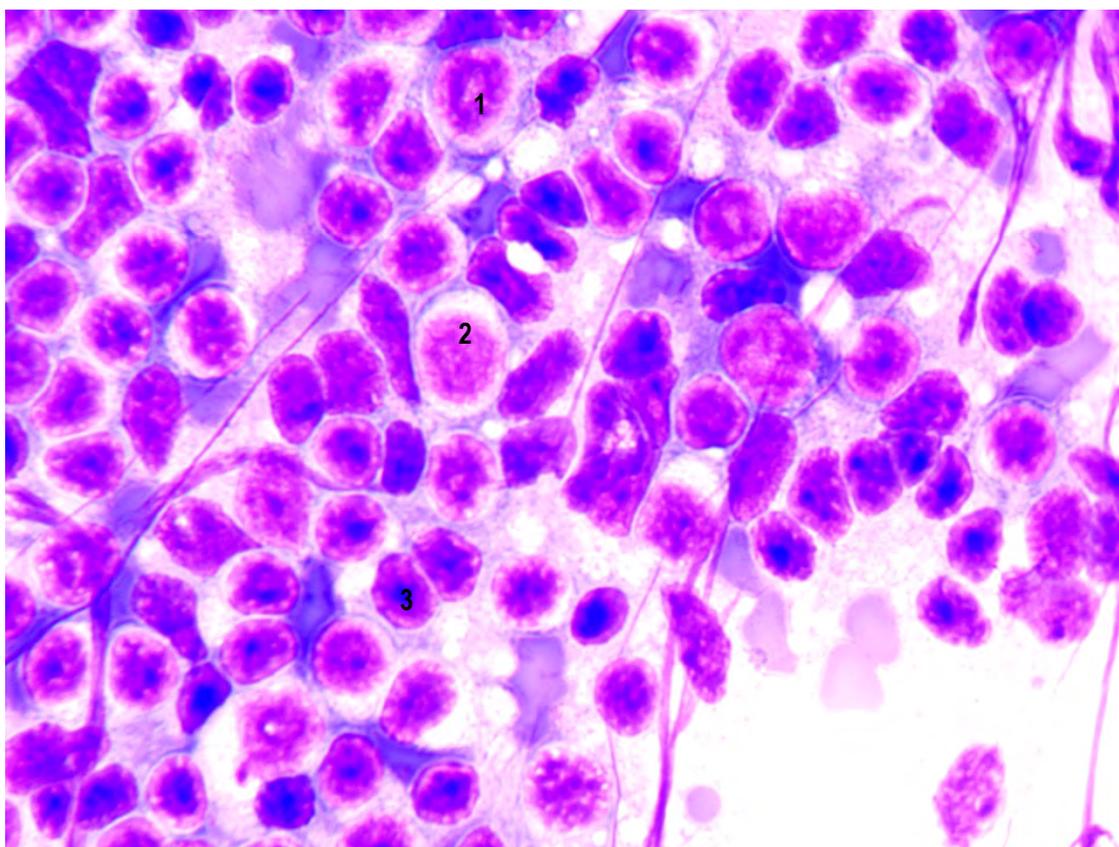
Клинико-морфологический анализ крови показал, что количество лейкоцитов в крови животных экспериментальной группы возросло на 29,9 и 30,6% в динамике эксперимента на 3-й и

6-й мес. после инфицирования, при этом содержание фракции лимфоцитов увеличивалось на 13,5 и 26,2%, а средних клеток крови – на 25,0 и 26,3% соответственно, относительно данных контрольной группы. Содержание фракции гранулоцитов, напротив, снижалось в сравнении с контролем на 22,4 и 58,2% в динамике эксперимента. Учитывая индивидуальные показатели животных, можно констатировать, что у 75% экспериментальных животных общим анализом крови были выявлены выраженные в той или иной степени лимфолейкоз и нейтропения, количество лимфоцитов в крови крыс опытной группы было на 17-36% больше, чем у животных контрольной группы, лейкоцитов – в среднем на 30% [9].

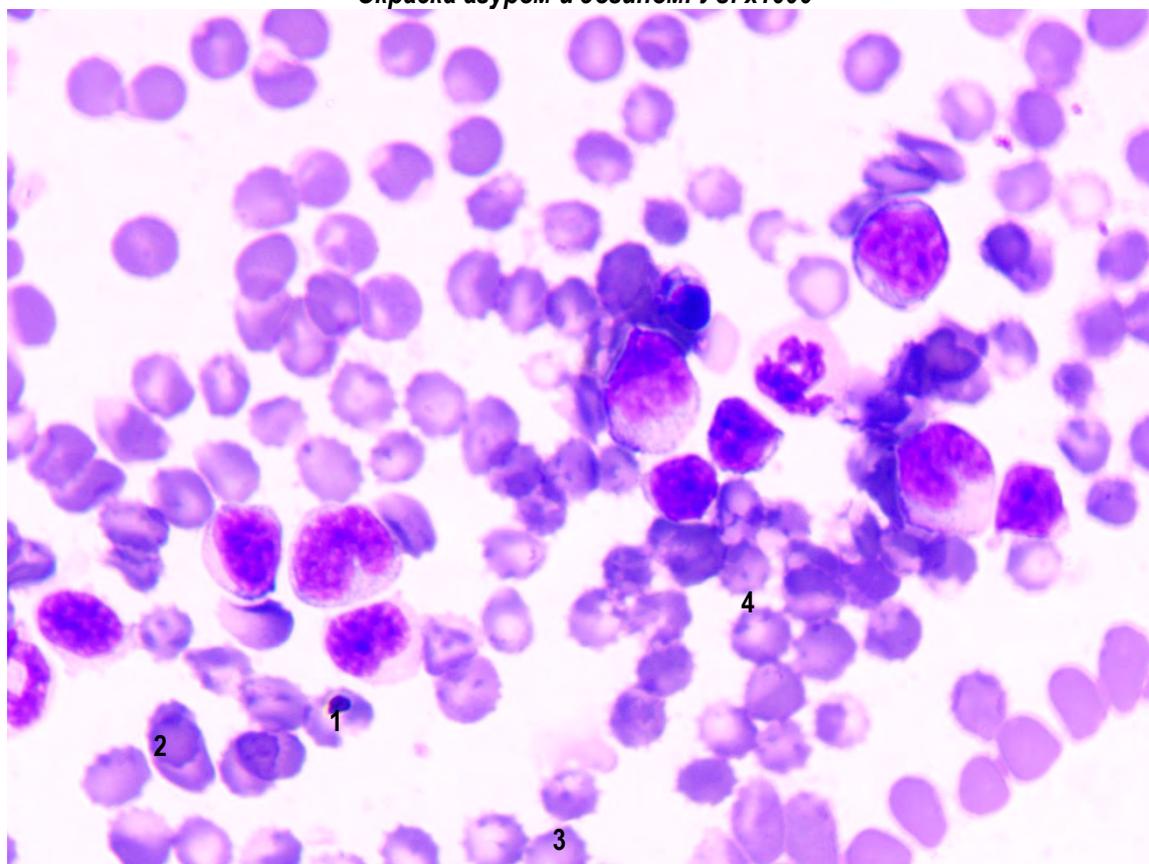
Цитологические исследования мазков-отпечатков из селезенки BLV-инфицированных крыс выявили присутствие разных типов атипичных и патологических клеток крови и иного происхождения (рис. 1-5).

Как иллюстрирует рисунок 1, миелобласты представлены клетками с содержащими нуклеолы ядрами, мелкосетчатым петлистым хроматином и обильной базофильной цитоплазмой. Атипичные промиелоциты характеризуются крупными размерами и обильной, содержащей крупную розово-пурпурную зернистость цитоплазмой. Реактивные или бласттрансформированные лимфоциты представлены клетками с неправильной, часто треугольной формы ядром с неравномерно окрашенным хроматином и хорошо выраженными ядрышками. Присутствие таких клеток в крови более 10% наблюдается при таких патологических состояниях, как инфекционный мононуклеоз и другие вирусные инфекции, онкологические и аутоиммунные заболевания.

На рисунке 2 тельца Папенгеймера имеют вид фиолетовых агрегатов. Они представлены ферритином и встречаются при сидеробластной анемии или миелодиспластическом синдроме, образуются из-за снижения синтеза гема вследствие нарушения утилизации железа в костном мозге.



*Рис. 1. Патологические формы клеток крови:
1 – миелобласт; 2 – атипичный промиелоцит; 3 – реактивные лимфоциты.
Окраска азуром и эозином. Ув. x1000*



*Рис. 2. Патологические формы эритроцитов:
1 – Тельца Кебо; 2 – Жоли; 3 – Папенгеймера; 4 – «изъеденные» края.
Окраска азуром и эозином. Ув. x1000*

Тельца Кебо представлены кольцевидными включениями – остатками ядерной мембраны, они также являются маркерами миелодиспластического синдрома. Тельца Жолли – это округлые темно-фиолетовые включения, встречающиеся в эритроците по 1, реже по 2-3. Они тоже являются остатками ядра и встречаются при мегалобластной анемии, как следствие миелодиспластического синдрома. «Изъеденные» края у эритроцитов появляются по причине повреждении мембраны клеток антителами при аутоиммунных процессах, что является косвенным признаком гемолитической анемии.

Присутствие бластных «беркиттоподобных» крупных клеток с синей обильно вакуолизиро-

ванной цитоплазмой и «размытым» хроматинном характерно для лейкоза (рис. 3).

Опухолевые формы лимфоцитов, представленные на рисунке 4, имеют складчатые ядра с 1 или 2 вдавлениями, высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение и слабо базофильную цитоплазму.

Как показано на рисунке 5, в мазках-отпечатках встречались гипогранулярные и с полным отсутствием гранул нейтрофилы со светло-серой цитоплазмой. Такие клетки могут появляться при миелопролиферативных заболеваниях. Гипосегментация, проявляющаяся наличием шнуровидного ядра, является признаком нарушенного созревания клеток.

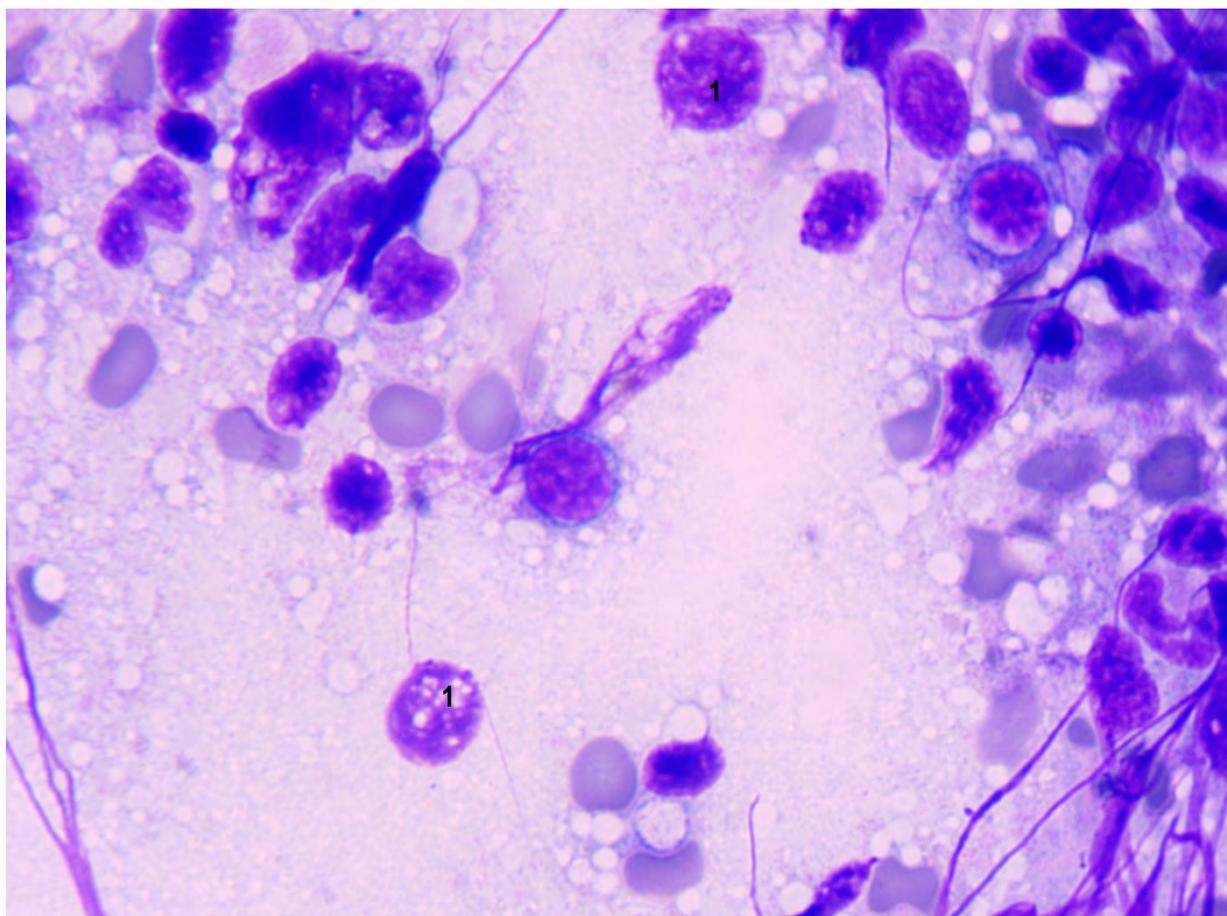


Рис. 3. Опухолевые «беркиттоподобные» клетки (1). Окраска азуром и эозином. Ув. x1000

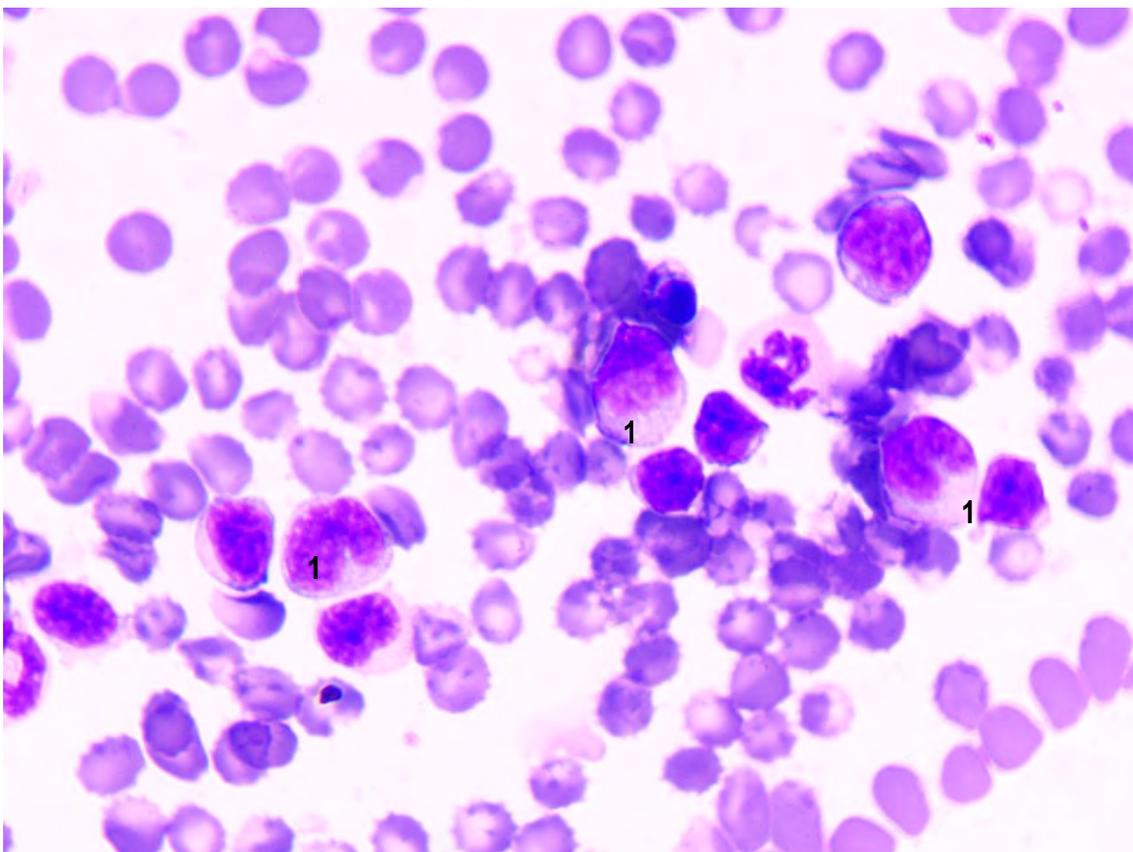
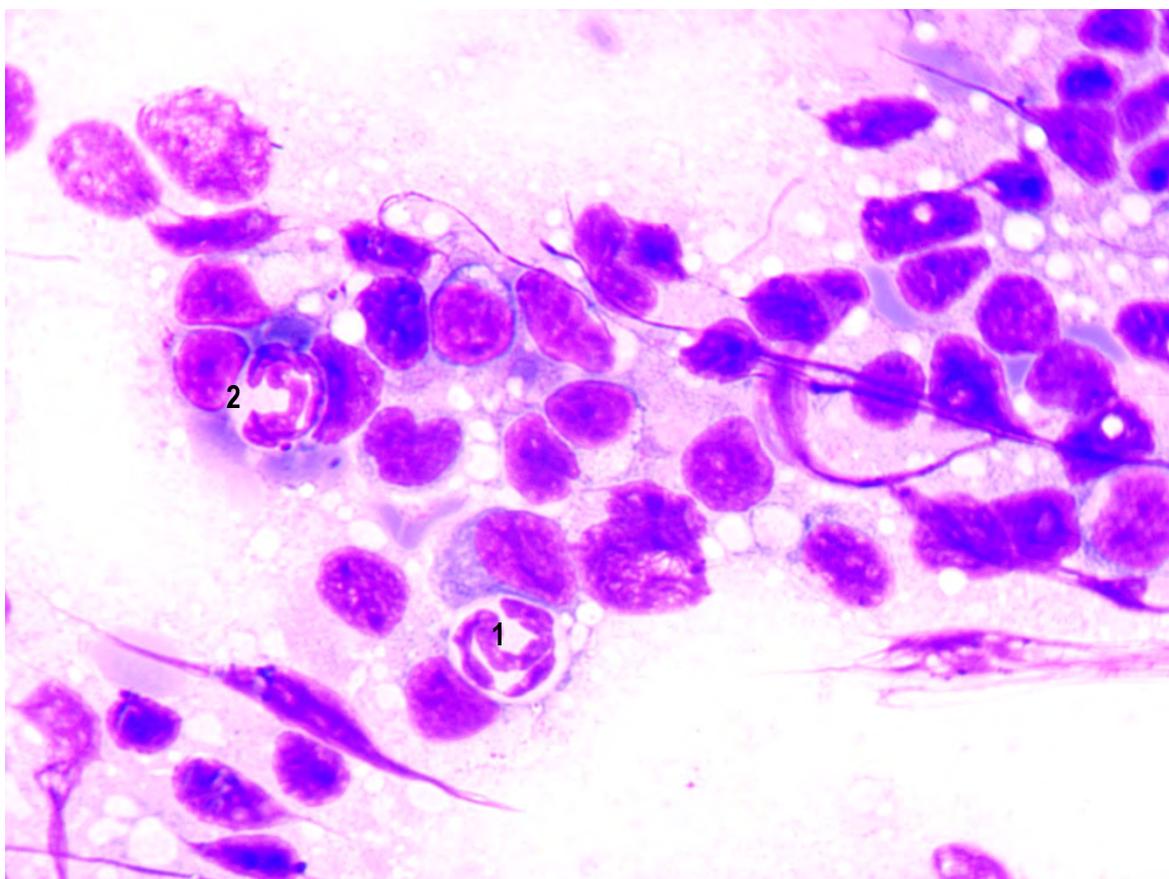


Рис. 4. Опухолевые формы лимфоцитов (1). Окраска азуром и эозином. Ув. x1000



*Рис. 5. Патологические формы нейтрофилов:
1 – агранулярный; 2 – с нарушенной сегментацией. Окраска азуром и эозином. Ув. x1000*

Заключение

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют, что *BLV*-инфекция белых лабораторных крыс линии Wistar сопровождается признаками, характерными для спровоцированных вирусом лейкоза миелопролиферативных процессов. Это выражается присутствием патологических клеточных форм, представленных бластными, реактивными и атипичными клетками различного происхождения. Полученные нами данные могут свидетельствовать о полигостальности возбудителя ЭЛ КРС.

Библиографический список

1. Трофимов, О. В. Поиск маркеров лейкоза крупного рогатого скота на основе цитогенетических исследований / О. В. Трофимов, И. В. Пак, И. М. Донник. – Текст: непосредственный // Ветеринария Кубани. – 2016. – № 1. – С. 11-13.
2. Люто, А. А. Морфология клеток крови коров с серопозитивной и гемосомнительной реакцией на лейкоз / А. А. Люто, М. М. Филиппев, Н. В. Донкова. – Текст: непосредственный // Вестник КрасГАУ. – 2012. – № 10 (73). – С. 144-148.
3. Морфологический состав и пролиферативная активность т- и в-лимфоцитов крови сухостойных коров при введении разных доз тканевого биостимулятора / И. А. Пушкарев, Т. В. Куренинова, Н. В. Шаньшин, А. И. Афанасьева. – Текст: непосредственный // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета имени П. А. Костычева. – 2020. – № 2 (46). – С. 48-55.
4. Бойко, Т. В. Клинический случай острого лейкоза у собаки / Т. В. Бойко, В. В. Гречко. – Текст: непосредственный // Вестник КрасГАУ. – 2016. – № 9 (120). – С. 194-200.
5. Vail, D. M. Hematopoietic Tumors / D. M. Vail, D. H. Thamm, J. M. Liptak // Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. – 2019. – № 33. – P. 688-772.
6. Клиническое наблюдение острого мегакариобластного лейкоза у ребенка 18 месяцев / Е. С. Филимонова, Ю. А. Дыхно, С. Л. Тарасенко, Ф. Б. Хлебникова // Сибирский медицинский

журнал (Иркутск). – 2015. – Т. 135, № 4. – С. 95-98.

7. Биохимические изменения крови крыс линии Wistar при экспериментальной *BLV*-инфекции / Е. С. Красникова, А. В. Красников, Р. В. Радионов [и др.]. – Текст: непосредственный // Инновации и продовольственная безопасность. – 2019. – № 2 (24). – С. 69-75.

8. Гематологические показатели крыс линии Wistar при экспериментальной *BLV*-инфекции / Е. С. Красникова, А. В. Красников, Р. В. Радионов [и др.]. – Текст: непосредственный // Инновации и продовольственная безопасность. – 2018. – № 4 (22). – С. 138-145.

9. Красников, А. В. Динамика морфологических показателей крови крыс линии wistar при парентеральном инфицировании *BLV* / А. В. Красников, А. С. Беякова, Е. С. Красникова. – Текст: непосредственный // Инновации и продовольственная безопасность. – 2020. – № 2 (28). – С. 53-58.

References

1. Trofimov, O. V. Poisk markerov leykoza krupnogo rogatogo skota na osnove citogeneticheskikh issledovaniy / O. V. Trofimov, I. V. Pak, I. M. Donnik. – Tekst: neposredstvennyj // Veterinariya Kubani. – 2016. – № 1. – S. 11-13.
2. Lyuto, A. A. Morfologiya kletok krvi korov s seropozitivnoy i gemosomnitel'noy reakciey na leykozy / A. A. Lyuto, M. M. Filipjev, N. V. Donkova. – Tekst: neposredstvennyj // Vestnik KrasGAU. – 2012. – № 10 (73). – S. 144-148.
3. Morfologicheskijj sostav i proliferativnaya aktivnost' t- i v-limfocitov krvi sukhostoyjnihkh korov pri vvedenii raznihkh doz tkanevogo biostimulyatora / I. A. Pushkarev, T. V. Kureninova, N. V. Shanjshin, A. I. Afanasjeva. – Tekst: neposredstvennyj // Vestnik Ryazanskogo gosudarstvennogo agrotekhnologicheskogo universiteta im. P.A. Kostihcheva. – 2020. – № 2 (46). – S. 48-55.
4. Boyjko, T. V. Klinicheskijj sluchayj ostrogo leykoza u sobaki / T. V. Boyjko, V. V. Grechko. – Tekst: neposredstvennyj // Vestnik KrasGAU. – 2016. – № 9 (120). – S. 194-200.

5. Vail, D. M. Hematopoietic Tumors / D. M. Vail, D. H. Thamm, J. M. Liptak // Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. – 2019. – N 33. – P. 688-772.

6. Klinicheskoe nablyudenie ostrogo megakarioblastnogo leykoza u rebenka 18 mesyacev / E. S. Filimonova, Yu. A. Dihkhno, S. L. Tarasenko, F. B. Khlebnikova. – Tekst: neposredstvennyj // Sibirskiy medicinskiy zhurnal. – 2015. – T. 135. – № 4. – S. 95-98.

7. Biokhimicheskie izmeneniya krovi krihs linii Wistar pri ehksperimental'noy BLV-infekcii / E. S. Krasnikova, A. V. Krasnikov, R. V. Radionov [I dr.]. – Tekst: neposredstvennyj // Innovacii i

prodovoljstvennaya bezopasnostj. – 2019. – № 2 (24). – S. 69-75.

8. Gematologicheskie pokazateli krihs linii Wistar pri ehksperimental'noy BLV-infekcii / E. S. Krasnikova, A. V. Krasnikov, R. V. Radionov [I dr.]. – Tekst: neposredstvennyj // Innovacii i prodovoljstvennaya bezopasnostj. – 2018. – № 4 (22). – S. 138-145.

9. Krasnikov, A. V. Dinamika morfolo-gicheskikh pokazatelej krovi krihs linii wistar pri parenteral'nom inficirovanii BLV / A. V. Krasnikov, A. S. Belyakova, E. S. Krasnikova. – Tekst: neposredstvennyj // Innovacii i prodovoljstvennaya bezopasnostj. – 2020. – № 2 (28). – S. 53-58.



УДК 636.034

З.В. Цой, Н.В. Васильева
Z.V. Tsoy, N.V. Vasileva

ВЛИЯНИЕ НЕТРАДИЦИОННЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК НА ЯИЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ КУР-НЕСУШЕК ПРИМОРСКОГО КРАЯ

INFLUENCE OF NON-TRADITIONAL FEED ADDITIVES ON EGG RPRODUCTIVITY OF LYING HENS OF PRIMORSKY KRAI

Ключевые слова: птицеводство, куры, кормовая добавка, рацион, яичная продуктивность.

Представлены результаты научно-хозяйственного опыта по применению кормовой муки из корбикулы японской и добавки из козлятника восточного в кормлении кур-несушек. Нами были проведены два научно-хозяйственных опыта по изучению нетрадиционных кормовых добавок морского и растительного происхождения в кормлении кур. Опыты проводили на курах кросса Хайсекс Уайт (белый). Цель исследований – изучить возможность включения в состав комбикормов для кур-несушек кормовой муки из корбикулы японской и растительной добавки, изготовленной из козлятника восточного. Опытным путем нами было доказано, что данные кормовые добавки оказывают положительное влияние на яичную продуктивность кур-несушек кросса Хайсекс Белый. Так, при включении кормовой муки из корбикулы японской в рацион кур-несушек были получены следующие результаты: валовое производство яиц увеличилось на 14,3-19% по сравнению с контролем. Включение в рацион несушек добавки растительного

происхождения также привело к повышению яйценоскости опытных групп на 10,5-14,9%.

Keywords: poultry farming, hens, feed additive, ration, egg productivity.

The article contains the results of scientific and economic experiment on the use of feed meal from Japanese corbicula and additives from Oriental goat's rue in feeding laying hens. We have carried out two scientific and economic experiments to study non-traditional feed additives of marine and plant origin in hen feeding. The experiments were carried out on hens of the Highsex White cross. The purpose of the research is to study the possibility of including feed meal from Japanese corbicula and a plant additive made of Oriental goat's rue into the compound feeds for laying hens. We have experimentally proved that these feed additives have a positive effect on the egg productivity of laying hens of the Highsex White cross. So, the following results were obtained by adding feed meal from Japanese corbicula into the diet of laying hens: the gross production of eggs increased by 14.3-19% compared to the control. The addition of plant-based addi-