



**ДОСТИЖЕНИЯ
ВЕТЕРИНАРНОЙ НАУКИ
И ПРАКТИКИ**
**PROGRESS VETERINARY SCIENCE
AND PRACTICES**

УДК 619:616–006.44:599.735.51:578.828

DOI:10.31677/2311–0651–2020–29–3–76-81

**ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРЫС ЛИНИИ WISTAR
ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ИНФИЦИРОВАНИИ *BLV***

А. В. Красников, доктор ветеринарных наук, доцент

А. С. Белякова, аспирант

Е. С. Красникова, доктор ветеринарных наук, доцент

Мичуринский государственный аграрный университет

E-mail: krasnikovaes77@yandex.ru

Ключевые слова: энзоотический лейкоз крупного рогатого скота, крысы линии Wistar, внутрибрюшинное заражение, биохимический анализ крови, эндогенная интоксикация.

Реферат. Биохимические исследования крови крыс линии Wistar при внутрибрюшинном заражении их лимфоцитами *BLV*-инфицированных коров выявили увеличение показателей креатинина на 14,5 и 22,5% и мочевины на 11,9%; снижение фракции альбумина на 27,8 и 39,3% на фоне уменьшения общего белка крови на 35,4%; снижение активности амилазы крови на 21,3% и содержания глюкозы крови на 18,4%; рост активности печеночных ферментов АЛТ и АСТ в 1,4/2,3 и 1,7/3,2 раза соответственно на фоне увеличения активности ЛДГ в 1,3 раза, а также рост содержания билирубина в крови в 2,8 и 2,6 раза по сравнению с контролем. У потомства инфицированных *BLV* крыс биохимические показатели крови изменялись в более значительных пределах, чем у их родителей. При сравнительном анализе данных биохимических исследований крови крыс были выявлены предпосылки развития эндогенной интоксикации у животных опытных групп, характеризующиеся наличием маркеров нарушения деятельности гепатобилиарной системы и фильтрационно-реабсорбционной функции почек, а также признаками развития деструктивных процессов и гемолитической анемии. Полученные нами данные позволяют рекомендовать внутрибрюшинный способ заражения лабораторных крыс взвесью лимфоцитов инфицированного скота для воспроизведения экспериментальной *BLV*-инфекции.

DYNAMICS OF BIOCHEMICAL INDICATORS OF WISTAR LINE RATS UNDER PARENTERAL *BLV* INFECTION

A. V. Krasnikov, Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor

A. S. Belyakova, Graduate Student

E. S. Krasnikova, Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor

Michurinsk State Agrarian University

Key words: enzootic bovine leukemia, Wistar line rats, intraperitoneal infection, blood biochemical analysis, endogenous intoxication.

Abstract. Biochemical studies of blood of rats of Wistar line after intraperitoneal infection of their lymphocytes from BLV-infected cows showed an increase in the creatinine figures 14.5 and 22.5% urea and 11.9%; the decrease in the fraction of albumin 27.8 and 39.3% with a reduction in total protein of blood is 35.4%; the decrease in the activity of blood amylase to 21.3% and the content of blood glucose is 18.4%; the increase in liver enzymes ALT and AST 1.4/the 2.3 and 1.7/3.2 times, respectively, with increased LDH activity in 1,3 times, as well as the increased content of bilirubin in the blood in 2.8 and 2.6 times compared with control. In the offspring of BLV-infected rats, the biochemical parameters of blood changed in a more significant range than in their parents. A comparative analysis of data from biochemical studies of rat blood revealed prerequisites for the development of endogenous intoxication in animals of the experimental groups, characterized by the presence of markers of impaired activity of the hepatobiliary system and filtration-reabsorption function of the kidneys, as well as signs of the development of destructive processes and hemolytic anemia. Our data allow us to recommend an intraperitoneal method of infecting laboratory rats with a suspension of lymphocytes from infected cattle to reproduce experimental BLV infection.

В настоящее время лейкоз является одним из самых прогностически неблагоприятных и широко распространенных заболеваний группы гематопатологий животных и человека [1–3]. Энзоотический лейкоз крупного рогатого скота, провоцируемый *BLV* (*bovine leukemia virus*), уже более ста лет находится в центре внимания ветеринарных специалистов всего мира. Связано это не только с тем, что заболевание ежегодно наносит экономический ущерб животноводству, но и с тем, что представляет определенную опасность для людей [4]. Для воспроизведения *BLV*-инфекции с целью изучения биологии вируса и разработки противовирусных препаратов были предложены различные модели, которые обладали теми или иными недостатками, в частности, сомнительная восприимчивость (жеребята), экономическая нецелесообразность (крупный рогатый скот и овцы), невыраженность специфических клинических проявлений (кролики). В своих предварительных исследованиях мы показали высокую восприимчивость лабораторных крыс линии Wistar к заражению их *BLV* пероральным путем молоком больных и инфицированных лейкозом коров [5, 6]. В наших последующих исследованиях для инфицирования крыс мы использовали внутрибрюшинный способ заражения взвесью лимфоцитов инфицированного вирусом лейкоза крупного рогатого скота. Гематологический анализ показал, что при внутрибрюшинном способе заражения признаки инфекции у животных нарастают более стремительно и проявления заболевания более специфичны, чем при пероральном заражении [7].

Свои функции кровеносная система выполняет в тесном взаимодействии со всеми органами и системами организма. Биохимические маркеры крови являются «зеркалом», отражающим функциональное состояние всех органов и систем в совокупности. При лейкозной инфекции нарушения гомеостаза могут быть спровоцированы эндогенной интоксикацией, обусловленной накоплением в крови продуктов катаболических процессов на фоне снижения уровня детоксикационной активности печени и выделительной функции почек, что усугубляет состояние иммунодефицита, обусловленное нарушением функции иммунокомпетентных клеток [1, 3].

Целью настоящего исследования явился анализ динамики биохимических показателей крови крыс линии Wistar при парентеральном заражении их лимфоцитами *BLV*-инфицированных коров.

Материалом для исследования послужили стерильно полученные лимфоциты периферической крови *BLV*-инфицированного крупного рогатого скота. В качестве объекта исследования использовали 6-месячных крыс линии Wistar. Опытной группе крыс ($n=20$) двукратно с интервалом в 1 неделю внутрибрюшинно вводили стерильную суспензию свежеполученных лимфоцитов в стерильном физиологическом растворе по стандарту мутности МакФарланда (R092B стандарт 1 ед.) в объеме 0,5 мл. Контрольной группе крыс ($n=10$) вводили внутрибрюшинно такое же количество физиологического раствора. Животные содержались в клетках группами по 2–3 самки и 1 самец на полноценном рационе – гранулированный корм по ГОСТ Р 50258–92 (ООО МЭСТ) при свободном доступе к воде.

Кровь у экспериментальных животных отбирали из латеральной хвостовой вены двукратно, через 3 и через 6 месяцев после инъекции. Потомство крыс (F_1) содержали совместно с матерями и исследовали двукратно в возрасте 3 и 6 месяцев. Наличие *BLV*-инфекции у крыс опытной группы и потомства крыс (F_1) подтверждали методом ПЦР на оборудовании Bio-Rad (USA) с использованием набора «Лейкоз» (ИЛС, Россия). Биохимический анализ крови (БАК) выполняли на биохимическом анализаторе полуавтоматического типа BioChemSA (USA) с использованием реагентов линии Диакон-ДС (АО «ДИАКОН-ДС», Россия).

При сравнительном анализе данных биохимических исследований крови мы принимали во внимание референсные значения для крыс линии Wistar, однако эталонными считали результаты исследований контрольных групп. Динамика показателей биохимического анализов крови крыс представлена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Данные биохимического анализа крови крыс

Показатель	Группа животных/возраст			
	контроль/9 мес	опыт/9 мес	контроль/12 мес	опыт/12 мес
Мочевина, ммоль/л	6,3±0,6	6,9±0,7	6,7±0,7	7,5±0,8*
Креатинин, мкмоль/л	47,5±4,8	54,4±6,2*	49,3±5,1	60,4±6,7*
Глюкоза, ммоль/л	4,7±0,5	4,4±0,5	4,5±0,4	3,8±0,5*
Амилаза, Ед/л	475,7±34,2	434,6±41,6	469,7±41,4	387,2±39,1*
Общий белок, г/л	67,3±6,9	62,7±6,4	71,5±7,1	52,8±4,9*
Альбумин, г/л	31,7±2,9	24,8±2,7*	35,1±3,6	25,2±2,7*
АЛТ, Ед/л	68,6±7,1	95,8±9,9*	65,8±6,6	112,4±14,1*
АСТ, Ед/л	76,5±7,5	174,3±16,9*	72,9±7,6	236,1±24,1*
Билирубин общий, мкмоль/л	2,5±0,3	6,9±0,8*	2,8±0,3	7,4±0,7*
ЛДГ, Ед/л	435,8±32,3	553,1±54,9*	468,6±45,2	628,4±63,6*

* Отличие опытной группы от контрольной ($P \leq 0,05$).

Как следует из данных, представленных в табл. 1, у крыс опытной группы со временем нарастали признаки нарушения функции почек, о чем свидетельствует увеличение показателя креатинина на 14,5 и 22,5 % в динамике эксперимента по сравнению с контролем и содержания мочевины в крови на 11,9 % через 6 месяцев после заражения, а также снижение фракции альбумина на 27,8 и 39,3 % с течением времени на фоне уменьшения общего белка крови на 35,4 % к концу эксперимента. Уменьшение содержания общего белка и альбумина в сыворотке крови также может быть следствием снижения белоксинтезирующей функции печени и повышенного распада белка в результате злокачественных новообразований, так как относительно стабильное содержание глюкозы крови свидетельствует о нормальном гормональном статусе поджелудочной железы. Снижение активности амилазы крови на 21,3 % может быть обусловлено уменьшением содержания глю-

козы крови на 18,4% к концу исследования, вероятно, вследствие эндогенной интоксикации, о чем свидетельствует рост активности печеночных ферментов АЛТ и АСТ в 1,4/2,3 и 1,7/3,2 раза соответственно на фоне увеличения активности ЛДГ в 1,3 раза в динамике эксперимента. Рост содержания билирубина в крови в 2,8 и 2,6 раза тоже является маркером нарушения функции гепатобилиарной системы, а также может быть следствием развития гемолитической анемии.

Таблица 2

Данные биохимического анализа крови потомства крыс

Показатель	Группа животных/возраст			
	F ₁ контроль/3 мес	F ₁ опыт / 3 мес	F ₁ контроль/6 мес	F ₁ опыт / 6 мес
Мочевина, ммоль/л	7,3±0,7	7,4±0,7	7,5±0,7	8,7±0,6*
Креатинин, мкмоль/л	44,6±4,1	69,5±6,7*	46,8±4,7	75,2±7,2*
Глюкоза, ммоль/л	4,2±0,4	3,9±0,4	4,3±0,4	2,1±0,2*
Амилаза, Ед/л	501,7±47,8	485,1±51,2	487,7±45,6	324,2±34,4*
Общий белок, г/л	62,7±5,9	55,3±7,1*	66,1±6,5	46,5±4,8*
Альбумин, г/л	28,8±3,1	23,2±2,1*	30,1±2,8	21,9±3,1*
АЛТ, Ед/л	61,3±6,2	100,1±11,4*	69,8±6,5	135,9±14,2*
АСТ, Ед/л	58,5±6,1	213,3±20,8*	71,4±6,9	262,7±25,1*
Билирубин общий, мкмоль/л	3,1±0,3	6,3±0,6*	2,7±0,2	10,8±1,1*
ЛДГ, Ед/л	505,6±49,1	698,8±72,3*	447,8±45,5	735,1±72,4*

* Отличие опытной группы от контрольной ($P \leq 0,05$).

Данные, представленные в табл. 2, свидетельствуют, что у потомства инфицированных *BLV* крыс биохимические показатели крови изменялись в более значительных пределах, чем у их родителей, что подтверждает наше мнение о том, что у зараженного вирусом лейкоза потомства *BLV*-инфицированных животных признаки заболевания прогрессируют более динамично. В частности, в этой группе животных был отмечен рост показателей креатинина на 55,5 и 60,7% в динамике эксперимента и мочевины на 16% к концу исследования, а уровень общего белка и фракции альбумина были снижены на 13,4/24,1 и 41,2/37,4% по сравнению с контролем соответственно. Содержание глюкозы и активность амилазы крови на конец эксперимента были снижены в 2 и 1,5 раза соответственно относительно контроля. Также отмечался рост активности ферментов АЛТ, АСТ и ЛДГ в сыворотке крови животных опытной группы в 1,6/3,6/1,4 и 1,9/3,7/1,6 раза и содержание билирубина в 2 и 4 раза соответственно по сравнению с контролем.

Таким образом, при сравнительном анализе данных биохимических исследований сыворотки крови крыс нами были выявлены предпосылки развития эндогенной интоксикации у животных опытных групп, характеризующиеся наличием маркеров нарушения деятельности гепатобилиарной системы и фильтрационно-реабсорбционной функции почек, а также признаки развития деструктивных процессов.

Данные выполненных нами ранее биохимических исследований крови крыс, зараженных *BLV* пероральным путем молоком инфицированных и больных лейкозом коров, позволяют заключить, что при внутрибрюшинном способе заражения характерные для лейкозной инфекции признаки развиваются у крыс более динамично [8]. Существовали и некоторые отличия, в частности, при пероральной инфекции происходило увеличение показателя белка крови, что может быть связано с высококалорийной диетой животных, однако при этом сохранялась тенденция снижения альбуминовой фракции белка крови при обоих способах инфицирования. При внутрибрюшинной инфекции не было отмечено выраженной динамики содержания глюкозы в сыворотке крови в отличие от перорального инфицирования крыс.

Полученные нами данные позволяют рекомендовать внутрибрюшинный способ заражения лабораторных крыс взвесью лимфоцитов инфицированного скота для более быстрого воспроизведения экспериментальной *BLV*-инфекции.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Черноусова Г. М., Родосская Н. К., Тарасов Е. О. Функциональное состояние билиарной системы у больных острым лейкозом в условиях иммунодефицита, вызванного естественным ингибированием активности сывороточных Ig M антител // Вестник гематологии. – 2010. – Т. 6, № 2. – С. 95–97.
2. О распространении вируса лейкоза птиц в птицеводческих хозяйствах на территории России / В. А. Плотников, Т. В. Гребенникова, Е. К. Дудникова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – № 6. – С. 36–42.
3. Иммуноморфологические изменения, сопровождающие развитие гемобластозов человека и животных / П. Н. Смирнов, В. В. Храмцов, С. Н. Магер [и др.] // Инновации и продовольственная безопасность. – 2017. – № 4 (18). – С. 39–50.
4. Красникова Е. С., Плютина Т. А. О необходимости ужесточения мер контроля над энзоотическим лейкозом крупного рогатого скота // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – № 50. – С. 131–133.
5. Гематологические показатели крыс линии Wistar при экспериментальной *BLV*-инфекции / Е. С. Красникова, А. В. Красников, Р. В. Радионов [и др.] // Инновации и продовольственная безопасность. – 2018. – № 4 (22). – С. 138–145.
6. Биохимические изменения крови крыс линии Wistar при экспериментальной *BLV*-инфекции / Е. С. Красникова, А. В. Красников, Р. В. Радионов [и др.] // Инновации и продовольственная безопасность. – 2019. – № 2 (24). – С. 69–75.
7. Красников А. В., Белякова А. С., Красникова Е. С. Динамика морфологических показателей крови крыс линии Wistar при парентеральном инфицировании *BLV* // Инновации и продовольственная безопасность. – 2020. – № 2 (28). – С. 53–58.
8. *The hematobiochemical status of Wistar rat line under the bovine leukemia virus experimental infection* / E. S. Krasnikova, A. S. Belyakova, F. Bouchemla [et al.] // *Veterinary World*. – 2019. – Vol. 12, N 3. – P. 382–388.

REFERENCES

1. Chernousova G.M., Rodoskaya N.K., Tarasov E.O. Funkcional'noe sostoyanie biliarnoj sistemy u bol'nyh ostrym lejkozom v usloviyah immunodeficita, vyzvannogo estestvennym ingibirovaniem aktivnosti syvorotochnyh Ig M antitel // *Vestnik gematologii*. – 2010. – T. 6, № 2. – S. 95–97.
2. O rasprostraneniі virusa lejkoza ptic v pticevodcheskih hozyajstvah na territorii Rossii / V.A. Plotnikov, T. V. Grebennikova, E. K. Dudnikova [i dr.] // *Sel'skohozyajstvennaya biologiya*. – 2013. – № 6. – S. 36–42.
3. Immunomorfologicheskie izmeneniya, soprovozhdayushchie razvitie gemoblastozov cheloveka i zhivotnyh / P. N. Smirnov, V. V. Hramcov, S. N. Mager i dr. // *Innovacii i prodovol'stvennaya bezopasnost*. – 2017. – № 4 (18). – S. 39–50.
4. Krasnikova E. S., Plyutina T. A. O neobhodimosti uzhestocheniya mer kontrolya nad enzooticheskim lejkozom krupnogo rogatogo skota // *Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. – 2014. – № 50. – S. 131–133.

5. Gematologicheskie pokazateli krys linii Wistar pri eksperimental'noj BLV-infekcii / E. S. Krasnikova, A. V. Krasnikov, R. V. Radionov i dr. // *Innovacii i prodovol'stvennaya bezopasnost*. – 2018. – № 4 (22). – S. 138–145.

6. Biohimicheskie izmeneniya krovi krys linii Wistar pri eksperimental'noj BLV-infekcii / E. S. Krasnikova, A. V. Krasnikov, R. V. Radionov [i dr.] // *Innovacii i prodovol'stvennaya bezopasnost*. – 2019. – № 2 (24). – S. 69–75.

7. Krasnikov A. V., Belyakova A. S., Krasnikova E. S. Dinamika morfologicheskikh pokazatelej krovi krys linii Wistar pri parenteral'nom inficirovanii BLV // *Innovacii i prodovol'stvennaya bezopasnost*. – 2020. – № 2 (28). – S. 53–58.

8. The hematobiochemical status of Wistar rat line under the bovine leukemia virus experimental infection / E. S. Krasnikova, A. S. Belyakova, F. Bouchemla [et al.] // *Veterinary World*. – 2019. – Vol. 12, N 3. – R. 382–388.