

болезни крупного рогатого скота (диагностика, лечение, профилактика) : практическое пособие / В. С. Прудников [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 177 с. 6. Патологическая анатомия и дифференциальная диагностика инфекционных и инвазионных болезней телят и поросят, протекающих с респираторным синдромом : учебно-методическое пособие / В. С. Прудников [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2019. – 40 с. 7. Патоморфологическая диагностика болезней животных : атлас-альбом / Б. Я. Белкин [и др.]. – М. : Аквариум Принт, 2013. – 232 с. 8. Прудников, В. С. Патоморфология, диагностика и специфическая профилактика вирусных болезней телят при ассоциативном течении / В. С. Прудников, С. П. Герман, Л. С. Кашко // Перспективы научно-технического развития агропромышленного комплекса России : сб. материалов Междунар. науч. конф., Смоленск, 15 октября 2019 г. : в 2 т. / Смоленская ГСХА. – Смоленск : ФГБОУ ВО Смоленская ГСХА, 2019. – Т. 1. – С. 303–306. 9. Прудников, В. С. Патоморфология, диагностика и специфическая профилактика вирусных болезней телят с диарейным синдромом при моно- и ассоциативном течении / В. С. Прудников, С. П. Герман, А. И. Василенко // Ветеринарный журнал Беларуси. – Минск, 2017. – Вып. 2 (7). – С. 52–55. 10. Прудников, В. С. Патоморфология и специфическая профилактика вирусных болезней телят с диарейным синдромом / В. С. Прудников [и др.] // Вісник ЖНАЕУ. – Житомир, 2017. – Вып. 2 (63), Т. 3. – С. 153–157. 11. Практическое руководство по патолого-анатомической диагностике болезней животных / Б. Л. Белкин [и др.]. – М. : ООО «Русатлас», 2019. – 159 с. 12. Прудников, В. С. Организация гистологических исследований, техника изготовления и окраски гистопрепаратов / В. С. Прудников [и др.] // Ученые записки учреждения образования "Витебская государственная академия ветеринарной медицины". – Витебск, 1998. – Т. 34. – С. 171–173. 13. Справочник по вскрытию трупов и патоморфологической диагностике болезней животных (с основами судебно-ветеринарной экспертизы) / В. С. Прудников [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2007. – 375 с.

Поступила в редакцию 27.01.2021

УДК 619:617.3:615.28

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-1-53-56

КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ КОРОВ ПРИ ЯЗВАХ РУСТЕРГОЛЬЦА С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ

*Руколь В.М., *Андреева Е.Г., *Кочетков А.В., **Костюк Н.И., **Ломако Ю.В.,
Барсукова М.В., **Волотовский И.Д., **Казакова Е.Ф., *Руколь М.В.

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

**РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

***УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*Применение мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) в лечении животных с язвой Рустергольца определяется противовоспалительными свойствами данных клеток, их способностью увеличивать ангиогенез и стимулировать внутренние прогениторные клетки к регенерации функций ткани. Эти свойства позволяют сократить время заживления язвенных поражений копытца у коров, значит целесообразно использовать схему лечения с применением мезенхимальных стволовых клеток. **Ключевые слова:** мезенхимальные стволовые клетки, язва Рустергольца, коровы, копытца.*

COMPLEX TREATMENT OF COWS WITH RUSTERHOLZ ULCERS USING ADIPOSE-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS

*Rukol V.M., *Andreeva E.G., *Kochetkov A.V., **Kostyuk N.I., **Lomako Yu.V.,
Barsukova M.V., **Volotovskiy I.D., **Kazakova E.F., *Rukol M.V.

*Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

**RUE "Institute of Experimental Veterinary Medicine Named after S.N. Vyshellessky", Minsk, Republic of Belarus

***Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

*The use of adipose-derived mesenchymal stem cells (MSC AT) in treatment of animals with Rusterholz ulcer is determined by the anti-inflammatory properties of these cells, their ability to increase angiogenesis and stimulate internal progenitor cells to regenerate tissue functions. These properties allow to reduce the healing time of ulcerative lesions of the hooves in cows, therefore it is advisable to use a treatment regimen with the use of mesenchymal stem cells. **Keywords:** mesenchymal stem cells, Rusterholz ulcers, cow, hooves.*

Введение. Заболевания дистальной части конечностей крупного рогатого скота представляют собой серьезную проблему для современного мясного и молочного скотоводства, так как повышают затратность производства, приводят к уменьшению мясной и молочной продуктивности, выбраковке животных, высокой ротации стада, качественному и количественному снижению воспроизводства. Экономические потери от болезней копытца крупного рогатого скота могут достигать 1000 долларов США на один случай заболевания [1, 3, 4].

Лечение крупного рогатого скота с болезнями копытца начинается с санации и терапии, направленной на заживление гнойно-некротического очага поражения, повышения резистентности организма (вакцинация, витаминно-минеральные комплексы). Однако при недостаточной эффектив-

ности первоначального этапа лечения развиваются системные осложнения, требующие применения антибиотиков. Как известно, широкое применение антибактериальных препаратов сопровождается распространением резистентных к антибиотикам патогенных микроорганизмов, что остается одной из самых непростых и актуальных проблем ветеринарной медицины. Использование мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) в настоящее время рассматривается в качестве перспективного подхода к лечению ряда хирургических заболеваний дистальной части конечностей крупного рогатого скота. Клеточная терапия с применением мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани набирает все большую популярность в ветеринарии. Наиболее часто МСК используют для лечения животных-компаньонов и в спорте, потенциал же использования данной терапии в животноводстве мало изучен. Имеются сообщения об успешном лечении коров с маститами, об использовании МСК при травмах костей и суставов, в репродукции животных, в частности, при переносе ядер соматических клеток и получении трансгенных животных, для лечения сахарного диабета.

В данной работе МСК ЖТ крупного рогатого скота были применены для лечения коров с язвой Рустергольца. В результате данного исследования было установлено, что применение мезенхимальных стволовых клеток может быть одним из альтернативных способов лечения животных с болезнями конечностей в животноводстве. В свою очередь, применение антибиотиков вызывает известные негативные последствия, связанные, прежде всего, с появлением устойчивых штаммов патогенных микроорганизмов, инфицирующих как животных, так и человека.

Следует отметить, что клеточные технологии могут быть экономически выгодными для индивидуального лечения животных с высоким генетическим потенциалом. Предрасположенность к заболеваниям копыт у крупного рогатого скота определяет разветвленная сеть большого количества сосудов в дистальной части конечностей, хроническая венозная недостаточность, связанная с ограничением движения животных в условиях крупных животноводческих производств, а основным пусковым механизмом является травматизация копыт на твердых покрытиях пола [2, 5, 6, 7].

Терапевтический потенциал мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани в лечении животных с болезнями копыт определяется противовоспалительными свойствами данных клеток, их способностью увеличивать ангиогенез и стимулировать внутренние прогениторные клетки к регенерации функций ткани. Особый интерес представляет использование клеточного трансплантата МСК после анатомо-функциональной расчистки копыт. Повышение эффективности лечения на данном этапе имеет важное значение, так как позволяет раньше вернуть животных в производственный процесс, а также уменьшить вероятность развития осложнений, требующих системного применения антибиотиков. Следует отметить также, что имеющиеся к настоящему времени многочисленные данные указывают на то, что МСК ЖТ секретируют «паракринные факторы», что позволяет применять аллогенные трансплантаты мезенхимальных стволовых клеток для получения местного терапевтического эффекта [2, 5].

Целью данной работы было оценить терапевтическую эффективность использования мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани для лечения крупного рогатого скота с язвами Рустергольца.

Материалы и методы исследований. Жировую ткань получали на Минском мясокомбинате от убойных бычков в возрасте 16-18 месяцев не позднее 30 минут после убоя. Материалом для отбора была подкожная жировая клетчатка в области основания хвоста, далее ткань помещали в 70% этанол на 30 секунд, затем депонировали в фосфатно-солевой буфер с добавлением 100 МЕ/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 2,5 мкг/мл амфотерицина В и транспортировали в лабораторию для культивирования клеток.

Культивирование клеток проводили в течение 30–35 суток со сменой ростовой питательной среды и пассированием, как описано в методах. Изучение морфологии культивированных клеток из жировой ткани крупного рогатого скота показало, что адгезировавшие к культуральному пластику клетки имели как веретеновидную (рисунок 1), так и округлую или неправильную форму (рисунок 2).

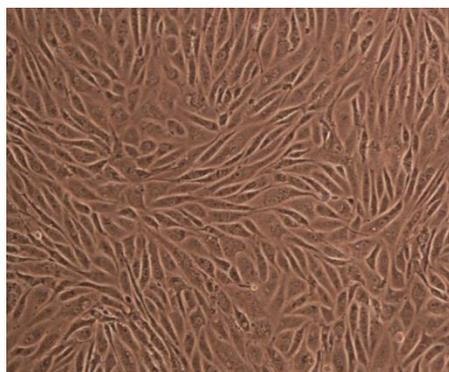


Рисунок 1 – Веретеновидные мезенхимальные стволовые клетки

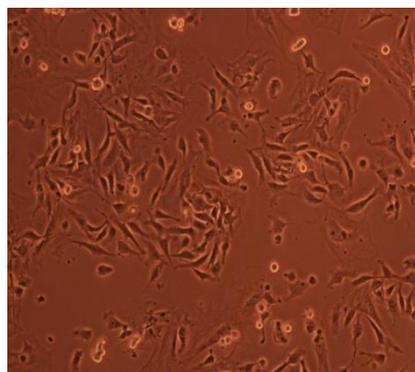


Рисунок 2 – Неправильной формы и округлые мезенхимальные стволовые клетки

Размер данных клеток варьировал от 20 до 40 мкм, они делились и начинали образовывать колонии.

Трансплантат мезенхимальных стволовых клеток для инъекций представлял собой суспензию в физиологическом растворе. Клетки в суспензии были округлой формы, при посеве в ростовой среде в процессе формирования монослоя через 48 ч приобретали веретеновидную (фибробластноподобную), округлую или неправильную морфологию.

Срок годности препарата с момента выдачи составлял не более 12 ч при температуре от +4°C до +10°C и не более 4 ч при температуре от +10°C до +37°C.

По принципу условных аналогов были сформированы опытная и контрольная группы коров (по 10 голов) с клиническими признаками язвы Рустергольца.

Для приготовления клеточного трансплантата использовали криоконсервированные МСК ЖТ крупного рогатого скота. Всем животным предварительно проводили анатомо-функциональную ортопедическую расчистку копытец и обрезку чрезмерно отросшего копытцевого рога.

Животные содержались в одинаковых условиях кормления и ухода, в чистом помещении с сухим полом и мягкой подстилкой. Первоначальный отбор коров для участия в клинических испытаниях проводился по явно выраженным клиническим признакам: хромота разной степени, отведение конечности в сторону, повышенная местная температура, наличие патологического очага и др.

После анатомо-функциональной ортопедической расчистки копытец проведено полное удаление омертвевших тканей и разросшихся патологических грануляций. После хирургической обработки рану обрабатывали 3% раствором перекиси водорода, осушали стерильной марлевой салфеткой и присыпали сложным порошком (калия перманганат – 50%, борная кислота – 13%, сульфадимидин – 13%, стрептоцид – 12%, тилозин – 12%). Через 7-10 дней дальнейшее лечение пораженного участка проводили ветеринарным препаратом «Аламицином» (рисунок 3).

Животным опытной группы вводили клеточный трансплантат мезенхимальных стволовых клеток в область патологического очага в дозе 5×10^6 клеток в 2 мл или 5×10^7 клеток в 4 мл физиологического раствора в зависимости от размера раневого дефекта (рисунок 4).



Рисунок 3 – Ветеринарный препарат «Аламицин»



Рисунок 4 – Клеточный трансплантат мезенхимальных стволовых клеток

Введение мезенхимальных стволовых клеток производили однократно с применением проводниковой анестезии не позднее 2 часов после получения клеточного трансплантата. После введения суспензии мезенхимальных клеток на обработанное копытце накладывалась асептическая повязка, которая обеспечивала защиту раны и пересаженной культуры клеток от инфицирования. Эффективность лечения оценивали в динамике по клинической картине общего состояния и регенеративного процесса. Клинически оцениваемыми признаками были степень хромоты, наличие болезненности, площадь раневого дефекта, состояние окружающих тканей (отек, гиперемия), характер выделяемого экссудата, степень развития грануляционной ткани, сроки эпителизации ран.

Результаты исследований. У отобранных для клинических испытаний животных диагностировались язвы Рустергольца с выраженной воспалительной реакцией окружающих тканей, которые были болезненными, с наличием очагов некроза. У всех больных животных до лечения наблюдали угнетение общего состояния, понижение пищевой возбудимости, реакции на окружающую обстановку. Температура тела находилась в пределах нормы, характерной для данного вида животных. Частота дыхания и пульса была увеличена. Наблюдалась выраженная хромота опорного типа.

У коров экспериментальной группы с применением клеточной терапии уже на $4 \pm 0,38$ сутки отмечалось улучшение общего состояния. После снятия повязки и осмотра раны было установлено

уменьшение отечности ткани и снижение болезненности, но животные неуверенно опирались на больную конечность. Местные изменения характеризовались наличием грануляционной ткани. К 11±1,16 суткам размеры раневого дефекта значительно уменьшились, вся рана заполнилась грануляционной тканью, а по краям раны наблюдали рост эпидермального ободка. Отечность и гиперемия ткани в области раны отсутствовали. Животные уверенно опирались на пораженную конечность и при движении наблюдалась еле заметная хромота. Защитная повязка далее не накладывалась. На 16±1,47 сутки в группе коров с применением МСК ЖТ при визуальном осмотре вся поверхность раны была заполнена здоровой грануляционной тканью розового цвета. Наблюдался активный рост эпидермального ободка, на месте язвы образовалась рубцовая ткань. При ходьбе животные уверенно наступали на пораженную конечность, хромота отсутствовала. Полное клиническое выздоровление наступило в среднем на 18±1,18 сутки с начала применения препарата из стволовых клеток.

У коров контрольной группы, после снятия антисептической повязки через 6±1,74 суток с начала лечения, общее состояние было удовлетворительным, однако при движении отмечалась хромота и животные с осторожностью опирались на больную конечность, сохранялась болезненность и отечность. Поверхность раны немного подсохла, участок раны был покрыт коричневой корочкой. Дальнейшее лечение пораженного участка проводили аламицином в виде аэрозоля. К 11±1,91 суткам большая часть раны покрылась струпом. Местные изменения характеризовались уменьшением отечности тканей, снижением болезненности, отмечалось образование нормальной грануляционной ткани. На 17±1,43 сутки раневая поверхность была заполнена мелкозернистой грануляционной тканью, эпителизация раневого дефекта практически завершилась. Выздоровление животных контрольной группы наступило на 23±1,56 сутки с начала опыта.

Заключение. В результате исследования нами установлено, что подкожная клетчатка из области основания хвоста крупного рогатого скота, полученная от животных после убоя, является хорошим источником биомассы мезенхимальных стволовых клеток. В результате проведенных клинических испытаний было установлено, что применение клеточного трансплантата мезенхимальных стволовых клеток, полученных из жировой ткани крупного рогатого скота, позволяет сократить время заживления гнойно-некротических поражений копытцев (язв Рустергольца) у коров на 5±0,38 суток по сравнению с аналогичной схемой лечения без использования МСК ЖТ.

Результаты проведенного исследования показали возможность успешного использования комплексной схемы терапии с использованием МСК ЖТ и целесообразность ее дальнейшего развития. Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани могут быть успешно использованы в качестве альтернативы для усиления регенерации тканей при заживлении гнойно-некротических поражений копытцев крупного рогатого скота.

Литература. 1. Использование мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани для лечения крупного рогатого скота с гнойно-некротическими болезнями / Н. И. Костюк [и др.] // Экология и животный мир. – 2020. – № 1. – С. 70–78. 2. Руколь, В. М. Профилактика и лечение коров при болезнях конечностей / В. М. Руколь, А. А. Стекольников // Ветеринария. – 2011. – № 11. – С. 50–53. 3. Руколь, В. М. Мероприятия при хирургической патологии крупного рогатого скота на молочных комплексах Гомельской области : рекомендации / В. М. Руколь, В. А. Журба, Э. И. Веремей ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2011. – 28 с. 4. Руколь, В. М. Профилактика и лечение коров при болезнях конечностей / В. М. Руколь, А. А. Стекольников // Ветеринария. – 2011. – № 11. – С. 50–53. 5. Руколь, В. М. Технологические основы ветеринарного обслуживания молочного крупного рогатого скота с хирургическими болезнями в Республике Беларусь : дис. ... докт. вет. наук : 06.02.04 : защищена 22.02.13 / Руколь Василий Михайлович. – Санкт-Петербург, 2013. – 461 с. 6. Comparative analysis of in vitro proliferative, migratory and pro-angiogenic potentials of bovine fetal mesenchymal stem cells derived from bone marrow and adipose tissue / M. Jervis [et al.] // Vet. Res. Commun. – 2019. – V. 43. – P. 165–178. 7. Caplan, A. I. Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! / A. I. Caplan // Stem Cells Transl Med. – 2017. – V. 6. – P. 1445–1451. 7. Kofler, J. Pathogenesis and Treatment of Toe Lesions in Cattle Including “Nonhealing” Toe Lesions / J. Kofler // Vet. Vet. Clin. Food Anim. – 2017. – V. 33. – С. 301–328.

Поступила в редакцию 01.02.2021

УДК 636.5:611.08:615.371

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-1-56-61

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ ЦЫПЛЯТ

*Селиханова М.К., *Громов И.Н., **Скротская К.В.

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

**Учреждение БГУ «НИИ физико-химических проблем», г. Минск, Республика Беларусь