

Литература. 1. Биология стволовых клеток и клеточные технологии: в 2 т. / М. А. Пальцева [и др.] ; под ред. М. А. Пальцева. – Москва : Медицина, 2009. – Т. 1. – 272 с. 2. Зуева, Е. Е. Стволовые клетки. Некоторые биологические особенности и терапевтические возможности / Е. Е. Зуева, А. В. Куртова, Л. С. Комарова // Гематология. – 2005. – Т. 6. – С. 705-724. 3. 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. 4. Культура животных клеток: практическое руководство / Р. Я. Фрешни. – Москва : БИНОМ. – 2014. – С. 211-220, 444-446. 5. Методические наставления по выделению мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток из тканей взрослых особей млекопитающих, изучению их свойств и признаков / И. П. Савченкова, Л. К. Эрнст, М. И. Гулюкин, Е. В. Викторова. – Москва : Спутник+, 2010. – 23 с. 6. Основы биотехники : учеб. пособие / Я. С. Яскевич [и др.] ; под ред. Я. С. Яскевич, С. Д. Денисова. – Минск : Выш. школа, 2009. – 291 с. 7. Применение мезенхимальных стволовых клеток при лечении инфицированной раны у коровы / Н. И. Костюк [и др.] // Эпизоотология. Иммунология. Фармакология. Санитария. – 2021. – № 1. – С. 27-33. 8. Получение биологического материала для выделения мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток у сельскохозяйственных животных / Е. В. Викторова, И. П. Савченкова // Веткорм. – 2012. – № 4. – С. 28-29. 9. Мезен, Н. И. Стволовые клетки : учеб.-метод. пособие / Н. И. Мезен, З. Б. Квачева, Л. М. Сычик. – 2-е изд., доп. – Минск : БГМУ, 2014. – 62 с. 10. Савченкова, И. П. Перспективы использования стволовых клеток в ветеринарии / И. П. Савченкова, М. И. Гулюкин // Ветеринария. – 2011. – № 7. – С. 3-5. 11. Современные способы выделения и культивирования клеток человека и животных : учебное пособие / Т. Д. Колокольцова, И. Н. Сабурова, А. А. Кубатиев ; ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия профессионального образования». – Москва : ФГБОУ ДПО РМАНПО, 2016. – 50 с. 12. Тулинна, М. А. Разработка методологических основ регулирования качества клеточных продуктов : дисс. ... канд. фарм. наук : 14.04.01 / М. А. Тулина. – Москва, 2017. – 147 с. 13. Animal cell technology: basic and applied aspects / ed. by K. Funatsu [et al.]. – Boston, 2004. – V. 8. – 35 p. 14. Applications of mesenchymal stem cell technology in bovine species / A. B. T. Hill [et al.] // Stem Cell Res. Ther. – 2019. – V. 10. – 44 p. 15. Fortier, L. A. Stem cells in veterinary medicine / L. A. Fortier, A. J. Travis // Stem Cell Res. Ther. – 2011. – V. 2. – 9 p.

Поступила в редакцию 17.09.2021.

УДК 619:617.3:636.2

КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ НЕКРОЗЕ КОПЫТЦЕВОЙ КОСТИ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

*Костюк Н.И., *Ломако Ю.В., *Кныш Н.В., *Барсукова М.В.,
**Руколь В.М., **Борисик Р.Н., **Саакян А.Н., **Андреева Е.Г.

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь
**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*Изучена сравнительная эффективность разработанного нами метода лечения коров в комплексном лечении мезенхимальными стволовыми клетками (МСК) из жировой ткани крупного рогатого скота при некрозе копытной кости. Полученные результаты клинических исследований свидетельствуют о том, что введение МСК жировой ткани в область раны способствует быстрой эпителизации и восстановлению кожных покровов. **Ключевые слова:** некроз, корова, мезенхимальные стволовые клетки, трансплантация клеток, конечности.*

COMPLEX TREATMENT OF CATTLE IN NECROSIS OF THE COFFEE BONE WITH USE OF MESENCHYMAL STEM CELLS

*Kostyuk N.I., *Lamaka Y.V., *Knysh N.V., *Barsukova M.V.,
**Borisik R.N., **Rukol V.M., **Sahakyan A.N., **Andreeva E.G.

*Institute of Experimental Veterinary Medicine Named after S.N. Vyshellessky, Minsk, Republic of Belarus
**Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The comparative effectiveness of the method of treatment of cows developed by us in the complex treatment with mesenchymal stem cells (MSCs) from the adipose tissue of cattle with necrosis of the hoof bone was studied. The obtained results of clinical studies indicate that the introduction of MSCs of fatty tissue into the wound area promotes rapid epithelialization and restoration of the skin. **Keywords:** necrosis, cow, mesenchymal stem cells, cell transplantation, limbs.*

Введение. Регенеративная медицина в ветеринарной медицине – это новое развивающееся направление медицины, позволяющее восстанавливать нарушенные функции органов или целого организма путем стимуляции внутренних восстановительных процессов. Наиболее изученным направлением регенеративной медицины являются клеточные технологии [10, 11]. Успешная разработка методов выделения и длительного культивирования стволовых клеток (СК) открыли широкие перспективы для применения их и в ветеринарной практике [9].

В отличие от обычных клеток, выполняющих строго определенные функции в организме, стволовые клетки обладают возможностью приобретения в ходе развития специализации и сохраняют эту способность в течение длительного времени [3]. Они – универсальный строительный материал, т.е по сути это своеобразные резервные запасы, из которых по мере необходимости будут формироваться новые клетки различных органов взамен погибших или поврежденных [7]. На сегодняшний день существует огромное количество научных фактов, свидетельствующих в пользу эффективности применения СК в медицине при целом ряде тяжелых заболеваний сердечно-сосудистой, нервной, эндокринной систем и опорно-двигательного аппарата [4, 5, 8, 14, 15].

Обеспечение практической ветеринарной службы новейшими научными разработками по созданию методов профилактики и лечения является одной из главных задач ветеринарной науки. Научные исследования необходимо проводить в соответствии с запросами и требованиями сельскохозяйственного производства. На современном этапе одной из наиболее важных и основных задач ученых в области ветеринарии является обеспечение практической ветеринарной службы современными методами лечения болезней животных эффективными биологическими и химиотерапевтическими препаратами [2, 6, 13]. Внедрение клеточных технологий в клиническую практику является перспективным направлением современной ветеринарной медицины [9].

Во всех регионах Республики Беларусь организованы и функционируют крупные животноводческие фермы и комплексы по производству молока и мяса крупного рогатого скота. Особенности технологии содержания животных на фермах и комплексах обусловили возникновение определенных условий, на фоне которых возникают тяжелые поражения копытцев у животных в результате травм различного происхождения, несвоевременного оказания лечебной помощи при гнойно-некротических поражениях копытцев и пальцев. Вследствие чего происходит нарушение питания тканей и кровообращения и развития некрозов. В отдельных молочно-товарных комплексах эти заболевания имеют широкое распространение, нанося огромный экономический ущерб [2, 6]. Сокращение до минимума заболеваемости животных хирургическими болезнями является одним из резервов повышения рентабельности животноводства. Многие отечественные и зарубежные ученые отмечают, что проблема изыскания наиболее эффективных методов профилактики и лечения хирургических болезней у крупного рогатого скота была и остается актуальной [1, 13].

При проведении нами клинических испытаний в Республике Беларусь с применением мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) при гнойно-некротических поражениях копытцев у крупного рогатого скота в условиях ферм и комплексов были достигнуты существенные успехи, которые позволяют сокращать заживление гнойно-некротических поражений копытцев у коров на $5,1 \pm 0,38$ суток по сравнению с аналогичной схемой лечения без использования МСК ЖТ (9). Полученные результаты дают возможность развития данного направления для лечения животных в хирургической практике в хозяйствах Республики Беларусь.

Несмотря на большое количество экспериментальных исследований и клинических наблюдений в области ортопедических заболеваний, в настоящее время далеко не все проблемы лечения и профилактики этих патологий можно считать разрешенными. Поэтому было принято решение по лечению крупного рогатого скота с некрозом копытцевой кости с применением МСК ЖТ, которые могли бы продлить срок хозяйственного использования высокопродуктивных коров и повысить экономические показатели хозяйства [1, 2]. Лечение крупного рогатого скота с некрозом копытцевой кости проводится в комплексе и состоит из оперативного вмешательства путем удаления некротизированного участка костной ткани без нарушения демаркационного вала. Лечение в основном проводят на фоне местного обезболивания, применения антисептических средств и повышения резистентности организма. Кроме того, применяют общую антибактериальную терапию. При диффузном поражении одного из пальцев у парнокопытных животных показана ампутация. Однако при применении всего комплекса лечения заживление патологического процесса длительное и выздоровление животного наступает в среднем через 2–2,5 месяца [12].

Цель работы – определить эффективность разработанного нами способа лечения крупного рогатого скота с некрозом копытцевой кости с применением МСК из жировой ткани в комплексе с традиционными методами лечения, применяемыми в хозяйствах.

Материалы и методы исследований. Работа проводилась в 2020-2021 году в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», совместно с сотрудниками кафедры общей, частной и оперативной хирургии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Экспериментально-клинические исследования проводились на молочно-товарном комплексе РБ.

При проведении клинико-ортопедической диспансеризации 203 коров черно-пестрой породы диагностировали гнойно-некротические поражения конечностей у 43,7% животных. На основании проведенных нами клинических исследований и проведения ортопедической обработки копытцев у 10 животных выявлены признаки некроза третьей фаланги пальца. По принципу аналогов с целью сравнения эффективности способов лечения мы отобрали 6 коров с некрозом копытцевой кости и сформировали 2 группы животных, по 3 коровы в каждой группе.

У всех подопытных животных было отмечено угнетение общего состояния, снижение аппетита и нарушение двигательной активности. При клиническом обследовании отмечали повышение тем-

пературы в участке поражения, болезненность, ткани в области поражения отечные. Для определения вида хромоты производили осмотр животных в состоянии покоя и в движении. Осмотр больных животных в состоянии покоя производили непосредственно в помещении, где содержались животные, осматривая конечности спереди, сбоку и сзади, обращая внимание на постановку конечностей, характер опирания, на изменение контура отдельных участков, на наличие припухлостей и нарушение целостности кожи. При осмотре животных в движении шагом была выявлена сильно выраженная хромота опирающейся конечности с укорочением шага в заднем отрезке, при этом 4 коровы не опирались на больную конечность, а касались земли только зацепом копыльца.

Животных обеих групп перед лечением фиксировали в станке «ORTOPED PROFI» в стоячем положении и проводили санитарную обработку больной конечности раствором калия перманганата 1:1000. Хирургическую обработку проводили на фоне обезболивания (межпальцевая блокада 2% раствором новокаина) и тщательного иссечения измененных и поврежденные тканей, с соблюдением правил асептики и антисептики (рисунки 1 и 3).

Животным первой группы (группа сравнения) получали лечение, применяемое в хозяйстве с применением сложного порошка РВ, состоящего из смеси 50% калия перманганата, 13% борной кислоты, 13% сульфадиметоксима, 12% стрептоцида и 12% тилозина. Затем на больную конечность накладывали защитную повязку, которую меняли каждые 3-5 дней. Больным животным применяли общую антибиотикотерапию (ПЕНСТРЕП 400 LA в дозе 1 мл на 10 кг массы тела, каждые 48 часов). Животных поместили на сухую и чистую соломенную подстилку в индивидуальные боксы.

Больным коровам второй группы (опытной) оказывалась терапевтическая помощь по следующей схеме лечения: после механической очистки, санитарной и хирургической обработки, как и для животных первой группы, трансплантировали мезенхимальные стволовые клетки в виде инъекции, обкалывая вокруг третьей фаланги пальца по 2 млн клеток в одну точку на расстоянии 1–2 см от раны. Процедура выполнялась в 5 точек. После введения клеток на операционную рану так же наносили сложный порошок РВ, который применялся в группе сравнения. После чего на больную конечность накладывалась защитная бинтовая повязка.

В реабилитационный период ежедневно проводилась термометрия с клиническим осмотром животных. Животные опытной и группы сравнения содержались в равных условиях.

Результаты исследований. В результате клинико-ортопедической диспансеризации обследовано 203 коровы в возрасте 3-6 лет. По результатам исследования было выявлено 10 голов с клиническими признаками некроза копытцевой кости, что составило 4,9% от общего поголовья.

У животных первой группы (группы сравнения), где применялся только порошок РВ, отмечалось незначительное снижение воспалительного процесса, повышение местной температуры, из раны выделялся экссудат (рисунок 2). При пальпации конечности отмечалась болезненность и беспокойство коров. Животные больше лежали, неохотно вставали, у двух коров сохранялась сильная хромота.

У животных второй (опытной группы) после применения клеточного препарата и сложного порошка РВ заживление раны происходило под струпом по первичному натяжению. Через $7,2 \pm 0,53$ суток общая и местная температура была в пределах нормы, уменьшился отек тканей и болезненность (рисунок 4).



Рисунок 1 – Внешний вид конечности после экзартикуляции третьей фаланги пальца и хирургической обработки в первой группе



Рисунок 2 – Внешний вид конечности после экзартикуляции третьей фаланги пальца на 7-е сутки исследования в группе сравнения



Рисунок 3 – Внешний вид конечности после экзартикуляции третьей фаланги пальца и хирургической обработки в опытной группе



Рисунок 4 – Внешний вид конечности после экзартикуляции третьей фаланги пальца на 7-е сутки исследования в опытной группе

На $65,2 \pm 7,34$ сутки в опытной группе кулята покрылась видоизмененным роговым чехлом, исчезли явления хромоты и болезненности при пальпации и перкуссии. В первой группе (группа сравнения) клинические признаки заживления протекали более вяло ($76,4 \pm 11,65$).

Заключение. В ходе проведенных клинических исследований при лечении коров с некрозом копытцевой кости было установлено, что предложенный нами метод лечения коров с применением сложного порошка и дополнительным введением мезенхимальных стволовых клеток позволяет сократить сроки заживления гнойно-некротических поражений у животных второй (опытной) группы, которое обеспечивается за счет противовоспалительных и регенеративных свойств клеточного препарата. Тем самым, предложенная нами схема лечения позволяет сократить количество трудоемких обработок на 18% и снизить ущерб, наносимый болезнями конечностей. Экономическая эффективность лечения животных опытной группы увеличилась на 9,68% в сравнении с контролем.

Литература. 1. Абаев, Ю. К. Биология заживления острой и хронической раны / Ю. К. Абаев // *Медицинские новости*. – 2003. – № 6. – С. 3–10. 2. Бабаева А. Г. Регенерация – факты и перспективы / А. Г. Бабаева. – Москва: РАМН, 2009. – 52 с. 3. Лечение и профилактика болезней копытцев у крупного рогатого скота: методическое пособие / В. В. Байлов [и др.]. – СПб.: СПб ГАВМ, 2017. – 67 с. 4. Использование мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани при лечении раневых дефектов кожных покровов в эксперименте / Е. В. Баранов [и др.] // *Весті НАН Беларусі. Сер. біал. навук*. – 2014. – № 1. – С. 60–67. 5. Биология стволовых клеток и клеточные технологии в двух томах / Под ред. М. А. Пальцева. – Москва: Изд-во Медицина, Изд-во «Шико», 2009. – Т. 1. – 272 с. 6. Использование культивируемых клеток кожи человека для лечения трофических язв / М. И. Блинова [и др.] // *Информационный бюллетень Клеточные культуры*. – 2006. – Вып. 21. – С. 33–44. 7. Ветеринарная ортопедия: учебник / А. А. Стекольников [и др.]. – 2-е изд., испр. и доп. – Москва: Юрайт, 2019. – 115 с. 8. Деев, Р. В. Научное наследие Александра Максимова и современность / Р. В. Деев // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2005. – № 1. – С. 4–11. 9. 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. 10. Клеточные технологии для регенеративной медицины: сб. под ред. Г. П. Пинаева, М. С. Богдановой, А. М. Кольцовой. – СПб.: Изд-во Политехн. Ун-та, 2011. – 332 с. 11. Клинические возможности применения аутогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани при лечении пациентов с трофическими язвами нижних конечностей / Е. В. Баранов [и др.] // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2013. – Т. VIII, № 2. – С. 78–83. 12. Крупный рогатый скот. Содержание, кормление, болезни, диагностика и лечение: учебное пособие. – СПб.: Издательство «Лань», 2007. – С. 404–414. 13. Общая и частная хирургия: краткий курс лекций для студентов 4 курса специальности 36.05.01 Ветеринария. Часть 2. Частная хирургия / Сост. Т. А. Кашутина // ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ». – Саратов, 2017. – С. 83–87. 14. Ehrlich, H. P. Understanding experimental biology of skin equivalent: from laboratory to clinical use in patients with burns and chronic wounds / H. P. Ehrlich // *Am J Surg*. – 2004 (May). – Vol. 187. – P. 29–33. 15. Zuk, P. A. Multilineage cell from human adipose tissue: Implications for cll-basedtheraies / P. A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno // *Tissue Eng*. – 2001. – Vol. 7. – P. 211–228.

Поступила в редакцию 17.09.2021.