

АССОЦИАТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ АКРОЦЕНТРИЧЕСКИХ ХРОМОСОМ У ГОЛШТИНИЗИРОВАННЫХ ЧЁРНО-ПЁСТРЫХ ТЕЛЯТ ПРИ РЕВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ

Гренёва Ю.С., Куликова С.Г., Логинов С.И.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет»,
г. Новосибирск, Российская Федерация

*Данная статья является продолжением серии работ, посвящённых изучению ассоциативной способности акроцентрических хромосом в иммунокомпетентных клетках у молодняка крупного рогатого скота под воздействием вакцин против сальмонеллёза и трихофитии, а также их кумулятивного эффекта. Выявлено, что независимо от времени с момента повторной иммунизации против трихофитии у клинически здоровых голштинизированных чёрно-пёстрых телят чаще регистрировали клетки с ассоциациями, в которые вовлекались две акроцентрические хромосомы (26,79-40,43%). Установлено, что частота ассоциаций с 2-мя акроцентрическими хромосомами снижалась через 2 и 42 суток после ревакцинации телят против трихофитии до 27,57% и 26,79% в сравнении с контролем ($37,34 \pm 2,2\%$, $p < 0,001$). Обнаружено, что частота клеток с 4-мя ассоциациями и более возрастала в 3,32 и 5,15 раза соответственно через 7 и 28 суток после ревакцинации телят против трихофитии, контроль – $0,62 \pm 0,36\%$ ($p < 0,05-0,01$). **Ключевые слова:** ассоциации акроцентрических хромосом, лимфоциты периферической крови, голштинизированные чёрно-пёстрые телята, ревакцинация, трихофития.*

ASSOCIATIVE ABILITY OF ACROCENTRIC CHROMOSOMES IN HOLSTEIN WHITE-AND-BLACK CALVES DURING REVACCINATION AGAINST TRICHOPHYTIA

Greneva Yu.S., Kulikova S.G., Loginov S.I.

Novosibirsk State Agricultural University, Novosibirsk, Russian Federation

This article is a continuation of a series of papers devoted to the study of the associative ability of acrocentric chromosomes in immunocompetent cells in young cattle under the influence of vaccines against salmonellosis and trichophytia, as well as their cumulative effect. It was established that, regardless of the time from the moment of repeated immunization against trichophytia, cells with associations involving two acrocentric chromosomes (26,79-40,43%) were more often registered in clinically healthy Holstein white-and-black calves. It was revealed that the frequency of associations with 2 acrocentric chromosomes

*decreased 2 and 42 days after revaccination of calves against trichophytia to 27,57% and 26,79% compared with the control ($37,34 \pm 2,2\%$, $p < 0,001$). It was found that the frequency of cells with 4 associations or more increased by 3,32 and 5,15 times, respectively, 7 and 28 days after revaccination of calves against trichophytia, control – $0,62 \pm 0,36\%$ ($p < 0,05-0,01$). **Keywords:** associations of acrocentric chromosomes, peripheral blood lymphocytes, Holsteinized white-and-black calves, revaccination, trichophytia.*

Введение. Способность акроцентрических хромосом вступать в ассоциации не является патологией кариотипа, но многие авторы отмечают закономерное пространственное расположение в зависимости от вида микроорганизмов и их вакцинного штамма [1-3]. В ранее опубликованных статьях отражены результаты, свидетельствующие о способности акроцентрических хромосом в той или иной мере вступать в ассоциации как до вакцинации, так и после применения вакцин против сальмонеллёза из инактивированной культуры бактерий штамма *Salmonella dublin* № 373 [4] и ЛТФ-130 против трихофитии из аттенуированной культуры гриба *Trichophyton verrucosum* ТФ-130 Л ВГНКИ у молодняка крупного рогатого скота, разводимого на территории Новосибирской области [5]. Данные исследования проведены впервые у сельскохозяйственных животных. Цель работы – изучить ассоциативную способность акроцентрических хромосом в лимфоцитах периферической крови у голштинизированных чёрно-пёстрых телят, ревакцинированных против трихофитии.

Материалы и методы исследований. Объект исследования – клинически здоровые голштинизированные чёрно-пёстрые телята 50-дневного возраста. Взятие проб крови для эксперимента осуществляли: до вакцинации (контроль); через 2, 7, 28 и 42 суток после повторной иммунизации исследуемых животных вакциной ЛТФ-130 против трихофитии из аттенуированной культуры гриба *Trichophyton verrucosum* ТФ-130 Л ВГНКИ (ФКП «Ставропольская биофабрика»). Вакцину вводили в профилактической дозе 1 см³. Материалом для цитогенетического анализа послужили лимфоциты периферической крови, стимулированные фитогемагглютинином-П и культивированные на питательной среде RPMI-1640 по методике P.S. Moorhed et al. [6] с некоторыми модификациями [7]. Для цитогенетического анализа использовали бинокулярный поляризационно-интерференционный микроскоп BIOLAR PI и метод рутинного окрашивания метафазных хромосом. Критерием идентификации ассоциаций являлась взаимная ориентация двух и более акроцентрических хромосом короткими плечами и расстояние между ними, не превышающее диаметр хроматиды. Детально проанализировано 2715 метафазных пластинок. Частоты клеток с ассоциациями акроцентрических хромосом и частоты ассоциаций с разным количеством хромосом, участвующих в них приведены в таблице с ошибками в процентах. Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы Microsoft Excel 2016. Достоверность раз-

личий между частотами в группах определяли методом Фишера через преобразования [8]. В результате исследования проведено сравнение показателей ассоциативной способности акроцентрических хромосом у голштинизированных чёрно-пёстрых телят, ревакцинированных против трихофитии с данными, полученными до их вакцинации и после иммунизации этих же животных против сальмонеллёза (на 2 и 9 сутки после двукратного введения вакцины [4]) и трихофитии (на 2, 7 и 14 сутки после введения вакцины [5]).

Результаты исследований. Данные табл. 1 указывают на то, что независимо от периода исследования в анализируемых лимфоцитах периферической крови у голштинизированных чёрно-пёстрых телят найдены ассоциации с 2-мя, 3, 4-мя и более акроцентрическими хромосомами. В ходе исследования установлено, что чаще регистрировали клетки с ассоциациями, в которые вовлекались две акроцентрические хромосомы (26,79-40,43%).

Таблица - Частота ассоциаций акроцентрических хромосом у голштинизированных чёрно-пёстрых телят до вакцинации и после ревакцинации против трихофитии (%)

Период исследования	Показатель			
	клетки с ассоциациями	количество хромосом в ассоциациях		
		2	3	4 и >
До вакцинации				
Контроль	30,29 ± 2,09	37,34 ± 2,2	3,11 ± 0,79	0,62 ± 0,36
После ревакцинации				
Через 2 суток	26,29 ± 1,66	27,57 ± 1,69***	2,0 ± 0,53	1,57 ± 0,47
Через 7 суток	29,83 ± 1,98	34,33 ± 2,06	2,81 ± 0,72	2,06 ± 0,62*
Через 28 суток	36,16 ± 2,22	40,43 ± 2,26	5,53 ± 1,05	3,19 ± 0,81**
Через 42 суток	25,84 ± 1,9	26,79 ± 1,92***	2,64 ± 0,7	1,89 ± 0,59

*Примечание. Здесь и далее: * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001. Достоверные различия указаны в сравнении с периодом до вакцинации (контроль).*

Частота ассоциаций с 2-мя акроцентрическими хромосомами через 2 суток после ревакцинации телят против трихофитии составила 27,57%, что в 1,35 раза ниже, чем в контроле (37,34 ± 2,2%, p < 0,001), а также в 1,29 и 1,6 раза ниже, чем у животных, исследованных соответственно через 9 суток (35,58 ± 2,44% [4]) после их вакцинации и 2 суток (43,00 ± 4,95% [4]) после их ревакцинации против сальмонеллёза, а также через 7 суток (33,38 ± 1,75% [5]) после их вакцинации против трихофитии (p < 0,01). Аналогичную закономерность можно наблюдать через 42 суток после ревакцинации телят против трихофитии, где частота ассоциаций с 2-мя акроцентрическими хромосомами составила 26,79 ± 1,92% (p < 0,05-0,001). Однако через 28 суток после ревакцинации телят против трихофитии частота ассоциаций с 2-мя акроцентрическими хромосомами составила 40,43%, что в

1,7 раза, 1,28, 1,24, 1,21, 1,48, 1,47 и 1,18 раза выше, чем у животных, исследованных соответственно через 2 суток ($24,21 \pm 2,20\%$ [4]) после их вакцинации и 9 суток ($31,66 \pm 2,01\%$ [4]) после их ревакцинации против сальмонеллёза, а также через 2 ($32,67 \pm 2,34\%$ [5]), 7 ($33,38 \pm 1,75\%$ [5]) и 14 суток ($27,38 \pm 1,96\%$ [5]) после их вакцинации и 2 ($27,57 \pm 1,69\%$, табл. 1) и 7 ($34,33 \pm 2,06\%$, табл. 1) суток после их ревакцинации против трихофитии ($p < 0,05-0,001$).

Обнаружено увеличение частоты ассоциаций с 3-мя хромосомами через 28 суток после ревакцинации телят против трихофитии до 5,53%, что в 3,01 раза, 2,13, 3,71, 2,47, 4,73, 2,77 и 1,97 раза выше, чем у животных, исследованных соответственно через 2 ($1,84 \pm 0,69\%$ [4]) и 9 ($2,60 \pm 0,81\%$ [4]) суток после их вакцинации и 9 суток ($1,49 \pm 0,52\%$ [4]) после их ревакцинации против сальмонеллёза, а также через 2 ($2,24 \pm 0,74\%$ [5]) и 14 ($1,17 \pm 0,47\%$ [5]) суток после их вакцинации и 2 ($2,0 \pm 0,53\%$, табл. 1) и 7 ($2,81 \pm 0,72\%$, табл. 1) суток после их ревакцинации против трихофитии ($p < 0,05-0,001$).

Выявлено, что частота клеток с 4-мя ассоциациями и более возрастала через 7 и 28 суток после ревакцинации телят против трихофитии соответственно в 3,32 и 5,15 раза, контроль – $0,62 \pm 0,36\%$ ($p < 0,05-0,01$).

Несмотря на то, что достоверного снижения или увеличения частоты клеток с ассоциациями акроцентрических хромосом у исследованных животных не установлено во все без исключения периоды исследования (через 2, 7, 28 и 42 суток после ревакцинации против трихофитии) в сравнении с контролем, их уровень носил волнообразный характер с достоверным снижением или увеличением показателей при сравнении данных периодов между собой и с другими периодами, представленными в предыдущих работах (через 2, 9 суток после вакцинации и 2, 9 суток после ревакцинации против сальмонеллёза; через 2, 7 и 14 суток после вакцинации против трихофитии) [4-5]. Так, через 28 суток после ревакцинации телят против трихофитии частота клеток с ассоциациями составила 36,16%, что в 1,56 раза, 1,3, 1,11, 1,26, 1,19, 1,38, 1,49 и 1,21 раза выше, чем у животных, исследованных соответственно через 2 ($23,16 \pm 2,16\%$ [4]), 9 ($27,79 \pm 2,28\%$ [4]) суток после их вакцинации и 9 суток ($28,68 \pm 1,95\%$ [4]) после их ревакцинации против сальмонеллёза, а также через 2 ($28,68 \pm 2,26\%$ [5]), 7 ($30,34 \pm 1,71\%$ [5]), 14 ($24,27 \pm 1,89\%$ [5]) суток после их вакцинации и 2 суток ($26,29 \pm 1,66\%$, табл. 1) после их ревакцинации против трихофитии ($p < 0,05-0,001$). Вместе с тем отмечено, что через 42 суток после ревакцинации телят против трихофитии частота клеток с ассоциациями составила 25,84%, что в 1,63 и 1,4 раза ниже, чем у животных, исследованных соответственно через 2 суток ($42,00 \pm 4,94\%$ [4]) после их ревакцинации против сальмонеллёза и 28 суток ($36,16 \pm 2,22\%$, табл. 1) после их ревакцинации против трихофитии ($p < 0,01-0,001$).

Заключение. Установлено, что независимо от времени с момента повторной иммунизации против трихофитии у клинически здоровых

голландизированных чёрно-пёстрых телят чаще регистрировали ассоциации, в которые вовлекались две акроцентрические хромосомы (26,79-40,43%). Обнаружено, что частота ассоциаций с 2-мя акроцентрическими хромосомами снижалась через 2 и 42 суток после ревакцинации телят против трихофитии до 27,57% и 26,79% в сравнении с контролем ($37,34 \pm 2,2\%$, $p < 0,001$). Выявлено, что частота клеток с 4-мя ассоциациями и более возрастала через 7 и 28 суток после ревакцинации телят против трихофитии соответственно в 3,32 и 5,15 раза, контроль – $0,62 \pm 0,36\%$ ($p < 0,05-0,01$). Отмечено, что частота клеток с ассоциациями акроцентрических хромосом возрастала через 28 суток после ревакцинации телят против трихофитии до 36,16% в сравнении с животными, исследованными через 2, 9 суток после их вакцинации и 9 суток после их ревакцинации против сальмонеллёза, а также через 2, 7, 14 суток после их вакцинации и 2 суток после их ревакцинации против трихофитии ($p < 0,05-0,001$) с последующим снижением в 1,4 раза через 42 суток после их ревакцинации против трихофитии ($25,84 \pm 1,90\%$, $p < 0,001$).

Таким образом, волнообразный характер изменения частот ассоциаций акроцентрических хромосом, на наш взгляд, возможно, является прямым отражением процесса формирования иммунного ответа у исследованных животных, а неоднозначные результаты, по-видимому, могут указывать на кумулятивный эффект действия четырёхкратного введения инактивированной и аттенуированной вакцин против сальмонеллёза и трихофитии. Кроме того, установлено, что живые вакцины в большинстве случаев оказывают выраженный мутагенный эффект, о чём свидетельствуют результаты исследований других учёных [1, 9] и наши [10]. Следовательно, косвенный мутагенный эффект от четырёхкратной иммунизации вакцинами против сальмонеллёза и трихофитии можно наблюдать и по частоте ассоциативной способности акроцентрических хромосом, так как известно, что её изменчивость коррелирует с частотой хромосомных aberrаций и представляет факторы риска [2, 11].

Литература. 1. Инфекционная кариопатология / И.Н. Ильинских, В.В. Новицкий, Е.Н. Ильинских [и др.]. – Томск: Национальный исследовательский Томский государственный университет, 2005. – 168 с. 2. Назаренко, Ю.С. Ассоциативная способность акроцентрических хромосом в норме и при патологиях / Ю.С. Назаренко, С.Г. Куликова // Актуальные проблемы агропромышленного комплекса: Сборник трудов научно-практической конференции преподавателей, аспирантов, магистрантов и студентов Новосибирского ГАУ, 20 октября 2021 г. – Новосибирск: ИЦ НГАУ «Золотой колос», 2021. – С. 453–455. 3. Количественный анализ ядершкообразующих районов хромосом у крупного рогатого скота в норме и при патологии / С.И. Логинов, О.Н. Семёнова, Н.И. Илюшина [и др.] // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2004. – № 3 (153). – С. 103–106. 4. Куликова, С.Г. Влияние вакцинации против сальмонеллёза на

ассоциативную способность акроцентрических хромосом у крупного рогатого скота / С.Г. Куликова, С.И. Логинов, Ю.С. Назаренко // Теория и практика современной аграрной науки: Сборник IV национальной (всероссийской) научной конференции с международным участием, 26 февраля 2021 г. – Новосибирск: ИЦ НГАУ «Золотой колос», 2021. – С. 908–912. 5. Гренёва, Ю.С. Ассоциативная способность акроцентрических хромосом у молодняка крупного рогатого скота, вакцинированного против трихофитии / Ю.С. Гренёва, С.Г. Куликова, С.И. Логинов // Развитие биотехнологии: новая реальность: Сборник Международной научно-практической конференции, приуроченной к 100-летию юбилею Почётного ректора НГАУ, профессора, доктора сельскохозяйственных наук И.И. Гудилина, 31 октября 2022 г. – Новосибирск: ИЦ НГАУ «Золотой колос», 2022. – С. 71–77. 6. Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood / P.S. Moorhead, P.C. Nowell, W.J. Mellman [et al.] // Experimental Cell Research. – 1960. – Vol. 2, № 3. – С. 613–616. DOI: 10.1016/0014-4827(60)90138-5 7. Кочнева, М.Л. Мониторинг популяций сельскохозяйственных животных в разных экологических условиях: дис. ... д-ра биол. наук: 06.02.01, 03.00.16 / Кочнева Марина Львовна. – Новосибирск, 2005. – 296 с. 8. Васильева, Л.А. Статистические методы в биологии, медицине и сельском хозяйстве / Л.А. Васильева. – Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2007. – 127 с. 9. Семёнов, В.В. Нестабильность генома человека при вирусных заболеваниях и вакцинациях / В.В. Семёнов, Е.С. Кошпаева // Казанский медицинский журнал. – 2008. – Т. 89, № 6. – С. 815–820. 10. Цитогенетические нарушения у молодняка крупного рогатого скота при вакцинации против сальмонеллёза / С.Г. Куликова, С.И. Логинов, Ю.С. Назаренко, Н.С. Калинина // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2021. – Т. 51, № 3. – С. 92–103. DOI 10.26898/0370-8799-2021-3-10 11. Кочерга, З.Р. Ассоциации акроцентрических хромосом у новорождённых с задержкой внутриутробного развития из различных экологических районов Прикарпатья / З.Р. Кочерга // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2014. – № 1. – С. 8-13.

УДК 619:616.98:578.832.1:636.5:639.127:616-076(470)

ВЫЯВЛЕНИЕ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ ПОДТИПА H5N1 НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2022 ГОДУ

**Грехнева А.Д., Андриясов А.В., Овчинникова Е.В., Козлов А.А.,
Никонова З.Б., Гусева Н.А., Зиняков Н.Г., Жестков П.Д.,
Андрейчук Д.Б., Чвала И.А.**

**ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ
«ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Российская Федерация**