

DOI 10.52368/2078-0109-2024-60-3-4-8  
УДК 619:[575.117:577.175.14:612.1:618.14-002]:636.2

### ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ КОРОВ ПРИ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА

**Болотова В.С. ORCID ID 0000-0002-6967-7162, Михалёв В.И. ORCID ID 0000-0001-9684-4045, Пасько Н.В. ORCID ID 0000-0003-0513-7252**

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

*В статье представлены материалы изучения относительной экспрессии генов про-, противовоспалительных цитокинов в крови коров при терапии хронического эндометрита у коров. Установлено, что в процессе лечения происходит снижение относительного уровня экспрессии провоспалительных (ФНО $\alpha$ , ИЛ-2) при одновременном повышении противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов. Наибольшая клиническая эффективность лечения коров с хроническим эндометритом установлена при использовании антимикробного препарата «ПК», биостимульгина и утеротона – 89,5%, сопровождающаяся снижением относительного уровня экспрессии генов ФНО $\alpha$  в крови в 2,1 раза, ИЛ-2 – в 2,18 раза, при одновременном повышении ИЛ-4 в 1,82 раза, ИЛ-10 – в 1,71 раза. Доминирование относительной экспрессии генов противовоспалительных цитокинов над провоспалительными свидетельствует об угасании воспалительных процессов в матке. **Ключевые слова:** коровы, хронический эндометрит, терапия, экспрессия генов, цитокины.*

### CHANGES IN THE EXPRESSION LEVEL OF PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINE GENES IN THE BLOOD OF COWS DURING THE THERAPY OF CHRONIC ENDOMETRITIS

**Bolotova V.S., Mikhalev V.I., Pasko N.V.**

FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",  
Voronezh, Russian Federation

*The article presents the material on studying the relative expression of pro- and anti-inflammatory cytokine genes in the blood of cows during the therapy of chronic endometritis in cows. It has been established that during treatment there is a decrease in the relative expression level of pro-inflammatory (TNF $\alpha$ , IL-2) with a simultaneous increase in anti-inflammatory (IL-4, IL-10) cytokines. The greatest clinical efficacy of treatment of cows with chronic endometritis was established when using the antimicrobial drug "PK", biostimulgin and uteroton – 89.5%, accompanied by a decrease in the relative expression level of the TNF $\alpha$  genes in the blood by 2.1 times, IL-2 - by 2.18 times, with a simultaneous increase in IL-4 by 1.82 times, IL-10 – by 1.71 times. The dominance of the relative expression of anti-inflammatory cytokine genes over pro-inflammatory ones indicates the extinction of inflammatory processes in the uterus. **Keywords:** cows, chronic endometritis, therapy, gene expression, cytokines.*

**Введение.** В структуре гинекологических заболеваний молочных коров, приносящих значительные экономические потери и снижающих рентабельность отрасли, ведущее место занимают воспалительные заболевания органов воспроизводства. Среди этих патологий главенствующую роль занимают хронические эндометриты. В последнее время степень распространения хронического эндометрита у коров составляет 27,9-39,8% от числа бесплодных коров и не имеет тенденции к снижению [1, 2]. Росту числа воспалительных заболеваний эндометрия способствует высокая молочная продуктивность, при которой, с одной стороны, обменные процессы протекают более интенсивно, снижая при этом резистентность животных, а с другой стороны происходит рост числа антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов [3, 4].

Для терапии коров с хроническим эндометритом в большинстве случаев применяются антимикробные средства с различным механизмом действия. Для повышения эффективности лечебных мероприятий целесообразно дополнительное применение средств, усиливающих сократительную функцию матки, а также препаратов общестимулирующего действия, повышающих резистентность организма [5, 6].

Для оценки эффективности терапевтических мероприятий при хроническом эндометрите используют в основном результаты клинических исследований. При этом клиническое выздоровление не всегда сопровождается восстановлением структурно-функциональных свойств эндометрия [7, 8]. В той связи изучение уровня экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов, служащих маркерами течения воспалительного процесса, является актуальным и требует детального изучения.

**Цель исследований** – изучить изменение относительного уровня экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов в крови коров при терапии хронического эндометрита.

**Материалы и методы исследований.** Материалом для исследований служили коровы голштинской породы ЗАО «Славянское» Верховского района Орловской области с годовой молочной продуктивностью 10000-10500 кг, больные хроническим эндометритом. Диагностика хронического эндометрита проведена в соответствии с «Методическим пособием по профилактике бесплодия у высокопродуктивного молочного скота» (Воронеж, 2010). При постановке диагноза учитывались результаты клинико-эхографических исследований. УЗИ-исследования проведены с помощью ультразвукового сканера Easy-Scan CURVE, оборудованного датчиком с частотой 4,5-8,0 МГц. У больных хроническим эндометритом коров диагностирована эконегативная полость в матке с наличием в ней эхопозитивных включений. Для терапии хронического эндометрита было сформировано три группы больных хроническим эндометритом коров. Коровам первой группы (n=18) внутриматочно инъецировали препарат «Метрикур» согласно наставлению по его применению, второй (n=20) – внутриматочно метрикур в сочетании с биостимульгином, утеротон и внутриматочно антимикробный препарат «ПК» в дозе 20,0 мл 2-3 раза с 24-часовым интервалом. Клиническую эффективность проведенного лечения определяли по количеству выздоровевших и оплодотворившихся животных, продолжительности бесплодия, коэффициенту оплодотворения. От 5 животных из каждой группы перед и по окончании терапевтического курса отобраны пробы крови для определения относительного уровня экспрессии генов ФНО $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10. Относительный уровень экспрессии генов определен путем выделения РНК из крови, используя набор РНК-Экстран (Синтол, Россия). Обратную транскрипцию кДНК проводили на амплификаторе «Терцик» («НПО ДНК-Технология», Россия). ПЦР-реакция проведена с использованием праймеров для интерлейкинов (ФНО $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10) на детектирующем амплификаторе «ДТлайт» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с готовой коммерчески доступной смесью для PCR 5X qPCRmix-HS LowROX (Евроген, Россия). Полученный цифровой материал подвергали математической обработке с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

**Результаты исследований.** Клиническая эффективность терапии коров с хроническим эндометритом представлена на рисунке 1. Установлено, что после лечения коров, больных хроническим эндометритом, путем внутриматочного введения метрикура клиническое выздоровление наступило у 72,2% животных. Оплодотворение у выздоровевших животных этой группы произошло у 69,2%. Продолжительность бесплодия при лечении коров с хроническим эндометритом с применением метрикура составила 110,7 дней, а коэффициент оплодотворения – 2,31.



**Рисунок 1 – Эффективность терапии коров с хроническим эндометритом**

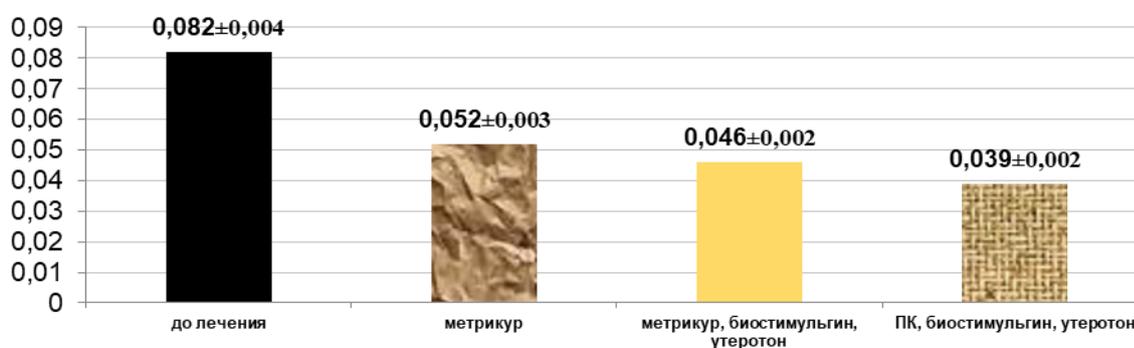
После лечения коров с хроническим эндометритом путем внутриматочного введения метрикура в комплексе с общестимулирующими и миотропными средствами выздоровело 80,0% животных, что на 7,8% больше по сравнению с метрикуром. Оплодотворение у клинически выздоровевших животных этой группы произошло у 75,0%, или на 5,8% больше, чем после применения одного

метрикура, продолжительность бесплодия меньше на 23,6 ( $P<0,01$ ) дня, коэффициент оплодотворения – на 0,12.

Наилучшие результаты терапии коров с хроническим эндометритом получены при лечении, предусматривающем внутриматочное введение антимикробного препарата «ПК», подкожно – биостимульгина и внутримышечно – утеротона. Клиническое выздоровление коров этой группы наступило у 89,5%, что на 9,5-17,3% больше по сравнению с животными других групп. После проведенного лечения хронического эндометрита с применением антимикробных («ПК»), общестимулирующих (биостимульгин) и миотропных (утеротон) средств оплодотворилось 88,2% коров, что на 13,2-19,0% больше, чем у животных других групп. При этом продолжительность бесплодия оказалась короче на 11,7-35,3 ( $P<0,001$ ) дней, а коэффициент оплодотворения – на 0,14-0,26 ( $P<0,05$ ).

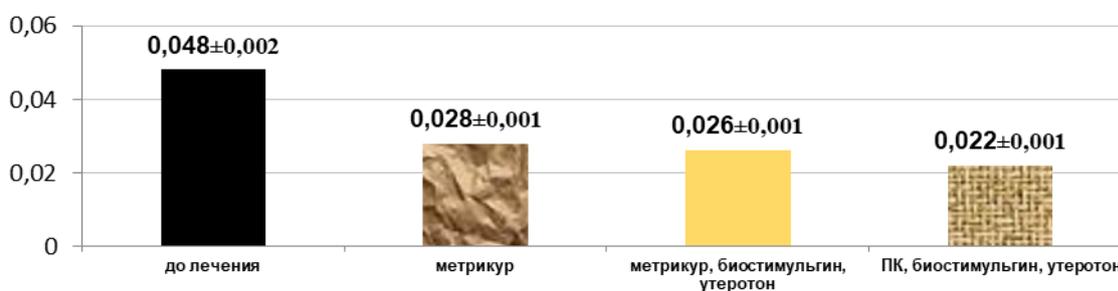
Результаты изучения относительного уровня экспрессии генов про-, противовоспалительных цитокинов в крови коров при терапии хронического эндометрита представлены на рисунках 2-5.

Установлено, что после терапии хронического эндометрита с применением метрикура (рисунок 2) экспрессия генов ФНО $\alpha$  в крови коров снизилась в 1,58 раза ( $P<0,01$ ), после совместного применения метрикура, биостимульгина и утеротона – в 1,78 раза ( $P<0,001$ ). Наибольшее снижение относительного уровня экспрессии ФНО $\alpha$  в крови животных (в 2,1 раза,  $P<0,001$ ) произошло после терапии хронического эндометрита с применением препарата «ПК», биостимульгина и утеротона. У животных этой группы уровень экспрессии ФНО $\alpha$  в крови оказался ниже на 15,2-25,0% ( $P<0,05$ ) по сравнению с выздоровевшими коровами других групп.



**Рисунок 2 – Относительный уровень экспрессии генов ФНО $\alpha$  до и после терапии коров с хроническим эндометритом**

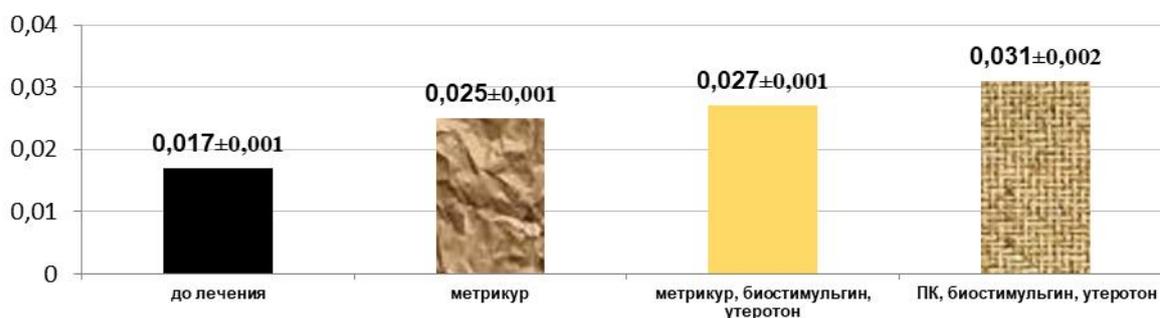
При изучении относительного уровня экспрессии генов ИЛ-2 в крови коров (рисунок 3), установлено, что внутриматочное введение метрикура обеспечивает клиническое выздоровление и снижение экспрессии ИЛ-2 в 1,71 раза ( $P<0,01$ ) по сравнению с началом лечения, а совместное его применение с общестимулирующими и миотропными средствами – в 1,85 раза ( $P<0,01$ ). Применение нового антимикробного препарата «ПК» в комплексном лечении хронического эндометрита способствует снижению уровня экспрессии генов ИЛ-2 в 2,18 раза ( $P<0,01$ ) по сравнению с началом лечения и на 15,4-21,4% - по сравнению с другими группами.



**Рисунок 3 – Относительный уровень экспрессии генов ИЛ-2 до и после терапии коров с хроническим эндометритом**

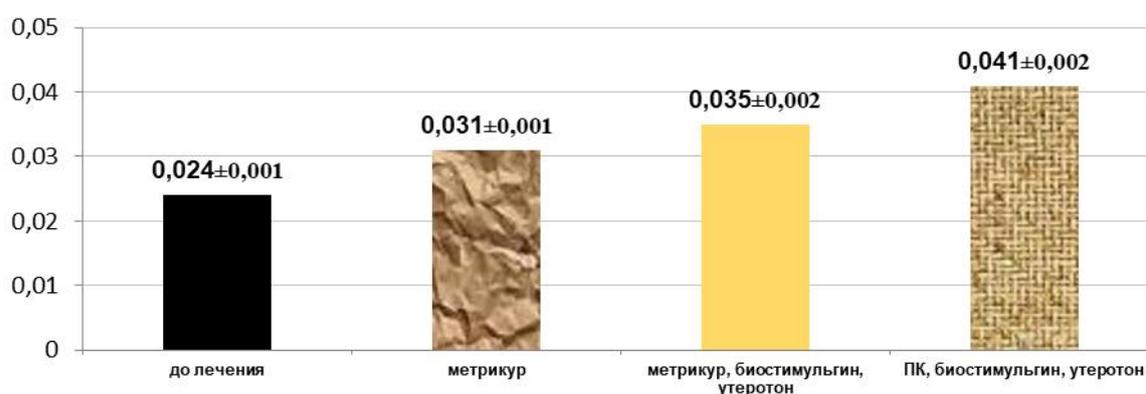
Относительный уровень экспрессии генов противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в крови коров при терапии хронического эндометрита метрикуром повысился в 1,47 раза ( $P<0,05$ ) (рисунок 4), а при лечении метрикуром в сочетании с биостимульгином и утеротоном – в 1,59 раза ( $P<0,05$ ). Ис-

пользование в качестве антимикробного средства препарата «ПК» в составе комплексной терапии способствовало повышению уровня относительной экспрессии ИЛ-4 в 1,82 раза ( $P < 0,01$ ).



**Рисунок 4 – Относительный уровень экспрессии генов ИЛ-4 до и после терапии коров с хроническим эндометритом**

Схожая динамика установлена и в отношении изменения относительной экспрессии генов ИЛ-10 в крови коров при лечении хронического эндометрита (рисунок 5).



**Рисунок 5 – Относительный уровень экспрессии генов ИЛ-10 до и после терапии коров с хроническим эндометритом**

При терапии коров с хроническим эндометритом метрикуром клиническое выздоровление происходит на фоне повышения уровня экспрессии генов ИЛ-10 в 1,29 раза по сравнению с началом лечения, при применении метрикура, биостимульгина и утеротона – в 1,46 раза ( $P < 0,05$ ). Наибольшее повышение относительного уровня экспрессии ИЛ-10 зарегистрировано при комплексной терапии с применением в качестве антимикробного средства препарата «ПК» - в 1,71 раза ( $P < 0,01$ ).

**Заключение.** Терапия коров с хроническим эндометритом сопровождается изменением соотношения экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов в сторону превалирования противовоспалительных. Наиболее выраженные изменения в процессе лечения хронического эндометрита констатированы при совместном применении антимикробного препарата «ПК», биостимульгина и утеротона, характеризующиеся снижением относительного уровня экспрессии генов ФНО $\alpha$  в крови в 2,1 раза, ИЛ-2 – в 2,18 раза, при одновременном повышении ИЛ-4 в 1,82 раза, ИЛ-10 – в 1,71 раза. Доминирование относительной экспрессии генов противовоспалительных цитокинов над провоспалительными свидетельствует об угасании воспалительных процессов в матке, что подтверждается клиническим выздоровлением 89,5% животных.

**Conclusion.** The therapy of cows with chronic endometritis is accompanied by a change in the ratio of gene expression of pro-inflammatory cytokines towards the predominance of anti-inflammatory ones. The most pronounced changes in the treatment of chronic endometritis were observed in case of the combined use of the antimicrobial drug "PK", biostimulgin and uteroton, characterized by a decrease in the relative expression level of the TNF $\alpha$  genes in the blood by 2.1 times, IL-2 – by 2.18 times, with a simultaneous increase of IL-4 by 1.82 times, IL-10 – by 1.71 times. The dominance of the relative expression of anti-inflammatory cytokine genes over pro-inflammatory ones indicates the extinction of inflammatory processes in the uterus, which is confirmed by clinical recovery in 89.5% of animals.

**Список литературы.** 1. Распространение акушерско-гинекологических заболеваний у коров в биогеохимической провинции с дефицитом селена / И. Г. Конопельцев [и др.] // Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 35-летию организации ВНИВИПФиТ. - Воронеж, 2005. – С. 106-108. 2. Медведев, Г. Ф. Влияние заболеваемости метритного комплекса на частоту синдрома «повторение половой охоты» у коров / Г. Ф. Медведев, Н. И. Гавриченко // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию со дня рождения профессора Г. А. Черемисинова и 50-летию создания Воронежской школы ветеринарных акушеров, (18–19 октября 2012 г.) / Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии. - Воронеж, 2012. - С. 332-338. 3. Гарбузов, А. А. Диагностика и лечение субклинического эндометрита у коров / А. А. Гарбузов, К. Д. Валюшкин // Ветеринарная патология. – 2003. - № 3. – С. 109-112. 4. Дубовикова, М. С. Фармакотерапия хронического неспецифического эндометрита у коров : автореф. дис. ... канд. вет. наук / М. С. Дубовикова. – Краснодар, 2017. – 18 с. 5. Турченко, А. Н. Этиология и лечение послеродового эндометрита коров / А. Н. Турченко // Ветеринария. – 2001. - № 7. – С. 35 – 37.6. Терапия хронического эндометрита у коров с применением рекомбинантных интерферонов / В. И. Михалёв [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. - 2022. - №3 (20). – С. 57-67. 7. Гарбузов, А. А. Диагностика и лечение субклинического эндометрита у коров / А. А. Гарбузов, К. Д. Валюшкин // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях : материалы Международной научно-практической конференции. – Воронеж, 2002. – С. 174-176. 8. Алешкин, В. А. Иммунология репродукции / В. А. Алешкин, А. Н. Ложкина, Э. Д. Загородная. - Чита, 2004. - 79 с.

**References.** 1. Rasprostranenie akushersko-ginekologicheskikh zabolevanij u korov v biogeohimicheskoy provincii s deficitom selena / I. G. Konopel'cev [i dr.] // Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii, posvyashchennoj 35-letiyu organizacii VNIVIPFIT. - Voronezh, 2005. – S. 106-108. 2. Medvedev, G. F. Vliyaniye zabolevaemosti metritnogo kompleksa na chastotu sindroma «povtorenie polovoy ohoty» u korov / G. F. Medvedev, N. I. Gavrichenko // Sovremennyye problemy veterinarnogo akusherstva i biotekhnologii vosproizvedeniya zhivotnykh : materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii, posvyashchennoj 85-letiyu so dnya rozhdeniya professora G. A. Cheremisinova i 50-letiyu sozdaniya Voronezhskoy shkoly veterinarnykh akusherov, (18–19 oktyabrya 2012 g.) / Vserossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy veterinarnyj institut patologii, farmakologii i terapii. - Voronezh, 2012. - S. 332-338. 3. Garbuzov, A. A. Diagnostika i lechenie subklinicheskogo endometrita u korov / A. A. Garbuzov, K. D. Valyushkin // Veterinarnaya patologiya. – 2003. - № 3. – S. 109-112. 4. Dubovikova, M. S. Farmakoterapiya hronicheskogo nespecificeskogo endometrita u korov : avtoref. dis. ... kand. vet. nauk / M. S. Dubovikova. – Krasnodar, 2017. – 18 s. 5. Turchenko, A. N. Etiologiya i lechenie poslerodovogo endometrita korov / A. N. Turchenko // Veterinariya. – 2001. - № 7. – S. 35 – 37.6. Terapiya hronicheskogo endometrita u korov s primeneniem rekombinantnykh interferonov / V. I. Mihalyov [i dr.] // Veterinarnyj farmakologicheskij vestnik. - 2022. - №3 (20). – S. 57-67. 7. Garbuzov, A. A. Diagnostika i lechenie subklinicheskogo endometrita u korov / A. A. Garbuzov, K. D. Valyushkin // Aktual'nye problemy boleznej molodnyaka v sovremennykh usloviyah : materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii. – Voronezh, 2002. – S. 174-176. 8. Aleshkin, V. A. Immunologiya reprodukcii / V. A. Aleshkin, A. N. Lozhkina, E. D. Zagorodnaya. - Chita, 2004. - 79 s.

Поступила в редакцию 04.07.2024.

DOI 10.52368/2078-0109-2024-60-3-8-13  
УДК 619:[618.19-002:618.63]:636.2

## МОРФО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕКРЕТА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ КОРОВ В РАЗНЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРИОДЫ ЛАКТАЦИИ

**Зимников В.И. ORCID ID 0000-0002-6371-7143, Павленко О.Б. ORCID ID 0000-0001-9086-9241, Манжурина О.А. ORCID ID 0000-0003-0147-8965, Тюрина Е.В. ORCID ID 0000-0003-0385-6050**  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

Неотъемлемой частью ведения молочного животноводства является получение молока высокого санитарного качества. Это напрямую зависит от продуктивного здоровья животных и состояния молочной железы. Молочная железа в период жизни коровы претерпевает несколько физиологических периодов, связанных с воспроизводством потомства и секрецией молока. Нами проведены исследования секрета молочной железы коров, находящихся в разных физиологических периодах лактации. Установлено, что у коров в ранний послеродовой период и в период запуска, в сравнении с животными середины лактации, отмечают нарушения иммунного статуса, характеризующиеся ослаблением клеточного и гуморального звеньев неспецифического иммунитета, сопровождающиеся повышенной антигенной нагрузкой. На этом фоне в данные физиологические периоды лактации коровы наиболее подвержены заболеваниям молочной железы, и во время возникновения воспалительного процесса его течение проходит в более тяжелой форме. У больных маститом коров в период запуска и в ранний послеродовой период происходят наиболее глубокие изменения в гомеостазе, в сравнении с коровами середины лактации, характеризующиеся возникновением сильной воспалительной реакции на фоне снижения активности клеточного и гуморального звеньев неспецифической резистентности молочной железы и нарастания антигенной нагрузки при увеличении микробной контаминации молока. **Ключевые слова:** мастит, молочная железа, секрет вымени, морфо-иммунологические показатели.