

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФЛАВОНОИДОВ ИЗ ПОЧЕК ИВЫ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ МЫШЕЙ***Чжан Пэн ORCID ID 0000-0001-7556-4749, **Короткова И.П. ORCID ID 0000-0003-3371-2912,******Кожушко А.А. ORCID ID 0000-0001-5753-2460, **Капралов Д.В. ORCID ID 0000-0001-8022-4036****Шэньянский технологический институт, колледж биоинженерии, провинция Ляонин, г. Фушунь, Китай****Приморский государственный аграрно-технологический университет, Уссурийск, Российская Федерация*

*Целью исследований было изучение защитного действия флавоноидов из почек ивы при остром панкреатите мышей. Эксперимент проходил в Шэньянском технологическом институте, колледже биоинженерии, провинции Ляонин, г. Фушунь, Китай. Для изучения защитного действия флавоноидов из почек ивы при остром панкреатите (Acute Pancreatitis, AP) у мышей было отобрано 50 особей мышей мужского пола, SPF класса, больные экспериментальным панкреатитом, которые в случайном порядке были разделены на 5 групп: контрольную, модельную группу и группы с разной дозировкой общих флавоноидов (0,25 г/кг, 0,5 г/кг, 1 г/кг). В данном опыте проводилось морфологическое исследование с использованием окрашивания гематоксилином-эозином тканей поджелудочной железы мышей, оценивалась степень патологии у мышей каждой группы; определялась активность амилазы, липазы и содержания ионов кальция в сыворотке крови; показатели окисления сыворотки крови у мышей каждой группы (малондиальдегид (MDA) и общая супероксиддисмутаза). Результаты показали, что изменения в биохимических показателях и показателях окисления сыворотки крови мышей в модельной группе по сравнению с контрольной группой значительные ($P < 0,01$), различные дозировки флавоноидов из почек ивы заметно понизили амилазу, активность липазы и содержание малондиальдегида в сыворотке крови у мышей с острым панкреатитом и повысили содержание ионов кальция, а также активность общей супероксиддисмутазы в сыворотке крови. **Ключевые слова:** флавоноиды из почек ивы; острый панкреатит; L-аргинин; мыши; защита.*

PROTECTIVE EFFECT OF FLAVONOIDS FROM WILLOW BUDS AT ACUTE PANCREATITIS IN MICE***Zhang Peng, **Korotkova I.P., **Kozhushko A.A., **Kapralov D.V.****Shenyang Institute of Technology, College of Bioengineering, Liaoning Province, Fushun, China****Primorsky State Agrarian and Technological University, Ussuriysk, Russian Federation*

*The aim of the research is to establish the protective effect of flavonoids from willow buds in mice with acute pancreatitis. The experiment took place at the Shenyang Institute of Technology, College of Bioengineering, Liaoning Province, and Fushun, China. To study the protective effect of the willow buds flavonoids at acute pancreatitis (AP) in mice, 50 male mice of the SPF class were selected in this experiment, which were randomly divided into 5 groups, namely: control, model group and groups with different dosages of total flavonoids (0.25 g/kg, 0.5 g/kg, 1 g/kg). In this experiment, a morphological study was performed using hematoxylin-eosin staining of pancreatic tissues of mice, the degree of pathology in mice of each group was assessed; a colorimetric method was used to check and measure the activity of amylase, lipase, and calcium ion content in the blood serum of mice of each group. Using a set of reagents, the indicators of serum oxidation in mice of each group (malondialdehyde (MDA) and total superoxide dismutase) were detected. The results showed that the difference in biochemical parameters and serum oxidation of mice in the model group compared with the control group is extremely significant ($P < 0.01$). In comparison with the model group, different dosages of flavonoids from willow buds significantly reduced amylase, lipase activity and malondialdehyde content in the blood serum of mice with acute pancreatitis and increased the content of calcium ions, as well as the activity of total superoxide dismutase in the blood serum. **Keywords:** flavonoids from willow buds; acute pancreatitis; L-arginine; mice; protection.*

Введение. Острый панкреатит (ОП) – это болезнь, характеризующаяся воспалением ткани поджелудочной железы, которая может вызывать воспалительные реакции всего организма и усугубляться до полиорганной недостаточности или даже смерти. В настоящее время заболеваемость острым панкреатитом у кошек и собак также очень высока, кроме того, причина и механизмы болезни сложны [1]. Клинических эффективных лекарственных препаратов от острого панкреатита очень мало, поэтому разработка эффективного лекарства от острого панкреатита имеет очень важный практический смысл. Растения рода ивовые – это древесные растения семейства ивовые, имеется более 4 родов и 500 видов, они широко распространены по всему миру. Исследования в современной фармакологии показали, что плакучая ива обладает выраженными антиоксидантными, противоопухолевыми, противовоспалительными, противобактериальными и противопаразитарными фармакологическими свойствами, а также снижает уровень липидов крови и регулирует иммунитет [2]. На раннем этапе данного исследования посредством ультразвукового метода успешно извлекли общие флавоноиды из почек ивы и с помощью метода жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения определили их состав, обнаружили кверцетин, рутин, кемпферол и другие 17 видов флавоноидов. Флавоноиды являются одним из важных активных ингредиентов традиционных лекарств из китайских целебных трав, обладают сильной противовоспалительной и противooksидлительной активностью, например,

кверцетин, кемпферол, изорамнетин, рутин, флавоноиды плодов дурнишника сибирского [3-6]. Флавоноиды проявляют довольно сильное фармакологическое действие.

Цель исследования – установить защитное действие флавоноидов из почек ивы при остром панкреатите мышей.

Материалы и методы исследований. 50 особей мышей инбредной линии Куньмин, SPF класса, мужского пола, весом 18~22 г, были приобретены у АО «Чэншэн» биотехнологической компании провинции Ляонин; номер лицензии лабораторных животных: SCXK (辽) 2020-0001. Мышам позволили адаптироваться в комнате с допустимой температурой 24 градуса Цельсия, без наличия болезнетворного возбудителя, где время включения и выключения света было 12/12 ч. по меньшей мере 1 неделю. Мышей кормили стандартной лабораторной пищей и предоставляли свободное питье (воду).

В данном опыте использовали L-аргинин для моделирования острого панкреатита у мышей, а интенсивность патологии и защитное действие флавоноидов из почек ивы при остром панкреатите определяли посредством измерения активности амилазы, липазы, содержания общего кальция и показателей ПОЛ в сыворотке крови, чтобы предоставить данные для исследования и разработки соответствующего ветеринарного препарата [7-10].

L-аргинин был куплен у ООО «Мэйлун» биотехнологической компании г. Далянь; наборы реагентов для выявления амилазы в сыворотке крови (C016-1-1), липазы (A054-1-1), ионов кальция (C004-1-1), малондальдегида (МДА) (A003-1-2) и общей супероксиддисмутазы (СОД) (A001-3-2) были приобретены у ООО «Цзеньшэн» биотехнологической компании г. Нанькин; красящий раствор гематоксилина-эозина был приобретен у ООО «Servicebio» биотехнологической компании; остальные реагенты были приобретены у ООО «Sinopharm».

В данном эксперименте мыши были разделены на 5 групп: контрольную, модельную и группы с разной дозировкой флавоноидов. Каждой группе с разной дозой флавоноидов вводили в желудок соответственно дозы 0,25; 0,5; 1 г/кг, объем вводимого в желудок раствора на протяжении 7 дней. После последнего введения через час делали инъекцию 20%-ного L-аргинина в брюшную полость мышам из модельной группы и групп с разной дозировкой флавоноидов, вводимая доза составляла 4 г/кг, с интервалом во времени в 1 час повторяли инъекцию. Через 24 часа из каждой группы у 10 особей взяли пробы крови и при низких температурах провели центрифугирование в течение 10 минут, полученные плазму и сыворотку крови соответственно использовали для общего анализа крови, измерения биохимических и окислительных показателей. В случайном порядке у 3 особей из каждой группы взяли поджелудочную железу для подготовки гистосрезов и окрашивания гематоксилином-эозином.

Ткани поджелудочной железы части мышей, взятых из каждой группы, погружали в 10%-ный раствор формальдегида до застывания на 48 часов. После изготовления парафинового среза, окрашивания гематоксилином и эозином, дегидратации и подготовки препарата для исследования под микроскопом рассмотрели патологические особенности тканей поджелудочной железы каждой группы, собрали фото и произвели анализ.

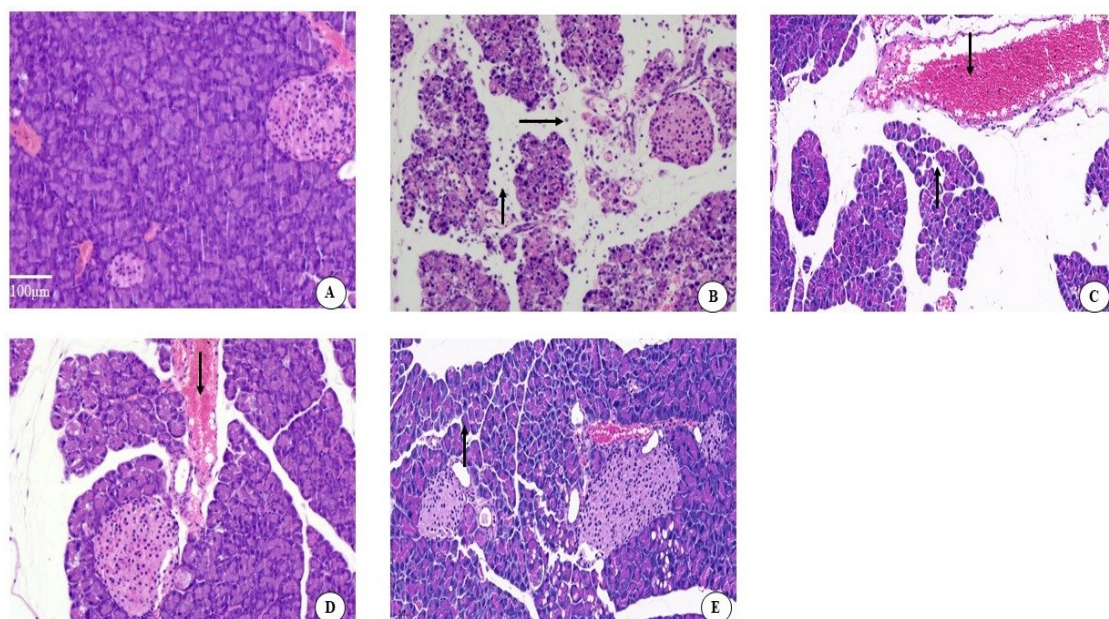
Для измерения активности амилазы, липазы и содержания ионов кальция в сыворотке крови мышей использовался колориметрический метод, другие методы производились на основании инструкций вышеописанных наборов реагентов. Для выявления малондальдегида и активности общей супероксиддисмутазы сыворотки крови мышей использовался метод с тиобарбитуровой кислотой и метод WST-1.

После взятия плазмы крови у мышей всех групп, ее поместили в антикоагулянтную трубку, содержащую этилендиаминтетрауксусную кислоту, после чего трубку QBC вставили в дозатор, а затем вытянули достаточное количество плазмы крови. После центрифугирования в течение 5 минут со скоростью 12000 об/мин использовали гематологический анализатор IDEXX для проверки и измерения.

Для проведения статистического анализа использовалось ПО SPSS Statistics 17.0.

После введения инъекции в брюшную полость проводилось наблюдение за состоянием мышей каждой группы. После введения мышам из контрольной группы в брюшную полость физраствора у них не наблюдалось аномальных проявлений. У мышей модельной группы после внутрибрюшинной инъекции аргинина пропал аппетит, появилась заметная психическая подавленность (сонливость и замедленные движения), тревога у отдельных особей и то, что они свертывались калачиком. Через 30 минут после первой инъекции аргинина все симптомы начали спадать. После второй инъекции аргинина у мышей каждой группы появились следующие симптомы: они начали собираться в кучки, через час у отдельных особей пропал аппетит, но жажда еще оставалась. У мышей из групп с разной дозировкой общих флавоноидов из почек ивы проявились в разной степени угнетение и атаксия.

Результаты исследований. Как показано на рисунке 1, форма ткани поджелудочной железы мышей контрольной группы нормальная, не обнаружено паталогических изменений (рисунок 1А). В тканях поджелудочной железы модельной группы обнаружился распад, как показано стрелками на рисунке, воспалительная клеточная инфильтрация, в клетках поджелудочной железы выявлен диффузный некроз (рисунок 1В). У мышей групп с разной дозировкой обнаружены разной степени некрозы в ацинусах поджелудочной железы, среди них группа с дозировкой 0,25 г/кг находится в самом тяжелом состоянии (рисунок С1), в тканях поджелудочной железы мышей наблюдалась гиперемия, распад ацинарных клеток и увеличение тканевого пространства. У групп с дозировками 0,5 г/кг, 1 г/кг в патологических изменениях по сравнению модельной группой есть заметные улучшения (рисунки 1D, E).



А - контрольная группа; В - модельная группа; С - группа с флавоноидами дозировкой 0,25 г/кг; D - группа с флавоноидами дозировкой 0,5 г/кг; E - группа с флавоноидами дозировкой 1 г/кг

Рисунок 1 - Результаты патоморфологического исследования тканей поджелудочной железы (100×)

Как показано в таблице 1, различия в активности амилазы, липазы и содержании ионов кальция в сыворотке крови у мышей модельной группы по сравнению с контрольной крайне значительны ($P < 0,01$), модель острого панкреатита у мышей построена успешно. Различия в активности амилазы и липазы и содержании ионов кальция в сыворотке крови групп с разной дозировкой общих флавоноидов по сравнению с модельной группой крайне значительны ($P < 0,01$). Кроме того, обнаружилась зависимость от дозировки, то есть по мере увеличения дозировки препарата активность амилазы и липазы постепенно снижается, а содержание ионов кальция постепенно повышается. Это объясняет, что определенная доза общих флавоноидов из почек ивы может эффективно улучшить биохимические показатели мышей с острым панкреатитом.

Таблица 1 - Влияние общих флавоноидов из почек ивы на содержание ионов кальция, активность амилазы и липазы в сыворотке крови мышей с острым панкреатитом

Группа	Содержание ионов кальция (mmol/L)	Активность липазы(U/L)	Активность амилазы(U/dL)
Контрольная группа	2,53±0,19	28,70±2,86	239,01±19,34
Модельная группа	1,36±0,10 ^{##}	127,39±12,20 ^{##}	970,26±67,50 ^{##}
Группа с дозировкой 0,25 г/кг	1,70±0,05 ^{**}	96,16±3,66 ^{**}	722,96±28,10 ^{**}
Группа с дозировкой 0,5 г/кг	1,94±0,05 ^{**}	75,77±3,98 ^{**}	529,22±42,36 ^{**}
Группа с дозировкой 1 г/кг	2,22±0,59 ^{**}	54,57±4,80 ^{**}	306,34±11,90 ^{**}

Примечание: по сравнению с контрольной группой # - $P < 0,05$; ## - $P < 0,01$. По сравнению с модельной группой * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$, так же в таблицах ниже.

Разные дозы общих флавоноидов действуют на мышей с острым панкреатитом, индуцированным 20%-ным L-аргинином, по-разному. Результаты изменения окислительных показателей сыворотки крови представлены в таблице 2. У мышей модельной группы содержание МДА (малондиальдегида) в сыворотке крови значительно повысилось, а активность СОД (общей

супероксиддисмутазы) значительно снизилась. Это объясняет, что построение модели острого панкреатита у мышей прошло успешно. Группы с разной дозировкой общих флавоноидов могут значительно улучшить окислительные показатели у мышей с острым панкреатитом. Как видно из таблицы 2, вслед за увеличением дозировки общих флавоноидов в группах с разной дозировкой МДА в сыворотке крови у мышей в разной степени снижается, и по сравнению с модельной группой обнаружилось крайне значительные различия и зависимость от дозировки. Также в данной таблице вслед за увеличением дозировки общих флавоноидов в группах с разной дозировкой активность СОД в сыворотке крови у мышей в разной степени повышается, и по сравнению с модельной группой обнаружилось крайне значительные различия и зависимость от дозировки.

Таблица 2 - Влияние общих флавоноидов из почек ивы на содержание МДА и активность СОД в сыворотке крови у мышей с острым панкреатитом

Группа	Содержание МДА (nmol/L)	СОД активность (U/mL)
Контрольная группа	7,62±0,66	86,49±3,89
Модельная группа	31,57±1,69 ^{##}	30,80±2,67 ^{##}
Группа с дозировкой 0,25 г/кг	20,03±1,07 ^{**}	45,53±3,42 ^{**}
Группа с дозировкой 0,5 г/кг	15,81±0,73 ^{**}	63,92±4,03 ^{**}
Группа с дозировкой 1 г/кг	12,26±0,62 ^{**}	80,77±2,43 ^{**}

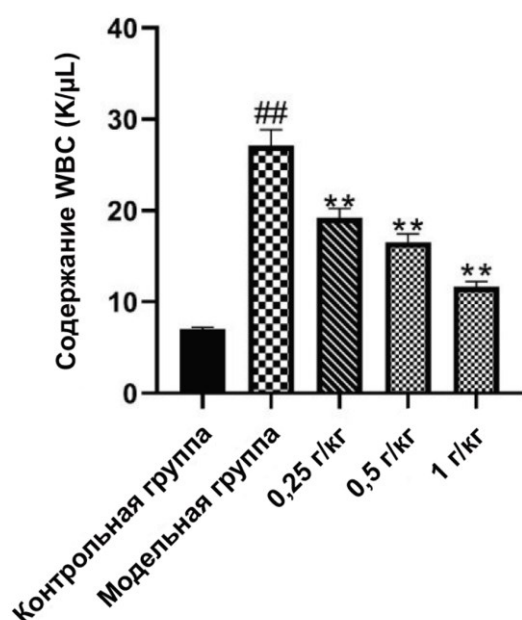


Рисунок 2 - Количество лейкоцитов в плазме крови мышей разных опытных групп с экспериментальным острым панкреатитом

железы, такие как активность амилазы и липазы в сыворотке крови у мышей с модельным острым панкреатитом, достоверно и значительно повышались, а содержание ионов кальция значительно уменьшилось, что совпадает с данными, полученными в других подобных исследованиях D. Du [11], T. F. Wei [12], G. Zhang [13] и др.

Разные дозировки общих флавоноидов из почек ивы уменьшали активность амилазы и липазы, приводили к увеличению общего кальция в сыворотке крови, снижению лейкоцитоза у мышей в разной степени. Наиболее выраженные изменения были у животных, которым применяли флавоноиды в дозе 1 г/кг массы.

Окислительный стресс является ключевым фактором в процессе развития острого панкреатита [14]. АФК (активные формы кислорода) напрямую соединяются с липидами и белками клеточной мембраны, что приводит к окислительной деградации, накоплению продуктов ПОЛ в тканях поджелудочной железы. Данное экспериментальное исследование обнаружило, что общие флавоноиды из почек ивы могут крайне значительно понизить содержание МДА в сыворотке крови мышей с острым панкреатитом и повысить активность ключевого компонента ферментативного звена антиокислительной защиты СОД.

Таким образом, данный эксперимент показал, что общие флавоноиды из почек ивы оказывают значительный защитный эффект на поджелудочную железу при остром панкреатите у мышей и могут использоваться в качестве альтернативного лекарственного средства при данном заболевании.

Conclusion. Flavonoids have pronounced anti-inflammatory and antioxidant effects, but the use of common flavonoids from willow buds at acute pancreatitis in mice has not yet been studied. Markers of cytolysis of pancreatic cells, such as the activity of amylase and lipase in the blood serum of mice with the model acute pancreatitis, significantly and highly increased, and the content of calcium ions decreased significantly, which coincides with the data obtained in other similar studies by D. Du [11], T. F. Wei [12], G. Zhang [13] and others. Different dosages of total flavonoids from willow buds decreased the activity of amylase and lipase, led to an increase in total calcium in the blood serum, and decreased leukocytosis in mice to varying degrees. The most pronounced changes were in animals treated with flavonoids at a dose of 1 g/kg body weight. Oxidative stress is a key factor in the development of acute pancreatitis [14]. ROS (reactive oxygen species) directly binds to lipids and proteins of the cell membrane, which leads to oxidative degradation and accumulation of LPO products in pancreatic tissues. This experimental study found that common flavonoids from willow buds can significantly lower the MDA content in the blood serum of mice with acute pancreatitis and increase the activity of a key component of the enzymatic link of the antioxidant defense of SOD. Thus, this experiment showed that common flavonoids from willow buds have a significant protective effect on the pancreas at acute pancreatitis in mice and can be used as an alternative drug for this disease.

Список литературы.

1. Прогресс в исследовании причин и механизмов острого панкреатита у собак и кошек / Чжан Пэн, Фу Юйцзе, Ху Шуан [и др.] // Прогресс в ветеринарии. – 2020. – № 41 (3). – С. 114–117.
2. Isorhamnetin, Hispidulin, and Cirsimaritin Identified in *Tamarixramosissima* Barks from Southern Xinjiang and Their Antioxidant and Antimicrobial Activities / X. Ren, Y. Bao, Y. Zhu [et al.] // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, issue 3 : 390. – Doi: 10.3390/molecules24030390.
3. Rutin restricts hydrogen peroxide-induced alterations by up regulating the redox-system: An in vitro, in vivo and in silico study / S. Singh, V. Dubey, A. Meena [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. – 2018. – Vol 15. – P. 115–125. – Doi: 10.1016/j.ejphar.2018.07.055.
4. Flavonoids, cytotoxic, antioxidant and antibacterial activities of *Evaxpygmae* / A. Khalfallah, D. Berrehal, C. Bensouici [et al.] // *Pharmaceutical Biology*. – 2017. – Vol. 55, issue 1. – P. 2292–2296. – Doi: 10.1080/13880209.2017.1405997
5. Antibacterial and antioxidant flavonoid derivatives from the fruits of *Metaplexis japonica* / L. Wei, M. Yang, L. Huang [et al.] // *Food Chemistry*. – 2019. – № 15. – P. 308–312. – Doi: 10.1016/j.foodchem.2019.03.070.
6. Flavonoids from *Morus alba* L. Leaves: Optimization of Extraction by Response Surface Methodology and Comprehensive Evaluation of Their Antioxidant, Antimicrobial, and Inhibition of α -Amylase Activities through Analytical Hierarchy Process / H. Cui, T. Lu, M. Wang [et al.] // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, issue 13 : 2398. – Doi: 10.3390/molecules24132398.
7. Доза и время введения L-аргенина, вызывающего острый панкреатит у мышей / Ван Синьсинь, Чэнь Цзылу, Инь Син [и др.] // Китайский журнал о ветеринарной медицине. – 2021. – № 57 (07). – С. 56–59.
8. Ismail, O. Z. Lipase or amylase for the diagnosis of acute pancreatitis? / O. Z. Ismail, V. Bhayana // *Clinical Biochemistry*. – 2017. – № 50 (18). – P. 1275–1280. – Doi: 10.1016/j.clinbiochem.2017.07.003.
9. Ikei, S. Blood concentrations of polymorphonuclear leucocyte elastase and interleukin-6 are indicators for the occurrence of multiple organ failures at the early stage of acute pancreatitis / S. Ikei, M. Ogawa, Y. Yamaguchi // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. – 1998. – № 13 (12). – P. 1274–1283.
10. Research Progress on the Relationship Between Acute Pancreatitis and Calcium Overload in Acinar Cells / S. Feng, Q. Wei, Q. Hu [et al.] // *Digestive Diseases and Sciences*. – 2019. – № 64 (1). – P. 25–38. – Doi: 10.1007/s10620-018-5297-8.
11. Protective effects of flavonoids from *Coreopsis tinctoria* Nutt. on experimental acute pancreatitis via Nrf-2/ARE-mediated antioxidant pathways / D. Du, L. Yao, R. Zhang [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2018. – Vol. 224, issue 5. – P. 261–272. – Doi: 10.1016/j.jep.2018.06.003.
12. Qing-Yi Decoction in the Treatment of Acute Pancreatitis: An Integrated Approach Based on Chemical Profile, Network Pharmacology, Molecular Docking and Experimental Evaluation / T. F. Wei, L. Zhao, P. Huang [et al.] // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – Vol. 29, issue 12 : 590994. – Doi: 10.3389/fphar.2021.590994.
13. Psidiumguajava Flavonoids Prevent NLRP3 Inflammasome Activation and Alleviate the Pancreatic Fibrosis in a Chronic Pancreatitis Mouse Model / G. Zhang, L. Tang, H. Liu [et al.] // *The American Journal of Chinese Medicine*. – 2021. – Vol. 49, issue 8. – P. 2001–2015. – Doi: 10.1142/S0192415X21500944.
14. Эффект леонина на окислительное повреждение острым панкреатитом у мышей, вызванного L-аргенином / Чжан Пэн, Лу Юйфу, Ву Шанцзе [и др.] // Вестник животноводства и ветеринарии. – 2021. – № 52 (07). – С. 83–90.

References.

1. Progress v issledovanii prichin i mekhanizmov ostrogo pankreatita u sobak i koshek / CHzhan Pen, Fu YUjczze, Hu SHuan [i dr.] // Progress v veterinarui. – 2020. – № 41 (3). – S. 114–117.
2. Isorhamnetin, Hispidulin, and Cirsimaritin Identified in *Tamarixramosissima* Barks from Southern Xinjiang and Their Antioxidant and Antimicrobial Activities / X. Ren, Y. Bao, Y. Zhu [et al.] // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, issue 3 : 390. – Doi: 10.3390/molecules24030390.
3. Rutin restricts hydrogen peroxide-induced alterations by up regulating the redox-system: An in vitro, in vivo and in silico study / S. Singh, V. Dubey, A. Meena [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. – 2018. – Vol 15. – P. 115–125. – Doi: 10.1016/j.ejphar.2018.07.055.

4. Flavonoids, cytotoxic, antioxidant and antibacterial activities of *Evaxpygmae* / A. Khalfallah, D. Berrehal, C. Bensouici [et al.] // *Pharmaceutical Biology*. – 2017. – Vol. 55, issue 1. – P. 2292–2296. – Doi: 10.1080/13880209.2017.1405997
5. Antioxidant and antioxidant flavonoid derivatives from the fruits of *Metaplexis japonica* / L. Wei, M. Yang, L. Huang [et al.] // *Food Chemistry*. – 2019. – № 15. – R. 308–312. – Doi: 10.1016/j.foodchem.2019.03.070.
6. Flavonoids from *Morus alba* L. Leaves: Optimization of Extraction by Response Surface Methodology and Comprehensive Evaluation of Their Antioxidant, Antimicrobial, and Inhibition of α -Amylase Activities through Analytical Hierarchy Process / H. Cui, T. Lu, M. Wang [et al.] // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, issue 13 : 2398. – Doi: 10.3390/molecules24132398.
7. Doza i vremya vvedeniya L-argenina, vyzyvayushchego ostryj pankreatit u myshej / Van Sin'sin', CHen' Czylyu, In' Sin [i dr.] // *Kitajskij zhurnal o veterinarnoj medicine*. – 2021. – № 57 (07). – S. 56–59.
8. Ismail, O. Z. Lipase or amylase for the diagnosis of acute pancreatitis? / O. Z. Ismail, V. Bhayana // *Clinical Biochemistry*. – 2017. – № 50 (18). – R. 1275–1280. – Doi: 10.1016/j.clinbiochem.2017.07.003.
9. Ikei, S. Blood concentrations of polymorphonuclear leucocyte elastase and interleukin-6 are indicators for the occurrence of multiple organ failures at the early stage of acute pancreatitis / S. Ikei, M. Ogawa, Y. Yamaguchi // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. – 1998. – № 13 (12). – R. 1274–1283.
10. Research Progress on the Relationship Between Acute Pancreatitis and Calcium Overload in Acinar Cells / S. Feng, Q. Wei, Q. Hu [et al.] // *Digestive Diseases and Sciences*. – 2019. – № 64 (1). – R. 25–38. – Doi: 10.1007/s10620-018-5297-8.
11. Protective effects of flavonoids from *Coreopsis tinctoria* Nutt. on experimental acute pancreatitis via Nrf-2/ARE-mediated antioxidant pathways / D. Du, L. Yao, R. Zhang [et al.] // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2018. – Vol. 224, issue 5. – P. 261–272. – Doi: 10.1016/j.jep.2018.06.003.
12. Qing-Yi Decoction in the Treatment of Acute Pancreatitis: An Integrated Approach Based on Chemical Profile, Network Pharmacology, Molecular Docking and Experimental Evaluation / T. F. Wei, L. Zhao, P. Huang [et al.] // *Frontiers in Pharmacology*. – 2021. – Vol. 29, issue 12 : 590994. – Doi: 10.3389/fphar.2021.590994.
13. Psidiumguajava Flavonoids Prevent NLRP3 Inflammasome Activation and Alleviate the Pancreatic Fibrosis in a Chronic Pancreatitis Mouse Model / G. Zhang, L. Tang, H. Liu [et al.] // *The American Journal of Chinese Medicine*. – 2021. – Vol. 49, issue 8. – P. 2001–2015. – Doi: 10.1142/S0192415X21500944.
14. Effekt peonola na okislitel'noe povrezhdenie ostrym pankreatitom u myshej, vyzvannogo L-argininom / CHzhan Pen, Li YUjfu, Vu SHancze [i dr.] // *Vestnik zhivotnovodstva i veterinarii*. – 2021. – № 52 (07). – S. 83–90.

Поступила в редакцию 07.05.2026.

DOI 10.52368/2078-0109-2026-62-3-86-90

УДК 619.616-095:636.2.034

РАЗРАБОТКА ВИДОСПЕЦИФИЧНЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ *ANAPLASMA MARGINALE*

Шангараев Р.И. ORCID ID 0000-0003-3689-1442, Усольцев К.В. ORCID ID 0000-0001-5279-9836, Горбунова М.Е. ORCID ID 0000-0002-0707-2117, Хаертынов К.С. ORCID ID 0000-0003-4764-560X, Додонova Е.А. ORCID ID 0000-0002-6919-4064, Сальманова Г.Р. ORCID ID 0000-0003-2356-133X
ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»,
г. Казань, Российская Федерация

В данной работе представлен результат конструирования видоспецифичных праймеров к генам *mtp4* и *mtp5* возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота *Anaplasma marginale*. По результатам биоинформационного анализа 65 нуклеотидных последовательностей гена *mtp4* и 6 - гена *mtp5* были установлены консервативные локусы в позиции от 680 до 830 п.н. – для гена *mtp4*; и от 400 до 560 – для гена *mtp5*. На указанные выше участки генов-интереса разработаны олигонуклеотидные затравки, описаны их основные характеристики. Полученные последовательности олигонуклеотидных комбинаций можно использовать в качестве специфических компонентов при создании новых современных тест-систем для ПЦР-диагностики возбудителя анаплазмоза крупного рогатого скота, а также в случаях затруднений по идентификации данного вида. **Ключевые слова:** анаплазмоз, биоинформационный анализ, генетический маркер, диагностика, олигонуклеотидные праймеры.

DEVELOPMENT OF SPECIES-SPECIFIC OLIGONUCLEOTIDE PRIMERS FOR IDENTIFICATION OF *ANAPLASMA MARGINALE*

Shangaraev R.I., Usoltsev K.V., Gorbunova M.E., Khaertynov K.S., Dodonova E.A., Salmanova G.R.
FSBSI "Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety", Kazan, Russian Federation

This paper presents the results of constructing species-specific primers for the *mtp4* and *mtp5* genes of the bovine anaplasma pathogen, *Anaplasma marginale*. Bioinformatic analysis of 65 nucleotide sequences of the *mtp4* gene and 6 of the *mtp5* gene revealed conserved loci in positions from 680 to 830 base pairs (bp) for the *mtp4* gene and from 400 to 560 base pairs (bp) for the *mtp5* gene. Oligonucleotide primers were developed for the above-mentioned sites of the genes of interest, and their main characteristics are described. The resulting oligonucleotide combinations can be used as specific components in the development of new, modern test systems for PCR