

На правах рукописи

Черницкий Антон Евгеньевич

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДОВ
НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ, ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАЗВИТИЯ
И ИСХОДА РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ТЕЛЯТ В
НЕОНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД**

06.02.01 – диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и
морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Ставрополь – 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» (ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»)

Научный консультант: доктор биологических наук
Сафонов Владимир Александрович

Официальные оппоненты: **Шкуратова Ирина Алексеевна**,
доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр УрО РАН, директор Уральского научно-исследовательского ветеринарного института

Калюжный Иван Исаевич,
доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, профессор кафедры «Болезни животных и ВСЭ»

Аксенова Вера Михайловна,
доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Пермский государственный аграрно-технологический университет имени академика Д.Н. Прянишникова», профессор кафедры биологии и гигиены животных

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Защита состоится 19 июня 2020 г. в 10 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 220.062.02 на базе ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу: 355017, Россия, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» <https://www.stgau.ru>.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2020 г. и размещен на сайтах: ВАК Министерства науки и высшего образования РФ <http://www.vak.minobrnauki.gov.ru> « ____ » _____ 2020 г.; ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» <https://www.stgau.ru> « ____ » _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Дьяченко Юлия Васильевна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы и степень её разработанности. Респираторные заболевания телят являются важной проблемой молочного животноводства во всем мире [Мищенко В.А. и соавт., 2008; Fulton R.W., 2009; Bach A., 2011; Stanton A.L. et al., 2012; Guterbock W.M., 2014]. Среди телят первого месяца жизни они регистрируются в 17,2-23,6% случаев [Guterbock W.M., 2014]. Несмотря на активно проводимую лечебно-профилактическую работу в РФ, проблема сохраняет свою актуальность [Сисягина Е.П., 2010; Мищенко В.А. и соавт., 2013; Калюжный И.И. и соавт., 2016; Схатум А.К. и соавт., 2016; Глотов А.Г. и соавт., 2019]. Показано, что частота рецидивов бронхопневмонии у телят после курса лечения и клинического выздоровления может достигать 82,9% [Алехин Ю.Н. и соавт., 2015; Жуков М.С., 2017]. Поэтому поиск новых методов прогнозирования и ранней диагностики респираторных заболеваний молодняка крупного рогатого скота, а также объективных критериев полноты выздоровления после курса лечения приобретает важное научное и практическое значение.

Многие клинические признаки, гематологические и биохимические показатели воспаления для ранней диагностики респираторных заболеваний у телят оказываются малоинформативными в силу их неспецифичности [Данилов С.Ю., 2011; Poulsen K.P. et al., 2009; Griffin D., 2014; Prohl A. et al., 2015; Abdallah A. et al., 2016], в связи с чем актуален поиск более ранних маркеров патологии, предшествующих развитию симптомов заболевания, а также неинвазивных методов контроля эффективности профилактических и лечебных мероприятий [Reinhold P. et al., 2010; Fulton R.W. et al., 2012; Ollivett T.L. et al., 2016]. Одним из них является анализ конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) [Анаев Э.Х. и соавт., 2002, 2006; Horváth I. et al., 2005; Kubáň P. et al., 2013], изменения в составе которого объективно отражают повреждения эпителия дыхательных путей и сурфактанта легких еще до развития симптомов заболевания [Черницкий А.Е., 2009; Schröder C., 2006; Kubáň P. et al., 2013]. Анализ КВВ сегодня широко используется для диагностики и контроля течения респираторных заболеваний у людей в странах ЕС и США, но лишь единичные работы посвящены его исследованию у сельскохозяйственных животных [Черницкий А.Е., 2009; Reinhold P. et al., 2010; Cathcart M.P. et al., 2012].

Несмотря на появление отдельных работ, посвященных морфологии висцеральных и иммунных органов новорожденных телят с разным уровнем жизнеспособности [Масьянов Ю.Н., 2010; Баймишев Х.Б. и соавт., 2013; Криштофорова Б.В. и соавт., 2018], особенности становления респираторной и влаговыведительной функций органов дыхания, метаболического и оксидантно-антиоксидантного статуса у них в полной мере не исследованы [Рецкий М.И. и соавт., 2010; Шахов А.Г. и соавт., 2013; Uystepruyst C. et al., 2000]. Нет данных о влиянии патологий беременности у коров на показатели системы антиоксидантной защиты (АОЗ) и функциональное состояние органов дыхания новорожденных. Отсутствуют четкие критерии нормы для ряда лабораторных показателей у телят в неонатальный период [Черницкий А.Е., 2009; Рецкий М.И. и соавт., 2010; Шахов А.Г. и соавт., 2013; Reinhold P. et al., 2010].

В связи с этим особый научный и практический интерес представляет изучение динамики клинических и лабораторных показателей у неонатальных телят с разным

морфофункциональным статусом при развитии респираторных заболеваний и выздоровлении.

Цель диссертационного исследования – выявить основные патофизиологические механизмы формирования предрасположенности новорожденных телят к развитию респираторных заболеваний и провести теоретико-экспериментальное обоснование новых методов их неинвазивной диагностики, прогнозирования развития и исхода.

На разрешение были поставлены следующие **задачи**:

1. Определить взаимосвязи функциональных нарушений в системе «мать-плацента-плод» при преэклампсии и синдроме внутриутробной задержки развития плода у коров-матерей с предрасположенностью новорожденных телят к развитию респираторных заболеваний.

2. Изучить особенности функционального становления дыхательной системы в неонатальный период у телят с разным уровнем физиологической зрелости при рождении.

3. Определить роль биохимического статуса и индивидуальной реактивности гранулоцитарной системы новорожденных телят в формировании предрасположенности к развитию респираторных заболеваний.

4. Разработать методы прогнозирования развития респираторных заболеваний по биохимическому и гематологическому профилю новорожденных телят и их матерей.

5. Выявить динамику показателей кислотно-основного состояния, оксидативного стресса, эндогенной интоксикации и воспаления, определяемых в КВВ и крови, у телят при развитии респираторных заболеваний и в саногенезе.

6. Обосновать выбор клинических и лабораторных критериев для неинвазивного контроля респираторных заболеваний у телят.

7. Дать патофизиологическое обоснование применения микроэлементов, участвующих в регуляции системы АОЗ, для профилактики и терапии респираторных заболеваний у телят.

Научная новизна работы. Впервые проведен комплексный анализ влияния функционального состояния органов дыхания, метаболического и оксидантно-антиоксидантного статуса новорожденных телят с разным уровнем физиологической зрелости на формирование предрасположенности к респираторным заболеваниям. Продемонстрировано, что длительность транзиторной гипервентиляции, сроки компенсации послеродовой гипоксии и ацидоза и интенсивность респираторного влаговыведения у телят зависят от уровня их физиологической зрелости при рождении. Впервые определены клинико-лабораторные показатели беременных коров, позволяющие прогнозировать развитие респираторных заболеваний у их потомства с чувствительностью 66,7-83,3% и специфичностью 77,3-100%. Разработано устройство для сбора КВВ у животных, включающее маску дыхательную с клапанами вдоха и выдоха, спирометр и конденсатор в виде сменного контейнера-накопителя, установленного в холодильной камере с теплоизоляционным кожухом. Предложен способ определения концентрации пероксида водорода в выдыхаемом воздухе у животных, основанный на флуориметрическом измерении концентрации H_2O_2 в КВВ с использованием флуоресцентного красителя Amplex Red Ultra

(«Invitrogen», США). Впервые выявлен специфический паттерн изменений показателей крови и КВВ, характеризующих оксидантно-антиоксидантный статус и состояние эндогенной интоксикации, у телят при развитии респираторных заболеваний и в саногенезе. Описаны изменения в составе равновесной газовой фазы над пробами КВВ у телят в неонатальный период в условиях нормы и при развитии респираторных заболеваний. Впервые, с использованием РОС-анализа и радиальных нейронных сетей разработана система прогнозирования развития, течения и исхода респираторных заболеваний у телят в неонатальный период. Впервые дано патофизиологическое обоснование применения микроэлементов, участвующих в регуляции системы АОЗ, для профилактики и терапии респираторных заболеваний у телят. По результатам проведенных исследований получено 7 патентов РФ на изобретения, 1 патент РФ на полезную модель и 3 свидетельства на программы для ЭВМ.

Теоретическая и практическая значимость работы. Расширено современное представление о роли метаболического и оксидантно-антиоксидантного статуса новорожденных телят в формировании колострального иммунитета и патогенезе респираторных заболеваний. Получены дополнительные сведения о влиянии преэклампсии и внутриутробной задержки развития эмбриона и плода у коров на формирование предрасположенности новорожденных к респираторным заболеваниям, позволяющие предложить новые подходы к их профилактике и терапии.

На основании результатов проведенных исследований доказана целесообразность и эффективность применения коровам и нетелям препаратов, содержащих микроэлементы (цинка, меди, марганца, селена и кобальта) и витамины (А, Е), участвующие в регуляции системы АОЗ, для профилактики респираторных заболеваний у их потомства.

Определены критерии для выявления новорожденных телят группы риска по респираторным заболеваниям.

Экспериментальные данные о динамике биохимических показателей крови и КВВ телят при развитии респираторных заболеваний и в саногенезе создают теоретическую основу для разработки новых методов их ранней диагностики, прогнозирования и терапии.

Предложен новый подход к оценке функционального состояния органов дыхания и контролю респираторных заболеваний у телят, основанный на анализе состава КВВ и равновесной газовой фазы над ним.

Научно-практическая значимость работы заключается в разработке устройства для сбора КВВ (патент РФ 134772) и способа определения концентрации пероксида водорода в выдыхаемом воздухе (патент РФ 2614621) у животных, способов ранней диагностики (патенты РФ 2564877 и 2599377), прогнозирования (патенты РФ 2491550, 2557709 и 2593793) и терапии (патент РФ 2441650) респираторных заболеваний у телят, а также 3-х программ для ЭВМ (свидетельства о гос. регистрации № 2016660700, 2016661901 и 2016662738).

Способ прогнозирования развития респираторных болезней у новорожденных телят отмечен дипломом Президиума РАСХН в номинации «Лучшая завершенная научная разработка 2012 года в области АПК России» (протокол № 12 заседания Президиума РАСХН от 20 декабря 2012 года).

Методология и методы исследования. Для достижения цели и решения поставленных задач были использованы расчетные методы компьютерного прогноза в специализированных программах для ЭВМ, методы физической и аналитической химии, а также клинические, гематологические, биохимические, бактериологические, молекулярно-генетические, серологические и статистические методы исследования.

Научные положения, выносимые на защиту:

1. Нарушения во внутриутробном периоде развития предрасполагают к проявлению респираторных заболеваний у новорожденных телят, при этом характер и сроки их зависят от функциональной недостаточности фетоплацентарной системы, дефицита микроэлементов, участвующих в регуляции системы АОЗ, и тяжести эндогенной интоксикации.

2. Для новорожденных телят, предрасположенных к развитию респираторных заболеваний в неонатальный период, характерны длительные послеродовый ацидоз (более 48 часов) и транзиторная гипервентиляция (до 7-ми суток), повышенная интенсивность респираторного влаговыведения, кальций-магниевый дисбаланс и функциональная недостаточность системы АОЗ на фоне гормональных нарушений, проявляющиеся снижением жизнеспособности.

3. Развитие респираторных заболеваний у животных характеризуется специфическим паттерном изменений показателей крови и КВВ в виде снижения рН, активности системы АОЗ, повышения системной и локальной интенсивности пероксидного окисления липидов (ПОЛ), эндогенной интоксикации, экспирации ферментов различной субклеточной локализации, пероксида водорода, стабильных метаболитов оксида азота, аминокспиртов, ацетокислот, сероводорода и сульфидов.

4. Провокация кашля путем пальпации последнего трахеального кольца и 30-ти секундного апноэ на выдохе позволяет выявлять ранние признаки респираторных заболеваний у телят, подтверждаемые лабораторными исследованиями крови (лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, повышенная концентрация гаптоглобина в сыворотке) и КВВ (повышенное содержание пероксида водорода, снижение уровня рН).

5. Адаптационные возможности кардиореспираторной функциональной системы, элементный статус, тяжесть эндогенной интоксикации и оксидативного стресса определяют прогноз течения и исхода респираторных заболеваний у телят.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора. Достоверность результатов работы, правомочность основных положений и выводов обоснованы достаточным числом животных, использованных в экспериментах, детальным изучением литературы по теме исследования, использованием современных методов статистической обработки данных с применением сертифицированных программ Statistica 8.0 («Stat Soft Inc.», США) и IBM SPSS Statistics 20.0 («IBM Corp.», США), глубоким и аргументированным анализом полученных результатов.

Результаты научных исследований вошли в отчеты по научно-исследовательской работе ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» за 2010-2016 годы. Основные положения диссертационной работы были представлены и одобрены на 5-ти всероссийских и 11-ти международных конференциях, 4-х съездах и 3-х симпозиумах, в числе которых I Всероссийская конференция с международным участием

«Химический анализ и медицина» (Москва, 2015), XXIII Съезд Физиологического общества имени И.П. Павлова (Воронеж, 2017), 10th International Ruminant Reproduction Symposium “IRRS 2018” (Foz do Iguacu, PR, Brazil, 2018), 22nd and 23rd Annual Conferences of the European Society for Domestic Animal Reproduction “ESDAR” (Cordoba, Spain, 2018; St. Petersburg, Russia, 2019), VII International Symposium on Animal Biology of Reproduction “ISABR 2018” (Aracaju, SE, Brazil, 2018), 17th International Conference on Production Diseases in Farm Animals “ICPD 2019” (Bern, Switzerland, 2019), XIII International Symposium on Ruminant Physiology “ISRP 2019” (Leipzig, Germany, 2019), II Объединенный научный форум, включающий VI Съезд физиологов СНГ, VI Съезд биохимиков России и IX Российский симпозиум «Белки и пептиды» (Сочи, 2019).

Основные результаты исследований вошли в «Методическое пособие по прогнозированию и ранней диагностике респираторных болезней у телят», рассмотренное, одобренное и рекомендованное к изданию секцией «Патология, фармакология и терапия» Отделения ветеринарной медицины РАСХН (протокол № 5 от 24 октября 2013 года), ставшее лауреатом Международной специализированной выставки животноводства и племенного дела «АгроФарм» (Москва, 2015) в номинации «Лучшая научная разработка» и отмеченное дипломом Международной агропромышленной выставки «АгроРусь» (Санкт-Петербург, 2015).

Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ, ФГБОУ ВО Костромская ГСХА, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет», ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», научных исследованиях ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» и ФГБОУ ВО «ВГУИТ», внедрены в практику животноводства хозяйств Воронежской области.

Планирование исследований, постановка цели и задач проводились совместно с научным консультантом, д.б.н. В.А. Сафоновым.

Разработка способа определения пероксида водорода в выдыхаемом воздухе у животных осуществлялась совместно с сотрудниками кафедры генетики, цитологии и биоинженерии ФГБОУ ВО «ВГУ», д.б.н., профессором В.Н. Поповым и к.б.н. М.Ю. Сыромятниковым, исследование состава равновесной газовой фазы над пробами КВВ телят – с сотрудниками кафедры физической и аналитической химии ФГБОУ ВО «ВГУИТ», д.х.н., профессором, профессором РАН Т.А. Кучменко, к.х.н. А.А. Шуба и к.х.н. Р.У. Умархановым. Метод определения среднемолекулярных пептидов в биологических жидкостях разрабатывался совместно сотрудниками ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», д.б.н., профессором М.И. Рецким и к.б.н. В.И. Сидельниковой. Бактериологические, серологические и ПЦР-исследования осуществлялись в Научно-исследовательский центре клинической фармакологии и терапии, качества и безопасности сырья и продукции ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» совместно с д.в.н., профессором, членом-корреспондентом РАН А.Г. Шаховым, д.в.н. Л.Ю. Сашниной, к.в.н., доцентом Л.И. Ефановой, к.в.н., доцентом О.А. Манжуриной и к.б.н. И.В. Волковой, гематологические и биохимические исследования проводились совместно с д.б.н., профессором Н.Е. Папиным, к.б.н. Г.Г. Чусовой, к.б.н. В.И. Шушлебиным и к.б.н. В.И. Сидельниковой, клинические исследования – с д.в.н., профессором А.Г. Неждановым, д.в.н. А.И. Золотаревым и д.в.н. В.И. Михалёвым. Анализ элементного состава волос и КВВ животных осуществлялся в лаборатории биогеохимии

окружающей среды ГЕОХИ РАН совместно с д.б.н. В.А. Сафоновым. Программы для ЭВМ разрабатывались в ООО «Доступная робототехника» совместно с к.ф.-м.н. В.В. Посметьевым.

Автор выражает искреннюю благодарность вышеуказанным коллективам и сотрудникам.

Выбор методологии исследования, поиск, анализ и обобщение научно-технической и патентной информации, литературных данных, выполнение экспериментов, анализ и интерпретация результатов исследования, статистическая обработка данных, подготовка научных публикаций, написание и оформление рукописи осуществлены лично автором. Доля участия соискателя при выполнении диссертации составляет 95%.

Конкурсная поддержка. Работа поддержана грантом РНФ 18-76-10015 «Разработка методов и средств неинвазивной экспресс-диагностики, прогнозирования и контроля течения респираторных заболеваний у телят» по итогам конкурса 2018 года по мероприятию «Проведение исследований научными группами под руководством молодых ученых» Президентской программы исследовательских проектов, реализуемых ведущими учеными, в том числе молодыми учеными.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 70 научных работ, в том числе 15 статей в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, 9 статей и 3 тезиса, индексируемых в Scopus/Web of Science, 8 патентов РФ, 3 свидетельства на программы для ЭВМ, 1 монография и 1 методическое пособие.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 348 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций, а также списка литературы, включающего в себя 505 источников, из них 219 отечественных и 286 зарубежных, и приложения. Работа иллюстрирована 42 таблицами и 40 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В главе 1. «Обзор литературы» представлены результаты анализа отечественной и зарубежной литературы по вопросам распространения, этиологии и патогенеза респираторных заболеваний у телят, факторов, предрасполагающих к их развитию в неонатальный период, а также методов их неинвазивной диагностики, прогнозирования развития и исхода.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал и методы исследования. Исследования выполнены в 2010-2019 гг. в лаборатории болезней органов воспроизводства, молочной железы и молодняка сельскохозяйственных животных ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» по заданию 08.04 «Разработать новые средства, способы и методы диагностики, высокоэффективные экологически безопасные фармакологические средства повышения резистентности, профилактики и терапии массовых незаразных болезней высокопродуктивных животных на основе данных молекулярных, биохимических, физиологических и структурно-функциональных исследований» (2010-2013 гг.) и в соответствии с пунктом № 22 программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы, тема № 0619-2014-0002 «Разработать методы

оценки риска развития и исхода болезней органов пищеварения и дыхания, алгоритмы и методы коррекции нарушений молекулярного гомеостаза у новорождённых животных» (2013-2016 гг.), а также по проекту 18-76-10015 РФ (2018-2019 гг.).

Экспериментальные животные. Объектом исследований служили коровы и телята красно-пестрой и черно-пестрой пород, принадлежащие ООО «Воронежпищепродукт», ООО «Большевик» и ГК «Агротех-Гарант» Воронежской области РФ, всего 900 животных.

Исследования по изучению функционального становления дыхательной системы у новорожденных с разным уровнем физиологической зрелости выполнены на 119 телятах, по оценке кислотно-основного состояния и газового состава венозной крови в условиях нормы и при дыхательной недостаточности – на 48 животных, индивидуальной реактивности гранулоцитарной системы новорожденных телят и её роли в патогенезе респираторных заболеваний – на 20 особях, роли биохимического статуса новорожденных в формировании колострального иммунитета – на 30 телятах и их матерях. Влияние преэклампсии и внутриутробной задержки развития эмбриона и плода, биохимического статуса матери и новорожденного на прогноз развития и исхода респираторных заболеваний исследовалось на 129 коровах с продуктивностью за предыдущую лактацию 6278-9796 кг, и полученных от них 129 телятах. При разработке методов ранней диагностики респираторных заболеваний исследовано 122 теленка, прогнозировании течения бронхита – 72 особи; изменения биохимического профиля новорожденных телят при развитии респираторных заболеваний и в саногенезе изучались на 81 животном. Исследования по оценке эффективности витаминно-минерального препарата «Антимиопатик» для профилактики респираторных заболеваний у новорожденных выполнены на 60 коровах и полученных от них 60 телятах.

Диагностику внутриутробной задержки развития эмбриона и плода (ВЗРП) у коров осуществляли методом трансректальной пальпации и эхографии с использованием ультразвукового сканера Easi-Scan-3 («BCF Technology Ltd.», Великобритания) с линейным датчиком 4,5-8,5 МГц на основании критериев, предложенных А.Г. Неждановым и соавт. (2014). Преэклампсию (гестоз) у коров диагностировали при сроке беременности 248-255 дней на основании клинических признаков – артериальной гипертензии, протеинурии и патологических отеков. Клиническую диагностику респираторных заболеваний у телят проводили с использованием общих и специальных методов исследования (пальпации, перкуссии, аускультации, ультразвуковой эхографии). Показатели функции внешнего дыхания (минутный объем дыхания и дыхательный объем) у животных исследовали с помощью спирометра ССП (КПО «Медаппаратура», Украина) и маски с клапанами выдоха и вдоха. Для экспресс-диагностики воспалительного процесса в кишечнике у телят проводили анализ кала методом «сухой химии» с использованием тест-полосок 10EA для анализа мочи («Arkay», Япония) [Черницкий А.Е. и соавт., 2015].

Пробы волос для исследований у животных отбирали с кисти хвоста, образцы крови получали у коров из подхвостовой, а у телят из яремной вены, используя коммерческие вакуумные системы для забора крови (с ЭДТА в качестве антикоагулянта). КВВ у телят собирали с помощью разработанного нами устройства (патент РФ 134772). Сыворотку получали центрифугированием крови без добавления

антикоагулянта при комнатной температуре (4000 об/мин, UC-1612, «ULAB», Китай) в течение 10 мин. Сразу после получения образцы сыворотки и КВВ замораживали и хранили в жидком азоте при $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения биохимических исследований.

Лабораторные методы исследования. Содержание селена, меди, цинка, железа, кобальта и марганца в образцах волос и КВВ определяли методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии (AA6300, «Shimadzu», Япония), а в ряде опытов – методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (Nexion 300D, «Perkin Elmer», США). Содержание калия и натрия в сыворотке крови и КВВ определяли с помощью ионоселективных электродов на анализаторе Olympus-400 («Beckman Coulter», США), магния и кальция – на атомно-адсорбционном спектрофотометре модель 703 («Perkin Elmer», США).

Уровень pH, парциальное давление углекислого газа ($p\text{CO}_2$) и кислорода ($p\text{O}_2$), насыщение гемоглобина кислородом (Sat.O_2), содержание угольной кислоты (H_2CO_3), актуальных бикарбонатов (АВ), суммы (ВВ), дефицита или избытка буферных оснований (ВЕ) в венозной крови исследовали с использованием автоматического анализатора газов крови ABL-330 («Radiometer», Дания): $p\text{O}_2$ измеряли амперометрическим методом, pH и $p\text{CO}_2$ – прямой потенциометрией, другие показатели рассчитывали [Pruden E.L. et al., 1994; Davis M.D. et al., 2013].

При оценке состояния ферментативного звена системы АОЗ в крови исследовали активность каталазы (КФ 1.11.1.6) по способности пероксида водорода образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс с максимумом поглощения при 410 нм [Королук М.А. и соавт., 1988], селензависимой глутатионпероксидазы (ГПО, КФ 1.11.1.9) и глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2), используя в качестве субстрата гидропероксида изопропилбензола [Кругликова Г.О. и соавт., 1976], супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) по степени ингибирования аутоокисления адреналина [Сирота Т.В., 1999]. О состоянии неферментативного звена системы АОЗ судили по содержанию в КВВ восстановленного глутатиона [Черницкий А.Е., 2009], в сыворотке (плазме) крови – витамина А [Miller K.W. et al., 1985], α -токоферола [Рецкий М.И. и соавт., 2010], L-аскорбиновой кислоты [Okamura M., 1980], а также общей антиокислительной активности (АОА) плазмы крови [Erel O., 2004]. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в крови и КВВ определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой [Рецкий М.И. и соавт., 2010], стабильных метаболитов оксида азота ($\text{NO}_x = \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) – с хлоридом ванадия (III) и реактивом Грисса [Близнецова Г.Н. и соавт., 2002]. Сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) оценивали по степени поглощения метиленового синего эритроцитарной массой [Тогайбаев А.А. и соавт., 1988], содержание веществ низкой и средней молекулярной массы – по реакции с трихлоруксусной кислотой и спектральной характеристике водного раствора супернатанта при 238, 254, 266 и 282 нм [Габриэлян Н.И. и соавт., 1985] с последующим расчетом индекса эндогенной интоксикации (ИЭИ) [Гребнева О.Л. и соавт., 2006]. Измерение оптической плотности исследуемых растворов проводили на спектрофотометре UV-1700 («Shimadzu», Япония). Концентрацию пероксида водорода в КВВ определяли с помощью флуоресцентного красителя Amplex Red Ultra («Invitrogen», США) на спектрофлуорофотометре RF-5301 PC («Shimadzu», Япония). Показатели железоиндуцированной хемилюминесценции

КВВ исследовали с помощью биохемилуминометра БХЛ-07 (ООО «Медозонс», Россия) [Андронов С.В. и соавт., 2012; Voronkova Y.G. et al., 2015].

Содержание глюкозы, мочевины, креатинина, холестерина, активность гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ) в образцах определяли на биохимическом анализаторе Hitachi-902 («Roche Diagnostics», Япония), концентрацию в крови молочной и пировиноградной кислот – на спектрофотометре UV-1700 («Shimadzu», Япония) методами, основанными на реакции с параоксидифенилом [Меньшиков В.В. и соавт., 1987] и 2,4-динитрофенилгидразином [Бабаскин П.М., 1976] соответственно. Концентрацию белка в сыворотке крови исследовали рефрактометрическим методом [Филиппович Ю.Б. и соавт., 1982], общих иммуноглобулинов – по реакции с сульфатом цинка [McEwan A.D. et al., 1970], гаптоглобина – риваноловым методом [Korinek J. et al., 1963; Геронимус И.И., 1968], содержание белка в КВВ и моче определяли на анализаторах Olympus-400 («Beckman Coulter», США) и PocketChem PU-4210 («Arkrey», Япония) соответственно. «Общую» (ОКА) и «эффективную» концентрацию альбумина (ЭКА) в сыворотке крови измеряли с помощью наборов производства НИИ Физико-химической медицины (Россия) на спектрофлуорофотометре RF-5301 PC («Shimadzu», Япония) [Миллер Ю.И. и соавт., 1994], рассчитывали коэффициент интоксикации $KI = (СМП / ЭКА) \times 1000$ и индекс токсичности $ИТ = (ОКА / ЭКА) - 1$ [Смирнов С.В. и соавт., 2003]. Содержание среднемолекулярных пептидов (СМП) в образцах определяли на спектрофотометре UV-1700 («Shimadzu», Япония) после осаждения белков этанолом по оптической плотности супернатанта при 210 нм [Скоупс Р., 1985; Гисак С.Н. и соавт., 1998].

Концентрацию в сыворотке крови эстрадиола, дигидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С), прогестерона, кортизола и альдостерона исследовали методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на анализаторе Униплан АИФР-01 (ЗАО «Пикон», Россия) с использованием коммерческих наборов производства ЗАО «НВО Иммунотех» (Россия) и «Diagnostic Biochem Canada Inc.» (Канада).

Гематологические исследования проводили на анализаторе Micros-60 («Horiba ABX», Франция), лейкограмму определяли путем дифференциального подсчета 200 лейкоцитов (ступенчатым методом) после окраски мазков крови по Романовскому; исследовали фагоцитарную активность нейтрофилов [Гостев В.С. и соавт., 1950], фагоцитарное число [Плященко С.И. и соавт., 1987], бактерицидную [Смирнова О.В. и соавт., 1966], лизоцимную [Каграманова К.А. и соавт., 1966] и комплементарную активность сыворотки крови [Вагнер Г.Ф., 1963]. Концентрацию катионных белков в нейтрофилах оценивали посредством микроскопии мазков крови, окрашенных Fast Green FCF («Sigma-Aldrich», США), и подсчета суммарного цитохимического коэффициента [Скорина И.А. и соавт., 1988].

Для выявления возбудителей инфекций, сопровождающихся поражением органов дыхания у телят, проводили бактериологические [Голубева И.В. и соавт., 1985; Сидоров М.А. и соавт., 1995] и молекулярно-генетические исследования трахеальных смывов методом ПЦР с детекцией в режиме реального времени (Rotor-Gene 6000, «Corbett Research Pty Ltd.», Австралия).

Состав равновесной газовой фазы (РГФ) над КВВ исследовали в статическом режиме на анализаторе газов «МАГ-8» с массивом 8-ми разно селективных

пьезосенсоров (ООО «Сенсорика-Новые технологии», Россия). В качестве селективных покрытий для пьезокварцевых резонаторов (сенсоров) в анализаторе газов «МАГ-8» использовали: (1) полиэтиленгликоль ПЭГ-2000, (2) дициклогексано-18-краун-6, (3) метиловый оранжевый, (4) тритон X-100, (5) бромкрезоловый зеленый или синий, (6) многослойные углеродные нанотрубки, карбоксилированные азотной кислотой, (7) полиэтиленгликоль себацинат или полидиэтиленгликоль сукцинат и (8) полиоксиэтилен сорбитан-моноолеат Tween 40. Выходные сигналы пьезосенсоров – относительные изменения частоты колебания каждого пьезосенсора (ΔF_i , Гц) во времени с шагом в 1 с в виде хроночастотограмм и аналитические сигналы ($\Delta F_{\max,i}$, Гц) – фиксировали в программном обеспечении «MAG-Soft» (ООО «Квадро Софт», Россия) [Кучменко Т.А., 2009].

Компьютерные программы для оценки риска развития и исхода респираторных заболеваний у телят разрабатывали на языке Object Pascal в интегрированной среде программирования Borland Delphi 7 с использованием радиальных нейронных сетей [Осовский С., 2004].

Статистические методы исследования. Статистическую обработку экспериментальных данных выполняли с использованием табличного процессора Microsoft Excel и пакета прикладных программ Statistica 8.0 («Stat Soft Inc.», США) и IBM SPSS Statistics 20.0 («IBM Corp.», США). Выборочные средние величины признаков, распределение которых подчинялось нормальному закону, сравнивали по критериям Фишера и Стьюдента; медианы признаков, распределение которых отличалось от нормального – по критерию Вилкоксона. Функциональные связи между признаками определяли с помощью критериев корреляции Спирмена и тау-Кендалла. ROC-анализ [DeLong E.R. et al., 1988] проводили в программе IBM SPSS Statistics 20.0 («IBM Corp.», США). При проверке статистических гипотез использовали 5% уровень значимости.

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ

2.2.1. Нарушения во внутриутробном периоде, предрасполагающие к развитию респираторных заболеваний у телят

2.2.1.1. Преэклампсия (гестоз) коров-матерей как фактор риска развития респираторных заболеваний у новорожденных

Обследовано 45 коров со сроком беременности 248-255 сут, в том числе 31 – с клиническими признаками преэклампсии (группа I) и 14 – с физиологическим течением беременности (группа II), а также полученные от них телята (n = 45).

Среди телят, полученных от коров группы I, бронхит регистрировали в 100,0%, бронхопневмонию в 38,7% случаев против соответственно 57,1% и 14,3% случаев среди потомства особей в группе II. У 25,8% новорожденных, полученных от матерей с преэклампсией, бронхит протекал в сочетании с анемией, у 67,7% – с омфалитом, у 77,4% – с гастроэнтеритом. Тяжелое течение омфалита наблюдали в 38,7% случаев, анемии (с содержанием гемоглобина в крови менее 70 г/л) – в 9,7% случаев. При физиологическом течении беременности таких осложнений не регистрировали.

Среди коров с симптомами преэклампсии обнаружили значительные межиндивидуальные различия по концентрации белка в моче, показателям

эндогенной интоксикации и содержанию стероидных гормонов в сыворотке крови, которые влияли на прогноз развития неонатальных заболеваний у их потомства.

Выявлены статистически значимые зависимости между накоплением СМП в сыворотке крови и коэффициентом интоксикации у коров-матерей и вероятностью развития у новорожденных бронхопневмонии ($r = +0,35$ и $+0,38$, $p < 0,05$) и омфалита ($r = +0,36$ и $+0,35$, при $p < 0,05$). С повышением протеинурии у матерей возрастала вероятность развития у телят сочетанной патологии омфалит-бронхит ($r = +0,32$, $p < 0,05$) и анемия-бронхит ($r = +0,33$, $p < 0,05$).

Функциональную недостаточность фетоплацентарной системы (ФПН) обнаружили у 71,0% коров с преэклампсией. С ФПН была связана ранняя (в 1-ю неделю жизни) манифестация бронхита ($r = +0,48$, $p < 0,01$), а также развитие омфалита ($r = +0,33$, $p < 0,05$) и гастроэнтерита ($r = +0,49$, $p < 0,01$) у новорожденных.

У телят, полученных от матерей с симптомами преэклампсии, диаметр пупка составлял 17,0-21,0 мм ($18,4 \pm 1,1$ мм, медиана 18,0), что было на 33,3% ($p < 0,01$) выше, чем у потомства животных с физиологическим течением беременности – 13,0-16,0 мм ($13,9 \pm 1,1$ мм, медиана 13,5). У 38,9% телят он был более 18,0 мм, что указывало на нарушение фетоплацентарного кровообращения [Золотарев А.И., 2011]. Статистически значимая зависимость обнаружена между нарушением фетоплацентарного кровообращения у коров и вероятностью развития бронхопневмонии ($r = +0,75$, $p < 0,01$) и гастроэнтерита ($r = +0,77$, $p < 0,01$) у новорожденных. Коэффициенты корреляции Спирмена между диаметром пупка у телят в первые 3 ч после рождения и тяжестью течения бронхопневмонии и гастроэнтерита составили соответственно +0,72 и +0,82 при $p < 0,01$.

Результаты ROC-анализа показали, что предикторами развития бронхопневмонии у новорожденных могут служить коэффициент интоксикации, содержание СМП и эстрадиола в сыворотке крови их матерей, а также диаметр пупка в первые 3 ч после рождения. Эти показатели характеризовались очень хорошей, хорошей и отличной диагностической ценностью (площадь под кривой AUC – соответственно 0,812; 0,782; 0,707 и 0,907), высокой чувствительностью (85,7; 85,7; 77,8 и 88,9%) и специфичностью (59,1; 81,8; 77,3 и 77,3%). Критические значения, отсекающие группу риска по развитию бронхопневмонии – соответственно более 18,08 и 0,555 усл. ед., менее 71,2 пмоль/л и более 17,5 мм. Наибольшая диагностическая ценность для прогнозирования раннего (в 1-ю неделю жизни) развития бронхита у телят установлена для содержания эстрадиола (AUC = 0,729) и соотношения прогестерон/эстрадиол (AUC = 0,750) в сыворотке крови их матерей: чувствительность – 70,8 и 54,2%, специфичность – 85,7 и 85,7%; критические значения, отсекающие группу риска по раннему развитию бронхита – менее 116,8 пмоль/л и более 571,0: 1.

Таким образом, развитие респираторных заболеваний у телят, полученных от коров с преэклампсией, было связано внутриутробными нарушениями фетоплацентарного кровообращения, ФПН и состоянием эндогенной интоксикации.

2.2.1.2. Влияние внутриутробной задержки развития эмбриона и плода у коров на клиничко-биохимический статус новорожденных телят

Обследовано 53 коровы: 28 – с ВЗРП и 25 – с физиологическим течением беременности (контроль), а также полученные от них телята ($n = 53$). У коров с ВЗРП на заключительном этапе беременности (230-240-е сут) установлена пониженная концентрация в сыворотке крови кортизола в 6,01 ($p < 0,001$), эстрадиола в 1,44 раза ($p < 0,001$), ДГЭА-С в 1,32 раза ($p < 0,001$) и повышенная – прогестерона в 1,70 раза ($p < 0,001$), соответственно по сравнению с контрольной группой. При этом показатель прогестерон-эстрадиолового соотношения у них был 29,8: 1, что в 2,44 раза ($p < 0,001$) выше по сравнению с коровами контрольной группы. Повышенный уровень СМП ($0,32 \pm 0,02$ усл. ед. против $0,23 \pm 0,02$ усл. ед. в контроле) и активность ГГТ ($256,7 \pm 20,0$ нкат/л против $166,7 \pm 5,0$ нкат/л в контроле) в сыворотке крови у матерей с ВЗРП указывали на наличие эндогенной интоксикации. Уровень СМП у коров коррелировал с вероятностью развития бронхопневмонии у их потомства ($r = +0,35$, $p < 0,05$).

У новорожденных телят с ВЗРП по сравнению с потомством коров с физиологическим течением беременности содержание в волосе кисти хвоста меди было снижено на 28,3% ($p < 0,001$), цинка на 10,7% ($p < 0,001$), марганца на 9,4% ($p < 0,001$), селена на 26,4% ($p < 0,001$), кобальта на 36,8% ($p < 0,001$), и указывало на внутриутробный дефицит этих микроэлементов. Активность каталазы в крови у них через 24 ч после рождения составила $26,7 \pm 1,4$ мкмоль H_2O_2 /(л×мин), ГПО – $6,84 \pm 0,70$ ммоль GSH/(л×мин), СОД – $0,53 \pm 0,07$ усл. ед., что было ниже на 14,4, 14,0 и 33,8% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с контролем. Тесная связь между дефицитом микроэлементов и функциональной недостаточностью ферментативного звена системы АОЗ у новорожденных телят подтверждалась наличием корреляций между содержанием меди в волосе и активностью СОД в крови ($r = +0,55$, $p < 0,05$), содержанием селена в волосе и активностью ГПО в крови ($r = +0,84$, $p < 0,01$). Обнаружены статистически значимые зависимости между соотношением S/tg2 α , отражающим баланс про- и антиоксидантной активности КВВ, и активностью каталазы ($r = -0,54$, $p < 0,01$), ГПО ($r = -0,49$, $p < 0,01$) и СОД ($r = -0,85$, $p < 0,01$) в крови. Увеличение у телят с ВЗРП по сравнению с контролем концентрации МДА в крови с $0,82 \pm 0,06$ до $1,04 \pm 0,08$ мкмоль/л и в КВВ с $48,2 \pm 24,9$ до $105,8 \pm 41,5$ нмоль/л свидетельствовало о возрастании системной и локальной (легкие) интенсивности ПОЛ на фоне функциональной недостаточности системы АОЗ.

Повышение в КВВ телят с ВЗРП по сравнению с контролем активности ГГТ с $5,2 \pm 3,2$ до $26,7 \pm 11,8$ нкат/л, АлАТ $11,3 \pm 7,3$ до $23,3 \pm 5,2$ нкат/л и АсАТ с $34,7 \pm 7,0$ до $56,3 \pm 5,3$ нкат/л указывало на повреждение клеток респираторного тракта и было связано с выходом этих ферментов в бронхоальвеолярную жидкость (БАЖ) [Хасина М.А. и соавт., 2004; Черницкий А.Е., 2009].

У телят с ВЗРП на фоне снижения МОД по сравнению с контролем с $14,4 \pm 2,8$ до $9,5 \pm 2,2$ л и ДО с $266,3 \pm 88,3$ до $210,7 \pm 55,8$ мл регистрировали повышение интенсивности респираторного влаговыведения: объем КВВ, образующийся за 1 мин и из 100 л выдыхаемого воздуха, возрастал соответственно с $0,07 \pm 0,02$ до $0,09 \pm 0,03$ мл и с $0,55 \pm 0,09$ до $0,92 \pm 0,31$ мл. Увеличение индекса Хильдебрандта у телят с ВЗРП (на 7,9% по сравнению с контролем, $p < 0,05$) свидетельствовало о нарушениях вегетативной регуляции.

Респираторные болезни регистрировали у 48,0% телят, полученных от коров с физиологическим течением беременности, и у 100,0% телят с ВЗРП, тяжелое течение

бронхита с осложнением в виде бронхопневмонии – соответственно у 12,0% и 85,7% животных. Обнаружены зависимости между вероятностью развития бронхопневмонии у телят и соотношением $S/tg2\alpha$ в КВВ ($r = +0,58$, $p < 0,01$), активностью в крови каталазы ($r = -0,68$, $p < 0,01$), ГПО ($r = -0,36$, $p < 0,05$) и СОД ($r = -0,62$, $p < 0,01$).

Таким образом, функциональная недостаточность системы АОЗ у новорожденных телят с ВЗРП, ассоциированная с внутриутробным дефицитом меди, цинка, марганца, селена и кобальта, приводит к оксидативному стрессу, накоплению токсичных продуктов ПОЛ в крови и БАЖ, структурно-функциональному повреждению клеток респираторного тракта и существенно повышает вероятность развития бронхопневмонии в неонатальный период.

2.2.2. Индивидуальная реактивность гранулоцитарной системы новорожденных телят и её роль в патогенезе респираторных заболеваний

У 20 телят исследовали содержание лейкоцитов, лейкограмму, концентрацию катионных белков в нейтрофилах, лизоцимную активность сыворотки крови (ЛАСК) через 1 ч после рождения, на 2-е, 5-7-е и 14-15-е сут жизни и их влияние на сроки возникновения и течение респираторных заболеваний. Ретроспективно животные были разделены на две группы: группа А ($n = 11$) – с содержанием лейкоцитов при рождении от $11,0 \times 10^9/\text{л}$ до $18,3 \times 10^9/\text{л}$ и сегментоядерных нейтрофилов (СЯН) более $4,0 \times 10^9/\text{л}$; группа Б ($n = 9$) – с содержанием лейкоцитов при рождении от $6,5 \times 10^9/\text{л}$ до $11,3 \times 10^9/\text{л}$ и СЯН менее $3,9 \times 10^9/\text{л}$. Динамика содержания гранулоцитов в крови у телят из этих групп в течение первых 15 сут жизни достоверно различалась, что было связано с разными фазами адаптационного синдрома (мобилизации, резистентности, истощения) и разными возможностями реакции их гранулоцитарной системы на действие раздражающих факторов согласно «закона исходной величины» по J. Wilder (1957). Повышенное содержание СЯН и палочкоядерных нейтрофилов (ПЯН) в крови у животных из группы А при рождении свидетельствовало об уже имеющейся активации костного мозга и не могло значительно возрастать даже в ответ на достаточно сильные раздражители. У телят из группы Б исходное количество СЯН и ПЯН было близко к физиологическим значениям, существенно повышалось на 2-е сут и снижалось к 5-7-м сут жизни. Концентрация катионных белков и ЛАСК у всех телят в период исследования были ниже величин, характерных для животных этого возраста, и свидетельствовали о низком бактерицидном потенциале СЯН.

У всех телят на 2-е сут жизни развивалась диарея. Продолжительность ее у особей группы Б составила $4,2 \pm 0,6$ сут, что в 2,1 раза ($p < 0,01$) меньше, чем в группе А. Первые симптомы бронхита (индуцированный кашель) в группе А регистрировали на $3,7 \pm 0,7$ сут, в группе Б – на 3...8 сут позже, у большинства животных течение болезни было легким, среднетяжелое течение наблюдали у 18,2% особей в группе А.

Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что у клинически здоровых телят при рождении реактивность клеточного звена врожденного иммунитета находится в разных фазах. У всех телят, в крови которых при рождении общее число лейкоцитов превышает $11,0 \times 10^9/\text{л}$, а СЯН – $4,0 \times 10^9/\text{л}$, респираторные заболевания проявляются уже в первую неделю жизни. Это связано с низкими адаптационными

возможностями их гранулоцитарной системы на действие неспецифических (стрессорных) и специфических (бактериальных) факторов.

2.2.3. Роль биохимического статуса новорожденных телят в формировании колострального иммунитета

Новорожденных телят ($n = 30$), отобранных случайным образом, разделили на три группы по концентрации общих иммуноглобулинов в сыворотке крови через 24 ч после рождения. В группу I вошли животные ($n = 13$) с содержанием их в сыворотке крови менее 10 г/л ($7,2 \pm 0,9$ г/л), в группу II ($n = 9$) – от 10 до 15 г/л ($12,4 \pm 0,5$ г/л), в группу III ($n = 8$) – более 15 г/л ($18,9 \pm 1,1$ г/л). Через 72 ч после рождения концентрация общих иммуноглобулинов в сыворотке крови телят составила в группе I $7,7 \pm 0,7$ г/л, в группах II и III – $13,2 \pm 0,4$ и $19,3 \pm 0,9$ г/л соответственно.

Поскольку регуляция нервно-мышечной проводимости и состояние мышечного тонуса у новорожденного связаны с содержанием кальция, магния и их соотношением в крови [Федорова М.В., 1982; Минченко Б.И., 1999], мы предположили, что кальций-магниевый дисбаланс опосредованно может нарушать формирование колострального иммунитета. Содержание магния в сыворотке крови у животных групп I и II через 24 ч после рождения было на 31,2 и 28,6% ($p < 0,01$) соответственно выше, чем в группе III ($0,77 \pm 0,05$ ммоль/л). Уровень кальция в сыворотке крови у всех телят находился в пределах нормы и существенно не различался между группами. При этом величина кальций-магниевого соотношения в сыворотке крови (Ca/Mg) у телят группы I составила $2,89 \pm 0,11$: 1, что на 10,2 и 22,5% меньше ($p < 0,05$), чем в группах II и III соответственно. У особей из группы II Ca/Mg было ниже по сравнению с таковым у животных группы III на 13,7% ($p < 0,05$). Та же зависимость сохранялась на 3-и сут жизни. В группе I появление уверенной позы стояния у телят регистрировали через $49,9 \pm 3,3$, в группах II и III – через $34,0 \pm 0,6$ и $29,8 \pm 1,6$ мин после рождения соответственно. Появление сосательного рефлекса у телят группы I отмечали через $42,1 \pm 3,2$ мин после рождения, у животных групп II и III – через $28,0 \pm 0,6$ и $26,8 \pm 0,8$ мин соответственно. Установлена обратная зависимость между величиной Ca/Mg в 1-сут возрасте и временем появления сосательного рефлекса ($r = -0,39$, $p < 0,05$) и уверенной позы стояния ($r = -0,37$, $p < 0,05$) у телят. Достоверная взаимосвязь Ca/Mg установлена так же с содержанием общих иммуноглобулинов в сыворотке крови ($r = +0,41$, $p < 0,05$), с соотношением молочной и пировиноградной кислот в крови ($r = -0,41$, $p < 0,05$) на 3-и сут жизни. У телят группы I содержание молочной кислоты в крови составило $2,9 \pm 0,3$ ммоль/л, что было выше уровня у животных групп II и III на 51,3 и 83,1% соответственно ($p < 0,05$) и указывало на наличие гипоксии [Рецкий М.И. и соавт., 2010]. Соотношение молочной и пировиноградной кислот в крови у телят групп I и II превышало средние значения данного показателя в группе III ($9,7 \pm 0,6$: 1) на 90,2 и 17,2% соответственно ($p < 0,05$). При этом создавались условия для протекания окислительных реакций по ацидоззависимому механизму с образованием токсичных продуктов ПОЛ.

Так, концентрация МДА в крови у особей в группах I и II на 3-и сут жизни была на 40,2 и 69,6% ($p < 0,05$) соответственно выше, чем в группе III ($1,12 \pm 0,12$ мкмоль/л). В тоже время активность каталазы в крови животных групп I и II снижалась

относительно показателя в группе III ($32,7 \pm 2,1$ мкмоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{л} \times \text{мин}$) на 25,4 и 23,4%, а АОА плазмы крови ($50,3 \pm 1,3\%$) – на 23,9 и 11,1% соответственно ($p < 0,05$).

Об интенсивности всасывания колостральных иммуноглобулинов из кишечника судили по активности ГГТ в сыворотке крови телят [Рецкий М.И. и соавт., 2008]. У животных из группы I активность фермента в 1-е сут жизни составила $1,65 \pm 0,18$ мккат/л, что в 4,39 и 9,04 раза соответственно ($p < 0,01$) ниже по сравнению с особями из групп II и III, а у телят из II группы – $7,25 \pm 0,21$ мккат/л, что в 2,06 раза ($p < 0,05$) ниже, чем у животных группы III.

Таким образом, состояние колострального иммунодефицита у новорожденных телят было ассоциировано с нарушениями кальций-магниевого гомеостаза и избыточным накоплением в крови токсичных продуктов ПОЛ в условиях длительной (более 48 ч после рождения) гипоксии и ацидоза.

2.2.4. Функциональное становление дыхательной системы у новорожденных телят с разным уровнем жизнеспособности

Жизнеспособность (ЖС) телят оценивали по 10 признакам шкалы VIGOR [Murray C.F., 2014], подобной шкале Апгар, используемой у людей. Обследовано 100 телят красно-пестрой породы с массой тела 29-45 кг и гестационным возрастом при рождении 268-284 дней, 5 групп по $n = 20$ каждая: (1) с отличной ЖС 26-27 баллов по шкале VIGOR; (2) с очень хорошей ЖС 23-25 баллов; (3) с хорошей ЖС 21-22 баллов; (4) с маргинальной ЖС 17-20 баллов; (5) с низкой ЖС менее 17 баллов. На 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сут жизни у животных определяли частоту сердечных сокращений (ЧСС), частоту дыхания (ЧД) в мин, соотношение ЧСС/ЧД (индекс Хильдебрандта), минутный объем дыхания (МОД) и дыхательный объем (ДО). Установлено, что транзиторная гипервентиляция у телят групп 1 и 2 завершалась к 3-му дню, в группе 3 к 7-му дню жизни и приводила к расправлению легких, что проявлялось увеличением ДО на 34,6-47,8% ($p < 0,01$) по сравнению с уровнем в 1-е сут, без изменений МОД. У телят групп 4 и 5 транзиторная гипервентиляция была менее выраженной, а значения ДО на 3-7-е сут существенно не отличались от уровня в 1-е сут жизни. ЧСС у телят групп 1, 2 и 3 к 7-му дню снижалась на 31,7; 18,0 и 16,4% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с 1-ми сут жизни, у животных групп 4 и 5 существенно не изменялась. Повышенные значения индекса Хильдебрандта у телят группы 5 на 39,9% ($p < 0,05$) на 7-й день и на 57,3% ($p < 0,01$) на 14-й день по сравнению с группой 1 ($p < 0,05$) свидетельствовали о расстройстве вегетативной регуляции и перенапряжении кардиореспираторной функциональной системы.

На следующем этапе дополнительно с определением ЧСС и спирометрическими исследованиями у телят ($n = 19$) анализировали интенсивность респираторного влаговыделения, уровень рН и концентрацию электролитов (калия, натрия, кальция, магния) в КВВ, а также показатели кислотно-основного состояния (КОС) и газового состава венозной крови. Установлено, что через 24 ч после рождения у жизнеспособных телят ($24,3 \pm 1,9$ баллов по шкале VIGOR) КОС характеризовался как компенсированный респираторный ацидоз. Об этом свидетельствовали рН крови $7,33 \pm 0,01$, $p\text{CO}_2$ $50,9 \pm 1,4$ мм рт. ст., $\text{BE} +0,24 \pm 0,17$ ммоль/л и АВ $26,7 \pm 0,6$ ммоль/л; $p\text{O}_2$ и Sat.O_2 составляли $24,9 \pm 1,3$ мм рт. ст. и $31,7 \pm 3,0\%$ соответственно. У телят с пониженной ЖС ($17,2 \pm 1,7$ баллов по шкале

VIGOR) в суточном возрасте КОС характеризовался как компенсированный респираторно-метаболический ацидоз, на что указывали рН крови $7,27 \pm 0,01$, pCO_2 $57,0 \pm 1,1$ мм рт. ст., ВЕ $-2,10 \pm 0,46$ ммоль/л, АВ $25,3 \pm 0,5$ ммоль/л.

С завершением транзиторной гипервентиляции, на 3-и сут жизни, у жизнеспособных телят ВЕ повышался по сравнению с суточным возрастом в 10,4 раза ($p < 0,001$), а ВВ – на 6,7% ($p < 0,05$), что свидетельствовало о полной метаболической компенсации послеродового ацидоза. При этом pO_2 и Sat. O_2 повышались на 16,9 и 22,4% ($p < 0,05$) соответственно, а к 7-м сут жизни еще в большей степени – на 55,8 и 28,1% ($p < 0,01$) соответственно. Другие показатели КОС – рН крови, pCO_2 , АВ, H_2CO_3 , АВ/ H_2CO_3 – нормализовались в течение суток после рождения и с возрастом существенно не изменялись.

У телят с пониженной ЖС pO_2 и Sat. O_2 с 1-х по 3-и сут жизни достоверно не изменялись и лишь 7-му дню повышались на 21,2 и 33,3% ($p < 0,05$) соответственно. Гипоксическое состояние и респираторно-метаболический ацидоз у них сохранялись до 7-го дня жизни, о чем свидетельствовали низкое pO_2 $24,6 \pm 1,5$ мм рт. ст. и Sat. O_2 $30,4 \pm 3,0\%$, ВЕ $-0,98 \pm 1,41$ ммоль/л, ВВ $41,0 \pm 0,7$ ммоль/л и рН крови $7,29 \pm 0,01$.

Объем влаги, выделяемой при дыхании, у жизнеспособных телят в суточном возрасте составил $0,58 \pm 0,05$ мл/100 л выдыхаемого воздуха и в течение 2-х недель существенно не изменялся. С завершением транзиторной гипервентиляции, при компенсации послеродового метаболического ацидоза, рН КВВ у них повышался по сравнению с уровнем в 1-е сут ($7,57 \pm 0,06$) на 3,0-5,2% ($p < 0,05$). У телят с пониженной ЖС увеличения рН КВВ с возрастом не происходило, а объем КВВ, образующийся из 100 л выдыхаемого воздуха, превышал средние значения у жизнеспособных животных на 57,3-91,4% ($p < 0,01$). Содержание натрия и калия в КВВ через 24 ч после рождения у них было на 30,4 и 31,3% выше ($p < 0,01$), а кальция и магния на 31,3 и 30,0% ниже ($p < 0,01$), чем у жизнеспособных животных. У жизнеспособных телят электролитный состав КВВ с возрастом существенно не изменялся. У особей с пониженной ЖС содержание калия в КВВ через 72 ч после рождения повышалось на 33,3% ($p < 0,05$), к 7-му и 14-му дням – на 45,2 и 54,8% ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с уровнем в 1-е сут, других элементов – достоверно не изменялась. На 7-е сут жизни содержание натрия и калия в КВВ у них было на 25,8 и 110,3% выше ($p < 0,01$), а кальция и магния на 38,9 и 45,5% ниже ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с жизнеспособными телятами. Повышенное выделение воды, натрия и калия, и пониженное – кальция и магния с выдыхаемым воздухом у них, по-видимому, было связано с избыточной секрецией бронхиальных желез в условиях гипоксии и ацидоза, а также нарушением процессов эпителиальной абсорбции воды и электролитов.

2.2.5. Характеристика кислотно-основного состояния и газового состава венозной крови у телят в норме и при дыхательной недостаточности

Установлено, что у здоровых телят в возрасте 14-28 дней время возвращения дыхательных движений к исходным значениям (в покое) после 15-ти минутного прогона не превышало 4,8 мин. При дыхательной недостаточности (ДН) оно составляло 4,9-10,5 мин или более.

У здоровых телят ($n = 24$) КОС характеризовался как компенсированный респираторный алкалоз (75,0%) и компенсированный метаболический ацидоз (25,0%) (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели КОС и газового состава венозной крови у здоровых и с признаками дыхательной недостаточности телят в возрасте 14-28 дней

Показатель	Группа телят			
	Здоровые ($n = 24$)		С признаками ДН ($n = 24$)	
Тип КОС	A ($n = 18$)	B ($n = 6$)	C ($n = 11$)	D ($n = 13$)
pH	7,35±0,05	7,31±0,02	7,43±0,01	7,24±0,01
pCO ₂ , мм рт. ст.	42,2±0,8	41,1±0,2	54,1±0,4	54,0±0,2
pO ₂ , мм рт. ст.	37,2±0,4	35,7±0,4	25,2±1,4	20,3±0,3
AB, ммоль/л	23,9±0,2	20,1±0,5	33,9±0,8	23,1±0,4
BE, ммоль/л	-1,9±0,4	-6,5±0,3	+9,2±0,8	-5,7±0,2
H ₂ CO ₃ , ммоль/л	1,28±0,02	1,23±0,04	1,62±0,01	1,63±0,04
AB/H ₂ CO ₃	19,0±0,4: 1	16,4±0,6: 1	22,3±0,9: 1	13,3±0,6: 1
BB, ммоль/л	40,3±0,1	35,6±0,2	51,2±0,9	36,1±0,1

Примечание: А – компенсированный респираторный алкалоз, В – компенсированный метаболический ацидоз, С – частично компенсированный метаболический алкалоз, D – декомпенсированный респираторно-метаболический ацидоз.

При компенсированном респираторном алкалозе незначительное первичное снижение pCO₂ в венозной крови уравнивалось BE, вследствие чего pH крови сохранялся в пределах нормы, pO₂ – на оптимальном уровне. При компенсированном метаболическом ацидозе первичный дефицит актуальных бикарбонатов AB и буферных оснований BE в крови компенсировался снижением pCO₂, сохраняя величину pH в оптимальных пределах; pO₂ в крови было в пределах нормы.

Основные нарушения КОС, сопровождающие ДН у телят ($n = 24$), характеризовались как частично компенсированный метаболический алкалоз (45,8%) и декомпенсированный респираторно-метаболический ацидоз (54,2%). В обоих случаях обнаружено снижение pO₂ и повышение pCO₂ в крови (таблица 1).

У всех животных 30-ти секундная искусственная задержка дыхания (апноэ) на выдохе приводила к дефициту кислорода и повышению pCO₂ в крови. Однако у здоровых телят увеличение потребности организма в кислороде и выведении избытка углекислого газа компенсировалось повышением ЧД и объема легочной вентиляции: pO₂ и pCO₂ в венозной крови восстанавливались до исходных значений в течение 1 мин после апноэ. Отношение ЧД после апноэ к ЧД до апноэ у здоровых телят варьировало от 1,07 до 1,68 и составило в среднем 1,29±0,03.

У телят с ДН после 30-ти секундного апноэ наблюдалось значительное повышение ЧД и МОД, в то время как ДО существенно не изменялся, появлялась одышка, дыхание становилось поверхностным. Через 1 мин после апноэ pCO₂ в крови оставалось на 18,7% ($p < 0,05$) выше, а pO₂ на 27,8% ($p < 0,05$) ниже по сравнению с исходными значениями. Отношение ЧД после апноэ к ЧД до апноэ составило 1,43-3,89, в среднем 2,24±0,15.

2.2.6. Разработка методов ранней диагностики респираторных заболеваний у телят

2.2.6.1. Определение концентрации пероксида водорода в выдыхаемом воздухе у телят

Для определения концентрации пероксида водорода в выдыхаемом воздухе у телят нами разработан способ, включающий конденсирование и охлаждение выдыхаемого воздуха с помощью устройства для сбора КВВ с последующей оценкой концентрации пероксида водорода (патент РФ 2614621). Для определения концентрации пероксида водорода использовали флуорометрическое измерение концентрации H_2O_2 с волной облучения 568 нм и волной эмиссии 581 нм в растворе на основе флуоресцентного красителя Amplex Red Ultra («Invitrogen», США), где 1 мл раствора содержит следующие реагенты: 20 ммоль HEPES (pH 7,4); 1 ммоль ЭДТА; 10 мкмоль Amplex Red Ultra; 4 ед. пероксидазы хрена.

Установлено, что у здоровых телят ($n = 15$) концентрация пероксида водорода в выдыхаемом воздухе в утренние часы до кормления варьирует от 0,146 до 0,435 (в среднем $0,270 \pm 0,099$, медиана 0,235) нмоль/100 л и существенно не изменяется в течение первого месяца жизни. При бронхите ($n = 15$), она повышается до $0,834 \pm 0,217$ ($0,549-1,214$, медиана 0,822) нмоль/100 л, или в 3,50 раза ($p < 0,001$), при бронхопневмонии ($n = 12$) – до $1,127 \pm 0,197$ ($0,903-1,377$, медиана 1,178) нмоль/100 л, или в 5,01 раза ($p < 0,001$).

2.2.6.2. Индуцированный кашель в ранней диагностики респираторных заболеваний у телят

Обследовано 60 телят в возрасте 7-14 дней с клинической оценкой по шкале WI [McGuirk S.M., 2008] от 0 до 3 баллов, без самопроизвольного кашля, 3 группы по $n = 20$ каждая. У животных исследовали число лейкоцитов в крови, лейкограмму, концентрацию гаптоглобина в сыворотке крови, уровень pH КВВ и концентрацию пероксида водорода в выдыхаемом воздухе. Для провокации кашля телятам внутривенно вводили 0,6% раствор пероксида водорода на 0,9% растворе хлорида натрия в дозе 0,4 мл на кг массы тела [Черницкий А.Е., 2009], проводили пальпацию последнего кольца трахеи [Золотарев А.И. и соавт., 2008] и 30-ти секундную искусственную задержку дыхания (апноэ) на выдохе. В группе I кашель у телят не удалось вызвать ни одним из трех способов, в группе II кашлевую реакцию наблюдали после 30-ти секундного апноэ и H_2O_2 -индуцированной бронхоконстрикции. Пальпация последнего кольца трахеи кашель не вызывала. В группе III кашель у телят регистрировали при всех трех способах его провокации. За животными в течение 2-х недель вели ежедневное клиническое наблюдение, проводили спирометрию, оценивали состояние по шкале WI, учитывали сроки появления симптомов, тяжесть и длительность течения респираторных заболеваний.

У телят группы I гематологические и биохимические признаки воспаления отсутствовали, на протяжении опыта температура тела, ЧСС и ЧД, МОД и ДО находились на оптимальном физиологическом уровне, оценка по шкале WI не превышала 3 балла, при пальпации последнего трахеального кольца, верхней и средней трети трахеи, после 30-ти секундного апноэ кашля не наблюдали.

У животных группы II обнаружили лейкоцитоз $(9,48 \pm 2,50) \times 10^9/\text{л}$ со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, снижение рН КВВ $(6,59 \pm 0,18)$, повышенное содержание гаптоглобина в сыворотке крови $(4,27 \pm 0,76 \text{ г/л})$ и пероксида водорода в выдыхаемом воздухе $(0,72 \pm 0,12 \text{ нмоль/100 л})$, через 6-12 сут наблюдали разгар бронхита: появление самопроизвольного кашля с выбросом мокроты, при аускультации грудной клетки сухие или влажные крупно- и мелкопузырчатые хрипы, смешанную одышку, серозные истечения из носовой полости, гиперемию слизистой оболочки носа, повышение температуры тела до 40°C .

Лейкоцитоз $(10,98 \pm 2,45) \times 10^9/\text{л}$ со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, снижение рН КВВ $(6,38 \pm 0,13)$, повышенное содержание гаптоглобина в сыворотке крови $(4,76 \pm 0,97 \text{ г/л})$ и пероксида водорода в выдыхаемом воздухе $(0,78 \pm 0,14 \text{ нмоль/100 л})$ у телят группы III также указывали на наличие воспалительного процесса в органах дыхания. Через $8,2 \pm 0,9$ сут у них наблюдали развитие симптомокомплекса трахеобронхита: появление звонкого болезненного кашля, сухих или влажных крупнопузырчатых хрипов в трахее и бронхах, серозно-катаральных носовых истечений, повышение чувствительности трахеи при пальпации, увеличение ЧСС до 100 и ЧД 48 в мин.

Таким образом, 30-ти секундное апноэ и H_2O_2 -индуцированная бронхоконстрикция позволяют проводить диагностику бронхита у телят за 6-12 сут до развития его симптомокомплекса (разгара), когда другие признаки болезни ещё отсутствуют, а, согласно оценке по шкале WI (0-3 балла), животные считаются здоровыми. Появление кашля при пальпации последнего трахеального кольца свидетельствует о наличии ранних проявлений трахеобронхита у телят, а при пальпации средней и верхней трети трахеи – о поздних стадиях трахеобронхита и трахеита. Последовательное выполнение пальпации последнего трахеального кольца и 30-ти секундного апноэ для провокации кашля у телят позволяет проводить дифференциальную диагностику ранних проявлений бронхита и трахеобронхита.

2.2.6.3. Применение «электронного носа» для оценки функционального состояния дыхательной системы и диагностики респираторных заболеваний у телят по составу РФФ над пробами КВВ

Объектом исследования служили 32 пробы КВВ объемом 1,0 мл от телят в возрасте 7-28 дней. Всех телят подвергали детальному клиническому исследованию с обязательным лабораторным контролем: определяли гематологические и биохимические показатели воспаления в крови (число лейкоцитов, лейкограмма, содержание гаптоглобина в сыворотке) и КВВ (уровень рН, содержание пероксида водорода), для выявления возбудителей инфекций, сопровождающихся поражением органов дыхания, проводили бактериологические и ПЦР-исследования трахеальных смывов. По результатам клинико-лабораторных исследований животных разделили на 3 группы: I – «здоровые со стороны дыхательной системы» ($n = 7$); II – «с субклиническим течением респираторных заболеваний» ($n = 15$); III – «с симптомами поражения органов дыхания» ($n = 10$). У телят группы I температура тела находилась в пределах нормы ($37,5-39,5^\circ\text{C}$), самопроизвольный, индуцированный кашель и другие симптомы поражения органов дыхания отсутствовали, оценка по шкале WI составила $2,8 \pm 0,3$ баллов. У животных группы II в 60,0% случаев регистрировали

индуцированный кашель, в 13,3% одышку, в 26,6% повышение температуры более 39,5 °С, при этом оценка по шкале WI составила 3,9±0,3 баллов. У всех телят группы III регистрировали спонтанный и (или) индуцированный кашель, в 50,0% одышку, в 80,0% хрипы при аускультации грудной клетки, в 40,0% случаев – повышение температуры более 39,5 °С, оценка по шкале WI составила 6,2±0,9 баллов; у 4-х животных диагностировали бронхопневмонию, у 6-ти – трахеобронхит.

Концентрация пероксида водорода в выдыхаемом воздухе у телят группы I составила 0,24±0,09 нмоль/100 л, у животных групп II и III была повышенной – 0,74±0,18 и 1,02±0,35 нмоль/100 л соответственно, и указывала на наличие воспалительного процесса в органах дыхания. Гематологические признаки воспаления регистрировали у 42,9% телят в группе I, у 66,7% и 80,0% животных в группах II и III соответственно. Бактериальное обсеменение трахеального смыва у телят группы I варьировало от 36 до 365 (в среднем 215,3±96,1) КОЕ/мл, у животных группы II в 73,3% случаев составляло от 79,5 до 410 КОЕ/мл, в 26,7% было повышенным (8850-10000 КОЕ/мл), в группе III варьировало от 8100 до 72000 КОЕ/мл. У 80,0% телят группы III из трахеальных смывов выделен геном *M. bovis*. Инфицированность телят группы II *M. bovis* составила 53,3%, в 20,0% случаев выделен геном ротавируса, в 13,3% – аденовируса; у животных группы I геном рота- и аденовируса из трахеальных смывов не выделен, геном *M. bovis* обнаружен в 42,9% проб.

На первом уровне обработки данных были получены «визуальные отпечатки» максимальных сигналов сенсоров в РФФ над пробами КВВ. Они отличались для разных возрастных групп животных. Для телят в возрасте до 10 дней из всех диагностических групп были характерны максимальные сигналы сенсоров 3 и 4, что указывало на большое число аминов и кислот в РФФ над пробами КВВ. По мере развития симптомов поражения органов дыхания у них увеличивался сигнал сенсора 8 и уменьшался сигнал сенсора 1, что указывало на появление в РФФ аминоспиртов, ацетокислот, как продуктов неправильного окисления аминокислот, в том числе микробного происхождения. Для телят в возрасте 14-28 дней здоровых со стороны дыхательной системы максимальные значения откликов были характерны для сенсоров 1, 6 и 2, что свидетельствовало о наличии в РФФ над пробами КВВ животных паров воды, легких газов и полярных кислородсодержащих веществ. В группе телят с симптомами поражения органов дыхания в этом возрасте отмечали значительное увеличение сигналов для сенсора 4, что указывало на увеличение в пробах общего содержания летучих веществ, особенно гетероатомных. При этом уменьшались сигналы сенсоров 5 и 7, что указывало на снижение содержания летучих аминов в пробах КВВ и преобладание метаболитов патогенной микрофлоры. Последнее доказывается присутствием в пробах, по результатам бактериологических исследований, энтерококков и патогенных микроскопических грибов.

Для проб КВВ от телят 14-28 дней с субклиническим течением респираторных заболеваний были характерны сильные различия в форме «визуальных отпечатков» максимальных сигналов сенсоров, так, что пробы могли быть отнесены как к группе условно-здоровых, так и к группе больных животных.

Для более детальной оценки постоянства состава РФФ над пробами КВВ и идентификации веществ-маркеров респираторных заболеваний рассчитывали

дополнительные параметры сорбции (A_{ij}^{\max} , m_{ijn} , α_{ijn} – второй уровень обработки данных). С помощью этих параметров установлены особенности состава РГФ для биопроб в зависимости от возраста телят (таблица 2).

Таблица 2 – Соединения, идентифицируемые в РГФ над пробами КВВ телят

Здоровые со стороны дыхательной системы	С субклиническим течением респираторных заболеваний	С симптомами поражения органов дыхания
В возрасте до 10 дней		
Этанол, бутанол, масляная кислота, этандиаль, триэтиламин, C ₁ -C ₃ алкиламин		
Уксусная кислота	Бензальдегид, метилбензальдегид	Сероводород, сульфиды
Аммиак, алкиламины		
ИМК, ВК, фенол, этилацетат, аминокспирты		
В возрасте 14-28 дней		
Уксусная, масляная, изомасляная кислоты		
Этанол, бутанол		Ацетон, СВ, сульфиды
Изовалериановая кислота, фенол, этилацетат		

Примечание: ИМК – изомасляная кислота, ВК – валериановая кислота, СВ – сероводород.

Применение хемометрических методов (третий уровень обработки данных), позволило получить максимальную диагностическую информацию и прогнозировать клиническое состояние животного.

Методом проекции на латентные структуры построена регрессионная модель, прогнозирующая клиническую оценку животного по шкале WI, которая позволяет выделять все диагностические группы с погрешностью менее 4%. При этом наиболее важными диагностическими параметрами являются m_{136} , α_{137} , α_{138} , α_{168} , A_{16}^{\max} . Также построена регрессионная ПЛС-модель, позволяющая прогнозировать бактериальное обсеменение трахеального смыва (КОЕ/мл) у телят с ошибкой менее 20%, при этом наиболее важными являются параметры m_{237} , m_{267} , α_{275} , α_{427} , α_{276} , A_{27}^{\max} . Для дифференциальной диагностики бронхита и бронхопневмонии наиболее информативными оказались параметры α_{128} и α_{278} .

Для скрининговой оценки состояния телят («здоровый со стороны дыхательной системы» / «с воспалительными заболеваниями органов дыхания») предложен показатель воспаления (ПВ), отражающий особенности состава РГФ над пробами КВВ и рассчитываемый по формуле:

$$ПВ = \frac{\sqrt{\Delta F_{ТХ-100}^2 + \Delta F_{БКС}^2 - \Delta F_{ТХ-100} \cdot \Delta F_{БКС} \cdot \sqrt{2}}}{\sqrt{\Delta F_{БКС}^2 + \Delta F_{МУНТ}^2 - \Delta F_{БКС} \cdot \Delta F_{МУНТ} \cdot \sqrt{2}}},$$

где $\Delta F_{БКС}$, $\Delta F_{ТХ-100}$ и $\Delta F_{МУНТ}$ – наибольшее изменение частоты колебания пьезосенсора с пленкой бромкрезолового синего (5), тритона X-100 (4) и многослойные углеродные нанотрубки, карбоксилированные азотной кислотой (6) соответственно.

Установлено, что для животных, здоровых со стороны дыхательной системы, ПВ принимает минимальные значения, что свидетельствует о равном соотношении легких газов основной природы и общего количества летучих веществ в РГФ над пробами КВВ, при значениях ПВ больше $1,2 \pm 0,1$ у телят диагностируют наличие воспалительных заболеваний органов дыхания.

Таким образом, установленные нами параметры массива сенсоров «электронного носа» могут быть представлены в визуальной форме в виде диаграмм или графиков математических моделей и позволяют надежно ранжировать пробы КВВ телят на диагностические группы «здоровые со стороны дыхательной системы», «с субклиническим течением респираторных заболеваний» и «с симптомами поражения органов дыхания».

2.2.7. Изменения биохимического профиля новорожденных телят при развитии респираторных заболеваний и в саногенезе

2.2.7.1. Динамика показателей оксидативного стресса и эндогенной интоксикации у телят при развитии бронхита и бронхопневмонии

Обследовано 45 телят в возрасте 7-14 дней: 15 здоровых животных и 30 особей с первыми признаками бронхита – кашлем после 30-секундного апноэ и 15-минутного прогона. Самопроизвольный кашель, хрипы, одышка и носовые истечения у животных отсутствовали, клиническая оценка по шкале WI [McGuirk S.M., 2008] не превышала 3 баллов. В течение двух недель за телятами вели ежедневное клиническое наблюдение. Животные, оставшиеся здоровыми, служили контролем (группа I). Больных ретроспективно разделили на две группы. У телят группы II (n = 18) регистрировали бронхит легкой и средней тяжести, у животных группы III (n = 12) – тяжелое течение бронхита с осложнением в виде бронхопневмонии. Отбор проб крови и КВВ у здоровых телят проводили однократно, у больных животных дважды – при первых симптомах и разгаре болезни. У всех телят в начале опыта получали образцы волос кисти хвоста для оценки их микроэлементного статуса.

При появлении индуцированного кашля у телят обнаружено снижение функциональной активности системы АОЗ и повышенное содержание вторичных продуктов ПОЛ в крови и КВВ, свидетельствующее о наличии оксидативного стресса. При этом активность основных антиоксидантных ферментов в крови у телят, впоследствии заболевших бронхопневмонией, была достоверно ниже как по сравнению с группой здоровых животных, так и с группой телят с неосложненным бронхитом (таблица 3). У особей из группы III активность каталазы в крови была ниже на 17,6% (p < 0,05), ГПО на 14,3% (p < 0,05), СОД на 37,1% (p < 0,01) по сравнению с животными из группы II. У телят из группы III содержание меди в волосе кисти хвоста составило 5,90±0,37 мг/кг, цинка 78,0±7,8 мг/кг, марганца 7,89±0,86 мг/кг, селена 249,3±57,6 мкг/кг и кобальта 47,7±3,5 мкг/кг – соответственно на 30,2, 18,9, 8,7, 35,4 и 37,6% (p < 0,001) ниже по сравнению с животными из группы II. Содержание в крови телят неферментативных антиоксидантов (витамина А, α-токоферола и L-аскорбиновой кислоты) на этой стадии развития болезни между группами II и III достоверно не различалось. При этом концентрация L-аскорбиновой кислоты в плазме крови животных из групп II и III была на 26,3 и 15,7% (p < 0,05), а АОА плазмы на 22,3 и 32,8% (p < 0,01) соответственно ниже (p < 0,05), чем у здоровых особей.

Развитие эндогенной интоксикации у телят из групп II и III сопровождалось повышением содержания в сыворотке их крови СМП на 33,3 и 81,0% (p < 0,01) и ИЭИ на 19,7 и 47,9% (p < 0,01) соответственно по сравнению с показателями в группе I. При этом у особей из группы III уровень СМП в сыворотке крови был выше на 35,7%

($p < 0,01$), а ИЭИ на 23,5% ($p < 0,05$) по сравнению с животными из группы II. Ещё в большей степени эти показатели возрастали при разгаре болезни (таблица 3).

Содержание восстановленного глутатиона в КВВ у телят из групп II и III было на 51,9 и 61,5% соответственно ниже ($p < 0,001$) по сравнению с животными из группы I ($11,39 \pm 0,33$ мкмоль/мг белка). Известно, что у млекопитающих основными антиоксидантами БАЖ являются L-аскорбиновая кислота и глутатион, причем концентрация последнего в бронхах в 70 раз выше, чем в сыворотке крови [Cantin A.M. et al., 1987; Cross C.T. et al., 1994].

Таблица 3 – Показатели оксидативного стресса и эндогенной интоксикации, определяемые в крови телят

Показатель	Группа телят		
	I (n = 15)	II (n = 18)	III (n = 12)
МДА, мкмоль/л	0,99±0,09	<u>1,39±0,17*</u> 1,67±0,31*	<u>1,33±0,29*</u> 2,36±0,40**
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /(л×мин)	34,9±3,1	<u>30,1±2,4</u> 23,2±1,1*	<u>24,8±3,0**</u> 16,9±3,3**
ГПО, ммоль GSH/(л×мин)	14,5±1,9	<u>9,1±0,7*</u> 7,8±0,6*	<u>7,8±0,2**</u> 7,2±0,4*
СОД, усл. ед.	0,99±0,18	<u>0,70±0,12</u> 0,50±0,13*	<u>0,44±0,11**</u> 0,29±0,04**
Витамин А, мкмоль/л	1,15±0,23	<u>0,61±0,05*</u> 0,36±0,07*	<u>0,56±0,22*</u> 0,34±0,08*
А-токоферол, мкмоль/л	7,3±1,0	<u>7,1±0,8</u> 4,2±0,7*	<u>7,6±0,8</u> 4,2±0,6*
L-аскорбиновая кислота, мкмоль/л	31,2±2,9	<u>23,0±2,2*</u> 16,6±1,5*	<u>26,3±2,9*</u> 11,4±1,2**
АОА плазмы, %	57,3±6,7	<u>44,5±5,4*</u> 29,7±4,6*	<u>38,5±4,4*</u> 21,0±1,9**
СМП, усл. ед.	0,21±0,03	<u>0,28±0,03*</u> 0,36±0,02*	<u>0,38±0,05**</u> 0,50±0,07**
ИЭИ, усл. ед.	14,2±0,7	<u>17,0±0,9*</u> 18,8±1,3*	<u>21,0±1,0**</u> 24,6±2,0**

Примечание: над чертой – показатели при первых симптомах болезни, под чертой – показатели при разгаре болезни. * и ** Различия статистически значимы по сравнению с группами I и II соответственно при $p < 0,05$.

Закономерно, что снижение содержания восстановленного глутатиона в КВВ, а, следовательно, и в БАЖ, у телят при первых симптомах бронхита сопровождалось повышением интенсивности ПОЛ. Так, концентрация МДА в выдыхаемом воздухе у телят из групп II и III возрастала в 3,88 и 4,60 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с уровнем у здоровых животных. При этом содержание МДА и пероксида водорода в выдыхаемом воздухе у особей, впоследствии заболевших бронхопневмонией, было на 18,5% ($p < 0,05$) и 32,3% ($p < 0,01$) соответственно выше, чем у телят с неосложненным бронхитом. Различий по содержанию МДА в крови животных между группами II и III на этой стадии развития болезни не выявлено.

Развитие оксидативного стресса сопровождалось повышением NO-реактивности дыхательных путей у телят, на что указывало увеличение содержания NOx в выдыхаемом воздухе (таблица 4). При этом уровень NOx в выдыхаемом воздухе у животных, впоследствии заболевших бронхопневмонией, был достоверно выше как по сравнению с группой здоровых телят (в 3,67 раза, $p < 0,001$), так и с группой животных с неосложненным бронхитом (в 1,52 раза, $p < 0,01$). У телят из групп II и III обнаружено повышение экспирации с выдыхаемым воздухом ГТТ в 6,78 и 9,08 раза ($p < 0,001$), АлАТ в 2,62 и 3,23 раза ($p < 0,01$) и АсАТ в 2,43 и 2,73 раза ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с группой I, вследствие повреждения клеток респираторного тракта и выхода этих ферментов в БАЖ [Хасина М.А. и соавт., 2004; Черницкий А.Е., 2009]. Усиление ПОЛ и повышение продукции органических перекисей в очаге воспаления приводило к закислению БАЖ и снижению рН КВВ телят. У здоровых телят в этом возрасте рН КВВ составил в среднем $7,96 \pm 0,04$, у телят из групп II и III был соответственно на 4,1 и 7,4% ниже ($p < 0,05$). Причем уровень рН КВВ у животных, впоследствии заболевших бронхопневмонией, был достоверно ниже (на 3,4%, $p < 0,05$), чем у особей, заболевших бронхитом легкой и средней тяжести.

Таблица 4 – Биохимические показатели, определяемые в КВВ телят, в пересчете на 100 л выдыхаемого воздуха (ВВ)

Показатель	Группа телят		
	I (n = 15)	II (n = 18)	III (n = 12)
H ₂ O ₂ , нмоль/100 л ВВ	0,26±0,09	<u>0,65±0,07*</u> 0,83±0,16*	<u>0,86±0,08**</u> 1,13±0,20**
МДА, пмоль/100 л ВВ	20,4±4,9	<u>79,1±4,9*</u> 127,3±26,5*	<u>93,7±4,8**</u> 207,3±30,3**
NOx, нмоль/100 л ВВ	2,0±0,3	<u>4,8±0,3*</u> 11,2±2,3*	<u>7,2±0,7**</u> 20,1±3,2**
ГТТ, пкат/100 л ВВ	1,5±0,3	<u>10,4±2,6*</u> 16,8±2,2*	<u>13,9±1,6**</u> 21,7±5,6**
АлАТ, пкат/100 л ВВ	5,9±0,6	<u>15,4±1,5*</u> 29,5±7,1*	<u>19,2±1,5**</u> 41,3±6,4**
АсАТ, пкат/100 л ВВ	17,3±1,9	<u>41,9±3,5*</u> 59,7±7,4*	<u>47,2±5,5**</u> 67,2±8,2**

Примечание: над чертой – показатели при первых симптомах болезни, под чертой – показатели при разгаре болезни. * и ** Различия статистически значимы по сравнению с группами I и II соответственно при $p < 0,05$.

При появлении индуцированного кашля у телят также изменялся элементный состав КВВ: по сравнению со здоровыми животными повышалось содержание в КВВ натрия (на 16,0-18,7%, $p < 0,05$) и калия (на 9,1-11,7%, $p < 0,05$) и снижалось – кальция (на 26,1-42,0%, $p < 0,05$), магния (на 22,5-40,8%, $p < 0,05$), цинка (на 24,8-33,0%, $p < 0,05$) и меди (на 55,3-64,3%, $p < 0,05$), железа – существенно не изменялось. При этом железо-цинковое соотношение в КВВ у телят из групп II и III было в 1,35 и 1,44 раза ($p < 0,01$), а железо-медное соотношение в КВВ в 2,02 и 2,90 раза ($p < 0,001$) соответственно выше по сравнению с особями из группы I. При разгаре болезни железо-цинковое соотношение в КВВ у животных из групп II и III возрастало в 1,60 и

1,74 раза ($p < 0,001$), а железо-медное соотношение в КВВ в 3,41 и 4,48 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению со здоровыми особями. Обнаружена прямая зависимость между экспирацией МДА и содержанием железа ($r = +0,80$, $p < 0,05$), а также железо-цинковым соотношением ($r = +0,61$, $p < 0,05$) в КВВ.

Разгар болезни у телят из групп II и III сопровождался глубокими нарушениями в системе ПОЛ-АОЗ: в крови животных снижалась не только активность ферментов АОЗ (таблица 3), но и содержание неферментативных антиоксидантов – витамина А на 68,1 и 70,4% ($p < 0,01$), α -токоферола на 42,6 и 42,4% ($p < 0,05$), L-аскорбиновой кислоты на 46,8 и 63,5% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению со здоровыми особями. При этом АОА плазмы крови у телят, больных бронхопневмонией, была на 29,3% ниже ($p < 0,05$), а содержание МДА в крови на 41,3% выше ($p < 0,01$), чем у животных, больных бронхитом легкой и средней тяжести. У телят из групп II и III содержание в выдыхаемом воздухе МДА возрастало в 6,24 и 10,17 раза ($p < 0,001$), пероксида водорода – в 3,19 и 4,34 раза ($p < 0,001$), NOx – в 5,70 и 10,21 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению со здоровыми особями. Уровень рН КВВ у животных из групп II и III был на 4,9 и 14,8% соответственно ниже ($p < 0,05$), чем в группе I. По сравнению с началом болезни при разгаре бронхита и бронхопневмонии экспирация с выдыхаемым воздухом ГГТ у телят повышалась соответственно на 61,4 и 56,2% ($p < 0,01$), АлАТ – на 92,0 и 115,1% ($p < 0,001$), АсАТ – на 42,4 и 42,2% ($p < 0,01$); в сыворотке крови возрастало содержание СМП на 28,6 и 31,6% ($p < 0,01$), ИЭИ повышался на 10,6 и 17,1% ($p < 0,05$).

Таким образом, среди телят с первыми признаками бронхита (индуцированный кашель) обнаружены значительные межиндивидуальные различия по содержанию микроэлементов в волосе, активности антиоксидантных ферментов в крови, концентрации МДА и пероксида водорода в выдыхаемом воздухе, показателям эндогенной интоксикации, определяющие прогноз течения и исхода болезни.

2.2.7.2. Изменения некоторых биохимических показателей КВВ и крови у телят, больных бронхопневмонией, в саногенезе

Объектом исследования служили 36 телят в возрасте 14-28 дней: 24 больных острой катаральной бронхопневмонией (группы II и III) и 12 здоровых особей (группа I). При бактериологическом исследовании носовых смывов от больных животных выделены культуры *Staph. aureus*, *Staph. epidermidis*, стрептококки группы D, *E. coli* O 126. Телят группы II ($n = 12$) лечили по общепринятой схеме, включающей: антибактериальный препарат «Тилоколин-АФ», эффективный в отношении выделенных микроорганизмов, внутримышечно 1 раз в сут в дозе 0,05 мл/кг массы тела в течение 5 дней, препарат «Тривит[®]», содержащий в 1 мл витамин А 30000 МЕ, витамин Е 20 мг и витамин D₃ 40000 МЕ, внутримышечно в 1-е и 5-е сут в разовой дозе 2 мл, и новокаиновую блокаду грудных внутренностных нервов и симпатических стволов 0,5% раствором новокаина в дозе 0,3 мл/кг массы тела в 1-е, 4-е и 7-е сут лечения. Животным группы III ($n = 12$) дополнительно в 1-е сут вводили 0,6% раствор пероксида водорода на 0,9%-ном растворе хлорида натрия внутривенно в дозе 0,4 мл/кг массы тела и препарат «Антимиопатик», содержащий в 1 мл витамин Е 40 мг, витамин А 30000 МЕ, селен 0,8 мг, марганец 0,4 мг, медь 0,1 мг, кобальт 0,02 мг и цинк 0,2 мг, внутримышечно в дозе 4 мл, «Тривит[®]» не применяли. Здоровым телятам

никакие препараты не применяли, они служили контролем. Пробы крови и КВВ для лабораторных исследований у здоровых особей получали в начале опыта, у больных – до лечения (фон) и при выздоровлении.

При выздоровлении у телят повышалась активность основных антиоксидантных ферментов (каталазы, ГПО, СОД) в крови: однако, если в группе III она восстанавливалась до уровня здоровых животных, то в группе II – оставалась существенно ниже (таблица 5).

Таблица 5 – Показатели оксидативного стресса и эндогенной интоксикации, определяемые в крови телят

Показатель	Группа телят		
	I (n = 12)	II (n = 12)	III (n = 12)
МДА, мкмоль/л	0,92±0,08	<u>2,04±0,27*</u> 1,43±0,16*	<u>2,17±0,40*</u> 0,87±0,09
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /(л×мин)	36,1±2,4	<u>18,9±1,4*</u> 24,3±1,1*	<u>20,5±2,3*</u> 35,7±3,3
ГПО, ммоль GSH/(л×мин)	15,2±0,9	<u>7,0±0,4*</u> 11,8±1,6*	<u>7,6±0,6*</u> 15,3±0,8
СОД, усл. ед.	0,88±0,12	<u>0,27±0,06*</u> 0,44±0,08*	<u>0,31±0,04*</u> 0,71±0,13
АОА плазмы, %	55,6±4,4	<u>19,0±1,4*</u> 25,7±3,6*	<u>23,6±2,6*</u> 50,7±2,9
ССЭ, %	45,2±4,1	<u>61,3±4,6*</u> 52,9±2,8*	<u>64,6±2,9*</u> 40,7±1,3
СМП, усл. ед.	0,25±0,04	<u>0,50±0,06*</u> 0,37±0,05*	<u>0,61±0,08*</u> 0,24±0,07
ИЭИ, усл. ед.	14,5±0,9	<u>21,7±2,0*</u> 19,1±1,4*	<u>24,8±2,3*</u> 15,3±1,2

Примечание: над чертой – показатели до лечения (фон), под чертой – показатели при выздоровлении животных. * Различия достоверны по сравнению с группой I при $p < 0,05$.

Аналогичную динамику наблюдали и относительно АОА плазмы крови. У животных из группы II концентрация МДА в крови, ССЭ, уровень СМП в сыворотке и ИЭИ, несмотря на существенное снижение относительно исходных значений, оставались на 55,4% ($p < 0,01$), 17,0% ($p < 0,05$), 48,0% ($p < 0,01$) и 31,7% ($p < 0,01$) соответственно выше, чем у здоровых особей. Различий между группой III (после лечения) и группой I по этим показателям не обнаружили.

Выздоровление телят сопровождалось снижением в выдыхаемом воздухе содержания пероксида водорода, МДА, NOx, активности ГГТ, АЛАТ и АсАТ (таблица 6). При этом в группе III концентрации МДА и NOx восстанавливались до уровня здоровых животных, а в группе II оставались выше соответственно в 3,26 ($p < 0,001$) и 1,91 раза ($p < 0,01$). При отсутствии гематологических и биохимических признаков воспаления у телят из обеих групп сохранялись повышенная активность ГГТ и низкий уровень рН в КВВ (7,52±0,08 в группе III и 7,30±0,09 в группе II против 8,01±0,06 у здоровых). Низкий уровень рН КВВ у переболевших животных, вероятно, был связан с нарушениями кислотно-основного состояния [Анаев Э.Х. и соавт., 2005],

а повышенная активность ГГТ в КВВ – с усилением пролиферации и роста клеток в поврежденной легочной ткани [Васькова Н.А., 1995].

Таблица 6 – Биохимические показатели, определяемые в КВВ телят, в пересчете на 100 л выдыхаемого воздуха

Показатель	Группа телят		
	I (n = 15)	II (n = 18)	III (n = 12)
H ₂ O ₂ , нмоль/100 л ВВ	0,23±0,07	<u>1,18±0,20*</u> 0,31±0,10	<u>1,21±0,16*</u> 0,26±0,08
МДА, пмоль/100 л ВВ	23,4±4,6	<u>193,0±26,5*</u> 76,4±8,5*	<u>218,5±20,3*</u> 37,7±9,3
NOx, нмоль/100 л ВВ	2,2±0,3	<u>20,0±2,3*</u> 4,2±0,8*	<u>19,3±2,7*</u> 2,5±0,3
ГГТ, пкат/100 л ВВ	2,1±0,6	<u>20,1±3,6*</u> 9,3±1,0*	<u>26,5±2,2*</u> 6,0±0,8*
АлАТ, пкат/100 л ВВ	6,3±0,8	<u>40,4±6,5*</u> 11,0±2,8	<u>43,7±7,1*</u> 9,5±3,4
АсАТ, пкат/100 л ВВ	16,5±2,1	<u>69,4±7,2*</u> 19,7±2,4	<u>72,8±8,4*</u> 15,9±3,2

Примечание: над чертой – показатели до лечения (фон), под чертой – показатели при выздоровлении животных. * Различия достоверны по сравнению с группой I при $p < 0,05$.

Анализ РФФ над пробами КВВ телят с помощью «электронного носа» показал, что выздоровление животных сопровождалось увеличением сигналов сенсоров 1 и 2, и уменьшением – 4 и 5, что указывало на увеличение содержания в РФФ паров воды и летучих полярных кислородсодержащих соединений (спиртов, карбоновых кислот, альдегидов), а также уменьшение концентрации паров алифатических аминов и гетероциклических соединений.

Таким образом, при клиническом выздоровлении показатели системы ПОЛ-АОЗ не у всех телят восстанавливались до уровня здоровых животных. После общепринятой терапии у переболевших животных сохранялись повышенное содержание МДА в крови и выдыхаемом воздухе, показатели эндогенной интоксикации и низкие значения рН КВВ, свидетельствующие о функциональной недостаточности системы АОЗ и нарушении кислотно-основного состояния. Дополнение общепринятой терапии инфузией 0,6% раствора пероксида водорода на 0,9%-ном растворе хлорида натрия в дозе 0,4 мл/кг и инъекцией витаминно-минерального препарата «Антимиопатик» в дозе 4 мл в 1-е сут лечения способствовало устранению этих явлений. При выздоровлении у телят, больных бронхопневмонией, снижалась экспирация H₂O₂, МДА, NOx, ГГТ, АлАТ и АсАТ, в РФФ над пробами КВВ увеличивалось содержания паров воды и летучих полярных кислородсодержащих соединений, уменьшалась концентрация паров алифатических аминов и гетероциклических соединений.

2.2.8. Прогнозирование развития респираторных заболеваний по биохимическому и гематологическому профилю новорожденных телят и их матерей

Объектом исследования служили коровы ($n = 31$) с одноплодной беременностью сроком 246-254 дней и полученные от них телята ($n = 31$). У коров в указанные сроки получали образцы крови, мочи и волос кисти хвоста для исследований, у телят через 24 ч после рождения – пробы крови, волос и КВВ. В течение месяца за телятами вели ежедневное клиническое наблюдение. Здоровыми со стороны дыхательной системы считали телят с клинической оценкой по шкале WI [McGuirk S.M., 2008] от 0 до 3 баллов на протяжении всего периода исследования. Респираторные заболевания диагностировали при наличии симптомов поражения органов дыхания и клинической оценке по шкале WI 5 баллов и более (нуждающиеся в лечении) [Poulsen K.P. et al., 2009].

На первом этапе исследования с помощью ROC-анализа [DeLong E.R. et al., 1988] в программе IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corp., США) определили информативность отдельных биохимических и гематологических показателей у коров и полученных от них телят для прогнозирования развития у телят респираторных заболеваний. Высокая прогностическая ценность (площадь под кривой AUC более 0,700) установлена для 27 предикторов: 6 у коров (таблица 7), и 21 у телят (таблица 8).

Таблица 7 – Биохимические показатели коров, наиболее информативные для прогнозирования развития респираторных заболеваний у их потомства

Предиктор	AUC	Se, %	Sp, %	Cut-off point
Содержание микроэлементов в волосе кисти хвоста:				
Селен, мкг/кг	0,813**	75,0	78,6	менее 95,0
Цинк, мг/кг	0,750*	75,0	85,7	менее 100,0
Биохимические показатели крови (сыворотки):				
Коэффициент интоксикации	0,844**	66,7	93,7	более 23,8
СМП, усл. ед.	0,781*	83,3	87,5	более 0,534
ИЭИ, усл. ед.	0,750*	58,3	100,0	более 21,5
Эстрадиол, пмоль/л	0,707*	77,8	77,3	менее 71,2

Примечание: AUC – площадь под ROC-кривой, Se – чувствительность, Sp – специфичность, Cut-off point – критическое значение, отсекающее группу риска по респираторным заболеваниям, * и ** Прогностическая ценность предиктора оценивается как хорошая и очень хорошая соответственно.

На следующем этапе с помощью радиальных нейронных сетей [Осовский С., 2004] и имеющийся базы данных о клиническом состоянии, биохимическом и гематологическом статусе новорожденных телят была разработана программа для ЭВМ, позволяющая прогнозировать состояние телят в баллах по шкале WI на 1-е, 3-е, 7-е и 14-е сут после рождения, время появления первых симптомов и разгара бронхита, а также вероятность развития бронхопневмонии в неонатальный период (свидетельство о гос. регистрации № 2016662738). Для анализируемой базы данных ошибка прогноза составила 5-15% в зависимости от числа исходных показателей σ (8% при $\sigma = 9$).

Таблица 8 – Биохимические и гематологические показатели новорожденных телят, наиболее информативные для прогнозирования развития у них респираторных заболеваний

Предиктор	AUC	Se, %	Sp, %	Cut-off point
Содержание микроэлементов в волосе кисти хвоста:				
Селен, мкг/кг	0,810**	77,8	80,0	менее 395,5
Цинк, мг/кг	0,830**	92,9	75,0	менее 99,7
Медь, мг/кг	0,798*	72,2	84,4	менее 7,25
Марганец, мг/кг	0,721*	70,0	75,0	менее 9,05
Кобальт, мкг/кг	0,769*	82,4	70,3	менее 53,3
Биохимические показатели крови (сыворотки):				
Каталаза, мкмоль H ₂ O ₂ /(л×мин)	0,700*	80,0	71,4	менее 27,4
ГПО, ммоль GSH/(л×мин)	0,921***	90,0	85,7	менее 8,04
Молочная кислота, ммоль/л	0,786*	71,4	80,0	более 1,83
Кальций-магниевое соотношение	0,771*	80,0	71,4	менее 3,18
ДГЭА-С, мкмоль/л	0,922***	90,9	78,6	менее 0,096
Кортизол/ДГЭА-С	0,878**	75,0	97,2	более 3,31
Альдостерон, нмоль/л	0,760*	84,0	77,8	менее 76,5
Гематологические показатели:				
ЛНО	0,857**	80,0	85,7	менее 0,481
ЛИИ	0,800**	80,0	71,4	более 1,46
RDW, %	0,712*	88,9	63,6	менее 14,95
Биохимические показатели конденсата выдыхаемого воздуха:				
Кальций, мг/л	0,807**	70,0	100,0	менее 4,52
Магний, мг/л	0,879**	80,0	71,4	менее 1,75
МДА, нмоль/л	0,821**	71,4	100,0	более 48,1
ГГТ, нкат/л	0,767*	66,7	100,0	более 14,2
АлАТ, нкат/л	0,842**	66,7	90,0	более 22,5
АсАТ, нкат/л	0,800*	66,7	80,0	более 44,2

Примечание: AUC – площадь под ROC-кривой, Se – чувствительность, Sp – специфичность, Cut-off point – критическое значение, отсекающее группу риска по респираторным заболеваниям. *, ** и *** Прогностическая ценность предиктора оценивается как хорошая, очень хорошая и отличная соответственно.

Также разработана программа для ЭВМ, позволяющая прогнозировать аналогичные перечисленным выше параметры клинического состояния новорожденных телят на основании 6-ти лабораторных показателей их матерей за 30 дней до предполагаемого отела (свидетельство о гос. регистрации № 2016661901). Для анализируемой базы данных ошибка прогноза составила 13%.

2.2.9. Прогнозирование течения и исхода респираторных заболеваний у телят

Обследовано 72 теленка в возрасте 8-21 день с клиническим диагнозом бронхит (33 бычка и 39 телочек). Оценка животных по шкале WI [McGuirk S.M., 2008] варьировала от 5 до 9 баллов, в среднем 6,5±1,4 балла. В трахеальных смывах телят обнаружили: геном аденовируса (8,3%), вируса диареи-болезни слизистых крупного рогатого скота (19,4%), *M. bovis* (61,1%), *Staph. aureus* (8,3%), *Staph. epidermidis*

(44,4%), стрептококки группы D (77,8%), *E. coli* серовариантов O8, O26, O115, O126 (61,1%), *Asp. fumigatus* (25,0%), *Asp. flavus* (5,6%), *Mucor spp.* (5,6%), *Penicillium spp.* (8,3%), *Rhizopus spp.* (2,8%). Для прогнозирования течения болезни в начале опыта у животных определяли температуру тела, ЧСС и частоту дыхания в мин в покое (ЧД₁) и после 30-секундного апноэ на выдохе (ЧД₂), соотношение ЧСС/ЧД₁ (индекс Хильдебрандта), МОД, ДО, соотношение ЧСС/ДО, соотношение ЧД₂/ЧД₁ (индекс дыхательной недостаточности, ИДН), получали образцы венозной крови и КВВ для лабораторных исследований. Бронхопневмония развилась у 25 из 72 (34,7%) телят.

С помощью ROC-анализа [DeLong E.R. et al., 1988] в программе IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corp., США) выявили 20 предикторов с хорошей (4), очень хорошей (12) и отличной (4) ценностью для прогнозирования развития бронхопневмонии у телят (таблица 9). Установлено, что наиболее информативные предикторы бронхопневмонии – это маркеры оксидативного и нитрозивного стресса, гипоксии и эндогенной интоксикации.

Таблица 9 – Клинико-лабораторные показатели, наиболее информативные для прогнозирования развития бронхопневмонии у телят

Предиктор	AUC	Se, %	Sp, %	Cut-off point
Физиологические показатели:				
ЧСС, в мин	0,887**	77,8	85,3	более 98,0
ДО, мл	0,833**	75,0	75,0	менее 298,5
ЧСС/ДО	0,861**	71,4	100,0	более 0,425: 1
Лабораторные показатели крови:				
Каталаза, мкмоль Н ₂ O ₂ /(л×мин)	0,913***	81,8	87,5	менее 24,45
ГПО, ммоль GSH/(л×мин)	0,881**	86,7	84,2	менее 7,91
АОА плазмы, %	0,870**	83,8	87,5	менее 33,52
Молочная кислота, ммоль/л	0,947***	92,9	78,9	более 1,68
Гемоглобин, г/л	0,864**	75,0	91,3	менее 101,5
pO ₂ , мм рт. ст.	0,718*	70,0	71,4	менее 26,25
АВ/Н ₂ СО ₃	0,766*	66,7	100,0	более 15,95: 1
ИЭИ, усл. ед.	0,841**	81,3	70,0	более 18,35
СМП, усл. ед.	0,903***	94,1	81,2	более 0,337
Биохимические показатели конденсата выдыхаемого воздуха:				
МДА, пмоль/100 л ВВ	0,905***	87,5	84,2	более 152,7
NOx, нмоль/100 л ВВ	0,872**	92,9	71,6	более 10,15
ГГТ, пкат/100 л ВВ	0,840**	75,0	75,0	более 11,62
pH КВВ	0,885**	73,7	94,1	менее 7,46
Кальций, мг/л	0,855**	82,4	80,0	менее 4,65
Магний, мг/л	0,750*	57,1	75,0	менее 1,75
Железо-цинковое соотношение	0,819**	83,3	82,4	более 1,88: 1
Железо-медное соотношение	0,794*	66,7	100,0	более 8,83: 1

Примечание: AUC – площадь под ROC-кривой, Se – чувствительность, Sp – специфичность, Cut-off point – критическое значение, отсекающее группу риска по бронхопневмонии. *, ** и *** Прогностическая ценность предиктора оценивается как хорошая, очень хорошая и отличная соответственно.

Для практического применения в условиях фермы разработали способ, позволяющий определять благоприятный, неблагоприятный и сомнительный прогноз течения бронхита (таблица 10) на основании 5-ти клинических показателей (температуры тела, ЧСС, ЧД, ИДН и индекса Хильдебрандта). Для неблагоприятного прогноза бронхита чувствительность способа составила 88,5%, специфичность 83,0% (патент РФ 2557709).

Таблица 10 – Клинические показатели для прогнозирования течения бронхита у телят

Показатель	Прогноз течения болезни		
	Благоприятный	Неблагоприятный	Сомнительный
Температура тела, °С	от 37,5 до 39,6	более 39,5	более 39,5
ЧСС, в мин	менее 100	более 100	от 90 до 120
ЧД, в мин	менее 40	более 60	от 40 до 60
ИДН	более 1,4	менее 1,2	от 1,2 до 2,5
Индекс Хильдебрандта	более 1,8	менее 1,8	от 1,7 до 3,1

2.2.10. Применение препарата «Антимиопатик» коровам-матерям для профилактики респираторных заболеваний у их потомства

Было сформировано две группы коров с одноплодной беременностью, по $n = 30$ каждая: контрольная группа (КГ) получала только основной рацион, животным экспериментальной группы (ЭГ) дополнительно инъецировали препарат «Антимиопатик» внутримышечно трижды, за 60, 40 и 20 дней до предполагаемого отела, в разовой дозе 10 мл, содержащей витамин А 300000 МЕ, витамин Е 400 мг, селен 8,0 мг, марганец 4,0 мг, цинк 2,0 мг, медь 1,0 мг и кобальт 0,2 мг. Группы коров были сформированы по принципу аналогов; существенные различия между группами по массе тела, возрасту, молочной продуктивности, сроку гестации и клиническому состоянию животных на начало эксперимента отсутствовали.

В ЭГ регистрировали 3 (10%) случая задержания последа, в КГ – 12 (40%) случаев. Острый послеродовый эндометрит в ЭГ диагностировали у 2 (6,7%) коров, в КГ – у 9 (30%) особей. Время от отела до первого осеменения у животных ЭГ составило $63,3 \pm 3,7$ дня, что на 16,3 дня (или 20,5%, $p < 0,01$) меньше, чем в КГ. Сервис-период в ЭГ продолжался $79,0 \pm 3,2$ дней, в КГ – $92,2 \pm 3,2$ дня. От коров в ЭГ получено 19 бычков и 11 телочек, в КГ – 18 бычков и 12 телочек. Жизнеспособность новорожденных телят по шкале VIGOR [Murray C.F., 2014] в ЭГ составила $22,3 \pm 2,9$ баллов, в КГ – $19,8 \pm 3,3$ балла. При этом маргинальную и низкую жизнеспособность в ЭГ диагностировали у 6 (20%) и 1 (3,3%) животных, в КГ – у 9 (30%) и 4 (13,3%) особей соответственно.

У телят ЭГ установлено повышение в крови содержания гемоглобина на 18,7% ($p < 0,05$), эритроцитов на 14,4% ($p < 0,05$), лимфоцитов на 69,5% ($p < 0,001$) и моноцитов на 82,1% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с КГ, что свидетельствовало об улучшении гемопоэза. При этом общее число лейкоцитов в крови телят достоверно не различалось между группами. Изменения в лейкограмме у животных ЭГ – увеличение лимфоцитарно-нейтрофильного соотношения (на 103,3%, $p < 0,001$), снижение лейкоцитарного индекса интоксикации Я.Я. Кальф-Калифа (на 54,6%, $p < 0,001$) и ядерного индекса сдвига (на 53,3%, $p < 0,01$) – свидетельствовали о

снижении стрессовой нагрузки [Горизонтов П.Д. и соавт., 1983; Власов В.В., 1994; Волчегорский И.А. и соавт., 2000], а уменьшение концентрации в крови молочной кислоты и повышение уровня рН КВВ (на 50,0 и 4,8% соответственно по сравнению с КГ, $p < 0,001$) – о более ранней компенсации послеродовой гипоксии и ацидоза.

Повышение функциональной активности системы АОЗ у телят ЭГ приводило к снижению системной и локальной (легкие) интенсивности ПОЛ (таблица 11).

Таблица 11 – Показатели оксидативного стресса и гипоксии, определяемые в крови и КВВ телят через 24 ч после рождения

Показатель	M±SD	Min-Max	Медиана
МДА в крови, мкмоль/л	<u>1,17±0,14</u>	<u>0,93-1,34</u>	<u>1,18***</u>
	2,04±0,70	1,48-3,29	1,65
Каталаза в крови, мкмоль H ₂ O ₂ /(л×мин)	<u>27,5±1,8</u>	<u>25,1-29,9</u>	<u>27,5***</u>
	21,7±2,3	18,7-24,8	22,8
ГПО в крови, ммоль GSH/(л×мин)	<u>8,30±0,42</u>	<u>7,38-8,72</u>	<u>8,32***</u>
	6,98±0,70	5,56-7,84	7,17
ГР в крови, мкмоль GSSG/(л×мин)	<u>743,9±41,3</u>	<u>682,8-814,6</u>	<u>741,9***</u>
	616,0±61,5	486,4-659,9	653,4
СОД в крови, усл. ед.	<u>0,79±0,05</u>	<u>0,73-0,89</u>	<u>0,78***</u>
	0,50±0,06	0,42-0,62	0,49
АОА плазмы крови, %	<u>51,8±4,0</u>	<u>46,2-58,0</u>	<u>50,9**</u>
	42,2±6,5	27,9-48,0	43,2
ССЭ, %	<u>59,8±4,0</u>	<u>52,1-64,8</u>	<u>60,3*</u>
	70,4±2,2	66,6-73,3	70,9
Молочная кислота в крови, ммоль/л	<u>1,09±0,12</u>	<u>0,95-1,25</u>	<u>1,05***</u>
	2,18±0,51	1,70-3,25	1,90
рН КВВ	<u>7,70±0,17</u>	<u>7,39-7,94</u>	<u>7,69***</u>
	7,35±0,23	6,78-7,60	7,37
МДА в КВВ, пмоль/100 л выдыхаемого воздуха	<u>30,6±14,4</u>	<u>10,0-48,0</u>	<u>34,0**</u>
	83,2±53,3	12,5-162,1	91,0
Мочевина в КВВ, мкмоль/100 л выдыхаемого воздуха	<u>1,36±0,49</u>	<u>0,56-2,15</u>	<u>1,30***</u>
	3,71±1,25	1,52-5,41	3,29

Примечание: над чертой – телята (n = 30), полученные от коров экспериментальной группы, под чертой – телята (n = 30), полученные от коров контрольной группы. *, ** и *** Различия между группами достоверны при $p < 0,05$, $p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно.

Так, у животных ЭГ содержание МДА в крови и выдыхаемом воздухе уменьшалось на 42,6% ($p < 0,001$) и 63,2% ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с КГ. На улучшение состояния клеточных мембран у телят ЭГ указывало снижение ССЭ на 15,1% ($p < 0,001$), экспирации мочевины на 63,3% ($p < 0,001$) и активности в КВВ АлАТ на 64,2% ($p < 0,001$), ГГТ на 74,1% ($p < 0,001$) и АсАТ на 27,3% ($p < 0,01$) по сравнению с КГ соответственно.

Снижение явлений оксидативного стресса у новорожденных ЭГ, способствовало улучшению формирования у них колострального иммунитета. Так, содержание в сыворотке их крови общего белка и общих иммуноглобулинов через 24 ч после рождения было на 17,2% ($p < 0,001$) и 65,3% ($p < 0,001$) выше, чем в КГ

(55,7±3,2 и 13,2±3,4 г/л соответственно). У животных ЭГ установлено снижение содержания магния на 18,3% ($p < 0,001$) и повышение кальций-магниевое соотношение в сыворотке крови на 17,4% ($p < 0,001$) по сравнению с КГ, что клинически проявлялось улучшением мышечного тонуса и потреблением большего количества молозива.

В ЭГ респираторный синдром (клиническая оценка по шкале WI ≥ 5 баллов) в течение первого месяца жизни диагностировали у 3 (10%) телят, бронхопневмонию у 2 (6,7%) особей, в КГ – у 9 (30%) и 7 (23,3%) животных соответственно. У телят в ЭГ зарегистрирован 1 (3,3%) случай омфалита и 3 (10%) случая гастроэнтерита, в КГ – 6 (20%) и 13 (43,3%) случаев соответственно. Среднесуточный прирост массы тела за 1-й и 2-й месяцы жизни у телят в ЭГ составил 557,4±17,4 и 418,5±9,8 г, в КГ – 461,7±12,2 и 387,3 ± 6,6 г, что на 17,2% ($p < 0,01$) и 9,6% ($p < 0,05$) соответственно меньше. За время наблюдения в КГ пал 1 (3,3%) теленок, среди животных ЭГ падежа не было.

Таким образом, применение коровам за 60, 40 и 20 дней до предполагаемого отела витаминно-минерального препарата «Антимиопатик» в разовой дозе 10 мл способствовало повышению функциональной активности системы антиоксидантной защиты и снижению оксидативного стресса, более ранней (по сравнению с КГ) компенсации послеродовой гипоксии и ацидоза, улучшению гемопоэза, состояния клеточных мембран и формирования колострального иммунитета у полученных от них телят, профилактируя развитие у них респираторных заболеваний в неонатальный период.

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования расширяют современное представление о патогенезе респираторных заболеваний молодняка. Получены новые сведения о влиянии нарушений внутриутробного развития, функционального состояния органов дыхания, метаболического и оксидантно-антиоксидантного статуса новорожденных телят на формирование предрасположенности к респираторным заболеваниям. Определены клинико-лабораторные показатели беременных коров, позволяющие прогнозировать развитие респираторных заболеваний у их потомства с чувствительностью 66,7-83,3% и специфичностью 77,3-100%.

Разработаны устройство для сбора КВВ и способ определения пероксида водорода в выдыхаемом воздухе у животных. Описаны изменения в составе РГФ над пробами КВВ у телят в неонатальный период в условиях нормы и при развитии респираторных заболеваний. Предложен новый подход к оценке функционального состояния органов дыхания и неинвазивному контролю респираторных заболеваний у телят, основанный на анализе состава КВВ и РГФ над ним. Выявлен специфический паттерн изменений показателей крови и КВВ, характеризующих оксидантно-антиоксидантный статус и состояние эндогенной интоксикации, у телят при развитии респираторных заболеваний и в саногенезе. С использованием ROC-анализа и радиальных нейронных сетей разработана система прогнозирования развития, течения и исхода респираторных заболеваний у телят в неонатальный период. На основании экспериментальных данных дано патофизиологическое обоснование применения беременным коровам и нетелям препаратов, содержащих микроэлементы (цинка,

меди, марганца, селена и кобальта) и витамины (А, Е), участвующие в регуляции системы АОЗ, для профилактики респираторных заболеваний у их потомства.

ВЫВОДЫ

1. Развитие респираторных заболеваний у новорожденных телят связано с внутриутробными функциональной недостаточностью фетоплацентарной системы, нарушениями фетоплацентарного кровообращения и эндогенной интоксикацией, сопровождающими преэклампсию. У телят, полученных от матерей с преэклампсией, бронхопневмония в неонатальный период регистрируется чаще в 2,71 раза, тяжелое течение анемии в 9,68 раза, омфалит в 9,48 раза, сочетанная патология анемия-бронхит в 1,81 раза, омфалит-бронхит в 9,48 раза, гастроэнтерит-бронхит 1,81 раза соответственно по сравнению с потомством коров с физиологическим течением беременности.

2. Внутриутробная задержка развития плода, формирующаяся на фоне дефицита микроэлементов (меди, цинка, марганца, селена и кобальта), сопровождается увеличением частоты респираторных заболеваний у телят в неонатальный период в 2,08 раза, в том числе бронхопневмонии в 7,14 раза, соответственно по сравнению с потомством коров с физиологическим течением беременности, что связано с нарушениями со стороны системы АОЗ и ПОЛ.

3. При соответствии суммы критериев жизнеспособности оптимальному физиологическому уровню (21-27 баллов по шкале VIGOR) транзиторная гипервентиляция у телят завершается к 3-м сут жизни, компенсация послеродового ацидоза сопровождаются увеличением ДО (на 34,6-47,8%) при неизменной величине МОД и повышением рН КВВ (на 3,0-5,2%) на фоне отсутствия изменений в интенсивности респираторного влаговыведения. При несоответствии суммы критериев жизнеспособности оптимальному физиологическому уровню (менее 20 баллов по шкале VIGOR) у телят транзиторная гипервентиляция продолжается до 7-ми сут при сохранении послеродового ацидоза на фоне повышенной (в 1,6-3,1 раза) интенсивности респираторного влаговыведения.

4. У телят с повышенным содержанием в крови лейкоцитов (более $11,0 \times 10^9/\text{л}$) и сегментоядерных нейтрофилов (более $4,0 \times 10^9/\text{л}$) при рождении респираторные заболевания регистрируются уже в первую неделю жизни, что связано с низкими адаптационными возможностями их гранулоцитарной системы на действие неспецифических (стрессорных) и специфических (бактериальных) факторов.

5. Биохимический статус новорожденных (через 24 ч после рождения) телят, предрасположенных к развитию респираторных заболеваний, характеризуется пониженным содержанием микроэлементов, участвующих в регуляции системы АОЗ (содержание в волосе кисти хвоста цинка, меди, марганца, селена и кобальта соответственно менее 99,7, 7,25, 9,05 мг/кг, 395,5 и 53,3 мкг/кг сухого вещества), кальций-магниевым дисбалансом (кальций-магниевое соотношение в сыворотке крови менее 3,18: 1, содержание кальция и магния в КВВ менее 4,52 и 1,75 мг/л соответственно), снижением активности ферментативного звена системы АОЗ (активность каталазы в крови менее $27,4 \text{ мкмоль } \text{H}_2\text{O}_2/\text{л} \times \text{мин}$ и ГПО менее $8,04 \text{ ммоль GSH}/\text{л} \times \text{мин}$), накоплением МДА в бронхоальвеолярной жидкости (содержание в КВВ более $48,1 \text{ нмоль}/\text{л}$) и молочной кислоты в крови (более $1,83 \text{ ммоль}/\text{л}$) на фоне

гормональных нарушений (ДГЭА-С менее 0,096 мкмоль/л*, альдостерон менее 76,5 нмоль/л**, соотношение кортизол/ДГЭА-С в сыворотке крови более 3,31: 1*).

Состояние колострального иммунодефицита у новорожденных телят ассоциировано с нарушениями кальций-магниевого гомеостаза и интенсификацией ПОЛ в условиях длительной (более 48 ч после родов) гипоксии и ацидоза.

6. Прогнозную информацию о риске развития бронхита у телят в 1-ю неделю жизни несут показатели содержания эстрадиола (менее 116,8 пмоль/л*) и соотношения прогестерон/эстрадиол (более 571,0: 1*) в сыворотке крови их матерей за 30 дней до предполагаемого отела: чувствительность составляет 70,8 и 54,2%, специфичность – 85,7 и 85,7% соответственно. Предикторами развития бронхопневмонии у телят в неонатальный период являются коэффициент интоксикации (более 18,08 усл. ед.), содержание СМП (более 0,555 усл. ед.) и эстрадиола (менее 71,2 пмоль/л*) в сыворотке крови их матерей за 30 дней до предполагаемого отела: чувствительность составляет 85,7, 85,7 и 77,8%, специфичность – 59,1, 81,8 и 77,3% соответственно.

Диаметр пупка у основания брюшной стенки телят в первые 3 часа после рождения более 17,5 мм указывает на внутриутробные нарушения фетоплацентарного кровообращения и высокий риск развития бронхопневмонии: чувствительность составляет 88,9%, специфичность – 77,3%.

7. У новорожденных телят концентрация пероксида водорода в выдыхаемом воздухе составляет $0,270 \pm 0,099$ нмоль/100 л и существенно не изменяется в течение первого месяца жизни, при развитии респираторных заболеваний повышается в 3,50-5,01 раза. С завершением транзиторной гипервентиляции у телят КОС характеризуется как компенсированный респираторный алкалоз (75,0%) и компенсированный метаболический ацидоз (25,0%), изменения pO_2 и pCO_2 , вызванные 30-ти секундным апноэ, компенсируются в течение 1 мин за счет увеличения ЧД и ДО.

8. У телят с дыхательной недостаточностью имеет место значительное снижение pO_2 и повышение pCO_2 в крови, которые усугубляются при апноэ; отношение ЧД после апноэ к ЧД до апноэ (в покое) составляет 1,47: 1 и более.

Развитие симптомов поражения органов дыхания у телят сопровождается снижением активности системы АОЗ, повышением системной и локальной (легкие) интенсивности ПОЛ, развитием эндогенной интоксикации, снижением рН КВВ, повышением экспирации пероксида водорода, ГГТ, АлАТ, АсАТ и NOx с выдыхаемым воздухом, появлением в РГФ над пробами КВВ аминокислот, ацетокилот, как продуктов неправильного окисления аминокислот, в том числе микробного происхождения, сероводорода, сульфидов, отсутствующих у здоровых животных, увеличением в пробах общего содержания летучих веществ, особенно гетероатомных, и уменьшением – летучих аминов.

9. При выздоровлении у телят, больных бронхопневмонией, снижается экспирация пероксида водорода, МДА, NOx, ГГТ, АлАТ и АсАТ, в РГФ над пробами КВВ увеличивается содержание паров воды и летучих полярных кислородсодержащих соединений, уменьшается концентрация паров алифатических аминов и гетероциклических соединений.

* и ** При определении методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов производства ЗАО «НВО Иммунотех» (Россия) и «Diagnostic Biochem Canada Inc.» (Канада) соответственно.

10. Применение искусственной задержки дыхания (апноэ) на выдохе в течение 30 сек и H₂O₂-индуцированной бронхоконстрикции позволяет проводить диагностику бронхита у телят за 6-12 сут до развития его симптомокомплекса (разгара), когда другие признаки болезни ещё отсутствуют, и согласно оценке шкале WI (0-3 балла) животные считаются здоровыми. Последовательное выполнение пальпации последнего трахеального кольца и 30-ти секундного апноэ для провокации кашля у телят позволяет дифференцировать ранние проявления бронхита и трахеобронхита.

11. Межиндивидуальные различия биоэлементного статуса, активности антиоксидантных ферментов в крови, показателей эндогенной интоксикации, концентрации МДА и пероксида водорода в выдыхаемом воздухе у телят при первых симптомах бронхита определяют прогноз течения и исхода болезни. У животных, впоследствии заболевших бронхопневмонией, в волосе понижено содержание селена на 35,4%, меди на 30,2%, цинка на 18,9%, марганца на 8,7% и кобальта на 37,6%, в крови – каталазы на 17,6%, ГПО на 14,3% и СОД на 37,1%, в КВВ – восстановленного глутатиона на 20,1% соответственно по сравнению с особями с неосложненным бронхитом.

12. При клиническом выздоровлении у телят, перенесших бронхопневмонию, может сохраняться повышенное содержание МДА в крови и выдыхаемом воздухе, эндогенная интоксикация и низкие значения рН КВВ, свидетельствующие о функциональной недостаточности системы АОЗ и нарушении КОС. Дополнение общепринятой терапии (этиотропное лечение и новокаиновая блокада грудных внутренностных нервов и симпатических стволов) инфузией 0,6% раствора пероксида водорода на 0,9%-ном растворе хлорида натрия в дозе 0,4 мл/кг и инъекцией витаминно-минерального препарата «Антимиопатик» в дозе 4 мл в 1-е сут лечения способствует устранению этих явлений.

13. Применение коровам-матерям за 60, 40 и 20 дней до предполагаемого отела препарата «Антимиопатик» в разовой дозе 10 мл способствует повышению у новорожденных телят функциональной активности системы АОЗ и снижению оксидативного стресса, более ранней (по сравнению с интактными животными) компенсации послеродовой гипоксии и ацидоза, улучшению гемопоэза, состояния клеточных мембран и формирования колострального иммунитета, профилактируя развитие респираторных заболеваний в неонатальный период.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью прогнозирования риска развития респираторных заболеваний у новорожденных телят определять у коров и нетелей за 30 дней до предполагаемого отела содержание в сыворотке их крови эстрадиола, прогестерона, СМП, ЭКА и рассчитывать коэффициент интоксикации. Увеличение коэффициента интоксикации более 18,08 усл. ед., СМП более 0,555 усл. ед. и снижение эстрадиола менее 71,2 пмоль/л* в сыворотке крови матерей указывают на высокую вероятность развития у новорожденных бронхопневмонии. При содержании эстрадиола менее 116,8 пмоль/л* и соотношении прогестерон/эстрадиол более 571,0: 1* в сыворотке крови матерей, развитие бронхита у телят прогнозируют в первую неделю жизни. Для прогнозирования состояние телят в баллах по шкале WI на 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сут после рождения, времени появления первых симптомов и разгара бронхита, а также

* При определении методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов производства ЗАО «НВО Иммунотех» (Россия).

вероятности развития у них бронхопневмонии в неонатальный период использовать программы для ЭВМ № гос. регистрации 2016662738 и 2016661901.

2. Для оценки риска развития бронхопневмонии у телят в первые три часа после рождения измерять диаметр пупка у основания брюшной стенки. Увеличение его свыше 17,5 мм указывает на высокую вероятность развития бронхопневмонии в неонатальный период.

3. У телят первого месяца жизни физиологичным считать содержание пероксида водорода в выдыхаемом воздухе в утренние часы до кормления от 0,146 до 0,435 нмоль/100 л. Содержание пероксида водорода в выдыхаемом воздухе у телят определять, используя конденсирование и охлаждение выдыхаемого воздуха с помощью устройства для сбора КВВ (патент на полезную модель 134772) и последующее флуорометрическое измерение концентрации пероксида водорода с волной облучения 568 нм и волной эмиссии 581 нм в растворе на основе флуоресцентного красителя Amplex Red Ultra, где 1 мл раствора содержит следующие реагенты: 20 ммоль НЕРЕС (рН 7,4); 1 ммоль ЭДТА; 10 мкмоль Amplex Red Ultra; 4 ед. пероксидазы хрена.

4. Для оценки функционального состояния органов дыхания у телят определять ЧД в покое и после нагрузки – 15-ти мин прогона и 30-ти сек апноэ на выдохе. Скрытую дыхательную недостаточность у телят диагностировать, если время возвращения ЧД к исходным значениям (в покое) после 15-ти мин прогона составляет более 4,9 мин, а отношение ЧД после апноэ к ЧД в покое превышает 1,47: 1.

5. При наличии индуцированного кашля диагностировать ранние проявления бронхита (трахеобронхита). Для провокации кашля у телят применять пальпацию последнего трахеального кольца, 30-ти сек апноэ или внутривенное введение 0,6% раствора пероксида водорода на 0,9%-ном растворе хлорида натрия в дозе 0,4 мл/кг.

6. Для неинвазивной экспресс-диагностики воспалительного процесса в органах дыхания у телят проводить анализ РФФ над КВВ с применением детектирующего устройства типа «электронный нос» на основе массива из трёх пьезосенсоров с базовой частотой колебаний 10-15 МГц, на электроды которых нанесены пленки из ацетоновых растворов бромкрезолового синего (БКС), тритона X-100 (ТХ-100) и хлороформной суспензии многослойных углеродных нанотрубок (МУНТ) с массой покрытия после удаления растворителя 4-10 мкг, регистрацию в программе «электронного носа» максимальных сигналов массива пьезосенсоров за 60 с и расчет показателя воспаления (ПВ) по формуле:

$$ПВ = \frac{\sqrt{\Delta F_{ТХ-100}^2 + \Delta F_{БКС}^2 - \Delta F_{ТХ-100} \cdot \Delta F_{БКС} \cdot \sqrt{2}}}{\sqrt{\Delta F_{БКС}^2 + \Delta F_{МУНТ}^2 - \Delta F_{БКС} \cdot \Delta F_{МУНТ} \cdot \sqrt{2}}},$$

где $\Delta F_{БКС}$ – наибольшее изменение частоты колебания пьезосенсора с пленкой БКС, $\Delta F_{ТХ-100}$ – наибольшее изменение частоты колебания пьезосенсора с пленкой ТХ-100, $\Delta F_{МУНТ}$ – наибольшее изменение частоты колебания пьезосенсора с пленкой МУНТ. При значениях ПВ более 1,2 следует диагностировать наличие воспалительного процесса в органах дыхания.

7. Осложнение бронхита в виде бронхопневмонии у телят следует прогнозировать при сочетании признаков: температуре тела более 39,5°C, ЧСС более 100 в мин, ЧДД более 60 в мин, значениях ИДН менее 1,2 и индекса Хильдебрандта

менее 1,8, а также снижении в крови активности каталазы менее 24,45 мкмоль H_2O_2 /л×мин, ГПО – 7,91 ммоль GSH/л×мин, АОА плазмы – 33,52%, концентрации гемоглобина менее 101,5 г/л и pO_2 – 26,25 мм рт. ст., повышении содержания молочной кислоты более 1,68 ммоль/л, СМП в сыворотке крови и ИЭИ более 0,337 и 18,35 усл. ед. соответственно.

8. Для снижения эндогенной интоксикации и коррекции оксидантно-антиоксидантного статуса телят, больных бронхопневмонией, дополнительно к этиотропной и регулирующей нервно-трофическую функцию терапии в 1-е сут лечения следует применять внутривенно 0,6% раствор пероксида водорода на 0,9%-ном растворе хлорида натрия в дозе 0,4 мл/кг и внутримышечно витаминно-минеральный препарат «Антимиопатик» в дозе 4 мл.

9. С целью снижения риска развития респираторных заболеваний у новорожденных телят, коровам и нетелям за 60, 40 и 20 дней до предполагаемого отела инъектировать витаминно-минеральный препарат «Антимиопатик» в разовой дозе 10 мл.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшие исследования должны быть направлены на изучение особенностей постнатального морфогенеза органов дыхания у телят с разным уровнем физиологической зрелости при рождении, выяснение влияния эпигенетических факторов на формирование устойчивости и предрасположенности новорожденных к развитию респираторных заболеваний, расширение методов их неинвазивной диагностики и контроля эффективности лечения, в том числе по составу носовой слизи и выдыхаемого воздуха.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ

1. Черницкий, А. Е. Применение перекиси водорода при бронхопневмонии телят / **А. Е. Черницкий**, Т. Г. Ермолова, М. И. Рецкий, А. И. Золотарев // Ветеринария. – 2011. – № 10. – С. 44–47.
2. Черницкий, А. Е. Применение новокаиновой блокады грудных внутренностных нервов и симпатических стволов в комплексной терапии бронхопневмонии телят / **А. Е. Черницкий**, А. И. Золотарев // Достижения науки и техники АПК. – 2012. – № 1. – С. 48–51.
3. Черницкий, А. Е. Применение тилоколина-АФ при бронхопневмонии телят / **А. Е. Черницкий**, Г. Н. Близнецова // Ветеринария. – 2012. – № 2. – С. 55–57.
4. Золотарев, А. И. Ранняя диагностика бронхита у новорожденных телят / А. И. Золотарев, **А. Е. Черницкий**, М. И. Рецкий, Л. И. Ефанова // Ветеринария. – 2013. – № 3. – С. 43–47.
5. Золотарев, А. И. Респираторные болезни телят в профилакторный период / А. И. Золотарев, **А. Е. Черницкий**, М. И. Рецкий, Л. И. Ефанова // Ветеринария. – 2013. – № 5. – С. 46–49.
6. Золотарев, А. И. Кислотно-основное состояние и газовый состав крови у телят при бронхите / А. И. Золотарев, **А. Е. Черницкий**, М. И. Рецкий // Ветеринария. – 2013. – № 7. – С. 47–52.
7. Черницкий, А. Е. Роль нарушений кальций-магниевого гомеостаза в возникновении и развитии респираторных заболеваний у телят / **А. Е. Черницкий**, В. И. Шушлебин, С. В.

Шабунин, А. И. Золотарев, Л. И. Ефанова // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2013. – № 4. – С. 59–62.

8. Черницкий, А. Е. Функциональное становление дыхательной системы у новорожденных телят с разной жизнеспособностью / А. Е. Черницкий, М. И. Рецкий, А. И. Золотарев // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – № 4. – С. 99–104. – DOI: 10.15389/agrobiology.2013.4.99rus.

9. Ефанова, Л. И. Противовирусный колостральный иммунитет и респираторные болезни у телят первого месяца жизни / Л. И. Ефанова, А. И. Золотарев, А. Е. Черницкий, О. А. Манжурина, И. В. Парфенова, М. И. Адолина // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2013. – № 3. – С. 30–36.

10. Черницкий, А. Е. Связь колострального иммунитета и биохимического статуса у новорожденных телят в первые дни жизни / А. Е. Черницкий, М. И. Рецкий, А. И. Золотарев, Л. И. Ефанова, Э. В. Братченко // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – № 6. – С. 94–99. – DOI: 10.15389/agrobiology.2013.6.94rus.

11. Черницкий, А. Е. Модифицированный метод определения среднемолекулярных пептидов в биологических жидкостях / А. Е. Черницкий, В. И. Сидельникова, М. И. Рецкий // Ветеринария. – 2014. – № 4. – С. 56–58.

12. Золотарев, А. И. Диагностика дыхательной недостаточности у телят / А. И. Золотарев, А. Е. Черницкий, А. М. Саотин, М. И. Рецкий // Ветеринария. – 2014. – № 6. – С. 46–50.

13. Шабунин, С. В. Респираторные болезни телят: современный взгляд на проблему / С. В. Шабунин, А. Г. Шахов, А. Е. Черницкий, А. И. Золотарев, М. И. Рецкий // Ветеринария. – 2015. – № 5. – С. 3–13.

14. Черницкий, А. Е. Индуцированный кашель в ранней диагностике воспалительных заболеваний органов дыхания у телят / А. Е. Черницкий, А. И. Золотарев // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2015. – № 2. – С. 169–171.

15. Черницкий, А. Е. Профилактика респираторных заболеваний у новорожденных телят с пониженной жизнеспособностью / А. Е. Черницкий, С. В. Шабунин // Ветеринария. – 2017. – № 9. – С. 10–16.

Статьи, индексируемые в Scopus / Web of Science

16. Nezhdanov, A. Endocrine and metabolic mechanisms of embryo and fetal intrauterine growth retardation in dairy cows / A. Nezhdanov, S. Shabunin, V. Mikhalev, N. Klimov, A. Chernitskiy // Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. – 2014. – Vol. 38, № 6. – P. 675–680. – DOI: 10.3906/vet-1405-12.

17. Sidel'nikova, V. I. Endogenous intoxication and inflammation: reaction sequence and informativity of the markers / V. I. Sidel'nikova, A. E. Chernitskiy, M. I. Retsky // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya. – 2015. – Vol. 50, № 2. – P. 152–161. – DOI: 10.15389/agrobiology.2015.2.152eng.

18. Sidel'nikova, V. I. Individual reactivity of granulocytic system of newborn calves and its role in pathogenesis of inflammatory diseases of respiratory and gastrointestinal tracts / V. I. Sidel'nikova, A. E. Chernitskiy, A. I. Zolotarev, M. I. Retsky // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya. – 2015. – Vol. 50, № 4. – P. 486–494. – DOI: 10.15389/agrobiology.2015.4.486eng.

19. Nezhdanov, A. G. Metabolic status of the cows under intrauterine growth retardation of embryo and fetus / A. G. Nezhdanov, V. I. Mikhalev, G. G. Chusova, N. E. Papin, A. E. Chernitskiy, E. G. Lozovaya // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya. – 2016. – Vol. 51, № 2. – P. 230–237. – DOI: 10.15389/agrobiology.2016.2.230eng.

20. Shabunin, S. DISELEMENTOSIS AS A RISK FACTOR OF EMBRYO LOSS IN LACTATING COWS / S. Shabunin, A. Nezhdanov, V. Mikhalev, E. Lozovaya, A. Chernitskiy // Turkish Journal of

Veterinary and Animal Sciences. – 2017. – Vol. 41, № 4. – P. 453–459. – DOI: 10.3906/vet-1609-76.

21. Safonov, V. A. Antioxidant status and functional condition of respiratory system of newborn calves with intrauterine growth retardation / V. A. Safonov, V. I. Mikhalev, **A. E. Chernitskiy** // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya. – 2018. – Vol. 53, № 4. – P. 831–841. – DOI: 10.15389/agrobiology.2018.4.831eng.

22. Chernitskiy, A. E. Multiple effects of preeclampsia in cows on postnatal growth and health of offspring / **A. E. Chernitskiy**, S. V. Shabunin, V. A. Safonov // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya. – 2019. – Vol. 54, № 2. – P. 246–258. – DOI: 10.15389/agrobiology.2019.2.246eng.

23. Chernitskiy, A. On-farm diagnosis of latent respiratory failure in calves / **A. Chernitskiy**, S. Shabunin, T. Kuchmenko, V. Safonov // Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. – 2019. – Vol. 43, № 6. – P. 707–715. – DOI: 10.3906/vet-1810-37.

24. Kuchmenko, T. A. Evaluation of correlation of signals of "electronic nose" for nasal mucus and exhaled breath condensate of calves with clinical and laboratory indicators / T. A. Kuchmenko, A. A. Shuba, R. U. Umarkhanov, **A. E. Chernitskii** // Analitika i kontrol. – 2019. – Vol. 23, № 4. – P. 557–562. – DOI: 10.15826/analitika.2019.23.4.014.

Тезисы докладов, индексируемые в Web of Science

25. Mikhalev, V. Metabolic status of newborn calves with intrauterine growth retardation / V. Mikhalev, S. Shabunin, V. Safonov, **A. Chernitskiy** // Proceedings of 22nd Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR); 27–29 September 2018, Cordoba, Spain. – Reproduction in Domestic Animals. – 2018. – Vol. 53, № S2. – P. 168. – DOI: 10.1111/rda.13272.

26. Chernitskiy, A. The effects of the vitamin-mineral drug "Antimiopatik" use in cows during the dry period on postnatal growth and health of the offspring / **A. Chernitskiy**, V. Safonov // Proceedings of 23rd Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR); 19–22 September 2019, St. Petersburg, Russia. – Reproduction in Domestic Animals. – 2019. – Vol. 54, № S3. – P. 131–132. – DOI: 10.1111/rda.13528.

27. Lyapko, N. Influence of vitamin-mineral drug "Antimiopatik" on reproductive characteristic in cows / N. Lyapko, **A. Chernitskiy**, V. Safonov // Proceedings of 23rd Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR); 19–22 September 2019, St. Petersburg, Russia. – Reproduction in Domestic Animals. – 2019. – Vol. 54, № S3. – P. 132. – DOI: 10.1111/rda.13528.

Патенты на изобретения

28. Патент 2441650 Российская Федерация, МПК А61К 31/00. Способ лечения бронхопневмонии у телят / Рецкий М. И., Шахов А. Г., **Черницкий А. Е.**, Золотарёв А. И., Шабунин С. В., Ермолова Т. Г. ; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (RU). – № 2010151736/15; заявл. 16.12.2010; опубл. 10.02.2012, Бюл. № 4. – 12 с.

29. Патент 2491550 Российская Федерация, МПК G01N 33/49. Способ прогнозирования развития респираторных болезней у новорожденных телят / **Черницкий А. Е.**, Рецкий М. И., Золотарев А. И., Ефанова Л. И., Алехин Ю. Н., Давыдова В. В. ; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (RU). – № 2012135718/15; заявл. 20.08.2012; опубл. 27.08.2013, Бюл. № 24. – 17 с.

30. Патент 2557709 Российская Федерация, МПК А61В 5/01, А61В 5/02, А61В 5/0205. Способ прогнозирования течения бронхита у телят / Золотарев А. И., **Черницкий А. Е.**,

Шабунин С. В., Рецкий М. И. ; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (RU). – № 2014134595/14; заявл. 22.08.2014; опубл. 27.07.2015, Бюл. № 21. – 9 с.

31. Патент 2564877 Российская Федерация, МПК А61D 99/00, В82В 1/00. Способ неинвазивной экспресс-диагностики воспалительного процесса в органах дыхания у телят / **Черницкий А. Е.**, Кучменко Т. А., Шуба А. А., Рецкий М. И. ; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (RU). – № 2014131430/13; заявл. 29.07.2014; опубл. 10.10.2015, Бюл. № 28. – 8 с.

32. Патент 2593793 Российская Федерация, МПК G01N 33/53, А61D 99/00. Способ определения жизнеспособности новорожденных телят / **Черницкий А. Е.**, Шабунин С. В., Рецкий М. И., Золотарев А. И. ; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (RU). – № 2015138318/15; заявл. 08.09.2015; опубл. 10.08.2016, Бюл. № 22. – 7 с.

33. Патент 2599377 Российская Федерация, МПК А61В 1/267; А61D 99/00. Способ ранней диагностики бронхита у телят / **Черницкий А. Е.**, Золотарев А. И., Рецкий М. И. ; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (RU). – № 2015124687/14; заявл. 23.06.2015; опубл. 10.10.2016, Бюл. № 28. – 8 с.

34. Патент 2614621 Российская Федерация, МПК А61D 99/00. Способ определения концентрации пероксида водорода в выдыхаемом воздухе у животных / **Черницкий А. Е.**, Сыромятников М. Ю., Попов В. Н. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет» (RU). – № 2015127178; заявл. 06.07.2015; опубл. 28.03.2017, Бюл. № 10. – 6 с.

Патенты на полезную модель

35. Патент 134772 Российская Федерация, МПК А61В 5/00. Устройство для сбора конденсата выдыхаемого воздуха у животных / **Черницкий А. Е.**, Рецкий М. И., Золотарев А. И. ; заявитель и патентообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (RU). – № 2013135753/14; заявл. 30.07.2013; опубл. 27.11.2013, Бюл. № 33. – 2 с.

Свидетельства на программы для ЭВМ

36. Программа для оценки взаимосвязи клинического состояния и биохимического профиля новорожденных телят: свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016660700 Российская Федерация / **Черницкий А. Е.**, Сафонов В. А., Шабунин С. В., Посметьев В. В. ; заявитель и правообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (RU). – № 2016618205; заявл. 25.07.2016; зарегистрировано в Реестре программ для ЭВМ 20.09.2016. – [1] с.

37. Программа для оценки риска развития и исхода болезней органов пищеварения и дыхания у телят по гематологическим и биохимическим показателям их матерей в сухостойный период: свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016661901 Российская Федерация / **Черницкий А. Е.**, Шабунин С. В., Сафонов В. А.,

Посметьев В. В. ; заявитель и правообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (RU). – № 2016618534; заявл. 04.08.2016; зарегистрировано в Реестре программ для ЭВМ 25.10.2016. – [2] с.

38. Программа для оценки риска развития и исхода желудочно-кишечных и респираторных болезней у телят в неонатальный период: свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016662738 Российская Федерация / **Черницкий А. Е.**, Шабунин С. В., Сафонов В. А., Посметьев В. В. ; заявитель и правообладатель Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской академии сельскохозяйственных наук (RU). – № 2016618514; заявл. 04.08.2016; зарегистрировано в Реестре программ для ЭВМ 21.11.2016. – [1] с.

Публикации других изданиях

39. Черницкий, А. Е. Биохимические показатели конденсата выдыхаемого воздуха у клинически здоровых телят и телят с респираторной патологией / **А. Е. Черницкий**, Г. Г. Чусова, А. И. Золотарев // Актуальные проблемы болезней обмена веществ у сельскохозяйственных животных в современных условиях: Материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 40-летию ГНУ ВНИВИПФиТ. 30 сентября–2 октября 2010 г., г. Воронеж. – Воронеж: издательство «Истоки», 2010. – С. 253–256.

40. Черницкий, А. Е. Внутривенное применение пероксида водорода для коррекции оксидантно-антиоксидантного статуса телят, больных бронхопневмонией / **А. Е. Черницкий**, Т. Г. Ермолова, А. И. Золотарев // Актуальные проблемы болезней обмена веществ у сельскохозяйственных животных в современных условиях: Материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 40-летию ГНУ ВНИВИПФиТ. 30 сентября–2 октября 2010 г., г. Воронеж. – Воронеж: издательство «Истоки», 2010. – С. 256–259.

41. Черницкий, А. Е. Определение стабильных метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха как способ оценки NO-реактивности дыхательных путей при бронхолегочной патологии у телят / **А. Е. Черницкий**, Г. Н. Близнецова, М. И. Рецкий // «Современные проблемы, перспективы и инновационные тенденции развития аграрной науки»: Сб. материалов междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию со дня рождения члена-корреспондента РАСХН, д.в.н., профессора М.М. Джамбулатова, 25–26 ноября 2010 г. Часть 1. – Махачкала, 2010. – С. 353–355.

42. Черницкий, А. Е. Фармакотерапия бронхопневмонии телят / **А. Е. Черницкий** // Материалы III Съезда фармакологов и токсикологов России «Актуальные проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации», 9–10 июня 2011 г., Санкт-Петербург. – СПб.: Издательство СПбГАВМ, 2011. – С. 480–482.

43. Черницкий, А. Е. Эндогенная интоксикация у телят, больных бронхопневмонией, и её фармакокоррекция / **А. Е. Черницкий**, А. И. Золотарев // Материалы III Съезда фармакологов и токсикологов России «Актуальные проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации», 9–10 июня 2011 г., Санкт-Петербург. – СПб.: издательство СПбГАВМ, 2011. – С. 482–484.

44. Черницкий, А. Е. Состояние эндогенной интоксикации у телят при субклиническом трахеобронхите / **А. Е. Черницкий**, Т. Г. Ермолова // Научное обеспечение инновационного развития отечественного животноводства: Материалы Всероссийской науч.-практ. конф., 16–17 июня 2011 г., г. Новочеркасск, ГНУ СКЗНИВИ Россельхозакадемии. – Новочеркасск, 2011. – С. 130–133.

45. Черницкий, А. Е. Экспирация веществ низкой и средней молекулярной массы у телят в норме и при респираторной патологии / **А. Е. Черницкий** // Актуальные проблемы

современной ветеринарии: Материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 65-летию ветеринарной науки Кубани, 6–7, 11–13 июля 2011 г. Часть 1. – Краснодар, 2011. – С. 104–107.

46. Черницкий, А. Е. Функциональное становление дыхательной системы у новорожденных телят / **А. Е. Черницкий** // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: Материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию со дня рождения проф. Г.А. Черемисинова и 50-летию Воронежской школы ветеринарных акушеров, 18–19 октября 2012 года, г. Воронеж. – Воронеж: Изд-во «Истоки», 2012. – С. 551–556.

47. Черницкий, А. Е. Показатели биохемилюминесценции конденсата выдыхаемого воздуха у здоровых и больных бронхопневмонией телят / **А. Е. Черницкий** // Инновационные решения актуальных проблем в АПК: Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов, 23–24 апреля 2013 г. – Екатеринбург: Уральское издательство, 2013. – С. 211–216.

48. Черницкий, А. Е. Конденсат выдыхаемого воздуха как объект исследований в клинической ветеринарной фармакологии / **А. Е. Черницкий** // Материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации», 16–17 мая 2013 г. – Воронеж: Издательство «Истоки», 2013. – С. 621–623.

49. Черницкий, А. Е. Критерии оценки эффективности фармакотерапии при респираторных болезнях телят / **А. Е. Черницкий**, А. И. Золотарев // Материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России «Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации», 16–17 мая 2013 г. – Воронеж: Издательство «Истоки», 2013. – С. 623–626.

50. Золотарев, А. И. Роль позднего токсикоза беременных (гестоза) у коров-матерей в развитии респираторных болезней телят / А. И. Золотарев, **А. Е. Черницкий** // Актуальные проблемы ветеринарного акушерства и репродукции животных: Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию со дня рождения и 50-летию научно-практической деятельности доктора ветеринарных наук, профессора Г. Ф. Медведева, 10–12 октября 2013 г. – Горки: БГСХА, 2013. – С. 263–266.

51. Черницкий, А. Е. Диагностическое значение исследований конденсата выдыхаемого воздуха при болезнях органов дыхания у животных / **А. Е. Черницкий** // Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны», 22–23 ноября 2013 г. – СПб: Издательство ФГБОУ ВПО «СПбГАВМ», 2013. – С. 147–148.

52. Черницкий, А. Е. Кислотно-основное состояние и газовый состав крови у телят при скрытой дыхательной недостаточности / **А. Е. Черницкий**, А. И. Золотарев // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: Межрегиональный сборник научных работ. – Выпуск 16. – ВГУ, 2014. – С. 211–215.

53. Черницкий, А. Е. Состояние системы оксида азота у телят при бронхите / **А. Е. Черницкий** // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: Межрегиональный сборник научных работ. – Выпуск 16. – ВГУ, 2014. – С. 206–211.

54. Черницкий, А. Е. Гормональные критерии жизнеспособности новорожденных телят / **А. Е. Черницкий**, М. И. Рецкий, А. И. Золотарев // Проблемы и пути развития ветеринарии высокотехнологичного животноводства: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 45-летию ГНУ ВНИВИПФиТ Россельхозакадемии, 1–2 октября 2015. – Воронеж: изд-во «Истоки», 2015. – С. 475–478.

55. Черницкий, А. Е. Современные представления о роли эндогенной интоксикации в патогенезе общего адаптационного синдрома и воспаления у животных / **А. Е. Черницкий**, В. И. Сидельникова // Проблемы и пути развития ветеринарии высокотехнологического животноводства: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 45-летию ГНУ ВНИВИПФиТ Россельхозакадемии, 1–2 октября 2015. – Воронеж: изд-во «Истоки», 2015. – С. 478–484.

56. Черницкий, А. Е. Диагностика воспалительных заболеваний органов дыхания у телят по составу равновесной газовой фазы над пробами конденсата выдыхаемого воздуха / **А. Е. Черницкий**, А. А. Шуба, Т. А. Кучменко, С. В. Шабунин // Сборник тезисов I Всероссийской конференции с международным участием «Химический анализ и медицина», 9–12 ноября 2015, г. Москва – М.: Печатный дом «Каскон», 2015. – С. 59–60.

57. Черницкий, А. Е. Прогнозирование неонатальной патологии у телят по биохимическим показателям их матерей в сухостойный период / **А. Е. Черницкий** // Наука и инновации XXI века: материалы III Всероссийской конференции молодых ученых, 1–2 декабря 2016 г., в 3-х томах. – Сургут: ИЦ СурГУ, 2016. – Том II – С. 49–53.

58. Михалев, В. Клинико-лабораторные индикаторы задержки развития и гибели эмбрионов у коров / В. Михалев, А. Нежданов, **А. Черницкий**, Е. Лозовая, Ю. Масыанов // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2017. – № 5-6. – С. 42–46.

59. Черницкий, А. Е. Изучение особенностей микроэлементного обмена в системе «мать-плацента-плод» у крупного рогатого скота / **А. Е. Черницкий**, Т. С. Скогорева, В. А. Сафонов // Материалы XXIII съезда Физиологического общества имени И.П. Павлова, 18–22 сентября 2017 г., г. Воронеж. – Воронеж: издательство «Истоки», 2017. – С. 2477–2479.

60. Chernitskiy, A. E. Oxidative stress in newborn calves with intrauterine growth retardation is associated with a deficiency of selenium and copper / **А. Е. Chernitskiy**, V. A. Safonov // Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium (IRRS 2018); 16–20 September 2018, Foz do Iguacu, PR, Brazil. – Animal Reproduction. – 2018. – Vol. 15, Suppl. 1. – P. 1053. – DOI: 10.13140/RG.2.2.21457.38240.

61. Safonov, V. A. Serum concentration of sex steroids in down-calving cows as predictors of the respiratory diseases progression among their posterity / V. A. Safonov, **А. Е. Chernitskiy** // Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium (IRRS 2018); 16–20 September 2018, Foz do Iguacu, PR, Brazil. – Animal Reproduction. – 2018. – Vol. 15, Suppl. 1. – P. 1069. – DOI: 10.13140/RG.2.2.19779.66083.

62. Safonov, V. A. Endogenous intoxication indices in cows with preeclampsia as predictors of respiratory diseases development in their offspring / V. A. Safonov, S. V. Shabunin, **А. Е. Chernitskiy** // Proceedings of the VII International Symposium on Animal Biology of Reproduction (ISABR 2018); 6–9 November 2018, Aracaju, SE, Brazil. – Animal Reproduction. – 2019. – Vol. 16, № 1. – P. 112. – DOI: 10.13140/RG.2.2.27955.48169.

63. Safonov, V. Dilelementosis as a risk factor of preeclampsia in dairy cows / V. Safonov, **А. Chernitskiy** // Proceedings of 17th International Conference on Production Diseases in Farm Animals (ICPD 2019); 27–29 June 2019, Bern, Switzerland. – Bern: University of Bern, 2019. – P. 201. – DOI: 10.7892/boris.131406.

64. Chernitskiy, A. E. Calcium-magnesium ratio in the serum of newborn calves correlates with the level of their vitality / **А. Е. Chernitskiy**, S. V. Shabunin, V. A. Safonov // Proceedings of the XIIIth International Symposium on Ruminant Physiology (ISRP 2019), 3–6 September 2019, Leipzig, Germany. – Advances in Animal Biosciences. – 2019. – Vol. 10, № 3. – P. 618. – DOI: 10.1017/S2040470019000037.

65. Шуба, А. А. Применение мультисенсорного детектора для идентификации воспаления органов дыхания у телят / А. А. Шуба, Т. А. Кучменко, **А. Е. Черницкий** // XXI

Менделеевский съезд по общей и прикладной химии, 9–13 сентября 2019 г., г. Санкт-Петербург: тезисы докладов, в 6-ти томах. – СПб, 2019. – Том 4. – С. 328.

66. Черницкий, А. Е. Особенности постнатальной кардиореспираторной адаптации у телят с разным уровнем жизнеспособности / **А. Е. Черницкий**, С. В. Шабунин, В. А. Сафонов // II Объединенный научный форум, включающий VI Съезд физиологов СНГ, VI Съезд биохимиков России и IX Российский симпозиум «Белки и пептиды», 1–6 октября 2019 г., г. Сочи. Научные труды. Acta Naturae. Спецвыпуск, в 2-х томах. Под ред. Р. И. Сепиашвили, В. А. Ткачука, А. Г. Габибова, А. И. Григорьева, В. Т. Иванова, М. А. Островского. – М.: Издательство «Перо», 2019. – Том 1. – С. 188.

67. Черницкий, А. Е. Особенности состава равновесной газовой фазы над пробами конденсата выдыхаемого воздуха у телят разного возраста / **А. Е. Черницкий**, Т. А. Кучменко, А. А. Шуба, Р. У. Умарханов // II Объединенный научный форум, включающий VI Съезд физиологов СНГ, VI Съезд биохимиков России и IX Российский симпозиум «Белки и пептиды», 1–6 октября 2019 г., г. Сочи. Научные труды. Acta Naturae. Спецвыпуск, в 2-х томах. Под ред. Р. И. Сепиашвили, В. А. Ткачука, А. Г. Габибова, А. И. Григорьева, В. Т. Иванова, М. А. Островского. – М.: Издательство «Перо», 2019. – Том 1. – С. 188.

68. Сафонов, В. А. Коррекция гипомикроэлементозов у коров как основа устойчивого развития молочного животноводства в биогеохимических провинциях / В. А. Сафонов, **А. Е. Черницкий** // Материалы X Всероссийской научно-практической конференции «Устойчивое развитие территорий: теория и практика», 14–16 ноября 2019 г., г. Сибай, в 2-х томах. – Сибай: Сибайский информационный центр – филиал ГУП РБ Издательский дом «Республика Башкортостан», 2019. – Том 2. – С. 225–227.

Монографии

69. Черницкий, А. Конденсат выдыхаемого воздуха. Использование в диагностике и прогнозировании респираторных болезней телят / **А. Черницкий**, М. Рецкий. – Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, 2010. – 188 с. – Библиогр.: с. 143–178. – ISBN 978-3-8433-0025-4.

Методические пособия

70. Черницкий, А. Е. Методическое пособие по прогнозированию и ранней диагностике респираторных болезней у телят / **А. Е. Черницкий**, Л. И. Ефанова, А. И. Золотарев, А. Г. Шахов, С. В. Шабунин, М. И. Рецкий. – Воронеж: Издательство «Истоки», 2013. – 48 с.: ил. – 1000 экз. – ISBN 978-5-88242-993-4.

Подписано в печать 05.03.2020. Формат 60 x 84 1/16

Усл. печ. л. 2,0. Тираж 100 экз. Заказ № 25.

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
университет инженерных технологий»

(ФГБОУ ВО «ВГУИТ»)

Отдел полиграфии ФГБОУ ВО «ВГУИТ»

Адрес университета и отдела полиграфии:
394036, Воронеж, пр. Революции, 19