

in peripheral blood as compared with the level of population of clinically healthy young animals. They also show change of ratio of cages in trombositogramma. It is an increase in number of young, old, degenerate platelets and forms of irritation it is a decrease in percent of diskotsit and increase of quantity of sferoobrazny forms. We also register a tendency of increase in average volume of cages, numbers of macro-platelets and reduction of width of distribution of platelets' volume. At the same time the average volume of platelets changed back in proportion to their quantity and variability of morphometric parameters as to compare with healthy animals. Weakening of the induced ADF-aggregation of platelets during spontaneous aggregation of blood plates at sick calves did not change at all. The received morphometric characteristics of platelets at the process of calves' bronchopneumonia can be used as diagnostic criteria for an assessment of disease severity and its therapy.

Сведения об авторах:

Аксенова Вера Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой анатомии сельскохозяйственных животных ФГБОУ ВПО «Пермская ГСХА»; кв. 79, д. 61, ул. П.Осипенко, г. Пермь, Россия, 614039; тел.: +7(342) 240-56-52

Никулина Надежда Борисовна, доктор ветеринарных наук, доцент кафедры анатомии сельскохозяйственных животных ФГБОУ ВПО «Пермская ГСХА»; кв. 72, д.1, ул. Звонарева, г. Пермь, Россия, 614051; тел.: 8-912-980-36-94; e-mail: uralskay114@yandex.ru

Гурова Светлана Вячеславовна, канд. вет. наук, доцент кафедры анатомии сельскохозяйственных животных ФГБОУ ВПО «Пермская ГСХА»; кв.17, д.1, ул. Снайперов, г. Пермь, Россия, 614066; тел.: 8-902-83-39-366; e-mail: gurvet@yandex.ru

Author affiliation:

Aksionova Vera Mihailovna, D.Sc. of Biology, Professor, Head of the Department of Anatomy of agricultural animals of the Federal state budgetary educational institution of higher professional education (FSBEI of HPE) «Perm State Agricultural Academy»; 79, 61, Osipenko Street, Perm, Russia, 614049; phone: (342) 240-56-52

Nikulina Nadezhda Borisovna, D.Sc. in Veterinary Medicine, Associate Professor of the Department of Anatomy of agricultural animals of the Federal state budgetary educational institution of higher professional education (FSBEI of HPE) «Perm State Agricultural Academy»; 72, 1, Zvonareva str., Perm, Russia, 614051, phone: 8-912-980-36-94; e-mail: uralskay114@yandex.ru

Gurova Svetlana Vyacheslavovna, Ph.D. in Veterinary Medicine, Associate Professor of the Department of Anatomy of agricultural animals of the Federal state budgetary educational institution of higher professional education (FSBEI of HPE) «Perm State Agricultural Academy»; 7, 1, Snipers Street, Perm, Russia, 614066; phone: 8-902-83-39-366; e-mail: gurvet@yandex.ru

УДК:636.235.1

Ярован Н.И., Литовченко Д.В.

АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ ПРИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Ключевые слова: высокопродуктивные коровы, технологический стресс, промышленное содержание, белковые фракции, трансферрин, церулоплазмин, альбумин, электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ).

Резюме: В работе показаны результаты электрофоретического разделения белков сыворотки крови при технологическом стрессе у высокопродуктивных коров в условиях промышленного комплекса. Цель работы – выяснение вопросов, связанных с физиолого-биохимическими нару-

шениями, возникающими в организме животных при стрессе. Особенности белкового спектра при развитии стресс-реакции могут быть использованы в диагностической практике и контроле за использованием препаратов стресс-протекторного и антиоксидантного действия у высокопродуктивных коров в условиях технологического стресса при индустриальной технологии ведения молочного скотоводства. Предложена оригинальная методика проведения электрофореза в полиакриламидном геле с использованием концентрирующего геля с $pH=6,7$ и разделяющего геля с $pH=8,9$ при силе тока 25мА, с предварительным разведением сыворотки крови. В качестве концентрирующего геля использовали мелкопористый гель, при этом сыворотку крови разводили в физиологическом растворе 1:2. Анализ полученных данных позволил выявить следующие отклонения в содержании белковых фракций: ниже референтных значений было содержание постальбуминов на 10-й, 20-й и 30-й дни – на 38,7%; альбуминов на 10-й день – на 57,07%, на 20-й день – на 57,26%, на 30-й день – на 57,16%; γ 1-глобулинов на 10-й день – на 44,65%, на 20-й день – на 43%, на 30-й день – на 43,29%; трансферрина на 10-й день – на 10,1%, на 20-й день – на 9,13%, на 30-й день – на 8,81%; церулоплазмина на 10-й день – на 45,66%, на 20-й день – на 44,22%, на 30-й день – на 44,51%; γ 2-глобулинов на 10-й и 20-й дни – на 62,88%, на 30-й день – на 63,02%; β -липопротеидов на 10-й день – на 65,3%, на 20-й и 30-й дни – на 64,64%. Выше референтных значений было содержание β 2-глобулинов на 10-й день – на 8,65%, на 20-й день – на 9,94%, на 30-й день – на 11,22%.

Введение

До настоящего времени остаются до конца не выясненными вопросы, связанные с физиолого-биохимическими изменениями в патогенезе стресс-реакций.

Выявление специфических особенностей белкового спектра, характерных для стресса, а также выявления белков-маркеров, поможет в диагностической практике в качестве отличительного признака стресс-реакции, расшифровке гомеостатических нарушений и контроле за эффективностью использования препаратов стресс-протекторного и антиоксидантного действия.

Известно, что интенсивное ведение животноводства на промышленных комплексах приводит к противоречию технологии выращивания и содержания животных с их генетически детерминированными физиолого-биохимическими особенностями, что позволяет рассматривать данную технологию как стрессогенную. Воздействие ряда стресс-факторов, сопровождающих данную технологию, приводит к увеличению нагрузки на адаптационные способности организма, что влечет за собой различные физиологические и биохимические нарушения [1-5].

Технологический стресс оказывает негативное влияние на здоровье, воспроизводство и продуктивность высокоудойных коров, при этом сроки их хозяйственной эксплуатации снижаются. Развитие стресс-реакций сопровождается интенсивной генерацией свободных радикалов, что вызывает нарушение структуры и функции мембран клеток, биохимических метаболических реакций и снижение иммуните-

та [6,7]. Установлена корреляция между окислительным стрессом и изменениями в белковом спектре у коров при технологическом стрессе, при этом изменения носят качественный и количественный характер.

Материалы и методы исследований

Экспериментальные исследования проводились в ЗАО АПК «Орловская Нива» СП «Комплекс по производству молока Сабурово» Орловской области в период с 2015 по 2016 годы, в лабораторных условиях кафедры биохимии и кормления животных ФГБОУ ВО Орловский ГАУ, в Орловской областной ветеринарной лаборатории и в Инновационном научно-исследовательском испытательном центре Орловского ГАУ.

В ветеринарной исследовательской и клинико-лабораторной практике для разделения белков по фракциям широко используется электрофорез в полиакриламидном геле [8-10].

Электрофоретический метод – это способ пространственного разделения молекул, имеющих разный заряд и размеры, под действием электрического поля. Известна методика проведения электрофореза в полиакриламидном геле с использованием крупнопористого концентрирующего геля ($pH=6,7$) и мелкопористого разделяющего геля ($pH=8,9$). Разведение сыворотки крови и молока проводят с использованием раствора сахарозы. Проводят электрофоретическое концентрирование белков сыворотки крови в крупнопористом концентрирующем геле в течение 30 мин при силе тока 25мА. При использовании этого геля в качестве концентрирующего проис-

ходит диффузия белков сыворотки крови и молока, что приводит к частичной потере белков и, следовательно, снижению точности электрофоретического разделения.

Результаты и обсуждение

В наших исследованиях электрофоретическое разделение белков сыворотки крови проводили в полиакриламидном геле по оригинальной методике [11].

Предлагаемая нами методика заключается в проведении электрофореза в полиакриламидном геле с использованием концентрирующего мелкопористого геля с $pH=6,7$ и разделяющего геля с $pH=8,9$ при силе тока 25мА, с предварительным разведением сыворотки крови. При этом сыворотку крови разводили в физиологическом растворе 1:2.

Мелкопористый гель выполняет также функции концентрирующего благодаря тому, что в предлагаемой методике сохраняется прерывистость системы буферов, что обеспечивает концентрирование белков пробы и образование тонкой стартовой зоны на границе концентрирующего и разделяющего гелей из-за возникающего электрохимического эффекта.

Использование в качестве концентрирующего геля мелкопористого (75%-ного) геля с $pH=6,7$ приводит к снижению процесса диффузии разделяемых белков, что

позволяет избежать потери белков и повысить точность анализа. Кроме того, полимеризация в мелкопористом геле проходит быстрее. Электрофоретическое концентрирование белков сыворотки крови в мелкопористом концентрирующем геле осуществляется в течение 10 мин при силе тока 25мА. Это позволяет сократить время проведения анализа.

Использование физиологического раствора для разведения проб сыворотки крови и молока является наиболее физиологичным для этих биологических жидкостей. Кроме того, хлорид-ионы из физиологического раствора, дополнительно введенные к хлорид-ионам концентрирующего буфера, устремляющиеся под действием электрического поля в сторону анода и оставляющие за собой бедное ионами пространство, приводят к резкому падению напряжения. Это вызывает ускорение медленных ионов глицината и следующих за ними белковых молекул.

Объектом исследований была сыворотка крови высокоудойных коров, содержащихся в условиях промышленного комплекса. Для проведения биохимических исследований было отобрано 10 коров 2-ой лактации (2 недели после отела).

Результаты определения содержания общего белка и белковых фракций представлены в таблице:

Таблица. Общий белок и белковые фракции сыворотки крови высокопродуктивных коров при технологическом стрессе

Показатели	10 дней	20 дней	30 дней	Норма
Постальбумины	2,12 ± 0,01**	2,12 ± 0,01**	2,12 ± 0,00**	3,46-4,4
Альбумины	13,55 ± 0,05	13,49 ± 0,04	13,52 ± 0,02	31,56-32,5
γ1-глобулины	2,69 ± 0,01*	2,77 ± 0,02*	2,76 ± 0,01*	4,86-5,9
Трансферрины	5,61 ± 0,07*	5,67 ± 0,05*	5,69 ± 0,05*	6,24-7,26
Церулоплазмин	1,88 ± 0,01***	1,93 ± 0,01***	1,92 ± 0,01***	3,46-4,46
Щелочная фосфатаза	0,82 ± 0,02	0,81 ± 0,01	0,82 ± 0,01	0,4-0,7
γ2-глобулины	5,13 ± 0,00	5,13 ± 0,00	5,11 ± 0,01	13,82-14,89
β2-глобулины	3,39 ± 0,05*	3,43 ± 0,03*	3,47 ± 0,01*	3,12-4,13
β-липопротеиды	2,11 ± 0,03	2,15 ± 0,00	2,15 ± 0,01	6,08-7

Примечание- * $p<0,95$, ** $p<0,99$, *** $p<0,999$

Выводы и заключение

Анализ полученных данных позволил выявить следующие отклонения в содержании белковых фракций: ниже референтных значений было содержание постальбуминов на 10-й, 20-й и 30-й дни – на 38,7%; альбуминов на 10-й день – на 57,07%, на 20-й день – на 57,26%, на 30-й день –

на 57,16%; γ1-глобулинов на 10-й день на 44,65%, на 20-й день – на 43%, на 30-й день – на 43,29%; трансферрина на 10-й день – на 10,1%, на 20-й день – на 9,13%, на 30-й день – на 8,81%; церулоплазмينا на 10-й день – на 45,66%, на 20-й день – на 44,22%, на 30-й день – на 44,51%; γ2-глобулинов на 10-й и 20-й дни – на 62,88%, на 30-й день – на

63,02%; β -липопротеидов на 10-й день – на 65,3%, на 20-й и 30-й дни – на 64,64%.

Выше референтных значений было содержание β 2-глобулинов на 10-й день – на 8,65%, на 20-й день – на 9,94%, на 30-й день – на 11,22%.

Результаты проведенных исследований по изучению общего белка и белковых фракций в сыворотке крови высокопродуктивных коров в условиях промышленного комплекса показали качественные и

количественные изменения, обусловленные технологическим стрессом при индустриальной технологии ведения молочного скотоводства.

Особенности содержания и кормления высокопродуктивных коров в условиях промышленного комплекса влияют на интенсивность белкового метаболизма, что подтверждается качественными и количественными изменениями фракционного состава белка в сыворотке крови.

Библиографический список:

1. Волкова С.В. Стресс сельскохозяйственных животных, как неблагоприятная ответная реакция на неблагоприятные условия окружающей среды / С.В. Волкова, С.Р. Мелешкина // Современные наукоемкие технологии. – 2008. – №4. – С.55-56.
2. Селье Г. Стресс без дистресса / Г. Селье // – М.: Прогресс, 1979. – 123с
3. Хелари Э. В-Traxim Se: высокая продуктивность во все времена / Э. Хелари // Животноводство России. – 2012. – Январь – С. 56-57.
4. Донник И.М. Особенности адаптации крупного рогатого скота к неблагоприятным экологическим факторам окружающей среды / И.М. Донник, И.А. Шкуратова // Ветеринария Кубани. – 2009. – №5. – С.16-17.
5. Шилкина Л.В. Стресс / Л.В. Шилкина // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2007. – №8. – С.12.
6. Барабой В.А. Перекисное окисление и стресс / В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голотин, Ю.Б. Кудряшов // – СПб.: Наука, 1992. – 148с.
7. Зенков Н.К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньшикова // – М.: ИК Наука/Интерпериодика, 2001. – 343с.
8. Маурер Г. Теория и практика электрофореза в полиакриламидном геле / Г. Маурер // Мир. – 1971. – 247с.
9. Кармолиев Р.Х. Применение в ветеринарии диск-электрофореза. / Р.Х. Кармолиев // Ветеринария. – 1976. – №10. – С. 87-89.
10. Стручкова И.В. Теоретические и практические основы проведения электрофореза в полиакриламидном геле / И.В. Стручкова, Е.А. Калыасова // Электронное учебно-методическое пособие. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, – 2012. – 60 с.
11. Заявка на изобретение №2016113451, МПК G01N27/26. Способ электрофоретического разделения белков сыворотки крови и молока в полиакриламидном геле / Н.И. Ярован, Е.И. Гаврикова, Д.В. Литовченко, Е.Ю. Меркулова, заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО Орловский ГАУ, заявл. 07.04.2016.

References:

1. Volkova S.V. Stress selskokozyaystvennykh zhivotnykh, kak neblagopriyatnaya otnetnaya reaktsiya na neblagopriyatnyye usloviya okruzhayushey sredy [Stress farm animals as an unfavorable response to adverse environmental conditions] / S.V. Volkova, S.R. Meleshkina // Sovremennyye naukoemkie tehnologii. – 2008. – #4. – S.55-56.
2. Sele G. Stress bez distressa [Stress without distress] / G. Sele // – M.: Progress, 1979. – 123s
3. Helari E. B-Traxim Se: vyisokaya produktivnost vo vse vremena [B-Traxim Se: high productivity at all times] / E. Helari // Zhivotnovodstvo Rossii. – 2012. – Yanvar – S. 56-57.
4. Donnik I.M. Osobennosti adaptatsii krupnogo rogatogo skota k neblagopriyatnyim ekologicheskim faktoram okruzhayushey sredy [Features of adaptation of cattle to adverse environmental factors of environmental] / I.M. Donnik, I.A. Shkuratova // Veterinariya Kubani. – 2009. – #5. – S.16-17.
5. Shilkina L.V. Stress [Stress] / L.V. Shilkina // Veterinariya selskokozyaystvennykh zhivotnykh. – 2007. – #8. – S.12.
6. Baraboy V.A. Perekisloe okislenie i stress [Peroxidation and stress] / V.A. Baraboy, I.I. Brehman, V.G. Golotin, Yu.B. Kudryashov // – SPb.: Nauka, 1992. – 148s.
7. Zenkov N.K. Okislitelnyy stress. Biohimicheskie i patofiziologicheskie aspekty [Oxidative stress. The biochemical and pathophysiological aspects] / N.K. Zenkov, V.Z. Lankin, E.B. Menshikova // – M.: IK Nauka/Interperiodika, 2001. – 343s.
8. Maurer G. Teoriya i praktika elektroforeza v poliakrilamidnom gele [The Theory and Practice of polyacrylamide gel electrophoresis] / G. Maurer // Mir. – 1971. – 247s.
9. Karmoliev R.H. Primenenie v veterinarii disk-elektroforeza. [Veterinary applications disk electrophoresis] / R.H. Karmoliev // Veterinariya. – 1976. – #10. – С. 87-89.
10. Struchkova I.V. Teoreticheskie i prakticheskie osnovy provedeniya elektroforeza v poliakrilamidnom gele [Theoretical and practical bases of polyacrylamide gel electrophoresis] / I.V. Struchkova, E.A. Kalyasova // Elektronnoe uchebno-metodicheskoe posobie. – Nizhniy Novgorod: Nizhegorodskiy gosuniversitet, – 2012. – 60 s.
11. Zayavkanaizobretenie#2016113451,MPKG01N27/26. Sposob elektroforeticheskogo razdeleniya belkov syivorotki krovi i moloka v poliakrilamidnom gele [The method of electrophoretic separation of serum proteins and milk in polyacrylamide gel electrophoresis] / N.I. Yarovan, E.I. Gavrikova, D.V. Litovchenko, E.Yu. Merkulova, zayavitel i patentoobladatel FGBOU VO Orlovskiy GAU, zayavl. 07.04.2016.

Yarovan N.I., Litovchenko D.V.

ANALYSIS OF THE ELECTROPHORETIC SEPARATION OF PROTEINS OF BLOOD SERUM IN HIGHLY PRODUCTIVE COWS FOR TECHNOLOGICAL STRESS

Key Words: highly productive cows, process stress, industrial maintenance, protein fraction, transferrin, ceruloplasmin, albumin, polyacrylamide gel electrophoresis

Abstract: The paper shows the results of electrophoretic separation of serum proteins with technological stress in highly productive cows in the conditions of the industrial complex. Features of the protein spectrum in the development of stress reaction can be used in diagnostic practices and for controlling the use of drugs of antistress and antioxidant action. An original method of polyacrylamide gel electrophoresis using a concentrating gel with pH = 6.7 and the separating gel with pH = 8.9 at a current strength of 25 mA, with preliminary dilution of serum is given. The fine pore gel with serum diluted in physiological saline 1: 2 used as the stacking gel. The following abnormalities were identified in the content of protein fractions: lower reference values were content postalbumin on the 10th, 20th and 30th days - on 38.7%; albumin on the 10th day - on 57.07%, on the 20th day - on 57.26%, on the 30th day - on 57.16%; γ 1-globulin on the 10th day - on 44.65%, on the 20th day - on 43% on the 30th day - on 43.29%; transferrin on the 10th day - on 10.1%, on the 20th day - on 9.13%, the 30th day - on 8.81%; ceruloplasmin on the 10th day - on 45.66%, on the 20th day - on 44.22%, on the 30th day - on 44.51%; γ 2-globulin on the 10th and 20th days - on 62.88%, on the 30th day - on 63.02%; β -lipoprotein on the 10th day - on 65.3%, on the 20th and 30th days - on 64.64%. The above reference values was the content of β 2-globulin on the 10th day - on 8.65%, on the 20th day - on 9.94%, the 30th day - on 11.22%.

Сведения об авторах:

Ярован Наталья Ивановна, доктор биол. наук, профессор кафедры биохимии кормления животных ФГБОУ ВО Орловский ГАУ; д. 69, ул. Генерала Родина, г. Орел, Россия, 302019

Литовченко Дмитрий Владимирович, аспирант, ФГБОУ ВО Орловский ГАУ; д. 69, ул. Генерала Родина, г. Орел, Россия, 302019; e-mail: litunia_a@mail.ru

Author affiliation:

Yarovan Natalia Ivanovna, D. Sc. of Biology, Professor of the Department of biochemistry and animal feeding of Federal state budgetary educational institution of higher professional education «Orel State Agrarian University»; 69, General Rodin str., Orel City, Russia, 302019

Litovchenko Dmitry Vladimirovich, Post-graduate student of Federal state budgetary educational institution of higher professional education «Orel State Agrarian University»; 69, General Rodin str., Orel City, Russia, 302019; e-mail: litunia_a@mail.ru

УДК 636.93.0876

Чопорова Н.В., Шубина Т.П.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЖЕЛУДКА НОРКИ СТАНДАРТНОЙ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

Ключевые слова: норки стандартные, желудочно-кишечный тракт, желудок, возрастная морфология, постнатальный онтогенез, морфометрические показатели.

Резюме: Желудочно-кишечный тракт является одним из важнейших звеньев, связывающих организм с окружающей средой, от состояния которого зависит морфофункциональное состояние организма в целом. В связи с этим нами была поставлена цель: изучить морфологию органов желудочно-кишечного тракта норки стандартной (желудка) в постнатальном онтогенезе в возрастном аспекте. Материалом для исследования служили желудки норок стандартных от пяти возрастных групп. Для исследования использовали макро- и микроскопические морфометрические методики. Авторами определены морфометрические показатели желудка норок: масса, объем, длина, относительная масса к массе тела и к массе желудочно-кишечного тракта.