This article provides the production data of whole milk substitutes for feeding calves and describes the used techniques and raw materials. The study discusses some aspects of technology development to obtain high-quality feed while reducing energy costs. One of the promising directions for improving the quality of whole milk substitutes is soy protein specialized types with an optimized composition of components or subjected to a specific biotechnological transformation to expand the range of functional properties. Information is presented on the effect of the young cattle growth rate on the dairy herd's productivity. The factors influencing the development of calves and the productivity of cows are indicated. Among them are a calf

growth rate, age, and weight of the animal at the first calving. A livestock-related efficiency assessment of the whole milk substitutes based on hydrolyzed soy protein, skim milk, and skimmed soy flour when feeding calves aged 4 to 84 days was carried out. Research results indicate that particular attention should be paid to selecting the protein source used in milk substitutes. Growth rates of calves fed milk substitutes based on hydrolyzed soy protein were higher than when fed other feeds. The target weight was achieved using a milk replacer based on hydrolyzed soy protein isolate. Over the same period, the growth of calves fed a milk replacer containing soy flour was very slow and insufficient to achieve a given weight.

© Асафов В.А., Харитонов В.Д., Танькова Н.Л., Исакова Е.Л., Кузнецов П.В., Габриелова В.Т.

УДК 619:616.1:636.5.084.087.8

DOI: 10.31563/1684-7628-2020-55-3-38-47

И.Р. Долинин, Г.В. Базекин, Е.Н. Сковородин, И.В. Чудов, А.И. Лебедева

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧЕНИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ НУКЛЕОСТИМА

Ключевые слова: *Нуклеостим; биостимулятор; цыплята-бройлеры; печень; гистология; иммуногистохимия; CD 68; PCNA; casp 3.*

Введение. Значительная роль в обеспечении населения высококачественными продуктами питания принадлежит птицеводству. Интерес к этой отрасли постоянен как в крупных специализированных предприятиях, так и в малых фермерских хозяйствах, одновременно расширяется видовая гамма разводимой птицы от страусов до перепелов, хотя промышленное производство мяса и яиц кур более традиционно для сельского хозяйства. Кроме того, для этого налажены технологические мощности, созданы условия содержания и кормления птицы, преимуществом разведения сельскохозяйственной птицы являются также: малый расход кормов, короткий период воспроизводства, пластичность организма кур. Однако одного генетического потенциала организма птиц к производству продукции недостаточно – одним из ключей к экстенсивному наращиванию мощностей птицеводства является поиск возможностей применения биологически активных препаратов, обладающих биоактивными свойствами и оказывающих регулирующее влияние на рост и развитие птицы, интенсивность обменных процессов, способных уси-

ливать функциональную активность органов и систем организма, повышать уровень естественной резистентности организма птиц, в то же время – безопасных для собственного организма, а её продукции – для человека и окружающей среды. На данный момент в различных источниках имеется информация о тканевых препаратах (биостимуляторах) и их благотворном влиянии на организм животных и птиц. Как правило, при их использовании происходит увеличение живой массы, улучшаются биохимические и физические показатели крови и т. д. (даже без изменений условий содержания и кормления) [1, 8, 9].

Цель исследований – изучить влияние биологического стимулятора Нуклеостим на гистологическую и гистохимическую картину печени цыплят-бройлеров 30-дневного возраста.

Материалы и методы. *Экспериментальные животные.* Для проведения исследований было использовано 40 цыплят-бройлеров кросса РОСС 308. Опытные и контрольные группы животных содержались в одинаковых условиях на стандартном пищевом рационе со свободным доступом к воде [2, 3].

Используемые биопрепараты. В работе использован биологический стимулятор Нуклеостим. Данный препарат задавали вместе с кормом согласно инструкции по применению. Оптимальные дозы препарата Нуклеостим – 3 г/кг корма. Исследуемые препараты, смешанные с кормом, задавались через день в течение 10 дней.

Гистологические и иммуногистохимические исследования. Печень фиксировали в 10 %-ном растворе нейтрального формалина, обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике [4, 5, 6, 7]. Срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия), их окрашивали гематоксилином и эозином по Ван Гизону. Парафиновые срезы толщиной 4 мкм окрашивали с помощью иммуногистостейнера Leica Microsystems Bond™ (Германия). В качестве первых антител применяли CD 68, PCNA, casp3, Timp2 в разведении 1:300 (Santa Cruz Biotechnology, США). Для демаскировки использовали непрямую стрептавидин-биотиновую систему детекции Leica BOND (Novocastra™, Германия). Оценку специфичности реакции проводили при окрашивании срезов без первых антител. Исследование и визуализацию препаратов проводили с использованием светового микроскопа Leica DMD 108 (Германия) со специализированным программным обеспечением управления настройками и захвата изображения и микроскопа AxioImager Z1, оснащенного фотонасадкой ProgRes C3 и программой анализа изображений Axiovision (C. Zeiss, Германия). Анализ данных проводили с использованием метода двухфакторного дисперсионного анализа и с помо-

щью непараметрических методов: однофакторного дисперсионного анализа по Краскелу – Уоллису и сравнения некоррелированных данных методом Манна – Уитни в программе Statistica 7,0.

Результаты исследований. Нами установлено, что использование биологического стимулятора Нуклеостим в качестве кормовой добавки способствует благоприятному активному росту и развитию печени у цыплят-бройлеров уже в первый месяц его использования, что привело в дальнейшем к интенсивному росту массы тела птицы. Так, после применения Нуклеостима в дозе 3 г/кг корма у цыплят-бройлеров опытной группы печень была покрыта более утолщенной фиброзной капсулой (рисунок 1). Дольковое строение печени цыплят-бройлеров после применения Нуклеостима по-прежнему не просматривалось (рисунок 2). Портальный тракт был представлен веной с расширенным и свободным просветом, артериолами от одной до двух и желчными протоками (рисунок 3). Возле данных структур выявлялась тонкая фиброзная капсула (рисунок 4). Гепатоциты цыплят-бройлеров опытной группы имели полиморфную форму, цитоплазма окрашивалась слабооксифильно, в ней визуализировались многочисленные мелкодисперсные включения и единичные вакуоли. Ядра гепатоцитов были округло-овальной формы, эухроматин превалировал в центральной части ядер. Там же определялись по одному, реже по два крупных ядрышка, что свидетельствует о высокой синтетической активности печеночных клеток. Гетерохроматин в виде узкой полоски располагался по отношению к кардиолемам маргинально.

Рисунок 1
Глиссонова капсула печени у цыплят-бройлеров опытной группы.
Окраска по Ван Гизону

Рисунок 2
Дольковое строение печени не просматривается у кур опытной группы.
Окраска по Ван Гизону

Рисунок 3
Портальный тракт печени цыплят-бройлеров опытной группы.
Окраска гематоксилином и эозином

Рисунок 4
Разрастание соединительной ткани возле магистральных сосудов печени кур опытной группы.
Окраска по Ван Гизону

Синусоидальные пространства были расширены, признаков застоя крови не обнаруживалось. Пространства Диссе хорошо развиты и четко визуализировались. От гепатоцитов их отделял утонченный слой перисинусоидальных эндотелиоцитов. Они были без патоморфологических изменений. Печеночные пластинки не имели четкой радиальной балочной структуры, образовывали анастомозы друг с другом, что характерно для цыплят-бройлеров данного вида (рисунок 5).

С целью исследования просвета сосудов портального тракта проанализированы диаметры артерий, вен и желчных протоков. Выявлено, что у цыплят-бройлеров в контрольной группе площадь поперечного сечения вен составила 2771,0 (1026–6091) мкм², артерий – 137,5

(21–443) мкм², желчных протоков – 86 (52–263) мкм². В опытной группе площадь поперечного сечения вен составила: медиана 3248,5 (1565–6920) мкм², артерий – 89,0 (22–230) мкм², желчных протоков 232,0 (103–714) мкм² при $p \leq 0,05$ (рисунок 6).

Так, выявлено, что различия значений диаметра артерий между двумя экспериментальными группами, а также в пределах одной экспериментальной группы статистически не значимы между собой. А площадь желчных протоков и вены у цыплят-бройлеров опытной группы была больше практически на 1,2 и 2,7 порядка соответственно по сравнению с контрольной группой. Следовательно, применение Нуклеостима вызывает усиление оттока крови и желчеотделения.

Рисунок 5
Гепатоциты печени цыплят-бройлеров опытной группы.
Окраска гематоксилином и эозином

Рисунок 6
Площадь поперечного сечения вен, артерий, желчных протоков.
Ось x – параметры, ось y – площадь (мкм²) при ув. × 400

При иммуногистохимическом исследовании пролиферативного потенциала печени (*выявление PCNA⁺ клеток в печени*) выявлено, что у цыплят-бройлеров контрольной и опытной групп достаточно интенсивно выявлялись многочисленные гепатоциты, ядра которых были PCNA-позитивны. Однако при морфометрическом исследовании численности окрашенных ядер к данному антигену выяснилось, что в контрольной группе медиана составила 230,5 (201–257) клеток в поле зрения, после применения Нуклеостима количество PCNA⁺ клеток было – медиана 284,5 (266–311) при $p < 0,05$, что в 1,23 раза больше (рисунки 7, 8, 9).

При исследовании CD 68⁺ макрофагов, выявлено, что клетки локализовались в перисину-

соидальных пространствах. Численность клеток в полях зрения составила: в контрольной группе медиана – 5,36 (3–8), в опытной – 2,07 (1–4) ($p < 0,05$). Так в контроле численность CD68 макрофагов была больше в 2,6 раз, чем в опыте (рисунки 10, 11, 12). Повышение количества макрофагов в печени оценивается как провоспалительный фактор, который негативно рассматривается при патоморфологическом исследовании. В то же время активация макрофагов печени необходима для адекватной реакции органа в ответ на экзогенные патологические воздействия: инфекцию, травму. А последующий воспалительный ответ защищает от инфекции и ограничивает клеточное и органное повреждение организма хозяина.

Рисунок 7

Количество PCNA⁺ гепатоцитов в печени цыплят-бройлеров.

Ось x – экспериментальные группы, ось y – количество клеток (штуки) в полях зрения при ув. $\times 400$

Рисунок 8

Печень цыплят-бройлеров контрольной группы. PCNA⁺ гепатоциты.

Иммуногистохимическое окрашивание антителами к ядерному антигену пролиферирующих клеток PCNA.

Непрямая стрептавидин-биотиновая система детекции с докраской гематоксилином

Рисунок 9

Печень цыплят-бройлеров опытной группы, получавших Нуклеостим. PCNA⁺ гепатоциты. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к ядерному антигену пролиферирующих клеток PCNA. Непрямая стрептавидин-биотиновая система детекции с докраской гематоксилином

Рисунок 10

Численность CD68⁺ макрофагов в печени цыплят-бройлеров. Ось x – экспериментальные группы, ось y – количество клеток (штуки) в полях зрения при ув. × 400

Рисунок 11

Печень цыплят-бройлеров контрольной группы. CD 68⁺ клетки. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к CD 68. Непрямая стрептавидин-биотиновая система детекции с докраской гематоксилином

Рисунок 12

Печень цыплят-бройлеров опытной группы, получавших Нуклеостим.
CD 68⁺ клетки. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к CD 68.
Непрямая стрептавидин-биотиновая система детекции с докраской гематоксилином

Рисунок 13

Численность caspasa 3⁺ клеток в печени цыплят-бройлеров.
Ось x – экспериментальные группы, ось y – количество клеток (штуки) в полях зрения при ув. × 400

Рисунок 14

Печень цыплят-бройлеров контрольной группы.
Caspasa 3⁺ клетки (↑). Иммуногистохимическое окрашивание антителами к Caspasa 3.
Непрямая стрептавидин-биотиновая система детекции с докраской гематоксилином

Рисунок 15

Печень цыплят-бройлеров опытной группы, получавших Нуклеостим.
Caspasa 3⁺ клетки (↑). Иммуногистохимическое окрашивание антителами к Caspasa 3.
Непрямая стрептавидин-биотиновая система детекции с докраской гематоксилином

Следовательно, можно предположить, что в печени цыплят-бройлеров контрольной группы латентно протекают воспалительные процессы, в опытной они нивелированы. Каспаза 3 (caspasa 3⁺ клетки) активируется в апоптотической клетке как внешним (лигандами смерти), так и внутренним (митохондриальным).

В данном исследовании в контрольной группе медиана составила 3,36 (2–5) клеток, в опытной группе 1,57 (0–3) ($p < 0,05$), что в 2,14 раз больше, чем в опыте (рисунки 13–15). Следовательно, применение Нуклеостима способствует ингибированию апоптоза.

Выводы. Использование биологического стимулятора Нуклеостим в качестве подкормки у цыплят-бройлеров оптимизирует структуру печени, препятствует развитию в органе нарушений клеточных механизмов метаболизма, ведущих к структурным изменениям. Анализ проведенных исследований показал, что у цыплят-

бройлеров контрольной и опытной групп достаточно интенсивно выявлялись многочисленные гепатоциты, ядра которых были PCNA-позитивны. Применение биостимулятора Нуклеостим при выращивании цыплят-бройлеров не влияет на просвет артерий портального тракта, так как при исследовании было выявлено, что различия значений диаметра артерий между двумя экспериментальными группами, а также в пределах одной экспериментальной группы статистически не значимы между собой. Однако наблюдались различия в площади желчных протоков и вен, что говорит о том, что применение биопрепарата вызывает усиление оттока крови и желчеотделения. Так как в печени контрольной группы цыплят-бройлеров численность CD68⁺ макрофагов была выше, чем в опытной, следовательно, это говорит о том, что в контрольной группе латентно протекают воспалительные процессы.

Библиографический список

1. Бронникова, Г.З. Влияние антиоксидантов на печень птиц мясных пород [Текст] / Г.З. Бронникова, О.В. Дюдьбин, Е.Н. Сковородин // Морфология. 2020. Т. 157. № 2–3. С. 40.
2. Жаров, А.В. Патологическая анатомия животных [Электронный ресурс] / А.В. Жаров. СПб. – М. – Краснодар: Лань, 2013. 620 с. Режим доступа: <http://e.lanbook.com>. ISBN: 978-5-8114-1450-5.
3. Латыпов, Д.Г. Вскрытие и патологоанатомическая диагностика болезней животных [Электронный ресурс] / Д.Г. Латыпов, И.Н. Залялов. СПб. – М. – Краснодар: Лань, 2015. Ре-

жим доступа: <http://e.lanbook.com>. ISBN: 978-5-8114-1976-0.

4. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистология [Текст] / Р. Лилли; пер. с англ.; под ред. и с предисловием чл.-корр. АМН В.В. Португалова. М.: Мир, 1969. 512 с.
5. Меркулов, Г.А. Курс патологистологической техники [Текст] / Г.А. Меркулов. Л.: Медицина, 1969. 423 с.
6. Пирс, Э. Гистохимия [Текст] / Э. Пирс. М., 1962. С. 751–754.
7. Сапожников, А.Г. Гистологическая и микроскопическая техника [Текст] / А.Г. Сапож-

ников, // А.Е. Доросевич. Смоленск. 2000. С. 151–153.

8. Сковородин, Е.Н. Морфологическое обоснование применения антиоксидантов при выращивании птицы [Текст] / Е.Н. Сковородин, Г.В. Базекин, Г.З. Бронникова, О.В. Дюдьбин // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. 2020. № 1 (53). С. 114–125.

9. Skovorodin E., Bronnikova G., Bazekin G., Dyudbin O., Khokhlov R. Antioxidant influence on poultry liver morphology and hepatocyte ultrastructure. J. Veterinary World. 2019. Т. 12. № 11. P. 1716–1728.

Сведения об авторах

1. **Долнин Ильгиз Раилевич**, ассистент кафедры морфологии, патологии, фармации и незаразных болезней, ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34, e-mail: ilgiz.dolnin@mail.ru.

2. **Базекин Георгий Вячеславович**, кандидат биологических наук, доцент кафедры морфологии, патологии, фармации и незаразных болезней, ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34, тел.: +7 (347) 228-08-57, e-mail: george.bazekin@rambler.ru.

3. **Сковородин Евгений Николаевич**, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры морфологии, патологии, фармации и незаразных болезней, ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34, тел.: +7 (347) 228-28-77, e-mail: skovorodinen@mail.ru.

4. **Чудов Иван Владимирович**, доктор биологических наук, доцент кафедры морфологии, патологии, фармации и незаразных болезней, ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34, тел.: +7 (347) 228-15-11, e-mail: IVChudov@bk.ru.

5. **Лебедева Анна Ивановна**, доктор биологических наук, старший научный сотрудник отдела морфологии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» МЗ РФ, e-mail: jeol02@mail.ru.

Значительная роль в обеспечении населения высококачественными продуктами питания принадлежит птицеводству. Биостимуляторы благотворно влияют на организм животных и птиц. Поэтому поиск эффективных биопрепаратов является актуальным. В статье представлены результаты исследований применения биологического стимулятора Нуклеостим при выращивании цыплят-бройлеров кросса РОСС-308. Особое внимание уделяется морфологической

характеристике печени цыплят-бройлеров, а также влиянию на печень биостимулятора Нуклеостим на тканевом и клеточном уровнях. Проведенные гистологические и иммуногистохимические исследования показали, что биологический стимулятор Нуклеостим оптимизирует структуру печени, препятствует развитию в органе нарушений клеточных механизмов метаболизма, ведущих к развитию структурных изменений.

I. Dolinin, G. Bazekin, E. Skovorodin, I. Chudov, A. Lebedeva

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE LIVER OF BROILER CHICKENS WHEN USING NUKLEOSTIM

Key words: *nucleostim; broiler chickens; biological product; agriculture; histology; liver; immunohistochemistry; CD 68; PCNA; casp 3.*

Authors' personal details

1. **Ilgiz Dolinin**, Assistant at the Department of Morphology, Pathology, Pharmacy and Non-communicable Diseases, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Bashkir State Agrarian University», 450001, Ufa, 50-letiya Oktyabrya St., 34, e-mail: ilgiz.dolnin@mail.ru.

2. **Georgy Bazekin**, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Morphology, Pathology, Pharmacy and Non-communicable Diseases, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Bashkir State Agrarian University», 450001, Ufa, 50-letiya Oktyabrya St., 34, phone: +7 (347) 228-08-57, e-mail: george.bazekin@rambler.ru.

3. **Evgeny Skovorodin**, Doctor of Veterinary Science, Professor of the Department of Morphology, Pathology, Pharmacy and Non-communicable Diseases, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Bashkir State Agrarian University», 450001, Ufa, 50-letiya Oktyabrya St., 34, phone: +7 (347) 228-28-77, e-mail: skovorodinen@mail.ru.

4. **Ivan Chudov**, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Morphology, Pathology, Pharmacy and Non-communicable Diseases, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Bashkir State Agrarian University», 450001, Ufa, 50-letiya Oktyabrya St., 34, phone: +7 (347) 228-15-11, e-mail: IVChudov@bk.ru.

5. **Anna Lebedeva**, Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher of the Department of Morphology of the Federal State Budgetary Institution «All-Russian Center for Eye and Plastic Surgery» of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: jeol02@mail.ru.

The poultry industry plays a significant role in providing the population with high-quality food products. According to the literature, biostimulants have a beneficial effect on the body of animals and birds. Therefore, the search for effective biological products is relevant. The article presents the results of studies of the use of a biological stimulator nucleostim when growing broiler chickens of the cross РОСС-308. Particular attention is paid to morpho-

logical characteristics of broiler chicken liver, as well as the effect of the biostimulator nucleostimulator on the liver at the cellular level. Histological and immunohistochemical studies have shown that the biological stimulant nucleostim optimizes the structure of the liver, prevents the development of disorders of cellular metabolic mechanisms in the organ which leads to the development of structural changes.

© Долинин И.Р., Базекин Г.В., Сквородин Е.Н., Чудов И.В., Лебедева А.И.

УДК 619:636.5.084.087.8:616.1

DOI: 10.31563/1684-7628-2020-55-3-47-56

И.Р. Долинин, Г.В. Базекин, Е.Н. Сквородин, И.В. Чудов, А.И. Лебедева

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО СТИМУЛЯТОРА НУКЛЕОСТИМ НА ЦЕНТРАЛЬНЫЕ ОРГАНЫ ИММУНИТЕТА У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Ключевые слова: биологический стимулятор; птицеводство; Нуклеостим; тимус; иммуногистохимия; CD 68; PCNA; casp 3.

Введение. Птицеводство – одна из важнейших, динамически развивающихся отраслей агропромышленного комплекса, обеспечивающая население полноценными продуктами питания. Для повышения эффективности отрасли необходимо вести поиск новых эффективных биологических веществ. При этом биологически активные вещества должны быть не только высокоэффективными, но и безвредными для животных и человека. К настоящему времени накоплены значительные экспериментальные данные об использовании биологических стимуляторов в птицеводстве и животноводстве. Важным также является изыскание эффективных методов их применения с целью коррекции естественной резистентности и иммунобиологической реактивности птиц. На данный момент в различных источниках имеется информация о тканевых препаратах (биостимуляторах) и их благотворном влиянии на организм животных и птиц. Как правило, при их использовании происходит уве-

личение живой массы, улучшаются биохимические и физические показатели крови и т. д. (даже без изменений условий содержания и кормления) [1, 8, 11].

Цель исследований – изучение влияния биологического стимулятора Нуклеостим на развитие тимуса и его клинко-морфологическую структуру.

Материал и методы. Экспериментальные животные. Для проведения исследований было использовано 100 цыплят-бройлеров кросса РОСС 308. Опытные и контрольная группы животных содержались в одинаковых условиях на специальном, сбалансированном пищевом рационе со свободным доступом к воде.

Используемый биопрепарат. В работе использован биологический стимулятор Нуклеостим. Данный препарат вводили в рацион птиц в нужных концентрациях и задавали вместе с кормом согласно инструкции по применению.