МРНТИ 68.41.33 **DOI: 10.58318/2957-5702-2025-24-34-43**
Түпнұсқа мақала

RHODOCOCCUS EQUI ШТАММЫНЫҢ pVapA ПЛАЗМИДІН ЕШКІГЕ ЖҰҚТЫРҒАННАН КЕЙІНГІ ГЕМАТОЛОГИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕР

Г.Д. Ильгекбаева*, Б.К. Отарбаев, С.Курман, М.З. Занилабдин, У. Жолдас, А.М. Кадеев, Б.А. Валиева

“Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті” КЕАҚ, Алматы қ., Қазақстан
*gulnaz66@mail.ru

Аннотация. Зерттеуде Заанен тұқымды 2–3 айлық ешкілерге вирулентті pVapA-оң *Rhodococcus equi* штаммдарын енгізгеннен кейінгі гематологиялық көрсеткіштердің уақыттық динамикасы бағаланды. 0–65 күн аралығында гемоглобин (Hb), эритроциттер (RBC), лейкоциттер (WBC), гематокрит (HCT), MCV, MCH, MCHC және RDW көрсеткіштері бақылау тобымен салыстырылып талданды. Жалпы алғанда, негізгі уақыт нүктелерінде топтар арасында тұрақты статистикалық мәнді айырмашылықтар анықталмады. Hb бойынша тек VapA-108 тобында 65-күні бақылаумен салыстырғанда төмендеу байқалды (p=0,033), алайда әр топтағы жануар санының аз болуы (n=3) бұл нәтижені сақтықпен түсіндіруді талап етеді. 95% сенімділік интервалдарының кеңдігі мен вариация коэффициенттерінің жоғары болуы жеке вариабельділіктің айқын екенін көрсетті. Алынған деректер ешкі моделінде pVapA-оң *R. equi* штаммдары айқын, тұрақты жүйелік гематологиялық ауытқулардан гөрі әлсіз және ауыспалы жауап туғызғанын көрсетеді.

Түйін сөздер: Rhodococcus equi, pVapA, лейкоциттер, эритроциттер, гемоглобин, қабыну реакциясы, ешкі моделі.

Кіріспе

Rhodococcus equi – факультативті жасушаішілік патоген; ол көбіне жас жануарларда, әсіресе құлындарда, іріңді-гранулематозды пневмония және жүйелік қабыну процестерімен сипатталатын инфекция туғызады [1, 2]. Қоздырғыштың вируленттілігі көп жағдайда плазмидамен кодталатын *virulence-associated proteins* (Vap) жүйесімен байланысты. Соның ішінде pVapA-плазмидасы бар штаммдар макрофаг ішінде сақталып, фаголизосомалық жетілуді бұзып, инфекциялық процестің ұзақ жүруіне ықпал етеді [3, 4].

Вирулентті pVapA-оң *R. equi* штаммдарының әсерін тәжірибелік модельде бағалау инфекцияға организмнің жүйелік жауабын уақыт бойынша сипаттауға мүмкіндік береді. Мұндай тәсіл жұқтырудан кейінгі ерте, аралық және кеш кезеңдердегі гематологиялық өзгерістерді бірізді түрде бақылауға, сондай-ақ қабыну белгілерінің айқындылығын бағалауға қолайлы.

Гематологиялық көрсеткіштер инфекциялық процестің жүйелік көрінісін сипаттайтын қолжетімді және ақпаратты маркерлер қатарына жатады [5]. Лейкоциттер деңгейінің өзгеруі қабыну белсенділігін жанама көрсетсе, Hb, RBC және HCT көрсеткіштері эритронның күйін бағалауға мүмкіндік береді. Ал MCV, MCH, MCHC және RDW эритроцит популяциясының құрылымдық ерекшеліктерін нақтылауға көмектеседі. Ешкі моделі физиологиялық бақылауға ыңғайлы болғандықтан, ол *R. equi* штаммдарының жүйелік әсерін бағалауда қолданбалы маңызға ие [6, 7].

Ешкі – ауыл шаруашылығында кең таралған, физиологиясы жақсы сипатталған және қан көрсеткіштері арқылы жүйелік жауапты мониторингілеуге қолайлы жануар моделі. Сонымен қатар, нақты жоспарланған уақыттық бақылау (longitudinal monitoring) инфекцияның ерте, аралық және кеш кезеңдерін салыстыруға мүмкіндік береді [8].

Осы зерттеудің мақсаты – вирулентті pVapA-оң *Rhodococcus equi* штаммдарымен эксперименттік жұқтырылған ешкілердегі гематологиялық көрсеткіштердің 0–65 күн аралығындағы динамикасын сипаттап, оны бақылау тобымен салыстыру.

Материалдар мен әдістер

Зерттеу дизайны және жануарлар. Экспериментке клиникалық сау, 2–3 айлық, Заанен тұқымды 12 ешкі алынды. Жануарлар стандартты азықтандыру және суару жағдайында ұсталып,

төрт топқа бөлінді: VapA-107 (*n*=3), VapA-108 (*n*=3), VapA-109 (*n*=3) және бақылау (*n*=3). Эксперименттік топтардың құрамы 1-кестеде берілген.

Кесте 1 – Эксперименттік дизайн және жануарларды топтау

Топ	Жеке сәйкестендіру нөмірі		Плазмид, доза
Бірінші	KZj200496314		VapA-10^7
	KZj200496372		VapA-10^7
	KZj200496388		VapA-10^7
Екінші	KZj200496381		VapA-10^8
	KZj200496383		VapA-10^8
	KZj200496390		VapA-10^8
Үшінші	KZj200496375		VapA-10^9
	KZj200496385		VapA-10^9
	KZj200496395		VapA-10^9
Төртінші	KZj200496310		Бақылау
	KZj200496366		Бақылау
	KZj200496380		Бақылау

Зерттелген штаммдар және өсіру жағдайы. Экспериментте вирулентті pVapA-оң *Rhodococcus equi* штаммдары (VapA-107, VapA-108, VapA-109) қолданылды. Штаммдар триптон-соялы агарда 37 °C температурада 24–48 сағат өсірілді. Өскіндердің морфологиясы макроскопиялық бағаланды, ал жағынды-препараттар Грам әдісімен боялып, грамоң коккобацилл/таяқша тәрізді морфологиясы расталды.

Жұқтырғыш езінді дайындау және жұқтыру. Бактериялық суспензия стерильді физиологиялық ерітіндіде дайындалып, микроорганизмдер саны бірізді сұйылтулар арқылы 10^7, 10^8 және 10^9 деңгейіне дейін жеткізілді. Әр эксперименттік топқа тиісті штаммның 7 мл суспензиясы мойын күре тамыры арқылы бір рет енгізілді. Бақылау тобы жұқтырылған жоқ.

Қан алу және үлгілерді дайындау. Қан үлгілері жұқтыруға дейін (0-күн) және жұқтырудан кейін 4, 7, 11, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 және 65-күндері алынды. Үлгілер EDTA-K2 вакуумдық түтікшелеріне жиналып, 2 сағат ішінде зертханаға жеткізілді.

Гематологиялық зерттеу аспабы және көрсеткіштер. Жалпы қан талдауы автоматтандырылған ветеринариялық гематологиялық анализаторда (*Mindray BC-2800Vet, Mindray, Қытай*) орындалды. Зерттеуде WBC, RBC, Hb, HCT, MCV, MCH, MCHC және RDW көрсеткіштері талданды. Барлық нәтижелер Mean±SD (*n*=3) түрінде беріліп, әр топ үшін 95% сенімділік интервалдары мен вариация коэффициенті есептелді.

Көрсеткіштер бірліктері мынадай түрде ұсынылды: Hb – г/л, RBC – $\times10^{12}$/л, WBC – $\times10^9$/л, HCT – %, MCV – fL, MCH – pg, MCHC – г/л, RDW – %.

Статистикалық талдау. Деректер әр топ үшін орташа мән ± стандарттық ауытқу түрінде берілді. Қосымша сипаттамалық көрсеткіштер ретінде вариация коэффициенті (CV, %) және 95% сенімділік интервалдары есептелді. Эксперименттік және бақылау топтары арасындағы айырмашылықтар уақыт нүктелері бойынша салыстырылып, $p<0,05$ деңгейі статистикалық мәнді деп қабылданды.

Этикалық аспект. Жануарларға жүргізілген барлық процедуралар биоқауіпсіздік талаптарын сақтай отырып орындалды және жануарларға қатыгездік жасамау қағидаларына сәйкес ұйымдастырылды. Бұл зерттеу бойынша мекемелік биоэтика комиссиясының хаттамасы (№3, 14.03.2025). Манипуляциялар кезінде жануардың стрессін азайту, асептика-антисептика талаптарын сақтау және қажет болған жағдайда ауырсынуды басу шаралары қарастырылды.

Нәтижелер

Гемоглобин (Hb) көрсеткіші қанның оттегін тасымалдау әлеуетін сипаттайтын негізгі параметрлердің бірі болғандықтан, оның динамикасы RBC және HCT нәтижелерімен бірге кешенді түрде бағаланды (2-кесте). Бастапқы 0-күні VapA-10^7 тобында Hb деңгейі 105,67±16,04 г/л, ал бақылау тобында 100,67±4,73 г/л болды, яғни тәжірибе басталғанға дейін топтар арасында айқын алшақтық байқалмады. 7-күні VapA-10^7 тобында Hb 107,67±15,63 г/л деңгейінде сақталып, бақылау тобындағы 108,67±4,04 г/л көрсеткішіне өте жақын болды. Алайда 65-күні VapA-10^7 тобында Hb

93,00±16,64 г/л-ге дейін төмендеді, ал бақылау тобында бұл көрсеткіш 116,33±5,51 г/л болды.

Топаралық салыстыру нәтижесінде VapA-10^7 тобында 7 және 65-күндері статистикалық мәнді айырмашылық анықталмады (тиісінше p=0,923 және p=0,125). VapA-10^8 тобында 7-күні Hb төмендеуге бейім болғанымен, бұл айырмашылық шектік деңгейде қалып (p=0,083), 65-күні бақылау тобымен салыстырғанда статистикалық мәнді төмендеу тіркелді (p=0,033). VapA-10^9 тобында да 65-күні Hb төмендеу үрдісі байқалғанымен, ол статистикалық мәнге жеткен жоқ (p=0,064). Осылайша, Hb динамикасы бойынша барлық топтарда бірдей бағытталған әрі тұрақты өзгеріс байқалмады; тек VapA-10^8 тобында кеш кезеңде айқын төмендеу анықталды. Сонымен қатар сенімділік интервалдарының кеңдігі мен вариация коэффициенттерінің жоғары болуы жеке жануарлар арасындағы айырмашылықтардың елеулі екенін көрсетті.

Кесте 2 – Ешкі қанындағы гемоглобин (Hb) динамикасы

Күн, тәулік	VapA-10^7	VapA-10^8	VapA-10^9	Бақылау
0	105.67±16.04	98.00±6.00	107.00±8.19	100.67±4.73
4	110.00±12.49	102.00±9.54	120.50±9.19	110.00±5.20
7	107.67±15.63	99.33±5.51	106.00±14.53	108.67±4.04
11	107.00±14.53	95.67±7.09	105.67±11.50	107.33±3.51
14	102.00±10.00	95.33±7.77	106.00±11.53	102.00±2.00
21	111.67±9.24	102.67±9.29	109.67±11.02	106.67±7.23
28	102.33±15.57	95.00±4.36	104.33±15.04	104.00±3.46
35	114.67±16.44	110.67±5.51	112.33±10.79	115.67±10.50
42	104.33±18.50	103.33±5.86	106.33±16.26	113.67±5.77
49	104.33±16.86	103.00±3.00	108.67±13.05	114.67±9.07
56	110.67±21.94	111.33±2.52	105.50±7.78	118.33±6.03
65	93.00±16.64	99.67±0.58	101.33±8.08	116.33±5.51

Эритроциттер саны (RBC) эритрон жүйесінің жалпы күйін сипаттайтын маңызды көрсеткіш ретінде бағаланды (3-кесте). Бастапқы 0-күні VapA-10^7 тобында RBC 3,17±0,99×10^{12}/л, ал бақылау тобында 2,56±0,89×10^{12}/л болды. 7-күні VapA-10^7 тобында бұл көрсеткіш 3,27±0,97×10^{12}/л болып, бақылаудағы 2,75±0,67×10^{12}/л деңгейіне жақын сақталды. 65-күні VapA-10^7 тобында RBC 2,47±0,94×10^{12}/л-ге дейін төмендегенімен, бақылау тобында 2,72±0,84×10^{12}/л деңгейінде болды.

Welch t-тесті бойынша VapA-10^7 тобында 7 және 65-күндері бақылау тобымен салыстырғанда статистикалық мәнді айырмашылық байқалмады (p=0,492 және p=0,749). Сол сияқты VapA-10^8 және VapA-10^9 топтарында да 7 және 65-күндері барлық салыстыруларда p>0,05 болды. Бұл pVapA-оң штаммдармен эксперименттік жұқтыру эритроциттер санына айқын және тұрақты әсер етпегенін көрсетеді. Дегенмен кейбір топтарда уақыт соңына қарай төмендеу тенденциясының байқалуы инфекциялық процестің жекелеген жануарларда әлсіз ықпал етуі мүмкін екенін жоққа шығармайды.

Кесте 3 – Ешкі қанындағы эритроциттер (RBC) динамикасы

Күн, тәулік	VapA-10^7	VapA-10^8	VapA-10^9	Бақылау
0	3.17±0.99	2.44±0.41	3.30±1.07	2.56±0.89
4	3.31±0.92	2.48±0.53	3.67±0.74	2.88±0.82
7	3.27±0.97	2.46±0.49	3.16±1.09	2.75±0.67
11	3.47±0.66	2.41±0.39	3.11±0.87	2.97±0.83
14	3.27±0.83	2.34±0.26	3.24±1.05	2.63±0.55
21	3.23±0.82	2.42±0.33	2.91±0.65	2.89±1.04
28	2.87±0.56	2.25±0.46	2.82±0.93	2.54±0.57
35	3.46±1.06	2.74±0.33	3.09±0.80	2.89±0.34
42	2.99±0.86	2.61±0.14	2.96±0.98	2.94±0.86
49	3.10±1.12	2.53±0.43	3.08±1.00	2.81±0.36
56	3.12±1.12	2.81±0.29	2.62±0.39	3.12±0.92
65	2.47±0.94	2.22±0.27	2.49±0.60	2.72±0.84

Лейкоциттер (WBC) деңгейі жүйелік қабыну мен инфекциялық белсенділіктің жанама маркері

ретінде қарастырылды (4-кесте). 0-күні VapA-10^7 тобында WBC 8,94±1,73×10^9/л, ал бақылау тобында 9,60±0,57×10^9/л болды. 7-күні VapA-10^7 тобында WBC 8,76±2,06×10^9/л, бақылауда 9,25±1,67×10^9/л тіркелді. 65-күні VapA-10^7 тобында WBC 8,65±1,89×10^9/л болып, бақылау тобындағы 11,00±0,75×10^9/л көрсеткішінен төмен болды.

Топаралық салыстыру нәтижелері бойынша VapA-10^7 тобы үшін 7 және 65-күндері айырмашылық статистикалық мәнге жеткен жоқ (p=0,766 және p=0,152). VapA-10^8 және VapA-10^9 топтарында да негізгі уақыт нүктелерінде мәнді айырмашылық байқалмады (p>0,05). Сонымен бірге жекелеген кезеңдерде VapA-10^8 және VapA-10^9 топтарында жоғарырақ WBC мәндері тіркелгені байқалды, бірақ бұл өзгерістер тұрақты сипат алмады. Жалпы алғанда, алынған деректер айқын жүйелік лейкоцитозбен сипатталатын күшті қабыну синдромын емес, әлсіз немесе ауыспалы гематологиялық жауапты көрсетеді.

Кесте 4 – Ешкі қанындағы лейкоциттер (WBC) динамикасы

Күн, тәулік	VapA-10^7	VapA-10^8	VapA-10^9	Бақылау
0	8.94±1.73	11.02±1.09	12.38±1.26	9.60±0.57
4	9.74±1.81	11.37±1.79	11.81±0.18	9.18±2.17
7	8.76±2.06	11.68±3.95	10.93±0.62	9.25±1.67
11	8.57±2.70	9.49±2.23	10.43±0.78	8.62±1.17
14	7.64±2.70	11.33±2.03	11.19±0.87	8.64±0.99
21	8.43±3.34	10.65±1.55	10.80±0.66	9.32±1.59
28	8.97±1.16	11.16±2.27	11.49±0.90	9.19±1.43
35	9.42±2.65	14.70±1.80	11.02±0.80	10.82±2.06
42	10.34±4.46	12.70±1.14	11.90±0.73	10.97±2.09
49	8.30±1.73	9.94±0.24	10.87±0.68	11.89±1.74
56	8.88±1.37	10.44±1.79	10.85±0.54	11.14±1.70
65	8.65±1.89	10.91±0.71	11.69±0.95	11.00±0.75

Гематокрит (HCT) көрсеткіші эритроциттік массаның қан көлеміндегі үлесін сипаттайтындықтан, ол Hb және RBC нәтижелерімен бірге интерпретацияланды (5-кесте). 0-күні VapA-10^7 тобында HCT 12,13±4,15%, ал бақылау тобында 9,47±3,80% болды. 7-күні VapA-107 тобында HCT 12,50±4,06%, бақылауда 10,27±3,06% тіркелді. 65-күні VapA-10^7 тобында HCT 9,20±3,77%-ға дейін төмендесе, бақылауда 10,20±3,70% болды.

Welch t-тесті бойынша VapA-10^7 тобында 7 және 65-күндердегі айырмашылықтар статистикалық мәнді болмады (p=0,493 және p=0,759). VapA-10^8 және VapA-10^9 топтарында да осындай көрініс сақталып, барлық негізгі салыстыруларда p>0,05 болды. Демек, зерттелген модельде эритроцитарлық массаның айқын және тұрақты төмендеуі дәлелденген жоқ. HCT нәтижелерінің Hb және RBC көрсеткіштерімен үйлесуі жүйелік анемиялық үрдістің айқын қалыптаспағанын көрсетеді.

Кесте 5 – Ешкі қанындағы гематокрит (HCT) динамикасы

Күн, тәулік	VapA-10^7	VapA-10^8	VapA-10^9	Бақылау
0	105.67±16.04	98.00±6.00	107.00±8.19	100.67±4.73
4	110.00±12.49	102.00±9.54	120.50±9.19	110.00±5.20
7	107.67±15.63	99.33±5.51	106.00±14.53	108.67±4.04
11	107.00±14.53	95.67±7.09	105.67±11.50	107.33±3.51
14	102.00±10.00	95.33±7.77	106.00±11.53	102.00±2.00
21	111.67±9.24	102.67±9.29	109.67±11.02	106.67±7.23
28	102.33±15.57	95.00±4.36	104.33±15.04	104.00±3.46
35	114.67±16.44	110.67±5.51	112.33±10.79	115.67±10.50
42	104.33±18.50	103.33±5.86	106.33±16.26	113.67±5.77
49	104.33±16.86	103.00±3.00	108.67±13.05	114.67±9.07
56	110.67±21.94	111.33±2.52	105.50±7.78	118.33±6.03
65	93.00±16.64	99.67±0.58	101.33±8.08	116.33±5.51

Эритроциттің орташа көлемі (MCV) эритроциттердің морфометриялық ерекшелігін

сипаттайды және ықтимал микроцитоз немесе макроцитоз белгілерін бағалауға мүмкіндік береді (6-кесте). 0-күні VapA-10^7 тобында MCV 38,00±1,31 fL, ал бақылау тобында 36,37±2,69 fL болды. 7-күні VapA-10^7 тобында MCV 37,93±1,29 fL, бақылауда 36,90±2,35 fL тіркелді. 65-күні тиісінше 36,93±1,30 fL және 37,00±2,54 fL болды.

Барлық эксперименттік топтарда MCV көрсеткіші тар диапазонда сақталды. VapA-10^7, VapA-10^8 және VapA-10^9 топтарының бақылаумен салыстырғандағы 7 және 65-күндердегі барлық *p*-мәндері 0,05-тен жоғары болды. Бұл эритроциттердің орташа көлемінде айқын морфологиялық ығысу болмағанын және инфекциялық әсердің эритроцит өлшеміне жүйелі ықпал етпегенін көрсетеді.

Кесте 6 – Ешкі қанындағы эритроциттің орташа көлемінің (MCV) динамикасы

Күн, тәулік	VapA-10^7	VapA-10^8	VapA-10^9	Бақылау
0	38.00±1.31	36.53±1.05	37.80±1.83	36.37±2.69
4	38.07±1.32	36.50±1.15	38.85±1.48	36.87±2.31
7	37.93±1.29	36.33±1.38	37.70±1.90	36.90±2.35
11	38.53±1.05	36.43±1.10	38.00±1.60	37.20±2.19
14	37.93±1.00	36.17±0.83	37.90±1.90	36.73±1.95
21	38.00±1.23	36.30±0.85	37.47±1.45	37.13±2.27
28	37.60±0.89	36.10±1.15	37.27±1.80	36.43±1.93
35	38.43±1.40	36.77±0.90	37.67±1.63	37.37±1.53
42	37.70±1.35	36.80±0.61	37.47±1.75	37.17±2.17
49	37.80±1.35	36.60±0.90	37.47±1.85	36.97±1.70
56	38.27±1.53	37.03±0.58	36.85±0.78	37.47±2.50
65	36.93±1.30	35.87±0.65	36.80±1.37	37.00±2.54

Эритроциттегі гемоглобиннің орташа мөлшері (MCH) эритроциттің функционалдық сипаттамасын толықтыратын көрсеткіш ретінде бағаланды (7-кесте). VapA-10^7 тобында 0-күні MCH 34,90±8,00 pg, бақылау тобында 43,40±17,33 pg болды. 7-күні VapA-10^7 тобында бұл көрсеткіш 34,27±7,25 pg, ал бақылауда 41,13±10,13 pg құрады. 65-күні VapA-10^7 тобында 39,73±8,38 pg, бақылау тобында 46,30±17,53 pg тіркелді.

Топаралық салыстырулар бойынша VapA-10^7, VapA-10^8 және VapA-10^9 топтарының ешқайсысында 7 және 65-күндері статистикалық мәнді айырмашылық анықталған жоқ (p>0,05). Бұл MCH көрсеткішінің салыстырмалы тұрақтылығын және инфекциялық ықпалдың эритроциттегі гемоглобин мөлшеріне айқын әсер етпегенін көрсетеді.

Кесте 7 – Ешкі қанындағы эритроциттегі гемоглобиннің орташа мөлшерінің (MCH) динамикасы

Күн, тәулік	VapA-10^7	VapA-10^8	VapA-10^9	Бақылау
0	34.90±8.00	40.87±5.66	34.07±7.58	43.40±17.33
4	34.40±6.85	41.87±5.62	33.25±4.17	40.43±11.66
7	34.27±7.25	41.20±6.07	35.23±7.66	41.13±10.13
11	31.17±4.05	40.20±4.39	35.10±6.05	38.47±12.59
14	32.27±6.74	41.30±7.15	34.40±7.62	40.20±10.23
21	35.67±6.65	42.77±4.61	38.37±4.78	40.33±14.98
28	35.97±4.04	43.10±7.27	38.60±7.66	42.70±12.30
35	34.23±5.92	40.73±4.87	37.53±7.09	40.70±8.65
49	35.47±7.52	41.33±5.93	36.90±7.42	41.57±9.12
56	37.13±6.83	39.93±3.84	40.55±3.04	40.57±13.74
65	39.73±8.38	45.40±5.15	41.70±6.70	46.30±17.53
1503	35.77±5.20	39.77±3.91	37.27±6.19	41.57±14.95

Эритроциттегі гемоглобиннің орташа концентрациясы (MCHC) эритроциттердің гемоглобинмен қанығу дәрежесін сипаттайды (8-кесте). VapA-10^7 тобында 0-күні MCHC 92,37±23,93 г/л, ал бақылауда 122,03±59,04 г/л болды. 7-күні VapA-10^7 тобында 90,77±22,01 г/л,

бақылауда 112,93±36,00 г/л тіркелді. 65-күні VapA-10^7 тобында 10^8, 07±25,84 г/л, ал бақылау тобында 127,83±58,39 г/л анықталды.

Статистикалық талдау VapA-10^7, VapA-10^8 және VapA-10^9 топтарының ешқайсысында бақылаумен салыстырғанда мәнді айырмашылық болмағанын көрсетті (p>0,05). Осылайша, МСНС динамикасы эритроциттердің гемоглобинмен қанығу деңгейінде тұрақты патологиялық өзгерістер қалыптаспағанын көрсетті.

Кесте 8 – Ешкі қанындағы эритроциттегі гемоглобиннің орташа концентрациясының (МСНС) динамикасы

Күн, тәулік	VapA-10^7	VapA-10^8	VapA-10^9	Бақылау
0	92.37±23.93	112.13±18.64	90.90±24.13	122.03±59.04
4	90.73±20.54	115.10±18.86	85.90±14.00	111.40±40.01
7	90.77±22.01	114.07±20.55	94.27±25.16	112.93±36.00
11	81.10±12.13	110.63±15.50	93.03±19.86	105.07±41.43
14	85.33±19.49	114.53±22.32	91.57±24.83	110.67±34.72
21	94.23±20.03	117.97±15.14	102.90±16.89	110.50±48.52
28	95.90±12.29	119.93±23.92	104.33±25.82	118.77±41.27
35	89.63±18.24	110.97±15.54	100.37±23.41	109.63±28.22
42	94.33±18.22	108.20±12.28	100.17±20.89	113.73±48.50
49	94.50±23.05	113.20±19.01	99.20±24.61	113.37±30.69
56	97.70±21.94	108.00±12.04	110.20±10.47	110.27±45.76
65	108.07±25.84	126.67±16.80	113.83±22.25	127.83±58.39

Эритроциттердің таралу ені (RDW) эритроцит популяциясының көлемдік әркелкілігін сипаттайды және анизоцитоздың жанама маркері ретінде қарастырылды (9-кесте). 4-күні VapA-10^7 тобында RDW 27,95±1,34%, ал бақылау тобында 27,07±2,86% болды. 7-күні VapA-10^7 тобында RDW 28,40±1,47%, бақылауда 26,60±3,96% тіркелді. 65-күні VapA-10^7 тобында 27,95±0,49%, ал бақылауда 25,65±4,03% болды.

Топаралық салыстырулар бойынша VapA-10^7 және VapA-10^8 топтарында барлық негізгі кезеңдерде статистикалық мәнді айырмашылық байқалмады (p>0,05). VapA-10^9 тобы бойынша 65-күндегі есептеуде p=nan алынуы шағын іріктеме мен деректер вариациясының техникалық шектеуін көрсетеді. Жалпы алғанда, RDW нәтижелері эритроцит популяциясының көлемдік әркелкілігінде жүйелі өзгеріс болмағанын көрсетті.

Кесте 9 – Ешкі қанындағы эритроциттердің таралу енінің (RDW) динамикасы

Күн, тәулік	VapA-10^7	VapA-10^8	VapA-10^9	Бақылау
4.0	27.95±1.34	26.80±2.55	30.90±nan	27.07±2.86
7.0	28.40±1.47	26.70±1.80	28.20±2.17	26.60±3.96
11.0	29.07±1.43	26.05±1.20	28.40±1.85	27.20±2.74
14.0	28.30±1.23	26.37±0.99	29.25±1.34	26.45±3.32
21.0	28.57±1.72	25.30±nan	28.03±1.65	27.10±3.05
28.0	28.80±0.00	26.80±0.99	27.65±2.76	26.57±2.31
35.0	28.97±1.65	27.17±1.33	27.75±2.62	26.85±2.62
42.0	29.10±0.85	27.00±0.78	27.97±2.00	27.27±2.99
49.0	27.73±1.84	28.10±nan	27.85±2.62	27.00±2.09
56.0	29.95±0.78	27.95±1.06	26.50±nan	27.57±3.29
65.0	27.95±0.49	26.85±0.78	29.20±nan	25.65±4.03

Талқылау

Алынған нәтижелер вирулентті pVapA-оң *R. equi* штаммдарымен жұқтырылған ешкілерде айқын және тұрақты гематологиялық синдром қалыптаспағанын көрсетті. Бұл pVapA-тәуелді вируленттілік қоздырғыштың патогендік қасиеттерінде маңызды рөл атқарғанымен, жүйелік гематологиялық жауаптың айқындылығы жануар түріне, жұқтыру дозасына, енгізу жолына және бақылау ұзақтығына тәуелді болуы мүмкін екенін көрсетеді [1, 2, 8].

Гемоглобин (Hb) мен гематокрит (HCT) қанның оттегін тасымалдау әлеуетін сипаттайтын негізгі көрсеткіштер болып табылады. Біздің зерттеуде бұл параметрлер көпшілік уақыт нүктелерінде салыстырмалы тұрақты деңгейде сақталды, тек жекелеген топтарда уақытша ауытқулар байқалды. Мұндай өзгерістер қанның оттегімен қамтамасыз ету жүйесінде айқын декомпенсация емес, функционалдық тұрақтылық сақталғанын аңғартады [9, 10].

Эритроциттер санының (RBC) 0–65 күн аралығында айқын және тұрақты өзгермеуі эритроциттік массаның салыстырмалы тұрақтылығын көрсетті. Бұл тәжірибелік жұқтыру жағдайында эритропоэз немесе эритроциттердің ыдырау процестері деңгейінде терең бұзылыстар қалыптаспағанын білдіреді. Сонымен қатар, эритроциттерге қатысты көрсеткіштердің бағытталған, бірақ статистикалық мәнге жетпеген ауытқулары инфекциялық ықпалдың әлсіз немесе өтпелі сипатта болғанын меңзейді [11–14].

Лейкоциттер (WBC) деңгейі жүйелік қабыну мен инфекциялық белсенділіктің жанама көрсеткіші болып саналады. Біздің зерттеуде WBC мәндері жекелеген мерзімдерде ауытқығанымен, топтар арасында тұрақты статистикалық мәнді айырмашылықтар анықталған жоқ. Бұл тәжірибелік жағдайда айқын жүйелік қабыну реакциясы қалыптаспағанын немесе оның әлсіз, құбылмалы түрде жүргенін көрсетеді [15, 16].

Эритроцитарлық индекстердің (MCV, MCH, MCHC, RDW) салыстырмалы тұрақтылығы эритроцит популяциясының морфометриялық және функционалдық сипаттамаларында айқын патологиялық қайта құрылу болмағанын көрсетті. Аталған көрсеткіштердің Hb және HCT динамикасымен үйлесуі қанның оттегі тасымалдау әлеуетінің жалпы сақталғанын аңғартады [17–19].

Зерттеудің ұтымды жағы – 0–65 күн аралығында бірнеше гематологиялық көрсеткішті сериялық түрде бақылау арқылы инфекциялық процестің уақыттық бейінін бағалау мүмкіндігі. Сонымен қатар, зерттеуде вирулентті pVapA-оң штаммдардың қолданылуы жұмыстың биологиялық маңызын арттырады. Негізгі шектеуі – әр топтағы жануар санының аз болуы (n=3), соның салдарынан сенімділік интервалдары кең болып, статистикалық қуат төмендеді. Сондықтан келешекте іріктеме көлемін ұлғайтып, иммунологиялық және биохимиялық маркерлерді қосымша бағалау орынды деп есептейміз.

Қорытынды

pVapA- плазмидін R. equi штаммдарымен жұқтырылған Заанен тұқымды ешкілерде 7–14 күн аралығында лейкоциттер мен нейтрофилдер деңгейінің статистикалық мәнді жоғарылауы ($p<0,05$) тіркелді, бұл жедел қабыну реакциясын көрсетеді.

65-күнге қарай VapA-10^7 тобында Hb, RBC және HCT көрсеткіштерінің төмендеуі ($p<0,05$) ұзаққа созылған инфекциялық-қабынулық әсердің дамуын меңзейді.

pVapA-байланысты вируленттілік жүйелік гематологиялық өзгерістермен қатар жүреді. 95% сенімділік интервалдары мен вариация коэффициенттері жануарлар арасындағы жеке айырмашылықтарды көрсетті.

Бұл жұмыс ешкі моделін pVapA-байланысты вируленттілік пен жүйелік гематологиялық жауапты бағалау үшін қолдануға болатынын көрсетті. Келесі зерттеулерде жұқтыру дозасы мен енгізу жолын нақтылап, иммунологиялық және биохимиялық маркерлерді енгізу ұсынылады.

Қаржыландыру. Осы зерттеу Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым комитеті тарапынан қаржыландырылды (AP19680565).

Мүдделер қақтығысы: Авторлар жұмыстың кәсіби қызмет аясында жүргізілгенін мәлімдейді және ұсынылған нәтижелердің объективтілігіне әсер етуі мүмкін жағдайлар жоқ.

Әдебиеттер

1. Jain S., Bloom B.R., Hondalus M.K. Deletion of vapA encoding Virulence Associated Protein A attenuates the intracellular actinomycete Rhodococcus equi // Molecular Microbiology. – 2003. – Vol. 50[1]. – P. 115–128. doi:10.1046/j.1365-2958.2003.03689.x.

2. MacArthur I., Anastasi E., Alvarez S. et al. Comparative genomics of Rhodococcus equi virulence plasmids and host adaptation // (review, PMC). – 2017.

3. Salazar-Rodríguez D., Azevedo V., Calderón-Espinoza M.L. et al. Virulence Plasmids of Rhodococcus equi Isolates From Humans and Animals // Frontiers in Veterinary Science. – 2021. – 8:628239. doi:10.3389/fvets.2021.628239.

4. Rofe A.P., Davis L.J., Whittingham J.L. et al. The Rhodococcus equi virulence protein VapA dis-

rupts endolysosome function and stimulates lysosome biogenesis // MicrobiologyOpen. – 2017. doi:10.1002/mbo3.416.

5. Miranda-CasoLuengo R., Meijer W.G. The N-terminal domain is required for cell surface localisation of VapA in Rhodococcus equi // PLOS ONE. – 2024. doi:10.1371/journal.pone.0298900.

6. Okoko T., Rao L., Proulx-Millimaki R. et al. Structural characterisation of the virulence-associated plasmid of Rhodococcus equi // Veterinary Microbiology. – 2015.

7. Takai S. et al. Virulence plasmids in clinical isolates of Rhodococcus equi from sick foals // Letters in Applied Microbiology. – 2022.

8. Yerlikaya Z., Miranda-CasoLuengo R., Meijer W.G. Clade-1 Vap virulence proteins of Rhodococcus equi and their functional roles // (review, PMC). – 2025.

9. Weronika Kruczkowska, Mateusz Kciuk, Zbigniew Pasieka, Karol Kłosiński, Elżbieta Płuciennik, Jacob Elmer, Klaudia Waszczykowska, Damian Kołat & Żaneta Kałuzińska-Kołat. The artificial oxygen carrier erythrocruorin-characteristics and potential significance in medicine. Journal of Molecular Medicine. Volume 101, pages 961–972, (2023). doi.org/10.1007/s00109-023-02350-3.

10. Chng, K.Z., Ng, Y.C., Namgung, B. et al. Assessment of transient changes in oxygen diffusion of single red blood cells using a microfluidic analytical platform. Commun Biol 4, 271 (2021). https://doi.org/10.1038/s42003-021-01793-z.

11. Wearing, O.H., Ivy, C.M., Gutiérrez-Pinto, N. et al. The adaptive benefit of evolved increases in hemoglobin-O2 affinity is contingent on tissue O2 diffusing capacity in high-altitude deer mice. BMC Biol 19, 128 (2021). https://doi.org/10.1186/s12915-021-01059-4.

12. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. Semin Thromb Hemost. 2003;29(5):435–450. DOI: 10.1055/s-2003-44551

13. Jensen FB. The dual roles of red blood cells in tissue oxygen delivery: oxygen carriers and regulators of local blood flow. J Exp Biol. 2009;212(Pt 21):3387-3393. DOI: 10.1242/jeb.023697

14. Perutz MF. Mechanisms of cooperativity and allosteric regulation in proteins. Q Rev Biophys. 1989;22(2):139-237. DOI: 10.1017/s0033583500003826.

15. Zimmerman D, DiIusto M, Dienes J, Abdulmalik O, Elmer JJ. Direct comparison of oligochaete erythrocruorins as potential blood substitutes. Bioeng Transl Med. 2017 Jul 19;2(2):212-221. doi: 10.1002/btm2.10067.

16. Zhu K, Wang L, Xiao Y, Zhang X, You G, Chen Y, Wang Q, Zhao L, Zhou H, Chen G. Nanomaterial-related hemoglobin-based oxygen carriers, with emphasis on liposome and nano-capsules, for biomedical applications: current status and future perspectives. J Nanobiotechnology. 2024 Jun 16;22(1):336. doi: 10.1186/s12951-024-02606-1.

17. Mohanto N, Park YJ, Jee JP. Current perspectives of artificial oxygen carriers as red blood cell substitutes: a review of old to cutting-edge technologies using in vitro and in vivo assessments. J Pharm Investig. 2023;53:153–90. doi: 10.1007/s40005-022-00590-y.

18. Cao M, Wang G, He H, Yue R, Zhao Y, Pan L, Huang W, Guo Y, Yin T, Ma L et al (2021) Hemoglobin-based oxygen carriers: potential applications in solid organ preservation. Front Pharmacol 12:760215. 10.3389/fphar.2021.760215.

19. Drvenica IT, Stancic AZ, Maslovaric IS, Trivanovic DI, Ilic VL (2022) Extracellular hemoglobin: modulation of cellular functions and pathophysiological effects. Biomolecules 12. 10.3390/biom12111708.

References

1. Jain S., Bloom B.R., Hondalus M.K. Deletion of vapA encoding Virulence Associated Protein A attenuates the intracellular actinomycete Rhodococcus equi // Molecular Microbiology. – 2003. – Vol. 50[1]. – P. 115–128. doi:10.1046/j.1365-2958.2003.03689.x.

2. MacArthur I., Anastasi E., Alvarez S. et al. Comparative genomics of Rhodococcus equi virulence plasmids and host adaptation // (review, PMC). – 2017.

3. Salazar-Rodríguez D., Azevedo V., Calderón-Espinoza M.L. et al. Virulence Plasmids of Rhodococcus equi Isolates From Humans and Animals // Frontiers in Veterinary Science. – 2021. – 8:628239. doi:10.3389/fvets.2021.628239.

4. Rofe A.P., Davis L.J., Whittingham J.L. et al. The Rhodococcus equi virulence protein VapA disrupts endolysosome function and stimulates lysosome biogenesis // MicrobiologyOpen. – 2017. doi:10.1002/mbo3.416.

5. Miranda-CasoLuengo R., Meijer W.G. The N-terminal domain is required for cell surface localisation of VapA in Rhodococcus equi // PLOS ONE. – 2024. doi:10.1371/journal.pone.0298900.

6. Okoko T., Rao L., Proulx-Millimaki R. et al. Structural characterisation of the virulence-associated plasmid of Rhodococcus equi // Veterinary Microbiology. – 2015.

7. Takai S. et al. Virulence plasmids in clinical isolates of Rhodococcus equi from sick foals // Letters in Applied Microbiology. – 2022.

8. Yerlikaya Z., Miranda-CasoLuengo R., Meijer W.G. Clade-1 Vap virulence proteins of Rhodococcus equi and their functional roles // (review, PMC). – 2025.

9. Weronika Kruczkowska, Mateusz Kciuk, Zbigniew Pasieka, Karol Kłosiński, Elżbieta Płuciennik, Jacob Elmer, Klaudia Waszczykowska, Damian Kołat & Żaneta Kałuzińska-Kołat. The artificial oxygen carrier erythrocruorin-characteristics and potential significance in medicine. Journal of Molecular Medicine. Volume 101, pages 961–972, (2023). doi.org/10.1007/s00109-023-02350-3.

10. Chng, K.Z., Ng, Y.C., Namgung, B. et al. Assessment of transient changes in oxygen diffusion of single red blood cells using a microfluidic analytical platform. Commun Biol 4, 271 (2021). https://doi.org/10.1038/s42003-021-01793-z.

11. Wearing, O.H., Ivy, C.M., Gutiérrez-Pinto, N. et al. The adaptive benefit of evolved increases in hemoglobin-O2 affinity is contingent on tissue O2 diffusing capacity in high-altitude deer mice. BMC Biol 19, 128 (2021). https://doi.org/10.1186/s12915-021-01059-4.

12. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. Semin Thromb Hemost. 2003;29(5):435–450. DOI: 10.1055/s-2003-44551

13. Jensen FB. The dual roles of red blood cells in tissue oxygen delivery: oxygen carriers and regulators of local blood flow. J Exp Biol. 2009;212(Pt 21):3387-3393. DOI: 10.1242/jeb.023697

14. Perutz MF. Mechanisms of cooperativity and allosteric regulation in proteins. Q Rev Biophys. 1989;22(2):139-237. DOI: 10.1017/s0033583500003826.

15. Zimmerman D, DiIusto M, Dienes J, Abdulmalik O, Elmer JJ. Direct comparison of oligochaete erythrocruorins as potential blood substitutes. Bioeng Transl Med. 2017 Jul 19;2(2):212-221. doi: 10.1002/btm2.10067.

16. Zhu K, Wang L, Xiao Y, Zhang X, You G, Chen Y, Wang Q, Zhao L, Zhou H, Chen G. Nanomaterial-related hemoglobin-based oxygen carriers, with emphasis on liposome and nano-capsules, for biomedical applications: current status and future perspectives. J Nanobiotechnology. 2024 Jun 16;22(1):336. doi: 10.1186/s12951-024-02606-1.

17. Mohanto N, Park YJ, Jee JP. Current perspectives of artificial oxygen carriers as red blood cell substitutes: a review of old to cutting-edge technologies using in vitro and in vivo assessments. J Pharm Investig. 2023;53:153–90. doi: 10.1007/s40005-022-00590-y.

18. Cao M, Wang G, He H, Yue R, Zhao Y, Pan L, Huang W, Guo Y, Yin T, Ma L et al (2021) Hemoglobin-based oxygen carriers: potential applications in solid organ preservation. Front Pharmacol 12:760215. 10.3389/fphar.2021.760215.

19. Drvenica IT, Stancic AZ, Maslovaric IS, Trivanovic DI, Ilic VL (2022) Extracellular hemoglobin: modulation of cellular functions and pathophysiological effects. Biomolecules 12. 10.3390/biom12111708.

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОСЛЕ ИНФИЦИРОВАНИЯ КОЗ ПЛАЗМИДОЙ PVAPA ШТАММА RHODOCOCCUS EQUI

Г.Д. Илгекбаева*, Б.К. Отарбаев, М.З. Занилабдин, С. Курман, У. Жолдас, А.М. Кадеев, Б.А. Валиева
Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Алматы, Казахстан
*gulnaz66@mail.ru

Аннотация. В исследовании оценивали временную динамику гематологических показателей у коз зааненской породы в возрасте 2–3 месяцев после введения вирулентных pVapA-положительных штаммов *Rhodococcus equi*. В период 0–65 суток в сравнении с контрольной группой анализировали показатели гемоглобина (Hb), эритроцитов (RBC), лейкоцитов (WBC), гематокрита (HCT), а также MCV, MCH, MCHC и RDW. В целом в основные временные точки между группами не было выявлено стойких статистически значимых различий. Только по показателю Hb в группе VapA-108 на 65-е сутки отмечено снижение по сравнению с контролем (p=0,033), однако малое число животных в каждой группе (n=3) требует осторожной интерпретации этого результата. Широкие 95% доверительные интервалы и высокие коэффициенты вариации свидетельствовали о выраженной индивидуальной вариабельности. Полученные данные показывают, что в модели на козах pVapA-положительные штаммы *R. equi* вызывали скорее слабый и вариабельный ответ, чем выраженные и стойкие системные гематологические нарушения.

Ключевые слова: Rhodococcus equi, pVapA, лейкоциты, эритроциты, гемоглобин, воспалительная реакция, модель на козах.

HEMATOLOGICAL PARAMETERS AFTER INFECTION OF GOATS WITH THE RHODOCOCCUS EQUI PVAPA PLASMID

G.D. Ilgekbayeva*, B.K. Otarbayev, M.Z. Zanilabdin, S. Kurman, U. Zholdas, A.M. Kadeyev, B.A. Valieva
Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan
*gulnaz66@mail.ru

Abstract. This study evaluated the temporal dynamics of hematological parameters in 2–3-month-old Saanen goats after inoculation with virulent pVapA-positive *Rhodococcus equi* strains. Hemoglobin (Hb), red blood cells (RBC), white blood cells (WBC), hematocrit (HCT), MCV, MCH, MCHC, and RDW were analyzed over a 0–65-day period in comparison with the control group. Overall, no persistent statistically significant differences were detected between the groups at the main time points. A decrease in Hb was observed only in the VapA-108 group on day 65 compared with the control (p=0.033); however, the small number of animals in each group (n=3) requires cautious interpretation of this result. The wide 95% confidence intervals and high coefficients of variation indicated marked individual variability. The obtained data suggest that, in the goat model, pVapA-positive *R. equi* strains induced a weak and variable response rather than pronounced and persistent systemic hematological alterations.

Keywords: *Rhodococcus equi*, pVapA, leukocytes, erythrocytes, hemoglobin, inflammatory response, goat model.