



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2026-15-2-201-208>  
УДК 619:578.828.11:636.91:615.281.8



# Иммунные реакции у морских свинок, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота, на введение амида бетулиновой кислоты

Н. Н. Новикова, К. А. Бармина, В. С. Власенко, Е. А. Вишнеvский

ФГБНУ «Омский аграрный научный центр» (ФГБНУ «Омский АНЦ»), проспект Королёва, 26, г. Омск, 644012, Россия

## РЕЗЮМЕ

**Введение.** Перспективным природным химическим соединением для разработки противовирусных препаратов является бетулиновая кислота, обладающая противовирусной активностью в сочетании с выраженным иммуномодулирующим эффектом, которые можно усилить путем введения в ее структуру новой фармакофорной группы.

**Цель исследования.** Оценка терапевтической противовирусной активности и эффективности иммунных реакций на введение амида бетулиновой кислоты морским свинкам, инфицированным вирусом лейкоза крупного рогатого скота.

**Материалы и методы.** Исследование провели на 15 морских свинках линии агути 4–5-месячного возраста, из которых 5 интактных служили в качестве контроля, а остальные 10 особей были инфицированы взвесью лимфоцитов, выделенных из крови больных лейкозом коров, путем однократного внутрибрюшинного введения. Затем на 21-е сут после инокуляции патогена 5 животным подкожно инъецировали амид бетулиновой кислоты в дозе 40 мкг/кг (1-я группа), другим 5 особям препарат не вводили (2-я группа). До введения, а также на 14-е и 28-е сут после инъецирования экспериментального препарата производили отбор проб крови для оценки клеточных и гуморальных реакций иммунитета, а также молекулярно-биологического исследования.

**Результаты.** Установлено, что иммунный ответ на инокуляцию морским свинкам вирусосодержащей суспензии сопровождался достоверным увеличением к 49-м сут от начала эксперимента числа лимфоидных клеток, происходящим за счет пролиферации В-лимфоцитов в 1,85 раза и цитотоксических Т-лимфоцитов в 2,7 раза. Введение на 21-е сут после инфицирования амида бетулиновой кислоты индуцировало подавление клеточного размножения В-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов, усиливало активность внутриклеточных компонентов нейтрофилов миелопероксидазы и катионных белков в 2,1 раза, а также стимулировало выработку антител. Однако экспериментальный препарат не предотвращал заражения животных, на что указывало наличие специфического свечения в прямой реакции иммунофлуоресценции, а также наличие провирусной ДНК в пробах крови соответственно у 100 и 60% особей.

**Заключение.** Применение производного бетулиновой кислоты сдерживает развитие нарушений баланса в иммунной системе у морских свинок, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота, оптимизируя численность лимфоидных клеток и усиливая функционально-метаболическую активность нейтрофилов. Полученные результаты позволяют предположить возможное использование амида бетулиновой кислоты в ветеринарии с целью профилактики развития клинической и гематологической формы лейкозной инфекции у животных.

**Ключевые слова:** морские свинки, вирус лейкоза крупного рогатого скота, амид бетулиновой кислоты, противовирусная активность, иммунный статус

**Благодарности:** Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках проведения научно-исследовательских работ по теме FNUJN-2025-0007 «Разработать эффективную систему обеспечения продовольственной и биологической безопасности на основе создания новых биологических препаратов для диагностики и профилактики социально значимых болезней животных, оптимизации технологий кормопроизводства и анализа селекции племенного дела». Авторы выражают благодарность профессору, доктору химических наук И. В. Кулакову за предоставление амидного производного бетулиновой кислоты, синтезированного на кафедре органической и экологической химии ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет».

**Для цитирования:** Новикова Н. Н., Бармина К. А., Власенко В. С., Вишнеvский Е. А. Иммунные реакции у морских свинок, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота, на введение амида бетулиновой кислоты. *Ветеринария сегодня*. 2026; 15 (2): 201–208. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2026-15-2-201-208>

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для корреспонденции:** Власенко Василий Сергеевич, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и мер борьбы с туберкулезом Всероссийского научно-исследовательского института бруцеллеза и туберкулеза животных, ФГБНУ «Омский АНЦ», ул. Лермонтова, 93, г. Омск, 644001, Россия, [vvs-76@list.ru](mailto:vvs-76@list.ru)

## Immune responses of bovine leukemia virus-infected guinea pigs to betulinic acid amide administration

Natalia N. Novikova, Ksenia A. Barmina, Vasily S. Vlasenko, Evgeny A. Vishnevsky

Omsk Agrarian Scientific Center, prospekt Koroleva, 26, Omsk 644012, Russia

## ABSTRACT

**Introduction.** Betulinic acid is a naturally occurring compound with significant potential for the development of anti-leukemia therapeutics. It demonstrates antiviral activity alongside a marked immunomodulatory effect, properties that can be potentiated through the introduction of a novel pharmacophore group into its molecular framework.

**Objective.** The study was aimed at evaluating the therapeutic antiviral activity of betulinic acid amide, as well as the immune response of bovine leukemia virus (BLV)-infected guinea pigs to its administration.

© Новикова Н. Н., Бармина К. А., Власенко В. С., Вишнеvский Е. А., 2026

**Materials and methods.** Fifteen Agouti guinea pigs, 4–5 months of age, were used for the study. Ten animals received a single intraperitoneal inoculation of lymphocyte suspension from leukemic cows; the remaining five animals served as intact controls. On day 21 after infection, five of the infected animals were subcutaneously injected with betulinic acid amide at a dose of 40 µg/kg (group 1), whereas the other five infected animals were left untreated (group 2). Blood samples were collected prior to the treatment, and then at 14 and 28 days after treatment to assess cellular and humoral immune responses and for molecular biological studies.

**Results.** The study showed that the immune response of the guinea pigs to inoculation with the virus-containing suspension was characterized by a significant increase in lymphoid cell counts by day 49 of the experiment. This increase was caused by a 1.85-fold boost in B-lymphocyte and a 2.7-fold boost in cytotoxic T-lymphocyte proliferation. Administration of betulinic acid amide on day 21 post-infection resulted in suppression of B-cell and cytotoxic T-lymphocyte proliferation, 2.1-fold increase in myeloperoxidase and cationic protein activity in neutrophils, and stimulation of antibody production. However, the experimental drug failed to confer protection against the infection: specific fluorescence was detected with direct immunofluorescence assay and proviral DNA was detected in blood samples from 100% and 60% of the animals, respectively.

**Conclusion.** Administration of the betulinic acid derivative prevents immune dysregulation in BLV-infected guinea pigs as evidenced by normalized lymphoid cell counts and enhanced neutrophil functional and metabolic activity. These findings indicate that betulinic acid amide is a promising veterinary candidate for preventing the development of clinical and hematological leukosis in infected animals.

**Keywords:** guinea pigs, bovine leukemia virus, betulinic acid amide, antiviral activity, immune status

**Acknowledgments:** The study was funded by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the research topic FNUN-2025-0007 “Development an Effective System for Ensuring Food and Biological Security Based on the Creation of New Biological Products for Socially Significant Animal Disease Diagnosis and Prevention, the Optimization of Feed Production Technologies, and the Analysis of Selection Strategies in Breeding Practice”. The authors express their appreciation to I. V. Kulakov, Professor, Doctor of Science (Chemistry), for providing the amide derivative of betulinic acid synthesized at the Department of Organic and Environmental Chemistry at the Tyumen State University.

**For citation:** Novikova N. N., Barmina K. A., Vlasenko V. S., Vishnevsky E. A. Immune responses of bovine leukemia virus-infected guinea pigs to betulinic acid amide administration. *Veterinary Science Today*. 2026; 15 (2): 201–208. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2026-15-2-201-208>

**Conflict of interests:** The authors declare no conflict of interests.

**For correspondence:** Vasily S. Vlasenko, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Epizootology and Tuberculosis Control, All-Russian Research Institute of Brucellosis and Tuberculosis in Animals, Omsk Agrarian Scientific Center, ul. Lermontova, 93, Omsk 644001, Russia, [vvs-76@list.ru](mailto:vvs-76@list.ru)

## ВВЕДЕНИЕ

Вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) представляет собой онкогенный ретровирус, обладающий тропизмом к В-лимфоцитам, при поражении которых возникает хроническая инфекция, характеризующаяся либо бессимптомным носительством у подавляющего большинства особей, либо персистирующим лимфоцитозом у одной трети животных, либо развитием лимфоидных опухолей в более редких случаях [1, 2, 3].

Даже при наиболее часто встречающемся субклиническом течении, когда патоген можно выявить только по наличию антител и/или провирусной ДНК, отмечают определенный уровень нарушения баланса в иммунной системе, который становится причиной серьезных экономических проблем в животноводстве вследствие снижения сопротивляемости организма к оппортунистическим патогенам. В результате этого повышается риск развития инфекций вымени, особенно в критический период жизни коров [4, 5], изменяется микробиота рубца и толстого отдела кишечника [6], ограничивается эффективность лечения антибактериальными, противопаразитарными средствами в том числе хронических заболеваний, а также вакцинных препаратов против других болезней животных [7, 8].

Несмотря на широкое распространение лейкозной инфекции и наносимые ей существенные экономические потери, эффективные вакцины и методы лечения, направленные на элиминацию вируса, пока отсутствуют [9, 10, 11]. Тем не менее некоторые ученые ведут активную работу по выявлению природных химических соединений, которые могли бы эффективно противостоять ВЛКРС [12, 13, 14]. Полученные ими данные убедительно демонстрируют, что определенные метаболиты

могут быть основой для разработки новых противовирусных средств.

В ходе долгосрочных исследований, направленных на поиск новых препаратов с высокой антиретровирусной активностью среди природных продуктов, были также выявлены бетулиновая кислота и ее предшественник бетулин, которые, имея уникальное строение, являются перспективными натуральными метаболитами, а их синтетическая трансформация и модификация позволяют усилить биологическую активность и преодолеть резистентность микроорганизмов [15]. Отмечается, что в зависимости от химической структуры бетулиновая кислота может выступать как в качестве ингибитора проникновения вируса иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1), так и ингибитора протеазы или обратной транскриптазы ВИЧ-1 [16, 17].

Структурными модификациями бетулина и бетулиновой кислоты были получены противовирусные соединения, имеющие улучшенные фармакологические характеристики. В частности, ионные соли бетулиновой кислоты, конъюгированные с глицином, замедляли клеточный метаболизм и снижали выработку онкогенного вируса лейкемии мышей в клетках фибробластов мыши [18]. Помимо этого, синтезирована серия соединений, полученных из бетулиновой кислоты и ее синтетического производного бевиримата, перспективных для разработки нового поколения ингибиторов созревания ВИЧ-1 [19, 20, 21].

В нашем недавнем исследовании [22] было выявлено выраженное ингибирующее действие на ВЛКРС *in vitro* нового амидного производного бетулиновой кислоты, сохраняющего в структуре фармакофорную 1-(1-адамантил)

этиламинную группу, а также установлена его противовирусная активность при введении морским свинкам, экспериментально зараженным ВЛКРС.

Цель работы – изучить терапевтическую противовирусную активность и эффективность иммунных реакций на введение амида бетулиновой кислоты после экспериментального инфицирования морских свинок ВЛКРС.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на морских свинках линии агути (возраст 4–5 мес., масса 400–500 г) в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и иных научных целях, и были одобрены локальным независимым этическим комитетом ФГБНУ «Омский аграрный научный центр».

Было отобрано 15 клинически здоровых морских свинок, у которых при диагностическом исследовании с помощью прямой реакции иммунофлуоресценции (РИФ) в крови не был выявлен антиген ВЛКРС, а в полимеразной цепной реакции (ПЦР) отсутствовала ДНК провируса. Всех животных разделили на 3 экспериментальные группы по 5 особей в каждой. Первую группу ( $n = 5$ ) составили интактные животные (контроль). Остальным морским свинкам ( $n = 10$ ) инокулировали однократно внутривенно 1 мл взвеси лимфоцитов, выделенных из крови коровы с гематологическим проявлением лейкоза (концентрация лимфоцитов в 1 мкл суспензии –  $10,0 \times 10^9$ , титр вируса в РИФ достигал 1:2048).

После выявления положительной реакции в прямой РИФ и ПЦР на 21-е сут от начала эксперимента 5 особей (1-я группа) были подвергнуты подкожному введению амида бетулиновой кислоты в дозе 40 мкг/кг, другим 5 особям препарат не вводили, их использовали в качестве позитивного контроля (2-я группа).

Амидное производное бетулиновой кислоты было получено на кафедре органической и экологической химии ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет» профессором, доктором химических наук И. В. Кулаковым [22].

До введения экспериментального препарата, а также на 14-е и 28-е сут после отбирали пробы крови из ретроорбитального венозного сплетения для оценки клеточных и гуморальных реакций иммунитета, а также постановки ПЦР.

Производили подсчет количества лейкоцитов, лейкоцитарного профиля, абсолютного числа Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов с помощью реакций спонтанного, комплементарного и непрямого глобулинового розеткообразования, а также оценку спонтанной и стимулированной активности нейтрофилов в тесте с нитросиним тетразолием (НСТ-тест) на фотометре с последующим определением функционального резерва как отношения стимулированной тетразолиевой активности к спонтанной [23].

Ферментную активность миелопероксидазы и содержание катионных белков нейтрофилов определяли цитохимически в соответствии с методами Грэма – Кнолля с использованием бензидина [24], и М. Г. Шубича, с бромфеноловым синим [25]. При микроскопии мазков подсчитывали процент положительно прореагировавших клеток и в соответствии со стандартными методиками рассчитывали средний цитохимический коэффициент (СЦК).

Антитела в сыворотке крови морских свинок определяли путем постановки непрямого РИФ. Титрование сыворотки проводили в 96-луночных иммунологических планшетах (с разведения 1:2 до 1:4096), используя компоненты

Таблица 1

Иммунологические параметры у морских свинок перед введением экспериментального препарата (21-е сут после инфицирования ВЛКРС),  $M \pm m$

Table 1

Immunological parameters in guinea pigs before the experimental drug administration (day 21 after infection with BLV),  $M \pm m$

Показатель, ед. измерения	Контроль ( $n = 5$ )	1-я опытная группа ( $n = 5$ )	2-я опытная группа ( $n = 5$ )
Лейкоциты, тыс/мкл	9,72 ± 0,70	12,74 ± 0,94	12,94 ± 1,07
Лимфоциты, тыс/мкл	5,34 ± 0,37	7,28 ± 0,51	7,99 ± 0,61 <sup>1</sup>
Т-лимфоциты, тыс/мкл	0,81 ± 0,12	0,82 ± 0,07	0,81 ± 0,09
В-лимфоциты, тыс/мкл	1,14 ± 0,17	1,87 ± 0,25	1,74 ± 0,17
Цитотоксические Т-лимфоциты, тыс/мкл	0,59 ± 0,06	1,62 ± 0,30 <sup>1</sup>	2,01 ± 0,04 <sup>1</sup>
СЦК КБ, у. е.	1,11 ± 0,03	2,01 ± 0,18 <sup>1</sup>	2,02 ± 0,08 <sup>1</sup>
СЦК МПО, у. е.	0,97 ± 0,09	2,16 ± 0,16 <sup>1</sup>	1,89 ± 0,08 <sup>1</sup>
Спонтанный НСТ-тест, OD	0,46 ± 0,03	0,44 ± 0,02	0,40 ± 0,04
Стимулированный НСТ-тест, OD	0,43 ± 0,02	0,45 ± 0,02	0,42 ± 0,03
Функциональный резерв нейтрофилов	0,94 ± 0,02	1,03 ± 0,06	1,11 ± 0,13
Титр антител в непрямо РИФ, $\log_2$	не выявлено	8,60 ± 0,40	8,80 ± 0,37
Реагирующие в ПЦР, %	не выявлено	100,0	100,0

<sup>1</sup> статистически значимое различие ( $p_1 < 0,05$  и ниже) по критерию Тьюки относительно контрольной группы (statistically significant difference ( $p_1 < 0.05$ ) confirmed by Tukey's test as compared to the control group);

СЦК КБ – средний цитохимический коэффициент катионных белков (average cytochemical coefficient of cationic proteins); СЦК МПО – средний цитохимический коэффициент миелопероксидазы (average cytochemical coefficient of myeloperoxidase); OD – оптическая плотность (optical density); у. е. – условные единицы (conventional units).

Таблица 2

Иммунологические параметры у морских свинок на 14-е сут после введения экспериментального препарата (35-е сут после инфицирования ВЛКРС),  $M \pm m$

Table 2

Immunological parameters in guinea pigs on day 14 after the experimental drug administration (day 35 after infection with BLV),  $M \pm m$

Показатель, ед. измерения	Контроль ( $n = 5$ )	1-я опытная группа ( $n = 5$ )	2-я опытная группа ( $n = 5$ )
Лейкоциты, тыс/мкл	10,00 ± 0,35	10,40 ± 1,58	12,54 ± 1,00
Лимфоциты, тыс/мкл	5,52 ± 0,41	4,10 ± 0,74	7,57 ± 0,76 <sup>2</sup>
Т-лимфоциты, тыс/мкл	0,88 ± 0,12	0,75 ± 0,09	0,73 ± 0,29
В-лимфоциты, тыс/мкл	1,11 ± 0,14	0,46 ± 0,09	1,90 ± 0,29 <sup>2</sup>
Цитотоксические Т-лимфоциты, тыс/мкл	0,80 ± 0,11	0,53 ± 0,12	2,00 ± 0,42 <sup>1,2</sup>
СЦК КБ, у. е.	1,21 ± 0,10	2,30 ± 0,09 <sup>1</sup>	1,29 ± 0,05 <sup>2</sup>
СЦК МПО, у. е.	1,13 ± 0,08	1,92 ± 0,13 <sup>1</sup>	1,24 ± 0,09 <sup>2</sup>
Спонтанный НСТ-тест, OD	0,51 ± 0,009	0,49 ± 0,02	0,47 ± 0,03
Стимулированный НСТ-тест, OD	0,50 ± 0,02	0,55 ± 0,09	0,41 ± 0,04
Функциональный резерв нейтрофилов	0,97 ± 0,03	1,11 ± 0,13	0,87 ± 0,07
Титр антител в непрямо РИФ, $\log_2$	не выявлено	9,60 ± 0,24	7,80 ± 0,37*
Реагирующие в ПЦР, %	не выявлено	40,0	100,0

<sup>1</sup> статистически значимое различие ( $p_1 < 0,05$ ) по критерию Тьюки относительно контрольной группы (statistically significant difference ( $p_1 < 0.05$ ) confirmed by Tukey's test as compared to the control group);

<sup>2</sup> статистически значимое различие ( $p_2 < 0,05$ ) по критерию Тьюки относительно 1-й группы (statistically significant difference ( $p_2 < 0.05$ ) confirmed by Tukey's test as compared to group 1);

\* статистически значимое различие ( $p < 0,01$ ) по критерию Стьюдента относительно 1-й группы (statistically significant difference ( $p < 0.01$ ) confirmed by Student's test as compared to group 1);

СЦК КБ – средний цитохимический коэффициент катионных белков (average cytochemical coefficient of cationic proteins); СЦК МПО – средний цитохимический коэффициент миелопероксидазы (average cytochemical coefficient of myeloperoxidase); OD – оптическая плотность (optical density); у. е. – условные единицы (conventional units).

Таблица 3

Иммунологические параметры у морских свинок на 28-е сут после введения экспериментального препарата (49-е сут после инфицирования ВЛКРС),  $M \pm m$

Table 3

Immunological parameters in guinea pigs on day 28 after the experimental drug administration (day 49 after infection with BLV),  $M \pm m$

Показатель, ед. измерения	Контроль (n = 5)	1-я опытная группа (n = 5)	2-я опытная группа (n = 5)
Лейкоциты, тыс/мкл	10,20 ± 0,34	11,77 ± 1,52	13,22 ± 0,9
Лимфоциты, тыс/мкл	5,74 ± 0,30	5,99 ± 0,77	8,20 ± 0,46 <sup>1,2</sup>
T-лимфоциты, тыс/мкл	0,86 ± 0,13	1,29 ± 0,27	1,03 ± 0,23
B-лимфоциты, тыс/мкл	1,05 ± 0,05	0,81 ± 0,14	1,94 ± 0,23 <sup>1,2</sup>
Цитотоксические T-лимфоциты, тыс/мкл	0,87 ± 0,13	1,00 ± 0,21	2,34 ± 0,11 <sup>1,2</sup>
СЦК КБ, у. е.	1,14 ± 0,07	2,38 ± 0,17 <sup>1</sup>	1,29 ± 0,08 <sup>2</sup>
СЦК МПО, у. е.	1,04 ± 0,06	2,19 ± 0,20 <sup>1</sup>	1,23 ± 0,09 <sup>2</sup>
Спонтанный НСТ-тест, OD	0,50 ± 0,03	0,48 ± 0,05	0,41 ± 0,01
Стимулированный НСТ-тест, OD	0,48 ± 0,02	0,44 ± 0,01	0,41 ± 0,02
Функциональный резерв нейтрофилов	0,97 ± 0,04	0,95 ± 0,10	0,99 ± 0,04
Титр антител в непрямой РИФ, log <sub>2</sub>	не выявлено	8,80 ± 0,37	7,40 ± 0,24*
Реагирующие в ПЦР, %	не выявлено	60,0	100,0

<sup>1</sup> статистически значимое различие ( $p_1 < 0,05$ ) по критерию Тьюки относительно контрольной группы (statistically significant difference ( $p_1 < 0,05$ ) confirmed by Tukey's test as compared to the control group);

<sup>2</sup> статистически значимое различие ( $p_2 < 0,05$ ) по критерию Тьюки относительно 1-й группы (statistically significant difference ( $p_2 < 0,05$ ) confirmed by Tukey's test as compared to group 1);

\* статистически значимое различие ( $p < 0,01$ ) по критерию Стьюдента относительно 1-й группы (statistically significant difference ( $p < 0,01$ ) confirmed by Student's test as compared to group 1);

СЦК КБ – средний цитохимический коэффициент катионных белков (average cytochemical coefficient of cationic proteins); СЦК МПО – средний цитохимический коэффициент миелопероксидазы (average cytochemical coefficient of myeloperoxidase); OD – оптическая плотность (optical density); у. е. – условные единицы (conventional units).

из набора для диагностики лейкоза в реакции иммунодиффузии (антиген ВЛКРС, положительная сыворотка крови крупного рогатого скота в титре 1:2, отрицательная сыворотка крови крупного рогатого скота) производства ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» (Россия) и люминесцирующую сыворотку крови кролика против глобулинов морской свинки (ФГБУ «НИЦ эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи», Россия). Для расчета средней геометрической величины титра антител осуществляли их перевод в логарифмы с основанием 2.

Определение антигена ВЛКРС проводили в прямой РИФ, для чего готовили мазки из суспензии лимфоцитов, выделенных из крови морских свинок с помощью центрифугирования в градиенте плотности (1,077 г/см<sup>3</sup>) рентгеноконтрастного вещества тразографа, затем их окрашивали сконструированными нами диагностическими флуоресцирующими иммуноглобулинами против ВЛКРС [26]. Учет реакций прямого и непрямого метода осуществляли по четырехкрестовой системе на микроскопе Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия). За положительный результат принимали специфическое свечение комплекса антиген – антитело с оценкой в 3–4 креста.

Провирус в крови морских свинок выявляли с применением ПЦР в реальном времени с использованием комплекта реагентов для выделения ДНК «ДНК-сорб-В» и системы «ЛЕЙКОЗ» вариант FRT50 F (ФБУН «Центральный

научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия).

Статистическую обработку цифрового материала выполняли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с оценкой значимости различий между группами с помощью F-критерия Фишера, а также последующим post-hoc анализом по критерию Тьюки для проведения множественных сравнений. Для оценки достоверности различий между средними геометрическими значениями титров антител применяли t-критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Однофакторный дисперсионный анализ иммунологических параметров у морских свинок трех групп на 21-е сут после внутрибрюшинной инокуляции вирусосодержащей суспензии позволил выявить неоднородность средних величин в содержании лимфоцитов ( $F = 6,3; p < 0,01$ ), цитотоксических T-лимфоцитов ( $F = 13,9; p < 0,001$ ), СЦК катионных белков ( $F = 16,0; p < 0,001$ ) и СЦК миелопероксидазы ( $F = 23,4; p < 0,001$ ).

Иммунологическая перестройка к 21-м сут от начала эксперимента сопровождалась увеличением числа лейкоцитов в 1-й и 2-й опытных группах в 1,3 раза относительно контроля (табл. 1). Концентрация клеток белой крови повышалась за счет популяции лимфоцитов, которая возрастала в группах, где была предусмотрена инокуляция патогена, в 1,4 и 1,5 раза ( $p_1 < 0,05$ ) по сравнению с интактными животными.

Наиболее значимой трансформации была подвержена субпопуляция цитотоксических T-лимфоцитов как в 1-й, так и в 2-й опытной группах, где их уровень в крови животных был соответственно выше в 2,7 ( $p_1 < 0,01$ ) и в 3,4 ( $p_1 < 0,001$ ) раза, чем в контрольной группе. Также было отмечено увеличение количества B-лимфоцитов в 1,5–1,65 раза, однако выраженность этих изменений по критерию Тьюки не достигала статистически достоверной разницы. В то же время абсолютное содержание T-клеток в этих группах оставалось неизменным.

Инфицирование морских свинок ВЛКРС также сопровождалось усилением деятельности внутриклеточных бактерицидных компонентов нейтрофилов, на что указывало увеличение СЦК катионных белков и миелопероксидазы. Так, относительно контроля в 1-й опытной группе отмечен рост этих показателей соответственно в 1,8 ( $p_1 < 0,01$ ) и в 2,2 ( $p_1 < 0,001$ ) раза, а в 2-й – в 1,8 ( $p_1 < 0,001$ ) и в 1,95 ( $p_1 < 0,001$ ) раза.

Параметры функционального состояния нейтрофилов по результатам исследования в НСТ-тесте не претерпевали существенных изменений, хотя и прослеживалась некоторая тенденция к увеличению функционального резерва нейтрофилов у морских свинок, инфицированных ВЛКРС.

Следует также отметить, что по результатам исследований сыворотки крови с помощью непрямой РИФ у животных 1-й и 2-й опытных групп был выявлен приблизительно одинаковый среднегеометрический титр антител, при этом у всех без исключения особей была установлена положительная реакция как в ПЦР, так и в прямой РИФ.

Однофакторный дисперсионный анализ иммунологических параметров на 35-е сут эксперимента выявил статистически значимые различия между группами по содержанию лимфоцитов ( $F = 6,9; p < 0,05$ ), B-лимфоцитов ( $F = 11,35; p < 0,01$ ), цитотоксических T-лимфоцитов ( $F = 7,3;$

$p < 0,05$ ), СЦК катионных белков ( $F = 55,6; p < 0,001$ ) и СЦК миелопероксидазы ( $F = 17,6; p < 0,001$ ).

У морских свинок, подвергнутых введению экспериментального препарата (1-я группа), наблюдалось незначительное увеличение численности лейкоцитов по сравнению с интактными особями (табл. 2), тогда как у животных, инфицированных ВЛКРС (2-я группа), повышение их количества было более выраженным (в 1,25 раза). Возрастание концентрации клеток белой крови в 2-й группе происходило за счет лимфоцитов, в которой их содержание было в 1,4 раза выше, чем в контроле, а также в 1,85 раза ( $p_2 < 0,05$ ) выше относительно морских свинок, которых после заражения обработали производным бетулиновой кислоты. Кроме того, следует отметить, что в 1-й группе, по сравнению с контрольной, отмечено снижение числа лимфоцитов в 1,3 раза, которое не достигало статистически достоверной разницы.

Количество Т-клеток в обеих опытных группах имело некоторую тенденцию к уменьшению. Более выраженная трансформация выявлена в содержании В-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов. Так, по сравнению с интактными, а также с особями, подвергнутыми обработке производным бетулиновой кислоты (1-я группа), у инфицированных вирусом лейкоза морских свинок 2-й группы концентрация В-клеток была увеличена в 1,7 и 4,1 ( $p_2 < 0,01$ ) раза, цитотоксических Т-лимфоцитов – в 2,5 ( $p_1 < 0,05$ ) и 3,8 ( $p_2 < 0,05$ ) раза соответственно. Относительно контрольной группы указанные параметры у особей 1-й группы, напротив, недостоверно снижались в 2,4 и 1,5 раза.

Введение производного бетулиновой кислоты на 35-е сут после инфицирования животных вызывало существенное усиление внутриклеточного метаболизма нейтрофилов. Так, у морских свинок 1-й группы по сравнению с особями, инфицированными вирусом бычьего лейкоза, обнаружено увеличение содержания катионных белков в 1,8 раза ( $p_2 < 0,001$ ) и ферментной активности миелопероксидазы в 1,55 раза ( $p_2 < 0,01$ ), а относительно контрольной группы – в 1,9 ( $p_1 < 0,001$ ) и 1,7 ( $p_1 < 0,001$ ) раза соответственно.

Параметры функционального состояния фагоцитов по результатам исследования спонтанной и стимулированной тетразолиевой активности не претерпевали значительных изменений. Необходимо отметить, что функциональный резерв имел более высокие значения у особей, которым инъецировали экспериментальный препарат, а более низкие – у инфицированных животных.

У морских свинок, подвергнутых обработке препаратом (1-я группа), также отмечено увеличение титра антител в 1,2 раза ( $p < 0,01$ ) по сравнению с 2-й группой, где не было предусмотрено введения производного бетулиновой кислоты. По результатам исследований в прямой РИФ специфическая флуоресценция в 3–4 креста обнаруживалась у 80% животных 1-й группы и 100% особей 2-й группы, в то же время провирусная ДНК была выявлена соответственно в 40 и 100% случаев. В контрольной группе были зафиксированы отрицательные реакции в прямой РИФ и ПЦР.

Однофакторный дисперсионный анализ иммунологических показателей у морских свинок на 49-е сут от начала эксперимента, как и на 35-е сут, указывал на неоднородность между группами средних величин лимфоцитов ( $F = 6,85; p < 0,05$ ), В-лимфоцитов ( $F = 12,3; p < 0,01$ ), цитотоксических Т-лимфоцитов ( $F = 30,4; p < 0,001$ ), СЦК катионных белков ( $F = 32,9; p < 0,001$ ) и СЦК миелопероксидазы ( $F = 23,8; p < 0,001$ ).

Количество лейкоцитов относительно контроля было повышенным в 1-й группе в 1,15 раза и в 2-й группе – в 1,3 раза, но у инфицированных ВЛКРС морских свинок, в отличие от особей, обработанных препаратом, это увеличение сопровождалось возрастанием концентрации лимфоцитов (табл. 3). Так, число лимфоидных клеток в 2-й группе было выше в 1,4 раза ( $p_1 < 0,05$ ) по сравнению с контрольной и так же в 1,4 раза ( $p_2 < 0,05$ ) по сравнению с 1-й группой.

Концентрация Т-лимфоцитов имела некоторую тенденцию к увеличению в обеих опытных группах, но более заметным оно было у морских свинок, получавших инъекцию препарата, у которых их содержание было в 1,5 раза выше, чем в контроле.

У животных, инфицированных ВЛКРС (2-я группа), на 49-е сут, так же как и на 35-е сут, наблюдалось увеличение количества В-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов. Так, по сравнению с интактными особями их число возрастало в 1,85 раза ( $p_1 < 0,05$ ) и в 2,7 раза ( $p_1 < 0,001$ ) соответственно, а относительно морских свинок, обработанных производным бетулиновой кислоты (1-я группа), – в 2,4 ( $p_2 < 0,01$ ) и в 2,3 ( $p_2 < 0,001$ ) раза. Следует отметить, что указанные среднестатистические параметры в 1-й группе были сопоставимы с контролем, несмотря на некоторую тенденцию к снижению концентрации В-клеток в 1,3 раза и повышению эффекторных клеток в 1,15 раза.

Активность внутриклеточных бактерицидных компонентов нейтрофилов, как и на 14-е сут после введения экспериментального препарата, находилась на более высоком уровне у животных 1-й группы. В частности, СЦК катионных белков и СЦК миелопероксидазы были выше, чем в контроле, в 2,1 раза ( $p_1 < 0,001$ ), а по сравнению с 2-й группой – в 1,8 раза ( $p_{1,2} < 0,001$ ). В то же время у особей, инфицированных вирусом бычьего лейкоза, после всплеска метаболической функции нейтрофилов в начале эксперимента произошло снижение интенсивности антимикробной деятельности до уровня, наблюдаемого у интактных морских свинок. Параметры функционального состояния нейтрофилов по результатам постановки НСТ-теста не претерпевали статистически значимых изменений, тем не менее необходимо подчеркнуть, что у животных 2-й группы наблюдалась некоторая тенденция к снижению генерации активных форм кислорода.

Титр антител в непрямой РИФ был в 1,2 раза выше ( $p < 0,05$ ) у морских свинок, обработанных препаратом, по сравнению с инфицированными животными. У 100% животных 1-й и 2-й групп зарегистрировано свечение комплекса антиген – антитело в прямой РИФ, тогда как провирусная ДНК была обнаружена в 60 и 100% случаев соответственно. Все исследуемые пробы контрольной группы были негативными. Следует отметить, что отрицательный результат ПЦР был зарегистрирован у особей, являвшихся ранее носителями провируса ВЛКРС, и, наоборот, положительный – у тех, которые в предыдущий срок исследования имели негативную реакцию.

Таким образом, при инфицировании морских свинок вирусом бычьего лейкоза выявлены изменения, характеризующиеся пролиферацией цитотоксических Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и сбоем в работе бактерицидных систем нейтрофилов, описанными в других работах при лейкозной инфекции у овец и крупного рогатого скота [27, 28, 29], а также в ранее проведенных исследованиях на лабораторных животных [30, 31]. Введение производного бетулиновой кислоты повышало

эффективность иммунных реакций, что проявлялось нормализацией концентрации цитотоксических Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, усилением деятельности внутриклеточных антимикробных систем нейтрофилов, а также повышением уровня антител. В отличие от ранее проведенного нами эксперимента, где была изучена профилактическая противовирусная активность [22], препарат не предотвращал первичное заражение морских свинок. Отрицательный результат ПЦР-анализа у отдельных особей при наличии специфической флуоресценции, вероятно, связан со снижением уровня провирусной ДНК на данном этапе развития вирусной инфекции. Непостоянное обнаружение провируса у одного и того же животного также наблюдали в своих исследованиях другие ученые при заражении кроликов [32].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований можно заключить, что иммунологическая перестройка в ответ на инфицирование морских свинок вирусом бычьего лейкоза сопровождается увеличением числа лимфоидных клеток в течение всего срока наблюдения, а также гиперреактивностью бактерицидных систем нейтрофилов продолжительностью до 21 сут с последующим угнетением их метаболизма до уровня, наблюдаемого у интактных животных. Введение амидного производного бетулиновой кислоты на 21-е сут после заражения способствует нормализации численности общего числа лимфоцитов, В-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов, усилению функционально-метаболической активности нейтрофилов, а также стимулирует выработку антител, но не предотвращает носительство ВЛКРС. Полученные результаты позволяют предположить возможное использование экспериментального препарата в ветеринарии с целью профилактики развития клинической и гематологической формы лейкозной инфекции у животных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Marawan M. A., Alouffi A., El Tokhy S., Badawy S., Shirani I., Dawood A., et al. Bovine leukaemia virus: current epidemiological circumstance and future prospective. *Viruses*. 2021; 13 (11):2167. <https://doi.org/10.3390/v13112167>
- Doucet F., Fontaine A., Hamaidia M., Jacques J.-R., Jouant T., Mhaidly N., et al. The complexity of bovine leukemia virus oncogenesis. *Viruses*. 2025; 17 (12):1609. <https://doi.org/10.3390/v17121609>
- Yektaseresht A., Ghane M., Kargar R., Golvajouei M.-S. Serological and molecular evidence of bovine leukemia virus in sheep populations in the south of Iran. *Veterinary Medicine and Science*. 2025; 11 (3):e70303. <https://doi.org/10.1002/vms3.70303>
- do Nascimento A. M. M., de Souza C. M. S., Oliveira A. C. D., Blagitz M. G., Ramos Sanchez E. M., Della Libera A. M. M. P., et al. The bovine leukemia virus infection prolongs immunosuppression in dairy cows during the periparturient period by sustaining higher expression of immunological checkpoints in T cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2023; 263:110636. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2023.110636>
- Nakada S., Fujimoto Y., Kohara J., Makita K. Economic losses associated with mastitis due to bovine leukemia virus infection. *Journal of Dairy Science*. 2023; 106 (1): 576–588. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21722>
- Uchiyama J., Murakami H., Sato R., Mizukami K., Suzuki T., Shima A., et al. Examination of the fecal microbiota in dairy cows infected with bovine leukemia virus. *Veterinary Microbiology*. 2020; 240:108547. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.108547>
- Frie M. C., Sporer K. R., Wallace J. C., Maes R. K., Sordillo L. M., Bartlett P. C., Coussens P. M. Reduced humoral immunity and atypical cell-mediated immunity in response to vaccination in cows naturally infected with bovine leukemia virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2016; 182: 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.10.013>
- Watanabe A., Maeda Y., Murakami H., Miyoshi S., Miura M., Muroa K., et al. Evaluation of the therapeutic effect of levamisole on subclinical mastitis in bovine leukemia virus-infected cows classified by proviral load. *Animals*. 2025; 15 (14):2145. <https://doi.org/10.3390/ani15142145>
- Донник И. М., Коваленко А. М., Гулюкин М. И., Бусол В. А., Кривоногова А. С., Исаева А. Г., Петропавловский М. В. К вопросу вакцинопрофилактики лейкоза крупного рогатого скота. *Ветеринария Кубани*. 2020; (1): 3–6. <https://doi.org/10.33861/2071-8020-2020-1-3-6>
- Sajiki Y., Konnai S., Okagawa T., Nishimori A., Maekawa N., Goto S., et al. Prostaglandin E<sub>2</sub>-induced immune exhaustion and enhancement of antiviral effects by anti-PD-L1 antibody combined with COX-2 inhibitor in bovine leukemia virus infection. *The Journal of Immunology*. 2019; 203 (5): 1313–1324. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900342>
- Zhao Y., Wang J., Chen J., Chen Y., Hu C., Chen X., Guo A. Bovine leukemia virus: origin, prevalence, phylogenetic diversity, risk factors, and strategies for control. *Animals*. 2025; 15 (9):1344. <https://doi.org/10.3390/ani15091344>
- Murakami H., Murakami-Kawai M., Kamisuki S., Hisanobu S., Tsurukawa Y., Uchiyama J., et al. Specific antiviral effect of violaceoid E on bovine leukemia virus. *Virology*. 2021; 562: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2021.06.010>
- Kamisuki S., Shibasaki H., Murakami H., Fujino K., Tsukuda S., Kojima I., et al. Isolation, structural determination, and antiviral activities of metabolites from vanitaracin A-producing *Talaromyces* sp. *The Journal of Antibiotics*. 2023; 76 (2): 75–82. <https://doi.org/10.1038/s41429-022-00585-9>
- Murakami H., Fujikawa Y., Mori M., Mosu N., Taguchi A., Hayashi Y., et al. Development of a novel fluorogenic assay method for screening inhibitors of bovine leukemia virus protease and identification of mitorubricin acid as an anti-BLV compound. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2023; 87 (9): 946–953. <https://doi.org/10.1093/bbb/zbab073>
- Zhao Y., Chen C.-H., Morris-Natschke S. L., Lee K.-H. Design, synthesis, and structure activity relationship analysis of new betulinic acid derivatives as potent HIV inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2021; 215:113287. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113287>
- Hordyjewska A., Ostapiuk A., Horecka A., Kurzepa J. Betulin and betulinic acid: triterpenoids derivatives with a powerful biological potential. *Phytochemistry Reviews*. 2019; 18: 929–951. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09623-1>
- Lou H., Li H., Zhang S., Lu H., Chen Q. A review on preparation of betulinic acid and its biological activities. *Molecules*. 2021; 26 (18):5583. <https://doi.org/10.3390/molecules26185583>
- Phillips J., Phillips I., Enya B., Zhao H., Nitta T. Effect of betulinic acid and its ionic derivatives on M-MuLV replication. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018; 500 (2): 365–369. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.04.080>
- Chrobak E., Marciniak K., Dąbrowska A., Pęcak P., Bębenek E., Kadela-Tomanek M., et al. New phosphorus analogs of bevirimat: synthesis, evaluation of anti-HIV-1 activity and molecular docking study. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (20):5209. <https://doi.org/10.3390/ijms20205209>
- Hartz R. A., Xu L., Sit S.-Y., Chen J., Venables B. L., Lin Z., et al. Synthesis, structure-activity relationships, and *in vivo* evaluation of novel C-17 amine derivatives based on GSK3640254 as HIV-1 maturation inhibitors with broad spectrum activity. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2022; 65 (23): 15935–15966. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01618>
- Wimmerová M., Bildziukevich U., Wimmer Z. Selected plant triterpenoids and their derivatives as antiviral agents. *Molecules*. 2023; 28 (23):7718. <https://doi.org/10.3390/molecules28237718>
- Бармина К. А., Кулаков И. И., Власенко В. С., Новикова Н. Н., Вишнеvский Е. А., Кулаков И. В. Синтез и противолейкозная активность N-[1-(1-адамантил)этил]-3-гидроксилуп-20(29)-ен-28-амида. *Биоорганическая химия*. 2025; 51 (4): 667–677. [https://www.rjcb.online/\\_files/ugd/c96c1b\\_041e03ab27474b63b6dc087c69f495eb.pdf](https://www.rjcb.online/_files/ugd/c96c1b_041e03ab27474b63b6dc087c69f495eb.pdf)
- Власенко В. С., Бажин М. А., Дудолодова Т. С., Новиков А. Н., Мироненко В. А. Оценка иммунного статуса у крупного рогатого скота при лейкозе: методические рекомендации. Омск: Вариант-Омск; 2010. 31 с. <https://elibrary.ru/sihvtb>
- Хейхоу Ф. Г. Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. Под ред. Н. С. Кисляк. М.: Медицина; 1983. 319 с.
- Шубич М. Г. Выявление катионного белка в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего. *Цитология*. 1974; 16 (10): 1321–1322. <https://elibrary.ru/qbthxd>
- Новикова Н. Н., Власенко В. С., Вишнеvский Е. А. Прямая реакция иммунофлуоресценции для диагностики лейкоза крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2024; (6): 17–21. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2024.27.6.17-21>
- Власенко В. С., Вишнеvский Е. А. Сравнительная характеристика кислородзависимой и кислороднезависимой бактерицидных систем нейтрофилов при лейкозной инфекции. *Вестник КрасГАУ*. 2020; (11): 170–174. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-11-170-174>
- Ward W. H., Dimmock C. K., Eaves F. W. T lymphocyte responses of sheep to bovine leukaemia virus infection. *Immunology and Cell Biology*. 1992; 70 (5): 329–336. <https://doi.org/10.1038/icb.1992.42>
- Narciso V. B., Collet S. G., Girardini L. K., Souza F. N., Catarina A. S., Della Libera A. M. M. P., et al. Influence of the bovine leukemia virus on the immunological activity by the neutrophilic function. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2020; 48:1745. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.102520>
- Власенко В. С., Бармина К. А., Новикова Н. Н., Вишнеvский Е. А., Денгис Н. А. Моделирование лейкозной инфекции у морских свинок. *Ветеринария и кормление*. 2024; (1): 29–31. <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2024-1-5>
- Бармина К. А., Вишнеvский Е. А., Власенко В. С. Особенности функционирования антимикробных систем нейтрофилов у морских

свинок, инфицированных ВЛКРС. *Пермский аграрный вестник*. 2024; (1): 59–64. <https://elibrary.ru/iibwde>

32. Гулюкин М. И., Козырева Н. Г., Иванова Л. А., Степанова Т. В., Клименко А. И., Коваленко А. В. и др. Межвидовая передача вируса лейкоза крупного рогатого скота в эксперименте. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60 (5): 32–37. <https://virusjour.crie.ru/jour/article/view/354>

## REFERENCES

- Marawan M. A., Alouffi A., El Tokhy S., Badawy S., Shirani I., Dawood A., et al. Bovine leukaemia virus: current epidemiological circumstance and future prospective. *Viruses*. 2021; 13 (11):2167. <https://doi.org/10.3390/v13112167>
- Doucet F., Fontaine A., Hamaidia M., Jacques J.-R., Jouant T., Mhaidly N., et al. The complexity of bovine leukemia virus oncogenesis. *Viruses*. 2025; 17 (12):1609. <https://doi.org/10.3390/v17121609>
- Yektaseresht A., Ghane M., Kargar R., Golvajouei M.-S. Serological and molecular evidence of bovine leukemia virus in sheep populations in the south of Iran. *Veterinary Medicine and Science*. 2025; 11 (3):e70303. <https://doi.org/10.1002/vms3.70303>
- do Nascimento A. M. M., de Souza C. M. S., Oliveira A. C. D., Blagitz M. G., Ramos Sanchez E. M., Della Libera A. M. M. P., et al. The bovine leukemia virus infection prolongs immunosuppression in dairy cows during the periparturient period by sustaining higher expression of immunological checkpoints in T cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2023; 263:110636. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2023.110636>
- Nakada S., Fujimoto Y., Kohara J., Makita K. Economic losses associated with mastitis due to bovine leukemia virus infection. *Journal of Dairy Science*. 2023; 106 (1): 576–588. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21722>
- Uchiyama J., Murakami H., Sato R., Mizukami K., Suzuki T., Shima A., et al. Examination of the fecal microbiota in dairy cows infected with bovine leukemia virus. *Veterinary Microbiology*. 2020; 240:108547. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.108547>
- Frie M. C., Sporer K. R., Wallace J. C., Maes R. K., Sordillo L. M., Bartlett P. C., Coussens P. M. Reduced humoral immunity and atypical cell-mediated immunity in response to vaccination in cows naturally infected with bovine leukemia virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2016; 182: 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.10.013>
- Watanabe A., Maeda Y., Murakami H., Miyoshi S., Miura M., Murao K., et al. Evaluation of the therapeutic effect of levamisole on subclinical mastitis in bovine leukemia virus-infected cows classified by proviral load. *Animals*. 2025; 15 (14):2145. <https://doi.org/10.3390/ani15142145>
- Donnik I. M., Kovalenko A. M., Gulyukin M. I., Busol V. A., Krivonogova A. S., Isaeva A. G., Petropavlovskiy M. V. To question of vaccine prevention of bovine leucose. *Veterinaria Kubani*. 2020; (1): 3–6. <https://doi.org/10.33861/2071-8020-2020-1-3-6> (in Russ.)
- Sajiki Y., Konnai S., Okagawa T., Nishimori A., Maekawa N., Goto S., et al. Prostaglandin E<sub>2</sub>-induced immune exhaustion and enhancement of antiviral effects by anti-PD-L1 antibody combined with COX-2 inhibitor in bovine leukemia virus infection. *The Journal of Immunology*. 2019; 203 (5): 1313–1324. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900342>
- Zhao Y., Wang J., Chen J., Chen Y., Hu C., Chen X., Guo A. Bovine leukemia virus: origin, prevalence, phylogenetic diversity, risk factors, and strategies for control. *Animals*. 2025; 15 (9):1344. <https://doi.org/10.3390/ani15091344>
- Murakami H., Murakami-Kawai M., Kamisuki S., Hisanobu S., Tsurukawa Y., Uchiyama J., et al. Specific antiviral effect of violaceoid E on bovine leukemia virus. *Virology*. 2021; 562: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2021.06.010>
- Kamisuki S., Shibasaki H., Murakami H., Fujino K., Tsukuda S., Kojima I., et al. Isolation, structural determination, and antiviral activities of metabolites from vanitaracin A-producing *Talaromyces* sp. *The Journal of Antibiotics*. 2023; 76 (2): 75–82. <https://doi.org/10.1038/s41429-022-00585-9>
- Murakami H., Fujikawa Y., Mori M., Mosu N., Taguchi A., Hayashi Y., et al. Development of a novel fluorogenic assay method for screening inhibitors of bovine leukemia virus protease and identification of mitorubrinic acid as an anti-BLV compound. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2023; 87 (9): 946–953. <https://doi.org/10.1093/bbb/zbab073>
- Zhao Y., Chen C.-H., Morris-Natschke S. L., Lee K.-H. Design, synthesis, and structure activity relationship analysis of new betulinic acid derivatives as potent HIV inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2021; 215:113287. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113287>

16. Hordyjewska A., Ostapiuk A., Horecka A., Kurzepa J. Betulin and betulinic acid: triterpenoids derivatives with a powerful biological potential. *Phytochemistry Reviews*. 2019; 18: 929–951. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09623-1>

17. Lou H., Li H., Zhang S., Lu H., Chen Q. A review on preparation of betulinic acid and its biological activities. *Molecules*. 2021; 26 (18):5583. <https://doi.org/10.3390/molecules26185583>

18. Phillips J., Phillips I., Enya B., Zhao H., Nitta T. Effect of betulinic acid and its ionic derivatives on M-MuLV replication. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018; 500 (2): 365–369. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.04.080>

19. Chrobak E., Marciniak K., Dąbrowska A., Pęczak P., Bębenek E., Kadela-Tomanek M., et al. New phosphorus analogs of bevirimat: synthesis, evaluation of anti-HIV-1 activity and molecular docking study. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20 (20):5209. <https://doi.org/10.3390/ijms20205209>

20. Hartz R. A., Xu L., Sit S.-Y., Chen J., Venables B. L., Lin Z., et al. Synthesis, structure-activity relationships, and *in vivo* evaluation of novel C-17 amine derivatives based on GSK3640254 as HIV-1 maturation inhibitors with broad spectrum activity. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2022; 65 (23): 15935–15966. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01618>

21. Wimmerová M., Bildziukevich U., Wimmer Z. Selected plant triterpenoids and their derivatives as antiviral agents. *Molecules*. 2023; 28 (23):7718. <https://doi.org/10.3390/molecules28237718>

22. Barmina K. A., Kulakov I. I., Vlasenko V. S., Novikova N. N., Vishnevsky E. A., Kulakov I. V. Synthesis and anti-leukemia activity of N-[1-(1-adamantylethyl)-3-hydroxylup-20(29)-en-28-amide]. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2025; 51 (4): 1715–1724. <https://doi.org/10.1134/S1068162025600473>

23. Vlasenko V. S., Bazhin M. A., Dudoladova T. S., Novikov A. N., Mironenko V. A. Assessment of immune status of leukemic cattle: methodical guidelines. Omsk: Variant-Omsk; 2010. 31 p. <https://elibrary.ru/sihvtb> (in Russ.)

24. Hayhoe F. J. G., Quaglino D. *Haematological Cytochemistry*. Edinburgh; London; New York: Churchill Livingstone; 1980. 336 p.

25. Shubich M. G. Detection of cationic proteins in the cytoplasm of leukocytes with the use of bromphenol blue. *Tsitologiya*. 1974; 16 (10): 1321–1322. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4140599> (in Russ.)

26. Novikova N. N., Vlasenko V. S., Vishnevsky E. A. Direct immunofluorescence reaction for the diagnosis of bovine leukemia virus. *Veterinariya*. 2024; (6): 17–21. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2024.27.6.17-21> (in Russ.)

27. Vlasenko V. S., Vishnevsky E. A. Comparative analysis of oxygen-dependent and oxygen-independent bactericidal systems of neutrophils in leukemic infectious disease. *Bulletin of KSAU*. 2020; (11): 170–174. <https://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-11-170-174> (in Russ.)

28. Ward W. H., Dimmock C. K., Eaves F. W. T lymphocyte responses of sheep to bovine leukaemia virus infection. *Immunology and Cell Biology*. 1992; 70 (5): 329–336. <https://doi.org/10.1038/icb.1992.42>

29. Narciso V. B., Collet S. G., Girardini L. K., Souza F. N., Catarina A. S., Della Libera A. M. M. P., et al. Influence of the bovine leukemia virus on the immunological activity by the neutrophilic function. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2020; 48:1745. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.102520> (in Portuguese)

30. Vlasenko V. S., Barmina K. A., Novikova N. N., Vishnevsky E. A., Dengis N. A. Simulation of leukemia infection at the guinea pig. *Veterinaria i kormlenie*. 2024; (1): 29–31. <https://doi.org/10.30917/ATV-K-1814-9588-2024-1-5> (in Russ.)

31. Barmina K. A., Vishnevsky E. A., Vlasenko V. S. The features of the functioning of antimicrobial systems of neutrophils in guinea pigs infected with BLV. *Perm Agrarian Journal*. 2024; (1): 59–64. <https://elibrary.ru/iibwde> (in Russ.)

32. Gulyukin M. I., Kozyreva N. G., Ivanova L. A., Stepanova T. V., Klimenko A. I., Kovalenko A. V., et al. Experimental interspecies transmission of the bovine leukemia virus. *Problems of Virology*. 2015; 60 (5): 32–37. <https://virusjour.crie.ru/jour/article/view/354> (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 13.02.2026  
Поступила после рецензирования / Revised 16.04.2026  
Принята к публикации / Accepted 30.04.2026

---

**ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS**

**Новикова Наталья Николаевна**, канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории животноводства, Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных, ФГБНУ «Омский АНЦ», г. Омск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-7100-213X>, [novnik00@mail.ru](mailto:novnik00@mail.ru)

**Natalia N. Novikova**, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Animal Husbandry Laboratory, All-Russian Research Institute of Brucellosis and Tuberculosis in Animals, Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-7100-213X>, [novnik00@mail.ru](mailto:novnik00@mail.ru)

**Бармина Ксения Алексеевна**, канд. вет. наук, младший научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и мер борьбы с туберкулезом, Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных ФГБНУ «Омский АНЦ», г. Омск, Россия; <https://orcid.org/0009-0002-9287-7696>, [barmina\\_1999@inbox.ru](mailto:barmina_1999@inbox.ru)

**Ksenia A. Barmina**, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory of Epizootology and Tuberculosis Control, All-Russian Research Institute of Brucellosis and Tuberculosis in Animals, Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia; <https://orcid.org/0009-0002-9287-7696>, [barmina\\_1999@inbox.ru](mailto:barmina_1999@inbox.ru)

**Власенко Василий Сергеевич**, д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и мер борьбы с туберкулезом, Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных ФГБНУ «Омский АНЦ», г. Омск, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8351-2818>, [vvs-76@list.ru](mailto:vvs-76@list.ru)

**Vasily S. Vlasenko**, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Epizootology and Tuberculosis Control, All-Russian Research Institute of Brucellosis and Tuberculosis in Animals, Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8351-2818>, [vvs-76@list.ru](mailto:vvs-76@list.ru)

**Вишневецкий Евгений Алексеевич**, канд. вет. наук, старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и мер борьбы с туберкулезом, Всероссийский научно-исследовательский институт бруцеллеза и туберкулеза животных ФГБНУ «Омский АНЦ», г. Омск, Россия; <https://orcid.org/0009-0005-8364-8324>, [kirito\\_2025@mail.ru](mailto:kirito_2025@mail.ru)

**Evgeny A. Vishnevsky**, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Epizootology and Tuberculosis Control, All-Russian Research Institute of Brucellosis and Tuberculosis in Animals, Omsk Agrarian Scientific Center, Omsk, Russia; <https://orcid.org/0009-0005-8364-8324>, [kirito\\_2025@mail.ru](mailto:kirito_2025@mail.ru)

---

**Вклад авторов:** Новикова Н. Н. – проведение экспериментов, подбор научной литературы, анализ полученных данных, оформление статьи; Бармина К. А. – отбор материала, проведение экспериментов, помощь в оформлении статьи; Власенко В. С. – концепция представления материалов, составление таблиц, статистическая обработка результатов, интерпретация данных и обобщение результатов исследования; Вишневецкий Е. А. – проведение экспериментов, помощь в оформлении статьи.

**Contribution of the authors:** Novikova N. N. – conducting experiments, searching for scientific literature, analysis of obtained data, paper design; Barmina K. A. – collection of samples, conducting experiments, assistance in the paper designing; Vlasenko V. S. – concept of data presentation, compilation of tables, statistical processing of the study results, interpretation of data and summarizing the study results; Vishnevsky E. A. – conducting experiments, assistance in the paper design.

---