

АНАЛИЗ СООТНОШЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И БЕЛКОВ В СТЕНКЕ ЖЕЛЕЗИСТОГО ЖЕЛУДКА ЦЫПЛЯТ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЭШЕРИХИОЗЕ

АКЧУРИН Сергей Владимирович, Российской государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева

АКЧУРИНА Ирина Владимировна, Российской государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева

Для установления коэффициентов соотношения нуклеиновых кислот и белков в покровном эпителии слизистой оболочки и в междольковой соединительной ткани подслизистой основы железистого желудка цыплят разработан метод спектрального анализа соотношений органических веществ в клетке с использованием метахроматического люминесцентного красителя *Stains all* (в собственной модификации). С помощью разработанного биофизического метода изучены показатели коэффициентов соотношений указанных органических веществ в железистом желудке здоровых и инфицированных *E. coli* цыплят. Динамика коэффициентов соотношений нуклеиновых кислот и белков, выявленная в стенке железистого желудка цыплят контрольной группы, укладывается в картину умеренного и равномерного увеличения значений этих показателей соответственно увеличению их возраста. У цыплят, больных эшерихиозом, кривая, отражающая динамику коэффициентов соотношений, включает в себя трехкратное повышение их значений. Результаты, полученные с помощью разработанного метода, свидетельствуют о возможности использования его для выявления ранних метаболических изменений в железистом желудке цыплят до возникновения характерной патоморфологической и клинической картины. Это может оказать неоценимую помощь при разработке принципиально нового подхода к вопросу создания современных технологий диагностики, профилактики и лечения этого широко распространенного заболевания.

44

АГРАРНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

4
2020

Введение. Острая желудочно-кишечная форма эшерихиоза по-прежнему сохраняет высокую потенциальную опасность возникновения, распространения и нанесения значительных экономических потерь [4, 6]. Успешная работа предприятий определяется не только обеспечением эпизоотического благополучия, но и высокой сохранностью поголовья птиц, что в значительной степени зависит от своевременной диагностики, лечения заболевания, проведения профилактических мероприятий. В последние годы интенсивно расширяется спектр лекарственных препаратов различной направленности действия, в том числе рассматриваются новые подходы к созданию технологий профилактики и лечения этого широко распространенного заболевания. Поэтому представляется весьма целесообразной разработка высокоэффективных методов, позволяющих выявлять и регистрировать изменение соотношений органических веществ в клетках внутренних органах цыплят, пораженных эшерихиозом. Высокоспецифичные и чувствительные методы могут оказаться оптимальными для оценки динамики внутриклеточного обмена веществ при изучении биоэквивалентности, токсичности и фармакокинетики различных лекарственных форм.

К числу методов, которые позволяют проводить исследование молекулярных функциональных механизмов и систем регуляции, участвующих в организации биохимических процессов в клетке, относится метод люминесцентного спектрального анализа собственной люминесценции клеток и тканей, а также люминесценции, обусловленной применением люминесцирующих метод-красителей (флуорохромов). Целесообразность использования в ветеринарной медицине одноволнового метода люминесцентного спектрального анализа для установления динамики нуклеиновых кислот и белков с помощью флуорохромов бромида этидия и дихлор-симм-триазиниламинофлуоресцина-1 была показана при изучении гистологических срезов внутренних органов цыплят [1, 2]. Однако данные методы могут быть полезны только в тех случаях, когда ставится задача исследования динамики какого-либо одного вещества. При этом используется флуорохром, который имеет средство к исследуемому компоненту.

Одновременное выявление различных компонентов клетки возможно с использованием только одного люминесцентного красителя, но при условии, что он обладает метахромазией, т.е. может связываться одновременно с разными

органическими соединениями, образуя при этом комплексы с разным цветом люминесценции. К красителям подобного рода относится соединение 4,5,4',5'-дibenзо-3,3'-диэтил-9-метилтиакарбоцианинбромид (фирменное название – Stains all), метахроматические свойства которого позволили использовать его в гистохимии и молекулярной биологии [7, 8]. На возможность использования Stains all в качестве люминесцентного метахроматического красителя при определении соотношения веществ в клетке указывал В.Н. Карнаухов. Им было установлено, что данное соединение обладает достаточно яркой метахроматической люминесценцией, но без четкого разделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) и белков и имеет только две характерные полосы (при длине волн 490 и 615 нм) в спектре люминесценции гистологических срезов головного мозга крысы [3]. Учитывая данное обстоятельство, Stains all был использован при разработке метода спектрального анализа люминесценции окрашенных этим флуорохромом гистологических срезов железистого желудка цыплят для выявления особенностей локализации нуклеиновых кислот и белков и определения их соотношения в клетке.

Суть указанного метода заключается в регистрации величины интенсивности двух характерных полос в спектре люминесценции определенных структур окрашенного микропрепарата при длинах волн, соответствующих максимальной величине интенсивности люминесценции примененного красителя с последующим определением коэффициента соотношений нуклеиновых кислот и белков.

Цель данной работы – определение коэффициентов соотношений нуклеиновых кислот и белков в клетках покровного эпителия слизистой оболочки и междольковой соединительной ткани подслизистой основы железистого желудка цыплят при экспериментальном воспроизведении эшерихиоза.

Методика исследований. Исследования проводили на кафедре «Морфология, патология животных и биология» ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. Для исследования брали кусочки железистого желудка цыплят, которые фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном водном растворе формалина и после обезвоживания по общепринятой методике в спиртовой батарее заливали в парафин. Из парафиновых блоков изготавливали гистологические препараты на микротоме Reichart Wien (Германия) толщиной 4–7 мкм и окрашивали 10^{-4} М спиртовым раствором Stains all по методу, разработанному применительно к гистологическим микропрепаратам.

Проводили люминесцентно-микроскопическое исследование как неокрашенных, так и окрашенных гистологических срезов стенки

железистого желудка. Регистрацию спектров люминесценции осуществляли с помощью универсального цветоанализатора – микроскопа-спектрофотометра МСФУ-К, источниками света в котором являлись лампа галогенная КГМ 9В 70Вт и лампа ртутная НВО 100 В/2. Зоной интереса для исследования методом люминесцентного спектрального анализа являлись покровный эпителий слизистой оболочки и междольковая соединительная ткань подслизистой основы железистого желудка.

Визуальное исследование особенностей люминесценции неокрашенных микропрепараторов показало, что гистологические срезы железистого желудка обладают сине-зеленым свечением, которое являлось результатом фиксации формалином белков, содержащих амино-, имино- и амидогруппы [5]. Максимум величины интенсивности люминесценции данных микропрепараторов находился в сине-зеленой части спектра и соответствовал длине волне 480 нм (рис. 1, 2). В окрашенных Stains all гистологических срезах наблюдали своеобразную люминесцентно-микроскопическую картину, характеризующуюся сочетанием синего, зеленоватого и малиново-красного цветов, с разной степенью выраженности на различных участках серозной, слизистой оболочек и мышечного слоя железистого желудка. Обнаруживаемая визуально в гистологических срезах люминесценция указывала на локализацию нуклеиновых кислот и белков, связанных с используемым флуорохромом. При этом в спектрах люминесценции, как покровного эпителия слизистой оболочки, так и междольковой соединительной ткани подслизистой основы выявляли две характерные полосы максимума излучения. В спектре люминесценции покровного эпителия слизистой оболочки максимумы величины ее интенсивности регистрировали при длине волны 484 нм (нуклеиновые кислоты) и при длине волны 628 нм (белки) (см. рис. 1), а в спектре люминесценции междольковой соединительной ткани подслизистой основы – при длине волны 480нм (нуклеиновые кислоты) и 620 нм (белки) (см. рис. 2).

Сопоставление спектров люминесценции покровного эпителия слизистой оболочки и междольковой соединительной ткани подслизистой основы неокрашенных и окрашенных Stains all гистопрепараторов указывало на возникновение эффекта перекрытия спектра люминесценции неокрашенных препаратов, что объясняется более высокими цифрами величины интенсивности люминесценции окрашенных гистологических срезов (см. рис. 1, 2).

Данные длины волн принимались во внимание при установлении коэффициента соотношений нуклеиновых кислот и белков в покровном эпителии слизистой оболочки и в междольковой



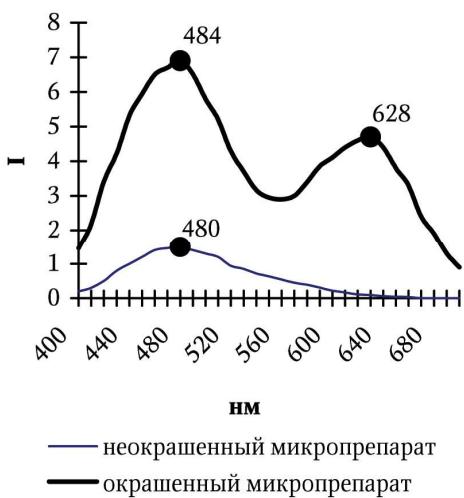


Рис. 1. Спектры люминесценции покровного эпителия слизистой оболочки неокрашенного и окрашенного «Stains all» гистологических срезов железистого желудка (I – интенсивность люминесценции), длина волны возбуждения 365 нм

соединительной ткани подслизистой основы железистого желудка цыплят. Поскольку величина интенсивности люминесценции микропрепарата в процессе проведения исследования колебалась в очень больших пределах, для получения сопоставимых результатов применяли эталон, что позволило рассчитать количество органических веществ в условных единицах. В качестве эталона использовали максимальную величину интенсивности люминесценции промышленно изготовленного уранового стекла ЖС-19 толщиной 1,5 мм при длине волны 540 нм.

Исходя из этого, количество нуклеиновых кислот в покровном эпителии слизистой оболочки определяли по формуле:

$$X = \frac{I_n}{I_0},$$

где X – количество нуклеиновых кислот в условных единицах в исследуемом участке покровного эпителия слизистой оболочки; I_n – величина интенсивности люминесценции исследуемого участка покровного эпителия слизистой оболочки при длине волны 484 нм; I_0 – величина интенсивности люминесценции уранового стекла ЖС-19 толщиной ~1,5 мм при длине волны 540 нм, используемая в качестве эталона.

Количество белков в покровном эпителии слизистой оболочки определяли по формуле:

$$Y = \frac{I_B}{I_0},$$

где Y – количество белков в условных единицах в исследуемом участке покровного эпителия слизистой оболочки; I_B – величина интенсивности люминесценции исследуемого участка покровного эпителия слизистой оболочки при длине волны 628 нм; I_0 – величина интенсивности лю-

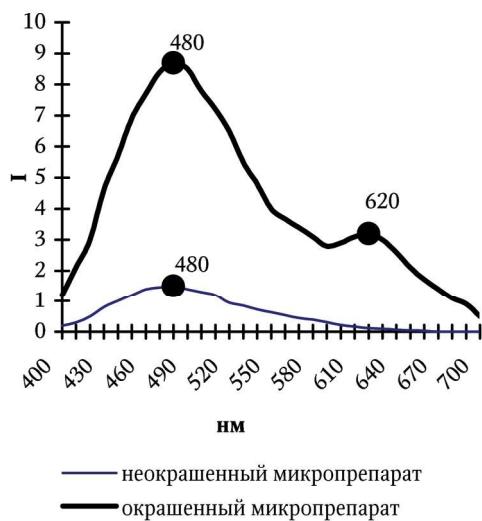


Рис. 2. Спектры люминесценции междольковой соединительной ткани подслизистой основы неокрашенного и окрашенного «Stains all» гистологических срезов железистого желудка (I – интенсивность люминесценции); длина волны возбуждения 365 нм

минесценции уранового стекла ЖС-19 толщиной ~1,5 мм при длине волны 540 нм, используемая в качестве эталона.

Для исключения влияния аутолиза, влиявшего на изменение показателей количественного содержания органических веществ в тканях при прочих равных условиях, проводили фотометрирование трех участков покровного эпителия слизистой оболочки с наиболее выраженной степенью интенсивности люминесценции, выявляемой при визуальной микроскопии. В дальнейшем учитывали наибольшее значение из трех полученных по каждому из них результатов. Таким образом, коэффициент соотношения нуклеиновых кислот и белков в покровном эпителии слизистой оболочки железистого желудка цыплят определяли по формуле:

$$K = \frac{X_{\max}}{Y_{\max}},$$

где K – коэффициент соотношения нуклеиновых кислот и белков в покровном эпителии слизистой оболочки; X_{\max} – наибольшее количество нуклеиновых кислот в условных единицах из трех исследуемых участков покровного эпителия слизистой оболочки; Y_{\max} – наибольшее количество белков в условных единицах из трех исследуемых участков покровного эпителия слизистой оболочки.

Количество нуклеиновых кислот и белков (в условных единицах) в междольковой соединительной ткани подслизистой основы определяли по аналогичным формулам, но с учетом максимальных величин интенсивности люминесценции при длинах волн, характерных для этой структуры. Поэтому при расчете количества нуклеиновых кислот учитывалась величина интенсивности люминесценции исследуемого участка



при длине волны 480 нм, а при расчете количества белков – при длине волны 620 нм. Разработанный метод люминесцентного спектрального анализа с помощью люминесцентного метахроматического красителя Stains all был использован для изучения состояния внутриклеточного обмена органических веществ (нуклеиновых кислот и белков) в стенке железистого желудка цыплят, больных эшерихиозом, для чего был поставлен опыт.

В опыте использовали 80 цыплят породы хайсекс коричневый, 30 из которых были взяты в качестве контроля (I группа – контрольная). Для экспериментального заражения использовали двухдневных цыплят, взятых из благополучного по эшерихиозу хозяйства, путем перорального инфицирования смывами культуры *E. coli* с агара в разведении 200 млн бактериальных клеток в 1 мл в заражающей дозе 0,2 мл/голову при помощи однограммового шприца и иглы с булавовидным концом. Для заражения использовали полевой штамм *E.coli* серовариант № 078 (II группа – опытная, группа инфицированных цыплят).

Убой цыплят опытной и контрольной групп осуществляли на 1–4, 6, 7, 8, 10, 15, 21 и 30-е сутки жизни (по три цыпленка в указанные сутки) в обеих группах с подробным протоколированием и фотографированием материала. Гистологические срезы, изготовленные из парафиновых блоков стенки железистого желудка цыплят, были окрашены гематоксилином-эозином по общепринятой методике – для получения общей картины микроскопических изменений и спиртовым раствором Stains all – для изучения спектральных характеристик исследуемых объектов.

Микроскопическое исследование проводили на микроскопе МБИ-15 с использованием окуляра 16× и объективов 9×, 40× и 90× с изучением всех слоев стенки железистого желудка цыплят обеих групп и визуальной оценкой обнаруженных изменений.

Результаты исследований. В микропрепаратах стенки железистого желудка цыплят опытной группы, окрашенных гематоксилином-эозином, на 3-и сутки жизни (1-е сутки с момента заражения) отмечали отек в виде разволокнения и разрыхления соединительнотканых структур серозной оболочки, собственной пластинки и подслизистой основы слизистой оболочки, а также соединительной ткани, окружающей ее глубокие железы. Наиболее выраженные явления отека наблюдали на 7-е и 8-е сутки жизни. К 21-м суткам отек выявлялся в основном в области подслизистой основы слизистой оболочки, а к 30-м суткам он отсутствовал практически во всех микропрепаратах. В гистологических срезах стенки железистого желудка цыплят контрольной группы патологические изменения отсутствовали.

Коэффициенты соотношения органических веществ (нуклеиновых кислот и белков) в покровном эпителии слизистой оболочки железистого желудка определяли методом микроспектрального анализа с использованием метахроматической люминесцентной метки-красителя Stains all (в собственной модификации) у цыплят контрольной и опытной групп. При этом динамика коэффициентов соотношений нуклеиновых кислот и белков, установленная с помощью данного метода в покровном эпителии слизистой оболочки железистого желудка цыплят контрольной группы, свидетельствовала об умеренном увеличении значений этих показателей с 1-х по 30-е сутки их жизни (рис. 3).

Данное обстоятельство может быть объяснено постепенным и опережающим ростом величины интенсивности люминесценции, определяемой при длине волны 484 нм (нуклеиновые кислоты) относительно роста величины ее интенсивности при длине волны 628 нм (белки), который наблюдался на спектрах люминесценции покровного эпителия слизистой оболочки. Эта тенденция сохранялась на протяжении всего периода увеличения возраста цыплят (рис. 4).

У цыплят, инфицированных культурой *E. coli* (опытная группа), на кривой коэффициентов соотношения органических веществ, установленных в покровном эпителии слизистой оболочки железистого желудка, отмечали три пика, характеризующихся увеличением коэффициентов соотношений нуклеиновых кислот и белков на 3, 7 и 10-е сутки жизни (1, 5 и 8-е сутки с момента заражения), рис. 3.

Это может быть связано со значительным уменьшением интенсивности люминесценции при длине волны 628 нм (белки) по отношению к величине ее интенсивности при длине волны 484 нм (нуклеиновые кислоты), такие изменения отмечались на 3-и и 7-е сутки жизни цыплят, и одновременным возрастанием величин интенсивности люминесценции при длинах волн 484 нм (нуклеиновые кислоты) и 628 нм (белки) на 10-е сутки их жизни (рис. 4).

На 15-е сутки жизни у инфицированных цыплят коэффициент соотношения органических веществ несколько снизился, что может быть связано с незначительным уменьшением интенсивности люминесценции при длине волны 628 нм (белки) относительно величины ее интенсивности при длине волны 484 нм (нуклеиновые кислоты) (рис. 5). Через две недели жизни на 30-е сутки коэффициент соотношения органических веществ приближался к аналогичным показателям, регистрируемым у цыплят контрольной группы (рис. 3). Это может быть объяснено значительным уменьшением значений величины интенсивности люминесценции, соответствующей и белкам, и нуклеиновым кислотам, которое регистрировалось на спектре люминес-

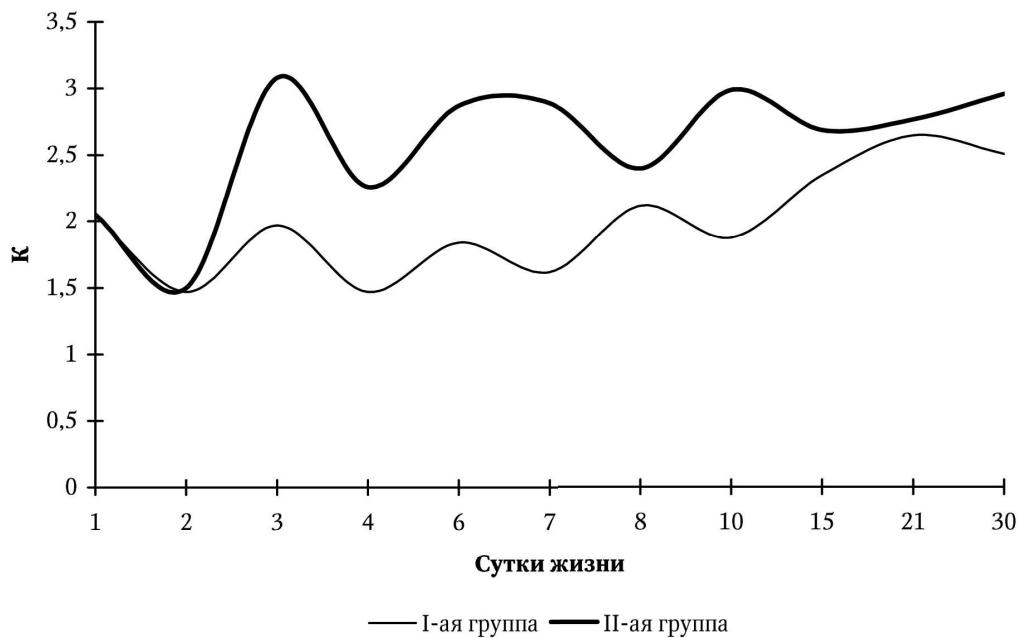


Рис. 3. Коэффициенты соотношений (K) нуклеиновых кислот и белков в покровном эпителии слизистой оболочки железистого желудка цыплят I-ой и II-ой групп

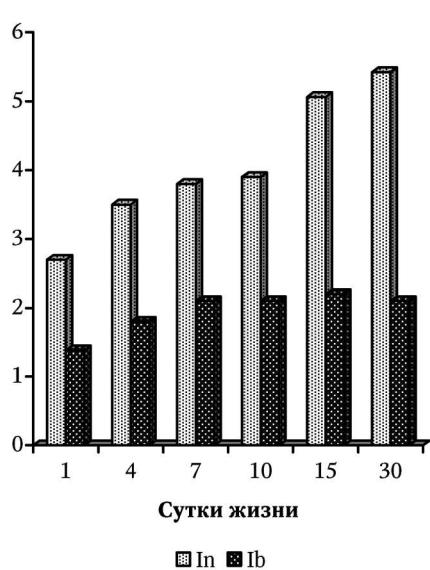


Рис. 4. Величина интенсивности люминесценции нуклеиновых кислот (In) и белков (Ib) в спектре люминесценции покровного эпителия слизистой оболочки гистологического среза железистого желудка цыплят контрольной группы

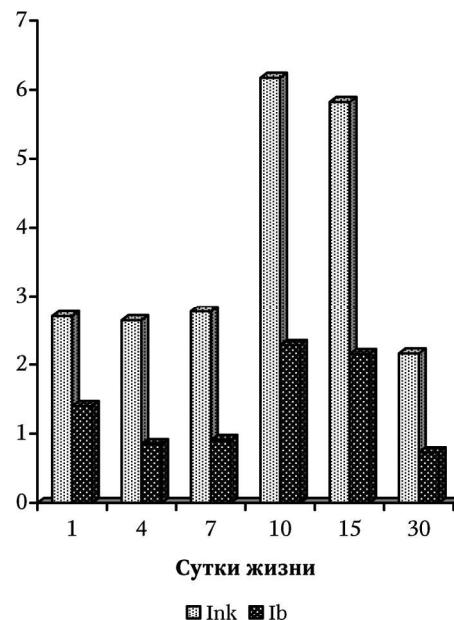


Рис.5. Величина интенсивности люминесценции нуклеиновых кислот (Ink) и белков (Ib) в спектре люминесценции покровного эпителия слизистой оболочки гистологического среза железистого желудка цыплят опытной группы

ценции покровного эпителия слизистой оболочки (см. рис. 5). При этом следует отметить, что все коэффициенты соотношения органических веществ у цыплят, больных эшерихиозом, оставались более высокими, чем у цыплят контрольной группы, на протяжении всего опытного периода (см. рис. 3).

С помощью разработанного метода люминесцентного спектрального анализа определяли также коэффициенты соотношения нуклеиновых кислот и белков в междольковой соединительной ткани подслизистой основы железистого желудка цыплят контрольной и опытной групп (рис. 6). При этом динамика коэффициентов соотношений органических веществ, выявленная в междольковой соединительной ткани подслизистой

основы железистого желудка цыплят I контрольной группы, свидетельствовала об умеренном постепенном увеличении их значений с 1-х по 30-е сутки жизни. Данное обстоятельство может быть объяснено постепенным и опережающим увеличением интенсивности люминесценции при длине волны 480 нм (нуклеиновые кислоты) относительно возрастания ее величины при длине волны 620 нм (белки), которое наблюдалось в спектрах люминесценции междольковой соединительной ткани подслизистой основы. Эта тенденция сохранялась на протяжении всего периода увеличения возраста цыплят (рис. 7).

У цыплят, инфицированных культурой E.coli (II опытной группы), на кривой коэффициен-



тов соотношения нуклеиновых кислот и белков в междольковой соединительной ткани подслизистой основы железистого желудка также наблюдалось три пика, обусловленных некоторым увеличением коэффициентов соотношений нуклеиновых кислот и белков на 4,7 и 10 сутки жизни. Это может быть связано с опережающим ростом величины интенсивности люминесценции при длине волны 480 нм (нуклеиновые кислоты) относительно ее величины при длине волны 620 нм (белки), который регистрировался в спектрах люминесценции междольковой соединительной ткани подслизистой основы в эти сроки (рис. 8).

К 15-м суткам жизни у инфицированных цыплят коэффициент соотношения органических веществ резко снизился (см. рис. 6), что может быть объяснено значительным уменьшением как

величины интенсивности люминесценции при длине волны 480 нм (нуклеиновые кислоты), так и ее величины при длине волны 620 нм (белки) (см. рис. 8).

Через две недели жизни, на 30-е сутки жизни цыплят, коэффициент соотношения органических веществ по своим значениям приблизился к аналогичным показателям, выявляемым у цыплят контрольной группы (см. рис. 6). Это может быть объяснено значительным уменьшением значений величины интенсивности люминесценции, соответствующей белкам (628 нм), и нуклеиновым кислотам (484 нм) междольковой соединительной ткани подслизистой основы (см. рис. 8). При этом следует отметить, что коэффициенты соотношения органических веществ у цыплят, больных эшерихиозом, продолжали оставаться на более

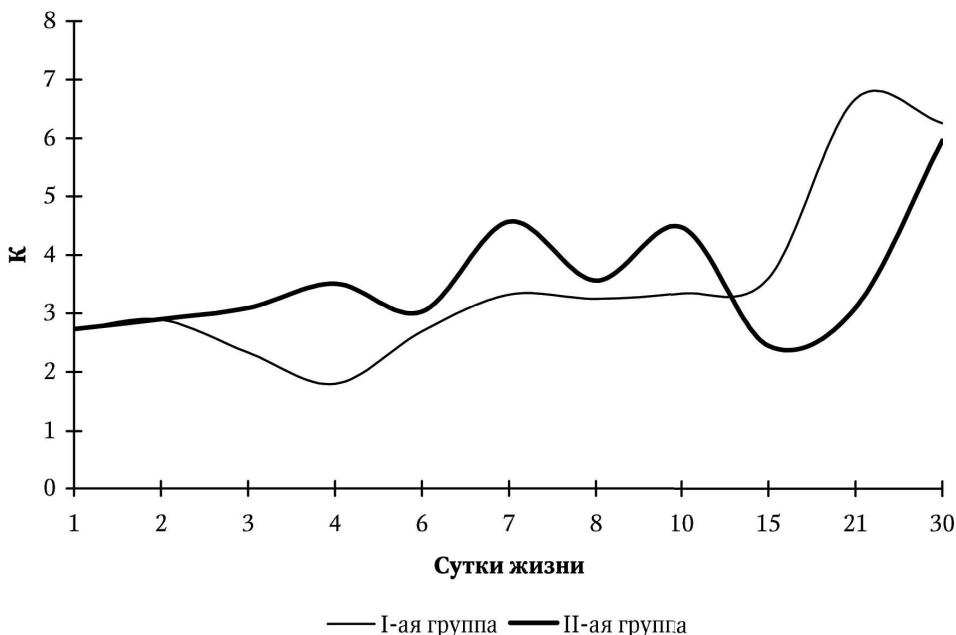


Рис. 6. Коэффициенты соотношений (К) нуклеиновых кислот и белков в междольковой соединительной ткани подслизистой основы железистого желудка цыплят I и II групп

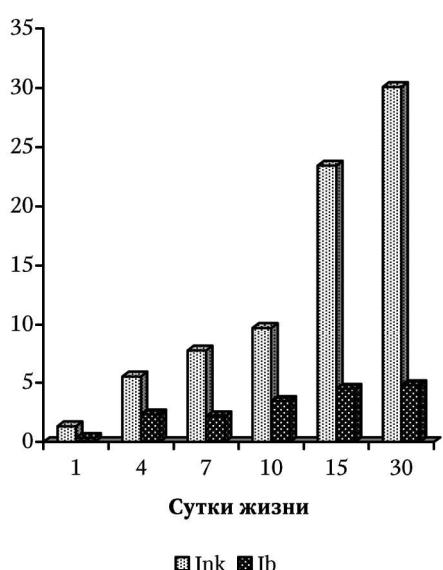


Рис. 7. Величина интенсивности люминесценции нуклеиновых кислот (In) и белков (Ib) в спектре люминесценции междольковой соединительной ткани подслизистой основы гистологического среза железистого желудка цыплят контрольной группы

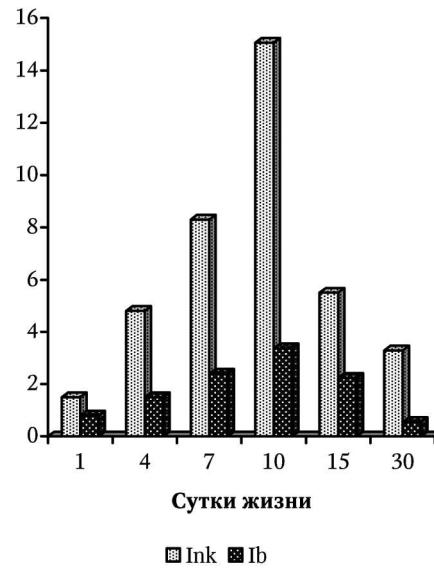


Рис. 8. Величина интенсивности люминесценции нуклеиновых кислот (In) и белков (Ib) в спектре люминесценции междольковой соединительной ткани подслизистой основы гистологического среза железистого желудка цыплят опытной группы

низких цифрах, чем у цыплят контрольной группы, на протяжении этого периода (см. рис. 6).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что метод спектрального анализа соотношений органических веществ в клетке с использованием метахроматического люминесцентного красителя Stains all (в собственной модификации) позволяет определять коэффициенты соотношений нуклеиновых кислот и белков в покровном эпителии слизистой оболочки и в междольковой соединительной ткани подслизистой основы железистого желудка цыплят.

Динамика коэффициентов соотношений органических соединений, выявленная в стенке железистого желудка, отражает особенности нарушений внутриклеточного обмена этих веществ на протяжении всего патологического процесса – экспериментального эшерихиоза. Данные, полученные с помощью разработанного высокочувствительного метода микроспектрального анализа, свидетельствуют о возможности выявления уже на ранних стадиях заболевания эшерихиозом (до развития характерной патоморфологической и клинической картины) глубоких метаболических изменений в клетках покровного эпителия слизистой оболочки и в междольковой соединительной ткани подслизистой основы железистого желудка цыплят. В связи с этим разработанный биофизический метод может оказаться весьма полезным при формировании принципиально нового подхода к вопросу создания современных технологий диагностики, профилактики и лечения этого широко распространенного заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акчурин С.В. Новый метод люминесцентного анализа нуклеиновых кислот с использованием бромида этидия // Вестник Саратовского госагро-

университета им. Н.И. Вавилова. – 2010. – № 08. – С. 3–6.

2. Акчурин С.В. Новый метод люминесцентного анализа белков печени и железистого желудка цыплят // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. – 2011. – № 1. – С. 4–10.

3. Карнаухов В.Н. Люминесцентный анализ клеток: учебное пособие [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://cam.psn.ru>.

4. Мониторинг заразных болезней птицы в омской области / А.В. Портянко [и др.] // Птицеводство. – 2017. – № 9. – С. 34–38.

5. Пирс Э. Химия фиксации // Гистохимия. Теоретическая и прикладная. пер с англ. – М.: Изд-во иностр. лит., 1962. – С. 54–57.

6. Ahmed A.M., Shimamoto T., Shimamoto T. Molecular characterization of multidrug-resistant avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from septicemic broilers // Int. J. Med. Microbiol., 2013, No. 303 (8), P. 475–483.

7. Dahlberg A.E., Dingeman C.W., Peacock A.C. Electrophoretic characterization of bacterial polyribosomes in agaroseacrylamide composite gels // J. Mol. Biol., 1969, Vol. 41, P. 139–147.

8. Haag D., Tschahargane C., Goerttler K. Simultaneous differential staining of nucleic acids and proteins in histological tissues by means of *j*-band effect // Histochemistry, 1971, Vol. 26, P. 190–193.

Акчурин Сергей Владимирович, канд. вет. наук, доцент кафедры «Ветеринарная медицина», Российской государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева. Россия.

Акчурина Ирина Владимировна, канд. вет. наук, доцент кафедры «Ветеринарная медицина», Российской государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева. Россия.

127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49.
Tel.: 89629833927.

Ключевые слова: метод люминесцентного спектрального анализа; люминесцентная метка-краситель Stains all; нуклеиновые кислоты; белки; железистый желудок цыплят; экспериментальный эшерихиоз.

ANALYSIS OF PROPORTION OF NUCLEIC ACIDS AND PROTEINS IN GLANDULAR STOMACH WALL IN CHICKENS DURING EXPERIMENTAL ESCHERICHIOSIS

Akchurin Sergey Vladimirovich, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the chair “Veterinary Medicine”, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Russia.

Akchurina Irina Vladimirovna, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the chair “Veterinary medicine”, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Russia.

Keywords: spectral analysis method; Stains all; nucleic acids; proteins; glandular stomach chickens; experimental escherichiosis.

A method for spectral analysis of the ratios of organic substances in a cell using the “Stains all” metachromatic luminescent dye (in its own modification) has been developed. This method is used to establish the ratio of nucleic acids and proteins in the integumentary epithelium of the mucous membrane and in the

*interlobular connective tissue of the submucosa tissue of the glandular stomach of chickens. Using the developed biophysical method, we studied the ratios of these organic substances in the glandular stomach of healthy and infected with *E. coli* chickens. The dynamics of the ratios of nucleic acids and proteins detected in the wall of the glandular stomach of the control group chicks fits into the picture of a moderate and uniform increase in the values of these indicators, corresponding to an age increase of the chickens. In chickens affected by Escherichiosis, a curve that reflects the dynamics of the ratios includes a three-fold increase in their values. The results obtained using the developed method indicate the possibility of using it to detect early metabolic changes in the glandular stomach of chickens before the appearance of a characteristic pathomorphological and clinical picture. Thus, this method can provide invaluable assistance in developing a fundamentally new approach in creation of modern technologies for the diagnosis, prevention and treatment of widespread disease Escherichiosis.*

