

& Салимов, Р.М. (2019). Сравнение поведения мышей в тестах открытого поля, закрытого и приподнятого крестообразных лабиринтов с помощью факторного анализа. *Журнал Высшей Нервной Деятельности*, 69(1), 123–130. 5. Куликов, В.П. (1990). Индивидуальные особенности спонтанной локомоторной активности и адаптивное поведение крыс. *Журнал Высшей Нервной Деятельности*, 40(1), 85–92. 6. Полтырева, Т.Е. & Петров, Е.С. (1993). Влияние предшествующего опыта реагирования на сигнал опасности у крыс на поведение в ОП. *Журнал Высшей Нервной Деятельности*, 33(4), 679–683. 7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (часть первая) (2012). М.: Гриф и К. 8. Унгурияну, Т.Н. & Гржибовский А.М. (2014). Сравнение трех и более независимых групп с использованием непараметрического критерия Краскела-Уоллиса в программе STATA. *Экология человека*, 6, 55–58. 9. Cabib, S. & Puglisi-Allegra, S. (1991). Genotype-dependent effects of chronic stress on apomorphine-induced alterations of striatal and mesolimbic dopamine metabolism. *Brain Res.*, 542(1), 91–96. 10. Drai, D. & Golani, I. (2001). SEE: a tool for the visualization and analysis of rodent exploratory behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25, 409–426.

References. 1. Gernshtejn, L.M., Kamysheva, A.S., & Chebotareva, T.L. (1941). Morfohimicheskaya karakteristika mozga krysa linii Vistar, razlichayushchihsya po lokomotornoj aktivnosti v otkrytom pole. *ZHurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti*, 41(2), 300–305. 2. Gorenko, A.N. (1990). Ispol'zovanie testa "otkrytogo polya" dlya ocenki pamyati i emocional'nogo statusa u krysa v postreanimacionnom periode. *Eksperim. i klin. patfiziol. ekstremal. i terminal. sostoyanij* (сс. 36–38). Novokuzneck. 3. Dubrovina, N.I. & Tomilenko, R.A. (2006). Osobennosti ugasheniya uslovnoj reakcii passivnogo izbeganiya myshej s raznym urovнем trevozhnosti. *Ros. fiziol. zhurn. im. I.M. Sechenova*, 92(9), 1092–1099. 4. Kovalyov, G.I., Vasil'eva E.V. & Salimov, R.M. (2019). Sravnenie povedeniya myshej v testah otkrytogo polya, zakrytogo i pri-podnyatogo krestooobraznyh labirintov s pomoshch'yu faktornogo analiza. *ZHurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti*, 69(1), 123–130. 5. Kulikov, V.P. (1990). Individual'nye osobennosti spontannoj lokomotornoj aktivnosti i adaptivnoe povedenie krysa. *ZHurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti*, 40(1), 85–92. 6. Poltyreva, T.E. & Petrov, E.S. (1993). Vliyanie predshestvuyushchego opyta reagirovaniya na signal opasnosti u krysa na povedenie v OP. *ZHurnal Vysshej Nervnoj Deyatel'nosti*, 33(4), 679–683. 7. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv (chast' pervaya) (2012). М.: Гриф и К. 8. Unguryanu, T.N. & Grzhibovskij A.M. (2014). Sravnenie trekh i bolee nezavisimyh grupp s ispol'zovaniem neparametricheskogo kriteriya Kraskela-Uollisa v programme STATA. *Ekologiya cheloveka*, 6, 55–58. 9. Cabib, S. & Puglisi-Allegra, S. (1991). Genotype-dependent effects of chronic stress on apomorphine-induced alterations of striatal and mesolimbic dopamine metabolism. *Brain Res.*, 542(1), 91–96. 10. Drai, D. & Golani, I. (2001). SEE: a tool for the visualization and analysis of rodent exploratory behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25, 409–426.

Поступила в редакцию 05.08.2021.

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-3-114-117

УДК 619:577.1:617.747:636.2

БИОХИМИЧЕСКИЙ ГОМЕОСТАЗ СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Холод В.М. ORCID iD 0000-0002-3241-805X, Баран В.П. ORCID iD 0000-0002-3186-3787,

Бизунов А.В. ORCID iD 0000-0001-6775-3347

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*Исследован биохимический состав стекловидного тела взрослых здоровых особей крупного рогатого скота. Определено содержание ряда важнейших метаболитов (глюкоза, лактат, мочевина), ферментный спектр (АсТ, АлТ, щелочная фосфатаза, γ-глутамилтрансфераза, амилаза) и минеральный состав (железо, магний, фосфор, кальций, цинк). Проведена их сравнительная количественная характеристика с сывороткой крови. **Ключевые слова:** крупный рогатый скот, глазное яблоко, стекловидное тело, биохимический состав.*

BIOCHEMICAL HOMEOSTASIS OF THE VITREOUS BODY IN CATTLE

Kholod V.M., Baran V.P., Bizunov A.V.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The biochemical composition of the vitreous body of healthy adult cattle was studied. The content of a number of important metabolites (glucose, lactate, urea), the enzyme spectrum (AST, ALT, alkaline phosphatase, γ-glutamyltransferase, amylase) and mineral composition (iron, magnesium, phosphorus, calcium, zinc) were determined. Their comparative quantitative characteristics against blood serum was carried out. **Keywords:** cattle, eyeball, vitreous body, biochemical composition.*

Введение. В настоящее время клинико-биохимические исследования являются необходимым этапом оценки состояния организма как у человека, так и у животных. Наиболее часто для таких исследований используется сыворотка крови, состав которой, в определенной степени отражает процессы, происходящие в органах и тканях. Референтные значения, позволяющие провести анализ

большого числа показателей сыворотки крови, используемые при оценке различных заболеваний у животных, изложены в ряде руководств [5, 7, 8]. Биохимический состав структурного элемента глаза изучен у животных значительно хуже, что затрудняет проведение аналогичных исследований при патологических процессах в этом органе и, как следствие, разработку новых методов диагностики, мониторинга заболеваний, а также разработку лекарственных средств и методов лечения.

Глазное яблоко является довольно автономной системой, химический состав и метаболизм структурных элементов которого имеют свои особенности, обусловленные прежде всего его функцией – зрительное восприятие и передача сигнала в мозг.

Биохимия глаза зависит не только от морфологической и функциональной специфики этого органа, но и наличия гематоофтальмического барьера (ГОБ), регулирующего обмен с кровью и другими биологическими жидкостями. Этот обмен происходит либо за счет простой ультрафильтрации, либо за счет пассивного и активного трансмембранного переноса, механизмы которых недостаточно изучены.

В состав стекловидного тела (СТ) входит большое число метаболитов как органического, так и неорганического происхождения [6, 9]. Нарушения биохимического состава и естественных биохимических процессов в СТ отмечены при ряде заболеваний глаз у человека (различные виды ретинопатий, помутнение хрусталика и др.) [1, 2]. Это обусловлено тем, что СТ участвует во всех видах обмена веществ в глазном яблоке, обеспечивая не только собственную трофику, но и трофику сетчатки, хрусталика, а также других структурных элементов. Однако, если в медицине биохимия отдельных элементов глазного яблока, в том числе и СТ, исследована достаточно хорошо, то в ветеринарной офтальмологии биохимические исследования не заняли сколько-нибудь значительного места, несмотря на то что они облегчают оценку патологических процессов в глазном яблоке, а также меры их профилактики и лечения.

Материалы и методы исследований. Был изучен материал 20 глазных яблок клинически здорового крупного рогатого скота (коровы в возрасте 3-4 года), взятый после убоя на Витебском мясокомбинате. Образцы стекловидного тела извлекались одноразовым шприцем в объеме не менее 2,0 мл из экстерпированных глазных яблок. Материал центрифугировали при 6000 г в течение 15-20 минут. Биохимический состав центрифугата исследовали на анализаторе BS-200 на базе НИИ ПВМиБ. Определяли содержание таких метаболитов, как глюкоза (ферментативный глюкозооксидазный метод с 4-аминофеназолом и фенолом), лактата (энзиматический спектрофотометрический метод с 4-аминофеназолом и 4-хлорфенолом), мочевины (ферментативный спектрофотометрический метод с α -кетоглутаратом). Также был количественно исследован ферментный спектр, в частности определялось содержание аланинаминотрансферазы (АлТ) (кинетический спектрофотометрический метод основанный на катализируемом АлТ взаимодействии L-аланина с 2-оксоглутаратом с образованием L-глутамата и пирувата), аспартатаминотрансферазы (АсТ) (кинетический спектрофотометрический метод, основанный на катализируемом АсТ переносе аминокетильной группы от аспартата на α -кетоглутарат с образованием оксалоацетата), γ -глутамилтрансферазы (кинетический метод, основанный на спектрофотометрическом определении скорости образования 2-нитро-5-аминобензойной кислоты), щелочной фосфатазы (кинетический спектрофотометрический метод с использованием p-нитрофенолфосфата), амилазы (кинетический спектрофотометрический метод с использованием хлор-нитрофенол- α -D-мальтотриозида). Из минеральных составляющих определяли содержание таких клинически значимых элементов, как железо (спектрофотометрическое определение с 3-(2-пиридил)-5,6-дифенил-1,2,4-триазин-4,4'-дисульфокислотой), магний (спектрофотометрирование окрашенного комплекса с ксилединовым синим), фосфор (спектрофотометрический метод с применением молибдата аммония), кальций (спектрофотометрический метод с арсенитом III) и цинк (спектрофотометрирование хелатного комплекса с 2-(5-бром-2-пиридилазо)-5-(N-пропил-N-сульфопропиламино)-фенолом).

Результаты исследований. В таблице 1 представлены показатели, характеризующие некоторые стороны обмена веществ, наиболее часто используемые в клинико-биохимических исследованиях.

Таблица 1 - Биохимические показатели стекловидного тела у крупного рогатого скота

Показатели	Стекловидное тело		Сыворотка крови	
	M \pm m	Lim	M \pm m	Lim
Глюкоза (ммоль/л)	2,64 \pm 0,04	0,83 -8,74	5,63 \pm 0,39	3,44-7,05
Лактат (ммоль/л)	6,85 \pm 0,71	2,48-14,92	7,21 \pm 0,57	3,94-10,47
Мочевина (ммоль/л)	3,44 \pm 0,45	0,42-9,2	4,29 \pm 0,37	2,52-6,04
АсТ (У/л)	69,74 \pm 9,74	8,5-141,9	235,07 \pm 50,59	39,7-563,8
АлТ (У/л)	1,31 \pm 0,22	0,2-3	34,32 \pm 5,95	12,4-59,6

Продолжение таблицы 1

Показатели	Стекловидное тело		Сыворотка крови	
	M±m	Lim	M±m	Lim
Щелочная фосфатаза (У/л)	3,46±0,59	0,39-7,48	79,54±14,00	37,14-174,04
γ-глутамилтрансфераза (У/л)	0,83±0,18	0,1-3,2	24,46±1,72	16,8-32,7
Амилаза (У/л)	2,08 ±0,79	0,04-7,29	44,69±6,07	15,46-81,97
Железо (мкмоль/л)	3,02±0,57	0,77-8,45	16,52±1,62	9,3-27,22
Магний (ммоль/л)	0,58±0,07	0,09-1,29	0,73±0,03	0,61-0,85
Фосфор (ммоль/л)	0,72±0,32	0,02-0,87	1,83±0,14	1,37-2,92
Кальций (ммоль/л)	1,42±0,15	0,09-3,1	2,26±0,24	1,74-4,17
Цинк (мкмоль/л)	8,95±2,29	0,24-35,6	9,1±2,32	2,41-22,72

Одним из наиболее востребованных метаболитов углеводного обмена является глюкоза. Ее содержание в СТ составило в среднем 2,64 ммоль/л, что примерно в два раза меньше чем в сыворотке крови тех же животных (5,63 ммоль/л). Размах колебаний в СТ (Lim 0,83-8,74) значительно больше, чем в сыворотке крови (Lim 3,44-7,05), что, вероятно, обусловлено наличием ГОБ и механизмами трансмембранного переноса.

Важным метаболитом, характеризующим углеводный обмен, является лактат. Как видно из таблицы, его содержание достаточно высокое - 6,85 ммоль/л и практически не уступает его среднему содержанию в сыворотке крови - 7,21 ммоль/л, что характеризует интенсивность анаэробного окисления глюкозы. Содержание лактата изменяется в СТ в достаточно широком пределе (Lim 2,48-14,92). Эти различия в концентрации могут быть вызваны как физиологическими процессами, происходящими в глазном яблоке, так и некоторыми патологическими состояниями, оказывающими влияние на биохимические показатели. Например, при воспалениях в структурах глазного яблока усиливается гликолиз, что приводит к увеличению содержания лактата, концентрация которого может служить дополнительным диагностическим критерием.

Мочевина, содержащаяся в СТ, может быть только инорганического происхождения. У КРС она синтезируется в печени и частично - в рубце. Попаст в СТ мочевина может через ГОБ или путем ультрафильтрации. Трансмембранный перенос из сыворотки крови может быть настолько интенсивен, что ее содержание в СТ ненамного меньше ее содержания в сыворотке крови (соответственно 3,44 и 4,29 ммоль/л). Индивидуальные изменения концентрации мочевины также значительные (Lim 0,42-9,2 ммоль/л). Эти колебания определяются как интенсивностью обмена белка, так и проницаемостью ГОБ.

Ферментный спектр СТ представлен АсТ, АлТ, щелочной фосфатазой, γ-глутамилтрансферазой и амилазой. Все эти ферменты имеют важное клиническое значение, и их определение в сыворотке крови сельскохозяйственных животных привязано к определенному патологическому процессу [5, 8].

В СТ активность этих ферментов значительно ниже, что также связано с особенностями обмена веществ в структурах глаза и сложностью процессов, регулирующих обмен с кровью. В СТ активность АсТ в 3,4 раза ниже, чем в сыворотке крови (69,74 и 235,07 У/л соответственно). Активность АлТ ниже в 26 раз (1,31 и 34,32 У/л), щелочной фосфатазы - в 23 раза (3,46 и 79,54 У/л), γ-глутамилтрансферазы - в 29 раз (0,83 и 24,46 У/л), амилазы - в 21 раз (2,08 и 44,69 У/л). Селективность, специфичность и характер изменений их активности в значительной степени определяется механизмом патологического процесса. Кроме того, высокая вариабельность их значений как в сыворотке крови, так и в СТ затрудняет их использование в целях диагностики. Поэтому клиническая интерпретация изменений каждого фермента требует комплексной оценки с учетом органа, в котором развивается патологический процесс, его функциональной активности, клинической картины и всех других типов исследований.

Содержание железа в СТ значительно меньше, чем в сыворотке крови, и составило в среднем 3,02 ммоль/л, с колебанием от 0,77 до 8,45 ммоль/л. В сыворотке крови содержание железа значительно выше - 16,52 ммоль/л, при Lim 9,3-27,22 ммоль/л. В патогенезе ряда офтальмологических заболеваний у человека лежит активизация свободно-радикальных процессов (СРП), приводящих к усиленному перекисному окислению липидов, прежде всего, в клеточных мембранах [3, 4]. Поскольку железо принимает активное участие в этих процессах, то его концентрация в СТ может служить достаточно объективным индикатором.

Минеральный состав СТ, кроме железа, представлен магнием, фосфором, кальцием и микроэлементом цинком. Данные элементы относятся к числу биогенных, биологическая роль которых доказана и достаточно хорошо изучена. Все они также относятся к числу клинически значимых элементов, нарушение обмена которых приводит к определенной патологии. Особенно необходимо отметить кальций, который является важнейшим регулятором обменных процессов в клетке. Исследования

содержания кальция в СТ и сыворотке крови показали превышение в сыворотке крови - в 1,59 раза (1,42 ммоль/л и 2,26 ммоль/л). Концентрация фосфора в СТ ниже, чем в сыворотке крови, приблизительно в 2,5 раза (0,72 ммоль/л в СТ и 1,83 ммоль/л в сыворотке крови). Для магния и цинка эта разница в СТ и сыворотке незначительна и относительно невелика (0,58 ммоль/л и 0,73 ммоль/л для магния, 8,95 ммоль/л и 9,1 ммоль/л для цинка) при достаточно большом размахе колебаний.

Заключение. Изучен биохимический спектр клинически значимых метаболитов стекловидного тела крупного рогатого скота, который значительно отличается от спектра сыворотки крови. Представленные результаты исследований могут быть использованы для разработки нормативных требований при биохимических исследованиях офтальмопатий у крупного рогатого скота.

Conclusion. The biochemical spectrum of clinically significant metabolites of the vitreous body of cattle was studied, which significantly differs from the spectrum of blood serum. The presented research results can be used to develop regulatory requirements for biochemical studies of ophthalmopathies in cattle.

Список литературы. 1. Акимов, П. А. Биохимические показатели стекловидного тела глаза в диагностике заболеваний / П. А. Акимов, Н. А. Терехина // Пермский медицинский журнал. – 2016. – Т. XXXIII. – № 4. – С. 61–65. DOI: <https://doi.org/10.17816/pmj33461-64>. 2. Амханицкая, Л. И. Изменение стекловидного тела при различных патологических состояниях глазного яблока / Л. И. Амханицкая // Российская детская офтальмология. – 2014. – № 2. – С. 41–50. 3. Биохимические изменения стекловидного тела при различных видах витреоретинопатии / А. В. Малышев [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 9-1. – С. 195–201. 4. Зиангирова, Г. Г. Перекисное окисление липидов в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы / Г. Г. Зиангирова О. В. Антонова // Вестник офтальмологии. – 2003. – № 4. – С. 54–55. 5. Нормативные требования к показателям обмена веществ у животных при проведении биохимических исследований крови / С. В. Петровский [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2019. – 68 с. 6. Пири, А. Биохимия глаза / А. Пири, Р. ванн Гейнинген. – М. : Медицина, 1968. – 400 с. 7. Холод, В. М. Белки сыворотки крови в клинической и экспериментальной ветеринарии / В. М. Холод. – Минск : Ураджай, 1983. – 78 с. 8. Холод, В. М. Справочник по ветеринарной биохимии / В. М. Холод, Г. Ф. Ермолаев. – Минск : Ураджай, 1988. – 168 с. 9. Whitehart, D. R. Biochemistry of the eye. / D. R. Whitehart. – 2nd ed. – Philadelphia. ButterworthHeinemann, 2003. – 256 p.

References. 1. Akimov P. A., Terekhina N. A. Biohimicheskie pokazateli steklovidnogo tela glaza v diagnostike zabolevanij // Permskij medicinskij zhurnal. – 2016. – Т. XXXIII. – №4 – S. 61-65. (DOI: <https://doi.org/10.17816/pmj33461-64>). 2. Amhanickaya L. I. Izmenenie steklovidnogo tela pri razlichnyh patologicheskikh sostoyaniyah glaznogo yabloka // Rossijskaya detskaya oftal'mologiya. – 2014. – № 2 – S. 41-50. 3. Malyshev A. V., Trubilin V. N., Makkaeva S. M., Al'-Rashid Z. ZH. Biohimicheskie izmeneniya steklovidnogo tela pri razlichnyh vidah vitreoretinal'noj patologii // Fundamental'nye issledovaniya. – 2013. – № 9-1. – S. 195-201. 4. Ziangirova G. G. Perekisnoe okislenie lipidov v patogeneze pervichnoj otkrytougol'noj glaukomy / G. G. Ziangirova O. V. Antonova // Vestn. oftal'mologii. 2003. - № 4. - S. 54-55. 5. Petrovskij, S. V. Normativnye trebovaniya k pokazatelyam obmena veshchestv u zhivotnyh pri provedenii biohimicheskikh issledovanij krovi / S. V. Petrovskij [i dr.]. – Vitebsk : VGAVM, 2019. -68 s. 6. A. Pirie, and R. Van Heyningen, Biochemistry of the Eye, Blackwell Scientific Publications, Oxford (1956). 7. Holod, V. M. Belki syvorotki krovi v klinicheskoy i eksperimental'noj veterinarii / V. M. Holod. – Minsk : Uradzhaj, 1983. – 78 s. il. 8. Holod, V. M. Spravochnik po veterinarnej biohimii / V. M. Holod, G. F. Ermolaev. – Minsk: Uradzhaj, 1988. – 168 s. ; tabl. 9. Wykehart D. R. Biochemistry of the eye . 2nd ed. Philadelphia. Butterworthheinemann, 2003. - 256 p.

Поступила в редакцию 27.07.2021.

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-3-117-122
УДК 543.4

К ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ФАРМАКОПЕЙНОМ АНАЛИЗЕ

Холод В.М. ORCID iD 0000-0002-3241-805X, Пипкина Т.В. ORCID iD 0000-0002-2761-8033
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Производство лекарственных средств связано с развитием фармакопейных методов их анализа. В работе проведен сравнительный анализ методов протолитометрии, иодатометрии, рефрактометрии и кулонометрии для количественного определения аскорбиновой кислоты. Наиболее пригодными методами для этой цели являются титриметрический метод иодатометрии и инструментальный метод кулонометрии. Рефрактометрический метод, отличающийся меньшей точностью, может быть использован для предварительного полуколичественного экспресс-анализа. **Ключевые слова:** аскорбиновая кислота, протолитометрия, рефрактометрия, кулонометрия, иодатометрия.

ON THE POSSIBILITY OF USING DIFFERENT METHODS FOR DETERMINING ASCORBIC ACID IN PHARMACOPEIAL ANALYSIS

Kholod V.M., Pipkina T.V.
Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus