

УДК 636.2.053:612.015

**Холод В.М., доктор биологических наук, профессор
Соболева Ю.Г., аспирант**

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Витебск

ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА КОЛЛОИДНО-ОСАДОЧНЫХ ПРОБ И ПЕЧЕНОЧНОЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ У ТЕЛЯТ

Изучена возрастная динамика коллоидно-осадочных проб и печеночнозависимых ферментов у крупного рогатого скота. Установлено, что у телят наблюдаются более высокие значения щелочной фосфатазы, аминотрансфераз; более низкие значения показателей апо-В-липопротеинов. Показатели тимоловой пробы, холинэстеразы и гамма-глутамилтранспептидазы достаточно вариабельны, что должно учитываться при составлении и интерпретации коллоидно-осадочных проб и ферментного гепатоспецифического профиля сыворотки крови коров.

The age dynamics of colloidal-sedimentary tests and hepatospecific enzymes in cattle has been studied. It has been stated that in calves higher values of alkaline phosphatase, aminotransferase and lower values of apo-B-lipoproteins are observed. The values of thymol tests, cholinesterase and gamma-glutamyltranspeptidase are rather variable that should be taken into account when composing and interpreting colloidal-sedimentary tests and enzymatic hepatospecific profile of blood serum in cows.

ВВЕДЕНИЕ

Печень занимает исключительно важное место в обмене веществ. Большинство компонентов корма всасывающихся в кишечнике должно пройти через печень, и только затем они попадают в другие органы и ткани животного. Для поддержания нормального функционирования гепатоцитов туда поступает кислород и другие вещества с кровью по печеночной артерии.

Из-за своих анатомических и биохимических особенностей печень участвует в регуляции практически всех видов обмена веществ.

При различных патологических состояниях химический состав печени может значительно изменяться. Нарушение обмена веществ в печени и изменения его химического состава находят свое отражение в изменении биохимического состава крови. [1]

Поэтому при гепатопатиях используется определение целого ряда биохимических показателей, позволяющих судить о тех или иных нарушениях в печени. С этой целью в медицине часто исследуют коллоидно-осадочные пробы, ряд ферментов и некоторые другие показатели. [1] В литературе данные о так называемом гепатоспецифическом профиле крупного рогатого скота немногочисленны, иногда противоречивы. Они не сопоставлены с физиологическим состоянием и возрастом животных, что затрудняет интерпретацию полученных данных и их использование в диагностических целях.

Для изучения нормативной базы, позволяющей использовать печеночнозависимые показатели при патологии печени, и, опираясь на литературные данные [12,1,9,8,6], мы провели исследование в сыворотке крови: коллоидно-осадочных проб (тимоловой и на апо-В-липопротеины), активности гепатоспецифических ферментов – АСТ (аспартатаминотрансферазы), АЛТ (аланинаминотрансферазы), ГГТП (гамма-глутамилтранспептидазы), ХЭ (холинэстеразы), ЩФ (щелочной фосфатазы).

Сывороточные коллоидно-осадочные пробы имеют важное значение для выявления изменений в белковом спектре крови. Из-за этого их называют пробами коллоидной устойчивости. [1]

Изменения активности вышеперечисленных показателей могут быть обусловлены как патологическими процессами, протекающими в печени, так и физиологическими причинами, в числе которых важным характеристическим фактором является возраст животного. Это следует учитывать для определения референтных биохимических значений у клинически здоровых и последующего сравнения их с показателями больных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для эксперимента были отобраны клинически здоровые телята черно-пестрой породы и взрослые коровы. Из них были сформированы четыре группы (по десять голов в каждой):

Телята первых десяти дней жизни;

Телята 3-4 месяцев;

Телята 6-7 месяцев;

Взрослые нестельные животные 3-7 лет.

Исследования проводились в лаборатории кафедры химии ВГАВМ, на Витебском мясокомбинате и в СХП «Мазолово» Витебского района.

Тимоловая проба является надежным тестом оценки функционального состояния печени. С ее помощью удается диагностировать «синдром воспаления», который сопровождает многие поражения печеночной паренхимы. Проба положительна при токсическом и инфекционном гепатите, при постгепатитном циррозе.

Тимоловую пробу ставили с использованием стандартного набора реактивов производства НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь).

Проба на содержание апо-В-липопротеинов (проба по Бурштейну и Самай) является тестом определения суммарного содержания бета- и пре-бета-липопротеинов. Она резко возрастает при атеросклерозе, ожирении, сахарном диабете, нефротическом синдроме, некоторых формах острого гепатита. В сочетании с тимоловой эта проба используется для дифференциации паренхиматозной и обтурационной (застойной) желтухи: проба Бурштейна и Самая положительна при застойной желтухе, а также в конечной фазе острого гепатита.

Пробу на апо-В-липопротеины ставили с хлористым кальцием и гепарином. Определяли степень мутности фотометрически при образовании гепарин - липопротеинового комплекса.

Активность аминотрансфераз (АСТ, КФ 2.6.1.1 и АЛТ, КФ 2.6.1.2) определяют для диагностики и дифференциальной диагностики болезней печени. Их значения резко возрастают при инфекционном и токсическом гепатите, при обострении хронического гепатита. [1,2,3,4] Причем при остром гепатоцеллюлярном поражении их активность выше, чем при обструктивном печеночном или внепеченочном холестазах.

Аспартат - и аланинаминотрансферазу определяли константным методом с использованием стандартных наборов реактивов производства НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь).

Активность щелочной фосфатазы (ЩФ, КФ 3.1.3.1) в сыворотке крови повышается при холестазах, обструктивных заболеваниях печени, токсическом гепатите, остеомалации т.к. этот экскреторный фермент в больших количествах содержится в костной ткани, паренхиме и стенках желчных протоков печени. При абсцессах печени и отравлении гепатотоксинами наблюдается очень резкое повышение ЩФ. Щелочную фосфатазу определяли с использованием наборов реактивов производства НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь) по методу Бесей, Лоури и Брока.

Холинэстераза (ХЭ, ацилхолингидролаза «неспецифическая», КФ 3.1.1.8) синтезируется в печени, поэтому степень ее активности в крови служит тестом, отражающим функциональное состояние печени. Снижение активности ХЭ, как правило, говорит о поражении гепатоцитов. В медицинской практике отмечено снижение холинэстеразы при беременности. [1]

Холинэстеразную активность определяли кинетически с использованием наборов «Лахема» (Чешская Республика) модифицированным нами методом. Время учитывалось с 10-й по 70-ю секунду, так как данный временной интервал отражает наибольшую активность фермента у крупного рогатого скота.

Гамма - глутамилтранспептидаза (ГТТII, гамма - глутамилтрасфераза, ГТТФ, КФ 2.3.2.2) преимущественно мембранносвязанный гликопротеин, катализирующий перенос аминокислот через клеточную мембрану. Она регулирует разрушение и конъюгацию глутатиона, тем самым влияет на синтез белка в тканях. Это гепатоспецифический фермент, является высокочувствительным индикатором при заболеваниях печени. Активность его резко повышена при токсическом и инфекционном гепатите, закупорке желчных путей.

Гамма - глутамилтранспептидазную активность определяли фотометрически унифицированным методом по «конечной точке» с использованием наборов ООО «Ольвекс Диагностикум» (Россия).

Полученные данные были обработаны статистически с использованием программы «Microsoft Excel».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из таблицы 1, при оценке ферментного гепатоспецифического профиля крупного рогатого скота, нужно учитывать возраст, так как активность ряда показателей, входящих в его состав, существенно изменяется в зависимости от возраста животных.

Таблица 1

Изменения печеночнозависимых показателей телят в возрастной динамике

Показатели	Величины	Телята			Взрослые коровы
		1-10 дней	3-4 мес.	6-7 мес.	
Тим.пр. S-H	X ± x	1,24±0,09	0,24±0,08	0,96±0,28	0,6±0,11
	σ	0,3	0,26	0,88	0,35
	P	***	*	-	
Апо-В-лп у.е.	X ± x	6,04±0,85	7,86±0,36	9,28±0,58	11,13±0,43
	σ	2,68	1,13	1,82	1,36
	P	***	***	*	
АСТ мккат/л	X ± x	0,17±0,03	0,56±0,12	0,3±0,03	0,2±0,01
	σ	0,1	0,38	0,1	0,01
	P	-	**	**	
АЛТ мккат/л	X ± x	0,13±0,03	0,33±0,11	0,23±0,03	0,14±0,01
	σ	0,1	0,34	0,09	0,01
	P	-	-	**	
ЩФ мккат/л	X ± x	2,70±0,14	2,52±0,12	2,06±0,07	0,56±0,02
	σ	0,43	0,38	0,21	0,07
	P	***	***	***	
ХЭ мккат/л	X ± x	7,51±1,37	3,60±0,68	14,69	7,09±0,45
	σ	4,34	2,14	8,13	1,42
	P	-	***	**	
ГТП мккат/л	X ± x	1,59±0,53	0,11±0,02	0,14±0,01	0,59±0,06
	σ	1,67	0,07	0,04	0,19
	P	-	***	***	

* - P < 0,05

** - P < 0,01

*** - P < 0,001 по сравнению с нестельными животными.

Так, тимоловая проба у телят первой декады жизни достоверно выше, чем у взрослых нестельных животных (в два раза), что может быть обусловлено физиологической незрелостью печени. В то же время, к 3-4 месяцам она резко снижается, а к 6-7 месяцам наблюдается ее повышение на 50%, что очевидно связано с возрастными изменениями рациона. Исходя из этого, при оценке тимоловой пробы у молодняка крупного рогатого скота, для первой, второй и третьей групп телят следует вводить поправочные коэффициенты 2; 0,5 и 1,5 соответственно.

Показатели апо-В-липопротеинов у телят с возрастом динамично увеличивались и составили в 10-дневном возрасте, 3-4 месячном и 6-7 месячном: 55%; 70% и почти 85% от контрольной группы животных. На основании этого при определении показателей апо-В-липопротеинов следует вводить поправочные коэффициенты на возраст: для телят 1-й группы 0,55; 2-й – 0,7; третьей – 0,85.

Активность аминотрансфераз у телят 1-10 дневного возраста практически не отличается от показателей контрольной группы. Коэффициент де Ритиса 1,3 (у нестельных коров 1,4). У 3-4 месячных телят показатели АСТ и АЛТ резко увеличиваются: в 2,5 раза в среднем. Коэффициент

де Ритиса 1,7. Это может свидетельствовать о перестройке обмена веществ в начале рубцового пищеварения у молодняка, который связан с переходом от молочного питания к смешанному. К 6-7 месячному возрасту активность аминотрансфераз идет на убыль и в 1,5 раза превышает показатели контрольной группы. Коэффициент де Ритиса 1,3. На основании этого для аминотрансфераз 2-й и 3-й группы телят следует вводить поправочные коэффициенты 2,5 и 1,5 соответственно.

Щелочная фосфатаза во всех трех группах телят гораздо выше, чем у контрольной группы коров. Наибольшая ее активность отмечается у новорожденных животных ($2,7 \pm 0,14$ мккат/л), чуть ниже у 3-4 месячных, еще ниже - у 6-7 месячных. Считаем, что эти показатели являются физиологически естественными и отражают интенсивный рост костной ткани молодняка, когда велика потребность в неорганических фосфатах. [1] Полученные данные согласуются с медицинскими (норма для взрослого человека 0,74 – 2,29 мккат/л; для детей 1,2 – 6,3 мккат/л). Учитывая данную возрастную особенность для объективной оценки активности ЩФ, у 1-й, 2-й и третьей группы телят следует вводить поправочные коэффициенты на возраст: 5; 4,5 и 4.

Холинэстеразная активность у телят первой декады жизни существенно не отличалась от группы контроля. Однако к 3-4 месячному возрасту снизилась и составила 50% от контрольной группы, а к 6-7 месяцу возросла более чем в 2 раза. Временное снижение ее активности, возможно, связано со снижением белоксинтетической функции печени при стрессе, вызванном переходом с молочного питания на смешанное. Резкое повышение холинэстеразной активности впоследствии может быть реакцией на полную отмену молочных продуктов и переход на рацион взрослых животных. С учетом этих физиологических особенностей для телят второй и третьей группы следует вводить поправочные коэффициенты 0,5 и 2 соответственно.

Активность ГТПП у телят 1-10 дневного возраста почти в три раза выше, чем у взрослых нестельных коров, что обусловлено, очевидно, высоким содержанием его в молозиве и проницаемостью кишечного эпителия для нативных белков. [10] В 3-4 месячном возрасте наблюдается резкий спад ее активности. Это совпадает со снижением холинэстеразной активности и показателями тимоловой пробы. В 6-7 месячном возрасте активность ГТПП также невелика, но находится на нижней границе нормативных показателей. [12] По сравнению с гамма-глутамилтранспептидазной активностью у нестельных коров 3-7 лет она составляет 25%. Поправочные коэффициенты на возраст для телят первой, второй и третьей групп составляют: 3; 0,2 и 0,25.

ВЫВОДЫ

При оценке показателей тимоловой пробы у телят 1-10 дневных, 3-4 месячных и 6-7 месячных следует вводить поправочные коэффициенты на возраст: 2; 0,5; 1,5 соответственно.

Значения апо-В-липопротеинов с возрастом увеличиваются. Поправочные коэффициенты составляют для телят 1-й, 2-й и третьей группы 0,55; 0,7 и 0,85.

Активность аминотрансфераз резко возрастает к 3-4 месячному возрасту, а затем идет на убыль. По АСТ и АЛТ для 2-й и третьей группы животных коэффициенты составили 2,5 и 1,5 соответственно.

У молодняка крупного рогатого скота ЩФ гораздо выше показателей взрослых нестельных животных. Коэффициенты пересчета: 5; 4,5 и 4.

При оценке изменений активности холинэстеразы и гамма-глутамилтранспептидазы сыворотки крови телят необходимо вводить для 3-4 месячных и 6-7 месячных животных поправочные коэффициенты: по ХЭ 0,5 и 2; по ГТПП 0,2 и 0,25. Гамма-глутамилтранспептидазная активность у новорожденных телят велика, для ее оценки следует нормативные показатели умножить на 3.

ЛИТЕРАТУРА

1. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2т. / В.С. Камышников.- Минск: Беларусь, 2000—Т. 2.
2. Курдеко, А.П. Болезни органов пищеварения /А.П. Курдеко // Болезни крупного рогатого

- скота и свиней: монография/ П.А. Красочко, О.Г. Новиков, А.И. Ятусевич [и др.]- Мн.: Технопринт, 2003.- С. 158 – 186.
3. Курдеко, А.П. Болезни органов пищеварения /А.П. Курдеко// Справочник по наиболее распространенным болезням крупного рогатого скота и свиней/ П.А. Красочко [и др.]- Смоленск, 2003.- С. 279 – 310.
 4. Курдеко, А.П. Методы диагностики болезней животных: практич. пособие /А.П. Курдеко [и др.]; под общ ред. А.П. Курдеко, В.А. Самсоновича. – Витебск: УО ВГАВМ, 2005. – 166 с.
 5. Рахимжанова, Д.Т. Активность факторов естественной резистентности и ее рефлекторная коррекция при гепатозе коров: автореф. ...дис. канд. вет. наук: 16.00.01/ Д.Т. Рахимжанова.- Витебск, 1993.-13 с.
 6. Севрюк, И.З. Патология печени у крупного рогатого скота при избыточном содержании нитратов в рационе: автореф. ...дис. канд. вет. наук: 16.00.01; 16.00.02/ И.З. Севрюк.- Витебск, 1990 - 19 с.
 7. Уша, Б.В. Ветеринарная гепатология / Б.В.Уша.- М.: Колос, 1979. – 263 с.
 8. Хазанов, А.И. Функциональная диагностика болезней печени/А.И. Хазанов. – М.: Медицина, 1988. – С. 124-125.
 9. Хвостова, О.В. Возрастные аспекты липидтранспортной системы крови и молочной продуктивности крупного рогатого скота в норме и при дисфункции печени: автореф. ...дис. канд. биол. наук: 03.00.13 /О.В. Хвостова.- Витебск, 2005.- 20 с.
 10. Холод, В.М. γ -Глутамилтрансфераза малодзіва кароў і сывараткі крыві нованароджаных цялят /В.М. Холод, Л.А. Князева // Вес. Акад. аграр. навук Беларусі.-1992.-№4.- С. 89-92.
 11. Холод, В.М. Клиническая биохимия: учеб. пособие: в 2 ч. /В.М. Холод, А.П. Курдеко. – Витебск: УО ВГАВМ, 2005. – Ч. 1. – 188 с.
 12. Холод, В.М. Справочник по ветеринарной биохимии/ В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев.- Минск: Ураджай, 1988.- С.139-150.