

УДК 636.2:612.015.

ГЕПАТОСПЕЦИФИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ЖИРОВОЙ ДИСТРОФИИ ПЕЧЕНИ

Соболева Ю.Г., Холод В.М.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
Витебск, Республика Беларусь, 210026

Изучен гепатоспецифический метаболический профиль сыворотки крови крупного рогатого скота при жировой дистрофии печени. Установлено, что при данной патологии повышается активность аминотрансфераз, щелочной фосфатазы, увеличивается концентрация общего холестерина; наблюдаются более низкие значения активности холинэстеразы, гамма-глутамилтранспептидазы и концентрации сывороточного альбумина.

Hepatospecific metabolic profile of blood serum in cattle with fat liver dystrophy has been studied. It has been stated that at this pathology the activity of aminotransferases, alkaline phosphatase rises; concentration of common cholesterol increases; lower indices of activity of cholinesterase, gamma-glutamyltranspeptidase and concentration of serum albumin are observed.

Введение. При несоответствии условий кормления и содержания сельскохозяйственных животных, а также нарушении других технологических требований, часто отмечаются глубокие нарушения обмена веществ с развитием дистрофических процессов, как в мышцах, так и в паренхиматозных органах [5, 6]. При таких поражениях в патологический процесс часто вовлекается печень как центральный орган химического гомеостаза организма [8, 9, 10]. Нарушение обмена веществ в печени и изменение ее химического состава находят свое отражение в изменении биохимического состава крови [5, 6, 10]. Поэтому, при ряде гепатопатий, широко используются определения целого ряда химических соединений в сыворотке крови, позволяющих судить о тех или иных нарушениях в печени.

При патологических состояниях дистрофического характера в печени химический состав может значительно изменяться. В животноводстве это влечет за собой серьезные экономические издержки, которые складываются из-за снижения продуктивности, потери репродуктивных качеств, а также ранней выбраковки животных [5, 6].

Уровень обменных процессов целостного организма во многом определяется метаболической активностью печени, то есть ее функциональным состоянием. Система крови в организме выполняет важную интегрирующую и коммуникативную функцию. Любые отклонения гомеостаза неизбежно находят свое отражение в ней, поэтому для клиницистов особое значение имеют индикаторные свойства крови [5, 6]. В то же время, остается недостаточно изученным вопрос о патогенезе ряда отклонений сывороточных показателей, возникающих при гепатопатиях.

Таким образом, учитывая тесную связь между печенью и системой крови, уточнение особенностей сывороточных биохимических нарушений при различного рода гепатопатиях у сельскохозяйственных животных (в том числе у крупного рогатого скота), представляет большой интерес для ветеринарии. Помимо теоретической стороны проблемы, разработки в данном направлении имеют важное прикладное значение для ранней диагностики, контроля эффективности терапевтических мероприятий и прогнозирования исхода большинства заболеваний гепатобилиарной системы [5, 6].

В медицине, для оценки функционального состояния печени, используют ряд тестов, то есть набор определенных измерений компонентов крови, свидетельствующих о наличии и типе поражения печени [8]. Следует отметить, что не все они легко выполнимы и широкодоступны по причине своей дороговизны и нехватки высокотехнологичного оборудования. В ветеринарии информативность и значимость биохимических тестов в рамках синдромальной диагностики гепатодистрофии (как спонтанной, так и экспериментальной токсической) у поросят и свиней изучалась рядом авторов [4, 7].

По мнению Уша Б.В. и Белякова И.М. [9], биохимический анализ крови, который проводится для диагностики заболеваний печени у животных, складывается из определения концентрации общего белка, сывороточного альбумина, аммиака, глюкозы, общего билирубина, желчных кислот, определения протромбинового времени, каталитической активности АЛТ, АСТ, ЩФ, ГГТФ, ЛДГ.

У крупного рогатого скота отдельные гепатозависимые биохимические показатели исследовались многими авторами. При этом рассматривались различные патологии самой печени или состояния, связанные с вовлечением этого органа в патологический процесс.

Следует учитывать, что в процессе первичной неспецифической диагностики печени (в том числе и для крупного рогатого скота) биохимические исследования должны быть доступны по имеющемуся оборудованию, легковыполнимы, недороги для ветеринарных лабораторий. Вместе с тем, нужны достаточно информативные тесты как для ранней диагностики, контроля эффективности проводимых лечебных мероприятий, так и для прогнозирования исхода большинства заболеваний гепатобилиарной системы.

Цель работы - изучить гепатоспецифический метаболический профиль сыворотки крови (ГМПСК) для крупного рогатого скота, в который, исходя из литературных данных, мы включили следующие биохимические показатели: активность ряда ферментов (аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, гамма-глутамилтранспептидазы, щелочной фосфатазы и холинэстеразы), концентрацию общего белка, сывороточного альбумина, общего холестерина и общего билирубина, а также коллоидно – осадочные пробы (тимоловая проба и проба на апо – β – липопротейны).

Материал и методика исследований. Мы исследовали гепатоспецифический метаболический профиль

Ученые записки УО ВГАВМ, том 44, выпуск 2

сыворотки крови у нестельных коров черно-пестрой породы с жировой дистрофией печени. Сравнение печеночнозависимых показателей проводили с таковыми у клинически здоровых нестельных коров 3-7 лет.

Исследования проводились в лаборатории кафедры химии УО ВГАВМ, на ОАО «Ви-тебский мясокомбинат» и в СХП «Мазоловогаз» Витебского района.

У взрослых нестельных животных с признаками поражения желудочно-кишечного тракта, в анамнезе которых имелись сведения об отравлении недоброкачественными кормами (силос, сенаж), брали кровь для биохимического исследования. Сыворотку крови получали общепринятым методом. Для сопоставления биохимических изменений с морфологическими, с целью уточнения нозологического диагноза, в печени, после вынужденного убоя, отбирали материал (кусочки печени) для гистологического исследования и фиксировали его 96%-м этиловым спиртом. Гистоисследования были проведены в лаборатории электронной микроскопии УО ВГАВМ.

Активность аминотрансфераз (аспартатаминотрансфераза, АСТ, КФ 2.6.1.1 и аланинаминотрансфераза, АЛТ, КФ 2.6.1.2) определяют для диагностики и дифференциальной диагностики болезней печени. Причем при остром гепатоцеллюлярном поражении их активность выше, чем при обструктивном печеночном или внепеченочном холестазах.

АСТ и АЛТ 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 как при холестазах, обструктивных заболеваниях печени, токсическом гепатите, так и при остеомалации из-за того, что 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 Бесея, 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 [8].

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

Гамма - глутамилтранспептидаза (ГГТП, гамма - глутамилтрансфераза, ГГТФ, КФ 2.3.2.2) 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 Диагностика» (Россия).

Тимоловая проба (ТП) 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. ТП ставили с использованием стандартного набора реактивов производства НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь).

Проба на содержание апо - β - липопротеинов (проба по Бурштейну и Самой, апо - β - ЛП) является тестом определения суммарного содержания бета - и пре-бета - липопротеинов. В сочетании с тимоловой эта проба используется для дифференциации паренхиматозной и обтурационной (застойной) желтухи: проба Бурштейна и Самой положительна при застойной желтухе, а также в конечной фазе острого гепатита. Пробу на апо - β - ЛП ставили с хлористым кальцием и гепарином. Определяли степень мутности фотометрически при образовании гепарин - липопротеинового комплекса.

Концентрация общего холестерина (ОХ) в сыворотке крови отражает патологию обмена липидов в организме. Повышенное содержание холестерина наблюдается у сельскохозяйственных животных при заболеваниях печени, сопровождающихся внутри - и внепеченочным холестазом (обтурационной желтухе, холелитиазе). В свою очередь, снижение уровня холестерина отмечено при голодании, лихорадочных состояниях, анемии, гемолитической желтухе, остром гепатите. ОХ в сыворотке определяли ферментативно с использованием стандартных наборов реагентов производства НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь).

Билирубин образуется при последовательном распаде гемоглобина, он током крови доставляется в печень, где этерифицируется и теряет свою токсичность. Любые нарушения обмена билирубина, как правило, проявляются повышенным его содержанием в крови. Общий билирубин мы определяли с использованием набора «Билирубин - диазо» производства НТПК «Анализ Х» по методу Йенд-рашика - Клеггорна - Грофа.

Большинство белков сыворотки крови, за исключением иммуноглобулинов, синтезируются в печени, поэтому снижение концентрации общего белка (ОБ), а также сывороточного альбумина (СА) в крови отражает нарушение функциональной способности печени, и, как правило, говорит о поражении гепатоцитов. Концентрацию общего белка (ОБ) в сыворотке крови определяли биуретовым методом, а сывороточного альбумина (СА) - по реакции с бромкрезоловым зеленым с помощью стандартных наборов реактивов производства НТПК «Анализ Х». Расчет вели по калибровочным кривым.

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

Результаты исследований и их обсуждение. В ходе проведенного биохимического исследования оказалось, что ряд показателей ГМПСК у крупного рогатого скота с жировой гепатодистрофией имеют особенности, характеризующие патологические процессы, протекающие в печени.

Как видно из таблицы 1, у коров с жировой дистрофией печени, при сравнении с группой здоровых животных, отмечается увеличение активности АСТ на 75% ($P < 0,001$), а АЛТ - на 14%. Это указывает на цитопли-

тические процессы при повреждении гепатоцитов. Тенденция к увеличению коэффициента де Ритиса у коров с жировой дистрофией печени (на 53%) говорит о возможном повышении проницаемости плазматических мембран гепатоцитов и о деструкции субклеточных образований.

Достоверное повышение уровня ЩФ у больных животных (более чем на 70%) говорит в пользу развившегося внутрипеченочного холестаза из-за активации синтеза данного фермента [4, 8, 10]. Обнаружена высокая степень положительной корреляции между щелочной фосфатазой и аспаратаминотрансферазой ($r = 0,9$) как при жировой дистрофии печени, так и у здоровых нестельных коров ($r = 0,93$).

Таблица 1. Активность печеночных ферментов у коров с жировой дистрофией печени по сравнению со здоровыми нестельными животными, мкат/л ($M \pm m$, P)

	АСТ	АЛТ	Коэффициент де Ритиса	ЩФ	ХЭ	ГГТП
Коровы с жировой дистрофией печени, нестельные	0,35 ± 0,021***	0,16 ± 0,030	2,19	0,96 ± 0,063***	3,33 ± 0,190***	0,56 ± 0,163
Коровы нестельные, клинически здоровые	0,20 ± 0,012	0,14 ± 0,011	1,43	0,56 ± 0,021	7,09 ± 0,452	0,59 ± 0,061

Примечание: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$ по сравнению с нестельными клинически здоровыми животными.

Холинэстеразная активность у коров с жировой дистрофией печени резко понижена – почти в 2 раза ($P < 0,001$). Снижение активности этого секреторного фермента указывает на значительное подавление белоксинтетической способности печени (печеночноклеточная недостаточность), связанное с данной патологией. Вместе с этим наблюдается тенденция к снижению активности фермента ГГТП, что также подтверждает пониженную способность печени синтезировать белки и, возможно, говорит об ограниченном проявлении холестаза, т.к. при обширных его проявлениях уровень фермента гаммаглутамилтрансферазы повышается [8].

Апо – β – ЛП у группы больных коров по сравнению со здоровыми (таблица 2) достоверных отличий не имели. Абсолютные значения этого показателя на 10,5% выше у группы животных с патологией печени, чем у контрольной группы. Следует отметить возрастание показателей по тимоловой пробе на 50% у коров с жировой гепатодистрофией и положительную корреляционную зависимость высокой степени ($r = 0,86$) между вышеуказанными коллоидно-осадочными пробами в опытной группе как маркер нарушения белковообразовательной функции печени [1].

Таблица 2. Показатели коллоидно-осадочных проб, концентрация ОБ и СА в сыворотке крови коров с жировой дистрофией печени и у здоровых нестельных животных ($M \pm m$)

Показатели	Коровы с жировой дистрофией печени, нестельные	Коровы нестельные, клинически здоровые
Апо - β - ЛП, у.е.	12,3 ± 2,234	11,13 ± 0,431
Тимоловая проба, S-H	0,9 ± 0,482	0,6 ± 0,111
ОБ, г/л	80,15 ± 0,672	76,59 ± 1,981
СА, г/л	17,67 ± 1,270*	21,25 ± 0,551

Примечание: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$ по сравнению с нестельными клинически здоровыми животными.

Концентрация ОБ у коров с жировой дистрофией печени составляет 80,15 ± 0,672 г/л, что немного выше, чем у клинически здоровых нестельных коров (на 4%). Наши данные полностью совпадают с литературными [10].

Показатели СА у коров с жировой дистрофией печени оказались в пределах 17,67 ± 1,270 г/л, что достоверно ниже (почти на 17%, $P < 0,05$), чем у группы контрольных коров (21,25 ± 0,551 г/л). Так же, как и снижение холинэстеразной активности, понижение концентрации сывороточного альбумина у больных жировой дистрофией печени коров говорит о некотором снижении протеосинтетической способности печени при данной патологии. Это подтверждает положительная корреляционная зависимость между СА и ХЭ в опытной группе ($r = 0,60$) и литературные данные [5].

Следует отметить, что концентрация общего билирубина у коров с жировой дистрофией печени была в пределах 3,55 ± 0,714 мкмоль/л, что немного выше, чем у группы здоровых нестельных коров – на 18% (3,01 ± 0,562 мкмоль/л). В целом этот показатель находится в пределах физиологической нормы по данным ряда авторов [11].

Концентрация общего холестерина у группы больных коров достоверно выше (5,13 ± 0,631 ммоль/л), чем в контрольной группе (3,33 ± 0,108 ммоль/л) – на 54% ($P < 0,05$). Это, возможно, наблюдается за счет увеличения концентрации свободного холестерина в сыворотке крови и является показателем внутрипеченочного холестаза при жировой дистрофии печени.

Заключение. При жировой дистрофии печени активность аминотрансфераз повышается, указывая на цитолитические процессы, протекающие в гепатоцитах. Достоверное повышение фермента ЩФ и концентрации ОХ у пораженных животных свидетельствует о развившемся внутрипеченочном холестазе. Снижение холинэстеразной активности, концентрации СА и тенденция к понижению фермента ГГТП при жировой дистрофии печени указывают на нарушение белкового обмена – недостаток протеосинтетической функции печени.

Таким образом, предложенный для исследования ГМПСК крупного рогатого скота при жировой дистро-

фии печени отражает протекающие патологические процессы в органе.

Список использованной литературы. 1. Адамушкина, Л.Н. Уровень липидного обмена у здоровых высокопродуктивных коров и с некоторыми нарушениями обмена веществ / Л.Н. Адамушкина // *Этиология, диагностика и профилактика патологии обмена веществ высокопродуктивных животных: сб. науч. тр. / Моск. вет. акад. им. К.И. Скрябина. - 1982. - С. 46 - 49.* 2. Камышников, В.С. *Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.С. Камышников. - Минск: Беларусь, 2002. - 2 т.* 3. 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.* 4. Курдеко, А.П. *Гастроэнтерит и гепатодистрофия свиней в условиях промышленной технологии: автореф. дис... д-ра вет. наук: 16.00.01 / А.П. Курдеко; УО ВГАВМ - Витебск, 2006. - 41 с.* 5. Роменская, Н.В. *Нарушения картины крови при дисфункции печени у крупного рогатого скота: автореф. дис... канд. вет. наук: 16.00.01 / Н.В. Роменская. - Белгород, 2007. - 20 с.* 6. Роменский, Р.В. *Нарушения системы крови при заболеваниях печени у крупного рогатого скота / Р.В. Роменский, П.И. Бреславец, Н.В. Роменская // Материалы IV межрегиональной научно-практической конференции по проблемам ветеринарной медицины: сб. науч. тр. - Омск, 2005. - С. 198 - 203.* 7. Сенько, А.В. *Токсическая гепатодистрофия у поросят (патогенез, диагностика и лечение): автореф. дис... канд. вет. наук: 16.00.01 / А.В. Сенько. - ВГАВМ, Витебск, 2001. - 20 с.* 8. Титов, В.Н. *Патофизиологические основы лабораторной диагностики печени / В.Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. - 1996. - № 1. - С. 3 - 9.* 9. Уша, Б.В. *Основы клинической диагностики и ветеринарной пропедевтики / Б.В. Уша, И.М. Беляков. - М.: Франтера, 2002. - 519 с.* 10. Холод, В.М. *Клиническая биохимия: учеб. пособие: в 2 ч. / В.М. Холод, А.П. Курдеко. - Витебск: УО ВГАВМ, 2005. - Ч. 1. - 188 с.* 11. Холод, В.М. *Справочник по ветеринарной биохимии / В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев. - Минск: Ураджай, 1988. - С. 139-150.*

УДК 636.52.58:577.15:616.98:578

ДИНАМИКА ИНДИКАТОРНЫХ ФЕРМЕНТОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ПЕЧЕНИ РЕМОУНТНОГО МОЛОДНЯКА КУР, ВАКЦИНИРОВАННОГО ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО ЛАРИНГОТРАХЕИТА

Соболев Д.Т., Елисейкин Д.В.

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

При проведении иммунизации имеет место реакция со стороны не только органов иммунной системы, но и таких органов, как печень и поджелудочная железа. Биохимическая реакция указанных органов на иммунизацию является следствием адаптивности организма к вакцинному стрессу. Выявлены биохимические изменения индикаторных ферментов в сыворотке крови, поджелудочной железе и печени. Отмечалось сочетанное повышение активности данных ферментов в печени, поджелудочной железе и сыворотке крови, так, активность АлТ, АсТ, ЩФ, ЛДГ, ГГТФ повышалась у птиц опытной группы в 1,3-1,9 раза по сравнению с контролем.

Besides organs of immunnal system the most expressed of raccining it is possible to expect from such organs as liver and pancreas. Biochemical reactions these organs on immunalisation contains adoptes of organism of vaccinating stress. It was found biochemical changes of some indicators lipid exchange in serum of blood, pancreas and liver, so activity AIT, AsT, APh, LDG, GGTF in vaccinated birds liver and serum of blood increased in 1,4 - 1,9 times.

Введение. В настоящее время промышленное птицеводство предусматривает высокую плотность посадки птицы в сочетании с конвейерной системой технологии, что неизбежно приводит к непрерывному естественному пассированию микроорганизмов и усилению их вирулентных свойств.

Вместе с этим, интенсивные условия содержания птицы ограничивают ее многие естественные привычки и потребности. Концентрация значительного количества птицы на ограниченной территории закономерно привела к часто возникающим стрессовым ситуациям, которые обуславливают повышенную чувствительность организма птиц к заболеваниям инфекционной этиологии.

Все это ведет к увеличению риска возникновения опасных инфекционных болезней, среди которых ведущее место занимают и такие болезни, как инфекционный бронхит кур, инфекционный ларинготрахеит и болезнь Ньюкасла [7].

По этой причине особо важное значение в организации мероприятий по предотвращению заболеваний птиц приобрела вакцинация, позволяющая достичь устойчивое эпизоотическое благополучие хозяйств [1; 8].

Важной составной частью борьбы с этими распространенными болезнями является неукоснительное проведение комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий, существенным моментом которого является вакцинация восприимчивого поголовья.

К сожалению, используемые вакцины зачастую не обеспечивают формирование напряженного и продолжительного иммунитета. Считается, что причинами неадекватного иммунного ответа является вакцинация на фоне снижения неспецифической резистентности, иммунодепрессивного действия вируса, наличие остаточных реактогенных свойств у вакцинных штаммов вирусов, несовершенный состав компонентов вакцины, что, в конечном итоге, приводит к возникновению осложнений вторичными инфекциями [3, 9].

Поэтому разработка новых вакцин, обладающих высокими иммуногенными свойствами, но небольшими побочными эффектами и невысокой стоимостью, идет непрерывно [6]. Оценка результатов вакцинации проводится с учетом иммуноморфологических реакций и напряженности поствакцинального иммунитета [2].

В то же время биохимические реакции, сопровождающие формирование поствакцинального иммунитета, изучались недостаточно [4; 5].

При использовании вакцин оценка клинико-биохимического статуса вакцинированной птицы необходима, так как позволяет более полно учесть воздействие иммунизации на организм птицы и оценить реактогенность