

**ОЦЕНКА РЕФЕРЕНТНЫХ ЗНАЧЕНИЙ ГЕПАТОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРОКОВ СТЕЛЬНОСТИ**

Соболева Ю.Г., Холод В.М.

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

Изучено изменение гепатоспецифических ферментов в ходе стельно-сти. Установлено, что у стельных коров наблюдаются более низкие значения активности аспарат - и аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, холинэстеразы и более высокие значения гамма- глутамилтранспептидазы, что должно учитываться при составлении и интерпретации ферментного гепатоспецифического профиля сыворотки крови коров.

A change hepatospecific enzymes in the course pregnancy is investigated. It is established, that at pregnancy cows lower values of activity aspartat- and ala-ninaminotransferase, alkaline phosfatase, cholinaesterase and higher values scale gamma- gloodamiltranspeptidase are observed, that should be taken into account at drawing up and interpretation fermental hepatospecific a structure of whey of blood of cows.

Введение. Болезни печени и желчевыводящих путей широко распространены среди сельскохозяйственных животных. Экономический ущерб складывается как из скрытых потерь, когда при заболевании печени снижается молочная продуктивность, привесы и масса животных, так и из явных, связанных с утилизацией ценного пищевого продукта, каковым является печень [1].

Вместе с тем ранняя прижизненная диагностика болезней печени во многих случаях затруднительна. Нарушение функций и соответствующие клинические проявления патологии печени наступают лишь при далеко зашедших структурно-функциональных изменениях органа [9].

Нарушения обмена веществ в печени при ее патологии находят свое отражение в изменении биохимического состава крови. Широкое применение при заболеваниях печени получило исследование ферментов, особое место среди которых занимают индикаторные ферменты, при физиологических условиях обеспечивающие метаболизм в гепатоцитах. При патологии их активность в крови резко увеличивается. К числу таких ферментов относятся: аспаратаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП), сорбитолдегидрогеназа (СДГ), глутаматдегидрогеназа (ГлДГ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ) и некоторые другие. Гиперферментемия обусловлена обычно повреждением клеточных мембран гепатоцитов или даже их распадом. При более легких повреждениях наблюдается выход цитоплазматических ферментов, при более тяжелых - ферментов органелл. В некоторых случаях с диагностическими целями исследуются секреторные ферменты, к которым относится холинэстераза (ХЭ), проявляющая свою метаболическую активность вне печени, и экскреционные, выделяемые с желчью - щелочная фосфатаза (ЩФ).

Исследование ферментов в сыворотке крови при патологии печени у крупного рогатого скота проводилось рядом авторов. Д.Т. Рахимжанова [8] у высокопродуктивных коров, больных гепатозом отмечала увеличение активности АЛТ, СДГ, урোকаниназы.

Севрюк И.З. [9] предлагает для ранней диагностики гепатопатий исследовать активность АСТ, АЛТ, ЛДГ.

О.В. Хвостова [7] при фасциолезе у коров наблюдала увеличение активности АСТ, АЛТ, ГлДГ и снижение активности ХЭ.

Однако здесь всегда приходится встречаться с двумя методическими сложностями при интерпретации полученных результатов. С одной стороны это трудности прижизненной диагностики патологии печени у крупных животных, с другой – колебания активности ферментов сыворотки крови, связанные с различным физиологическим состоянием животных (возраст, стельность, продуктивность и др.)

Если при острых паренхиматозных гепатитах гиперферментемия выражена в резкой степени, то при хронических поражениях печени увеличение активности ферментов происходит в гораздо меньшей степени и интерпретацию результатов следует проводить с учетом тех физиологических факторов, которые имеют место в данный период.

Даже у человека, у которого клиничко-биохимическая диагностика заболеваний печени разработана наиболее хорошо, интерпретация фермент-ных тестов бывает достаточно затруднительна и оценивается всегда в совокупности с клиническими данными. У крупных же животных (коров, лошадей) анамнез и клинические данные гораздо менее информативны. Поэтому к оценке клиничко-биохимических показателей в этих случаях следует подходить с учетом всех сопутствующих факторов.

Одним из таких факторов является стельность коров, в ходе которой резко увеличивается нагрузка на все органы и ткани и в первую очередь на печень, что, естественно, сказывается и на ферментном гепатоспецифическом спектре сыворотки крови.

Для улучшения диагностической ценности определяют обычно несколько ферментов, составляющих так называемый ферментный профиль, т.е. набор ферментов, наиболее характерных для данного органа или ткани и определенным образом изменяющихся при патологии.

Исходя из литературных данных мы составили гепатоспецифический ферментный профиль сыворотки крови коров, включив в него следующие ферменты: АСТ, АЛТ, ГГТП, ХЭ, ЩФ.

Материалы и методы. Для эксперимента были отобраны животные черно-пестрой породы, в возраст-

те 3-7 лет, с продуктивностью более 3 тыс. л молока/ лактацию. Из них были сформированы четыре группы:

- 1-я) коровы I триместра стельности (до 3 мес.)
- 2-я) коровы II триместра стельности (3-6 мес.)
- 3-я) коровы III триместра стельности (7 мес. и более)
- 4-я) контрольные животные, нестельные.

Исследования проводились в лаборатории кафедры химии ВГАВМ, на Витебском мясокомбинате и в ЗАО «Ольговское» Витебской области.

Определение активности аминотрансфераз в сыворотке крови имеет исключительно важное значение для диагностики и дифференциальной диагностики болезней печени. При инфекционном гепатите их активность резко повышается еще до проявления признаков желтухи. Высокие значения аминотрансфераз наблюдаются также при токсическом гепатите, при обострении хронического гепатита [3,5,6]. Во всех случаях повышение активности аминотрансфераз при остром гепатоцеллюлярном поражении достигает больших значений, чем при обструктивном печеночном или внепеченочном холестазах.

Индикаторные ферменты АСТ (КФ 2.6.1.1.) и АЛТ (КФ 2.6.1.2.) определяли константным методом с использованием стандартных наборов реактивов производства НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь).

Экскреторный фермент щелочная фосфатаза (ЩФ, фосфомоноэстераза I, КФ 3.1.3.1.) в больших количествах содержится в костной ткани, паренхиме и стенках желчных протоков печени. Активность ЩФ сыворотки крови часто повышена при обструктивных заболеваниях печени, холестазах, гепатите, явлениях гепатотоксичности, остеомалации.

Особенно резкое повышение ее активности встречается при абсцессах печени, а также поражениях печени, вызванных гепатотоксичными лекарственными веществами.

ЩФ определяли с использованием наборов НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь) по методу Бессей, Лоури и Брока.

Холинэстераза (ХЭ, ацилхолингидролаза «неспецифическая»; КФ 3.1.1.8) содержится во всех тканях организма животных и человека, а также в сыворотке крови. Холинэстераза (ХЭ) синтезируется в печени, поэтому степень ее активности в крови служит тестом, отражающим функциональное состояние печени. Степень снижения активности ХЭ в сыворотке крови, как правило, соответствует тяжести и распространенности поражения гепатоцитов. Также снижение ХЭ в сыворотке крови может быть физиологическим – у женщин при беременности [3].

Методика определения ХЭ была нами модифицирована. Было установлено, что активность ХЭ в интервале с 10-й по 70-ю секунду на 45% выше, чем с 30-й по 90-ю, как рекомендуется. Так как исследование ферментов проводят в оптимальных условиях, то активность ХЭ мы измеряли с 10-й по 70-ю секунду.

Гамма - глутамилтрансфераза (ГГТФ, гамма – глутамилтранспептидаза, ГГТП, КФ 2.3.2.2) – преимущественно, мембранно-связанный гликопротеин, который катализирует перенос аминокислот через клеточную мембрану, регулирует разрушение и конъюгацию глутатиона, тем самым влияет на синтез белка в тканях. Фермент специфичен для печеночной ткани и является высокочувствительным индикатором при заболеваниях печени. Его активность повышается при остром инфекционном или токсическом гепатите, закупорке желчных путей.

Активность ГГТП определяли фотометрически по концентрации образовавшегося 4 – нитроанилина с использованием стандартного набора реактивов производства «Лахема».

Полученные данные были обработаны статистически с использованием программы «Microsoft Excel». Результаты исследований отражены в таблице:

Таблица 1 - Сравнительная активность гепатоспецифических ферментов в сыворотке крови стельных коров

Ферменты, мккат/л	Представленные величины	Триместр стельности			Нестельные животные
		I (1-3 мес.)	II (3-6 мес.)	III (7-9 мес.)	
АСТ	X ± x δ P	0,129±0,008 0,024 *	0,111±0,003 0,008 *	0,129±0,008 0,026 *	0,203±0,004 0,012
АЛТ	X ± x δ P	0,099±0,011 0,036 *	0,112±0,006 0,019 *	0,111 ±0,003 0,009 *	0,142±0,003 0,008
ЩФ	X ± x δ P	0,322±0,024 0,074 *	0,095±0,001 0,002 *	0,221±0,002 0,006 *	0,555±0,021 0,066
ХЭ	X ± x δ P	3,826±0,315 0,995 *	3,583±0,097 0,306 *	4,514±0,204 0,644 *	7,093±0,449 1,42
ГГТП	X ± x δ P	0,542±0,058 0,183	0,665±0,06 0,19	1,013±0,031 0,098 *	0,593±0,062 0,195

* - P < 0,05 по сравнению с нестельными животными.

Как видно из таблицы, при оценке ферментного гепатоспецифического профиля коров, нужно учитывать состояние стельности, так как активность ряда ферментов, входящих в его состав, существенно отличается от нестельных животных.

Так, активность АСТ у стельных коров гораздо ниже, чем у нестельных животных независимо от месяца стельности: в I триместре она составляет 63,5 %, во II-ом – 54,68 %, в III-м – 63,5 % от активности контрольной (нестельной) группы. В среднем активность АСТ в ходе стельности была ниже на 40 %. На основании этого при определении активности АСТ в сыворотке крови стельных коров следует вводить поправочный коэффициент, равный 0,6. Если физиологическая активность АСТ нестельных коров составляет 0,2 мккат/л, то для стельных она составит 0,12 (0,2 X 0,6). Активность в 0,2 мккат/л для нестельных коров будет уже превышать физиологическую активность почти на 70 %.

Значения АЛТ на разных сроках стельности тоже более низкие и составляют соответственно в 1-3 мес. 69,72 %, в 3-6 мес. – 78,87 %, в 7 мес. и более – 78,12 % от активности фермента у нестельной группы. В среднем активность АЛТ у стельных животных была ниже на 25 %, следовательно, поправочный коэффициент для этого фермента в сыворотке стельных животных должен составить 0,75.

Следует отметить, что на протяжении всей стельности показатели трансаминаз варьировали незначительно (АСТ от 0,111 до 0,129 мккат/л, а АЛТ от 0,099 до 0,112 мккат/л). Коэффициент де Ритиса оказался следующим: в I триместре стельности 1,3; во II – 0,99; в III – 1,16; у нестельных 1,43.

Активность ЩФ в различные периоды стельности была значительно ниже, чем у группы контроля: в 1-3 мес. она составила 58,2%, в 3-6 мес. – 17,12 %, в 7 мес. и более – около 40 %. Так как активность ЩФ довольно значительно отличается в ходе стельности для более объективного учета изменений гепатоспецифических ферментов необходимо вводить поправочные коэффициенты по триместрам стельности. Так для 1-го триместра он составит 0,6, 2-го – 0,2, 3-го – 0,4. Столь низкие показатели активности ЩФ и динамика ее изменения в течение стельности обусловлены значительными изменениями минерального обмена в процессе внутриутробного роста плода. Эти изменения имеют, очевидно, видовой характер, так как у женщин при беременности ЩФ были выше в 1,5 - 3 раза [4].

Холинэстеразная активность была резко понижена, но воз-растала с по-вышением срока стельности. Ее значения в I и II-ом триместре в 2, а в III-м более чем в 1,5 раза были меньше по сравнению с нестельными коровами. Поправочный коэффициент на стельность для ХЭ в I и II-ом триместре составил в среднем 0,5; а в III-м 0,65. Аналогичные результаты были получены при исследовании ХЭ у беременных женщин, что, очевидно, является отражением общих метаболических изменений при данном физиологическом состоянии.

Значения фермента ГГТП у 1-й и 2-й группы стельных животных существенно не отличается от контрольных, однако у глубокостельных животных его активность возросла на 70 % и составила $1,013 \pm 0,031$ мккат/л. Возможно, это отражает повышенную потребность организма в синтезе белка. Поправочный коэффициент в данном случае следует вводить только для третьего триместра стельности, и он составляет 1,7.

Повышение активности ГГТП в сыворотке крови в третьем триместре связано, очевидно, с очень резким увеличением активности этого фермента в молозиве [10]. Это может быть обусловлено как увеличением биосинтеза его в молочной железе, так и усиленной фильтрацией из сыворотки крови. Вполне вероятно, что ГГТП молозива имеет печеночное происхождение.

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

- Активность трансаминаз у стельных коров была гораздо ниже, чем у нестельных и существенно не изменялась в ходе стельности.
- Значения холинэстеразной активности более чем в два раза ниже, чем у нестельных животных и возрастают с увеличением сроков стельности.
- В период стельности у коров происходит значительное снижение активности щелочной фосфатазы.
- Активность ГГТП значительно увеличивается в конце срока стельности.
- При оценке изменений гепатоспецифического профиля сыворотки крови у стельных животных необходимо вводить поправочные коэффициенты: для АСТ 0,6; для АЛТ 0,75; для ЩФ - по триместрам стельности 0,6; 0,2; 0,4; для ХЭ 0,5 и 0,65; для ГГТФ в третьем триместре 1,7.

Литература. 1. Уша, Б.В. *Ветеринарная гепатология* / Б.В.Уша. - М.: Колос, 1979. – 263 с. 2. Холод, В.М. *Справочник по ветеринарной биохимии* / В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев. - Минск: Ураджай, 1988. - с 139-150. 3. Камышников, В.С. *Справочник по клинко-биохимической лабораторной диагностике: в 2т.* / В.С. Камышников. - Минск: Беларусь, 2000 -2т. 4. Хазанов, А.И. *Функциональная диагностика болезней печени/А.И. Хазанов. – М.: Медицина, 1988, - с 124-125.* 5. 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,- 158 – 186.* 6. 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, - 279 – 310.* 7. 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.- 20с.* 8. 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.* 9. Северук, 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. Северук.- Витебск, 1990 - 19 с.* 10. Холод, В.М. *γ-Глутамилтрансфераза малодзівя кароў і сывараткі крыві нованароджаных цялят /В.М. Холод, Л.А. Князева// Вес. Акад. аг-рар. навук Беларусі.-1992.-№4.-с. 89-92.*

ПОСТУПИЛА 28 мая 2007 г