

клеток. Выраженная жировая трансформация периваскулярных адипозных клеток свидетельствовала об энергетической неустойчивости со стороны гемопоэтических клеток. В ядрах стромальных клеток этой зоны отмечались однотипные по структуре патологические включения (рис. 6).

Подавление кроветворной функции костного мозга новорожденных телят сопровождалось дефектами кроветворного микроокружения, при этом отмечено уменьшение количества интрамедуллярных ретикулярных клеток, снижение функциональной активности эндотелиоцитов синусоидальных сосудов, эндостальных стромальных клеток и в строме костного мозга обнаружены патологические внутриклеточные включения.

ИНДИКАТОРНЫЕ ФЕРМЕНТЫ И МЕТАБОЛИТЫ В ПЕЧЕНИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ УТЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ЭВГУ С ПРИМЕНЕНИЕМ НАТРИЯ ТИОСУЛЬФАТА

В. М. Холод, Л.Н. Громова (ВГАВМ)

Среди иммуномодулирующих препаратов особое место занимает натрия тиосульфат. Являясь производным тиосерной кислоты, он обладает выраженными антиоксидантными свойствами. Механизм действия натрия тиосульфата обусловлен наличием в его молекуле серы в максимальной (+6) и минимальной степени окисления (-2), т.е. он является универсальным антидотом. С одной стороны, натрия тиосульфат восстанавливает окисленные молекулы антигена на месте введения вакцины, восстанавливает группы -S-N третичной структуры белков, в том числе и ферментов, с другой стороны - препятствует распаду ферментов микромакрофагов. Кроме того, натрия тиосульфат обладает антиоксидантным и противовоспалительным действием, нормализует обменные процессы в печени, на-

SUMMARY

Kovalev S. P. INFRINGEMENTS OF ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION BLOODFORMATION OF THE MICROENVIRONMENT OF THE BONE BRAIN AT PATIENTS WITH CATTLE'S ANEMIA.

In article results of research marrowy development of the blood and its microenvironments at newborns cattle are resulted at an anemia.

By the author it is established, that suppression blood functions of a bone brain of newborns cattle was accompanied by defects development of the blood the microenvironments, expressed in reduction of quantity amount intramedullare reticule cells, decrease in functional activity endotelioцитs sine wave vessels, endostale stromale cells.

рушенные в период процесса выработки иммунитета, за счет угнетения реакций свободно - радикального окисления и перекисного окисления липидов, способствуя формированию полноценного иммунного ответа. Показано, что натрия тиосульфат стимулирует функцию макрофагов, Т-хелперов, оказывая положительное влияние на выработку иммунитета против инфекционных болезней бактериальной и вирусной этиологии [9]. Именно поэтому введение натрия тиосульфата совместно с вакцинами снижает их реактогенные свойства [1, 6, 7]. Вместе с тем влияние данного препарата на метаболические процессы в организме вакцинированных животных остается мало изученным.

Метаболические изменения, происходящие в поствакцинальный период, целе-

сообразно оценивать по состоянию печени, так как она является связующим и интегрирующим звеном всех видов обмена веществ, а также биологическим барьером для эндогенных и экзогенных токсических соединений. По мнению некоторых исследователей, состояние гепатоцитов экспериментальных животных объективно отражает уровень иммунного ответа [2, 3]. Разнообразие функций печени приводит к тому, что при ее патологии происходит нарушение многих биохимических показателей. Поэтому морфофункциональное состояние печени тесно связано с изменением компонентов сыворотки крови [4]. Доминирующее значение в лабораторной диагностике метаболического статуса иммунных птиц имеет определение активности индикаторных ферментов.

Учитывая вышеизложенное, целью наших исследований явилось изучение активности индикаторных ферментов и концентрации метаболитов в печени и сыворотке крови утят, иммунизированных против энтеровирусного гепатита (ЭВГУ) вирус-вакциной из штамма "КМИЭВ-16" производства РНИУП "ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАН РБ" с применением иммуностимулятора натрия тиосульфата.

Исследования были проведены на 45 утятах 1-22-дневного возраста кросса "Темп 1", разделенных на 5 групп – аналогов, по 15 птиц в каждой. Утятам 1 группы (контроль) в 1-дневном возрасте вводили 0,2 мл стерильного изотонического (0,85 %) раствора натрия хлорида однократно, внутримышечно, в область бедра. Птиц 2 группы иммунизировали жидкой вирус – вакциной из шт. "КМИЭВ-16" против ЭВГУ согласно временному наставлению по применению вакцины (без применения иммуностимулятора), однократно, внутримышечно, в область бедра, в дозе 0,2 мл. Птице 3 группы вакцину вводили совместно с 7 %

раствором натрия тиосульфата (в дозе 21 мг на птицу).

На 7, 14 и 21 дни после вакцинации по 5 утят из каждой группы убивали декапитацией. В сыворотке крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ, КФ 2.6.1.2), аспартатаминотрансферазы (АсАТ, КФ 2.6.1.1), лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ 1.1.1.27), холинэстеразы (ХЭ, КФ 3.1.1.8), а также содержание общего белка (ОБ) и глюкозы. Из печени готовили гомогенаты на трис-сахарозном буфере (рН 7,3) с разведением 1:50. В полученных гомогенатах определяли активность АлАТ, АсАТ, ХЭ и ЛДГ. Активность ферментов и метаболитов в печени и сыворотке крови определяли унифицированными методами с использованием стандартных наборов реактивов производства НТПК "Анализ-Х" (Республика Беларусь) и "Lachema" (Чешская Республика). Активность ферментов в сыворотке крови выражали в МЕ/л, а в органах - в МЕ/г ткани.

Результаты наших исследований показали, что на 7 день эксперимента активность АсАТ в печени контрольных утят составляла $1,89 \pm 0,10$ МЕ/г (табл. 1). К 14 дню опыта отмечалось снижение активности фермента в 1,3 раза ($P < 0,05$), а затем – возрастание данного показателя. У вакцинированных птиц 2-й и 3-й групп статистически достоверных отличий данного показателя по сравнению с контролем во все сроки исследования не отмечалось.

Активность АлАТ в печени контрольных утят на 7 день эксперимента составляла $3,32 \pm 0,27$ МЕ/г и статистически значимо не изменялась на протяжении всего опыта. У птиц 2-й группы достоверных отличий от контроля во все сроки исследований не обнаружено. У утят 3-й группы снижение активности АлАТ на 25 % по сравнению с контролем мы регистрировали на 21 день опыта.

На 7 день эксперимента достоверных

Таблица 1. Активность ферментов в печени утят, МЕ/г ($M \pm m$).

Показатели	Группы птиц		
	1 группа	2 группа	3 группа
на 7-й день после вакцинации			
ЛДГ	44,58±1,43	47,23±3,92	42,45±5,86
АлАТ	3,32±0,27	3,16±0,36	2,44±0,18*
АсАТ	1,89±0,10	2,00±0,18	1,92±0,23
ХЭ	22,20±1,46	13,23±2,29*	9,70±1,16***
на 14-й день после вакцинации			
ЛДГ	77,79±5,39	58,35±4,14*	39,80±4,85**
АлАТ	3,29±0,26	3,74±0,37	3,94±0,56
АсАТ	1,44±0,14	1,69±0,18	1,99±0,26
ХЭ	20,97±1,87	13,07±1,92	24,54±2,23
на 21-й день после вакцинации			
ЛДГ	66,54±7,55	75,25±8,28	58,65±5,88
АлАТ	3,26±0,27	3,36±0,48	3,29±0,36
АсАТ	1,60±0,21	1,64±0,23	1,69±0,20
ХЭ	34,40±3,80	27,56±3,16	23,96±3,57

Примечание: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ по сравнению с 1-ой группой.

Таблица 2. Активность ферментов сыворотки крови утят, МЕ/л ($M \pm m$).

Показатели	Группы птиц		
	1 группа	2 группа	3 группа
на 7-й день после вакцинации			
ЛДГ	1303,60±68,20	951,36±47,08*	1070,95±170,51
АлАТ	42,00±6,74	55,20±3,70	67,65±5,17*
АсАТ	67,80±8,73	77,55±5,39	77,55±11,29
ХЭ	438,60±49,80	280,80±54,06	205,80±23,10**
на 14-й день после вакцинации			
ЛДГ	1159,63±54,41	314,80±24,46***	534,28±76,09***
АлАТ	64,20±3,37	50,40±5,67	56,40±10,11
АсАТ	67,50±10,79	56,30±10,45	64,90±6,85
ХЭ	391,20±72,60	314,58±16,50	361,62±62,76
на 21-й день после вакцинации			
ЛДГ	814,90±37,16	726,53±66,29*	1207,70±46,63**
АлАТ	44,40±4,04	35,40±4,04	30,60±6,06
АсАТ	59,00±2,19	69,00±8,43	47,55±3,93*
ХЭ	390,00±29,70	355,74±33,00	355,80±42,84

Примечание: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ по сравнению с 1-ой группой.

изменений активности ЛДГ в печени утят контрольной и опытных групп мы не наблюдали.

На 14 день опыта наблюдалось снижение активности ЛДГ в печени вакциниро-

ванных утят. Так, у птиц 2-й группы данный показатель был ниже, чем в контроле, на 22 %, а у утят 3-й группы - на 49 % ($P < 0,01$) (табл. 1). К 21 дню эксперимента в печени иммунизированных утят наблю-

далась нормализация данного показателя по отношению к контролю.

Из полученных данных видно, что иммунизация утят против ЭВГУ с применением натрия тиосульфата и без него снижает активность ЛДГ в печени на 14 день после применения вакцины. Угнетение ЛДГ, вероятно, препятствует образованию лактата и способствует более полному окислению пирувата в цикле Кребса и гликолизе, что обеспечивает более полную утилизацию углеводов в процессе формирования поствакцинального иммунитета против данной болезни. Возможно, снижение активности ЛДГ объясняется усиленной выработкой специфических антител в ответ на введение антигена, т.к. IgG, IgA и IgM являются ингибиторами активности ЛДГ [4]. Об активных иммунных реакциях в печени свидетельствуют данные гистологического исследования. Так, на 7 день после вакцинации у всех иммунизированных птиц, но особенно в 3-й группе, в дольках и междольковой соединительной ткани наблюдалась активная лимфоидная и макрофагальная реакции. На 14 день после вакцинации иммуноморфологические реакции проявлялись образованием гранулем, которые были представлены макрофагами, blastными формами лимфоцитов и плазматическими. Наибольших размеров гранулемы достигали у птиц 3-й группы, вакцинированных совместно с натрия тиосульфатом. На 21 день после вакцинации иммуноморфологические реакции в печени подопытных утят затухали. У утят контрольной группы подобных изменений во все сроки исследований не наблюдалось.

В связи с тропизмом вируса к гепатоцитам можно ожидать изменений со стороны белоксинтетической функции печени, которую объективно отражает активность ХЭ. На 7 день эксперимента у вакцинированных птиц 2-й и 3-й групп активность ХЭ была соответственно в 1,7 ($P<0,05$) и 2,3 ($P<0,001$) раза ниже, чем в

контроле (табл. 1). На 14 день опыта у птиц 2-й группы исследуемый показатель был ниже, чем в контроле, на 36 % ($P<0,05$). Однако у утят 3-й группы активность ХЭ была выше по отношению к контролю и птице 2-й группы в 1,2 ($P>0,05$) и 1,9 раза ($P<0,05$) соответственно. На 21 день эксперимента у вакцинированных утят 2-й и 3-й групп активность ХЭ статистически значимо не отличалась от контроля.

Уменьшение активности ХЭ у вакцинированных птиц, вероятно, свидетельствует об ослаблении белоксинтетической функции печени. Наши результаты подтверждаются данными гистологического исследования печени. Так, на 7 и 14 дни после вакцинации у подопытных утят 2-й и 3-й групп в отдельных дольках обнаруживались очаги жировой инфильтрации. При этом в печени утят 3-й группы (вакцина + натрия тиосульфат) патоморфологические изменения были менее выражены. На 21 день после вакцинации у вакцинированных птиц происходило практически полное восстановление паренхимы печени.

В сыворотке крови вакцинированных утят 2-й и 3-й групп на 7 и 14 дни эксперимента активность АсАТ существенно не отличалась от контроля. Однако на 21 день опыта у птиц 3-й группы отмечалось незначительное снижение активности данного фермента.

У иммунных птиц 2-й и 3-й групп на 7 день после вакцинации активность АлАТ была в 1,3 и 1,6 раза выше по сравнению с контролем ($P<0,05$). В последующие сроки исследований статистически достоверных различий данного показателя между группами птиц не отмечалось. Повышение активности АсАТ и АлАТ в сыворотке крови птиц при вакцинации против других инфекционных болезней наблюдали также С. Л. Радченко [8], Tanwani S. K. [10], Toukny [11].

АсАТ и АлАТ - это ферменты

«выхода», и то, что вакцинация резко не изменяет их активность в сыворотке, указывает на целостность клеточных мембран гепатоцитов и низкую реактогенность и безопасность вакцины.

На 7 день эксперимента активность ЛДГ у утят 2-й группы была на 27 % ниже, чем в контроле ($P < 0,05$) (табл. 2). На 14 день опыта у иммунизированных птиц 2-й и 3-й групп данный показатель снижался по отношению к контролю соответственно на 73 % и 54 % ($P < 0,001$). На 21 день эксперимента у вакцинированных утят активность ЛДГ нормализовалась по сравнению с контрольными значениями.

Активность данного фермента, возможно, ингибируется иммуноглобулинами [4]. Именно на 14 день после вакцинации в сыворотке крови иммунных утят отмечался максимальный уровень специфических антител против вируса ЭВГУ [5]. Однако некоторые исследователи наблюдали противоположную картину: у цыплят, вакцинированных против ньюкаслской болезни, и гусят, привитых против пастереллеза, отмечалось повышение активности ЛДГ в сыворотке крови в 1,9-7 раз вследствие повышения проницаемости мембран гепатоцитов [8, 11].

Так как АлАТ и ЛДГ связаны общим субстратом - пируватом, то интерес представляет отношение ЛДГ/АлАТ. В сыворотке крови утят контрольной группы на 7 сутки опыта коэффициент ЛДГ/АлАТ составил $31,04 \pm 2,89$. У вакцинированных утят 2-й и 3-й групп он был снижен по сравнению с контролем в 1,8 и 2 раза ($P < 0,01$), а на 14 день опыта - в 2,9 ($P_{1-2} < 0,001$) и 1,9 ($P_{1-4} < 0,05$) раза соответственно. К концу опыта у птиц 2-й и 3-й групп наступала нормализация данного показателя по сравнению с контролем.

Уменьшение данного показателя может свидетельствовать, с одной стороны, о сдвиге метаболизма в сторону пластических процессов, с другой - об увеличении аэробного катаболизма глюкозы, т.к. фор-

мирование поствакцинального иммунитета - энергетически «дорогостоящий» процесс. Полученные нами экспериментальные данные свидетельствуют об усиленном потреблении глюкозы в организме иммунизированных утят. Так, на 7 день эксперимента содержание глюкозы в сыворотке крови интактных утят составляло $8,31 \pm 0,54$ ммоль/л. У вакцинированных птиц 2-й и 3-й групп отмечалось снижение данного показателя на 40 % ($P_{1-2} < 0,01$) по отношению к контролю.

На 14 день опыта содержание глюкозы в сыворотке крови птиц 2-й и 3-й групп было ниже, чем в контроле, на 25 % и 29 % соответственно ($P < 0,05$). Усиление метаболических процессов, в т.ч. аэробного окисления, под влиянием вакцины сопровождалось уменьшением концентрации глюкозы и снижением активности ЛДГ, что, вероятно, приводит к накоплению пирувата и усиленному потреблению его в цикле Кребса.

На 7 день после вакцинации активность ХЭ в сыворотке крови у утят 2-й группы была ниже, чем в контроле, в 1,6 раза (табл. 2), а у птиц 3-й группы - в 2,2 раза ($P < 0,01$). На 14 и 21 дни эксперимента у иммунных утят 2-5 групп данный показатель статистически достоверно не отличался от контроля. Снижение активности ХЭ на фоне снижения данного показателя в сыворотке крови может указывать на снижение белоксинтетической функции печени под действием вакцинного штамма вируса. Наши предположения об ингибировании белоксинтетической функции печени подтверждаются уменьшением концентрации общего белка в сыворотке крови. Так, уровень общего белка в сыворотке крови утят 1-й группы на 7 день эксперимента составил $41,25 \pm 3,40$ г/л, 2-й и 3-й групп - $33,58 \pm 2,27$ и $37,35 \pm 2,27$ г/л соответственно. На 14 день эксперимента у птиц 2-й группы концентрация ОБ была на 15 % ниже, чем в контроле. Однако у птиц 3-й группы

данный показатель был выше, чем у птиц, вакцинированных без применения иммуностимуляторов, на 16 % ($P < 0,05$).

ВЫВОДЫ

Иммунизация утят против ЭВГУ индуцирует снижение активности ЛДГ и существенно не влияет на активность АсАТ и АлАТ в печени. В сыворотке крови происходит незначительное повышение активности АлАТ на фоне снижения концентрации глюкозы, активности АсАТ, ЛДГ и коэффициента ЛДГ/АлАТ. Это может свидетельствовать о сдвиге метаболизма в сторону пластических процессов и усилении аэробного катаболизма глюкозы при формировании иммунного ответа против ЭВГУ. Использование натрия тиосульфата не оказывало существенного влияния на эти процессы.

Введение утятам вирус-вакцины против ЭВГУ вызывало ингибирование белоксинтетической функции печени, что проявлялось снижением активности ХЭ в печени и сыворотке крови и уменьшением концентрации ОБ. Применение натрия тиосульфата способствовало более ранней нормализации уровня общего белка и активности ХЭ, оказывает положительное влияние на регенеративные процессы в печени.

Наибольшие изменения активности индикаторных ферментов и метаболитов происходили на 7 и 14 дни эксперимента. На 21 день наблюдалась стабилизация этих показателей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Большакова Е.И. Применение натрия тиосульфата в качестве иммуностимулятора при иммунизации свиней против сальмонеллеза // Ученые записки ВГАВМ. - Витебск, 1998. - т. 34. - С. 109-110. 2. Вобликов И.В. Функция иммунной системы при хронических гепатоксических воздействиях: Автореф. дис.... канд. мед. наук: 14.00.13 / Санкт-Петербургский мед. ин-т. - СПб, 1992. - 22 с. 3. Захирходжаев Ш.Я. Состояние

иммунного статуса у больных хроническими гепатитами различной клинической формы на фоне иммуодулирующей терапии препаратом тимуса // Иммунология. - 1992. - № 2. - С. 60-61. 4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. - Мн.: Беларусь, 2000. - Т. 1. - 495 с. 5. Курилович А.М., Прудников В.С. Влияние иммуностимуляторов на напряженность гуморального иммунитета и показатели иммунной реактивности организма у утят, вакцинированных против вирусного гепатита // Ветеринарная медицина Беларуси. - 2002. - № 1. - С. 10-12. 6. Прибытько С.П. Влияние иммуностимулятора натрия тиосульфата на иммунороморфогенез у цыплят, вакцинированных против болезни Марек: Автореф. дис... канд. вет. наук: 16.00.02 / ВГАВМ. - Витебск. - 1998. - 18 с. 7. Прудников В.С. Иммуноромфогенез у животных, перорально вакцинированных против сальмонеллеза, и влияние на него иммуностимуляторов: Автореф. дис... д-ра вет. наук: 16.00.02 / Ленингр. вет. ин-т. - Ленинград, 1991. - 36 с. 8. Радченко С.Л. Активность некоторых ферментов сыворотки крови гусят при иммунизации против пастереллеза // Ученые записки ВГАВМ: Материалы III научно-практической конференции по результатам научных исследований ВГАВМ за 1999 год, г. Витебск, 25-26 апреля 2000 г. - Витебск, 2000. - Т. 36, ч.1 - С. 79-80. 9. Теш А.И., Чекишев В.М. Влияние иммуностимуляторов на противосальмонеллезный иммунитет у телят // Ветеринария. - 1989. - №5. - С. 35-37. 10. Studies on transaminases values of different breeds of chickens during prior and post vaccination periods of Ranikhet and fowl pox disease vaccines / S.R. Tanwani, R.C. Dhir, M.N. Moghe, I.S. Chhabra // Indian J. Poultry Sc, 1989. T. 24. № 4. - P. 316-319. 11. Toukhy M.E., Aly S.A., Soliman M.K. Physiological studies on the level of some

electrolytes and enzymes in normal and Newcastle vaccinated chicks // Assiut veter. med. J. - 1989. Vol. 21, № 42. - P. 7 - 14.

SUMMARY

V. M. Holod, L. N. Gromova **Activity of Display Enzymes and Concentration of Metabolites in Liver and Blood Serum of Ducklings, Vaccinated Against EVHD Together with . Sodium Thiosulphate.**

The influence of sodium thiosulphate on the display enzyme activity and concentration of metabolites in liver and blood serum of ducklings, vaccinated against enteroviral hepatitis (EVHD) a liquid vaccine "KMIEV-16" have been investigated.

It is shown that the immunization of ducklings against EVHD causes slight increase of activity GTP in whey of blood on a background of decrease in concentration of glucose, activity LDG and factor LDG/GTP. Introduction of a vaccine against EVHD induced of synthetic function of liver. It is shown that immunization of fowls together with the sodium thiosulphate promotes the earlier stabilization of level of common proteins, activity of HE and increases regenerative processes in liver. The greatest changes of activity of display enzymes and concentration of glucose occur for 7-th and 14-th days of experiment. For 21-st day stabilization of these parameters is observed.

ОБМЕН ЛИПИДОВ У СВИНОМАТОК

А. П. Курдеко, С. В. Петровский (ВГАВМ)

Увеличение производства высококачественной продукции свиноводства невозможно без получения молодняка с высокими резистентностью и уровнем обменных процессов. Однако у свиноматок в условиях промышленной технологии часты нарушения различных видов метаболизма, в том числе и липидного, приводящие к рождению физиологически незрелых поросят [1, 2, 4]. Однако критерии оценки нарушений липидного обмена, определение которых позволило бы проводить корректировку этого вида метаболизма для профилактики патологий в системе «свиноматка – плод - поросянок», не разработаны.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для исследования метаболизма липидов у свиноматок и установления взаимосвязи его нарушений с показателями роста и развития поросят в условиях 54 - тысячного свиноводческого комплекса была сформирована группа клинически здоровых свиноматок (100 дней супоросности, $n = 40$). У них получали кровь, в сыворотке которой определяли содержание общих липидов (ОЛ), общего холе-

стерина (ОХ), α - и β - холестерина (α - хол и β - хол), фосфолипидов (ФЛ) и триглицеридов (ТГ) [4]. Из совокупности свиноматок было отобрано 3 группы по 5 голов в каждой: 1 - с достоверно низкими показателями, 2- достоверно высокими показателями, 3 - с показателями, соответствующими средним по совокупности концентраций данных биохимических показателей. Исключение составил α -холестерол, концентрация которого была выше в 1 группе. После опороса и на 7 день лактации проводили учёт показателей воспроизводства, роста и развития поросят.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

После опороса концентрация ОЛ в сыворотке крови свиноматок 2 группы составила $3,82 \pm 0,43$ г/л, ФЛ - $1,86 \pm 0,22$ ммоль/л, ТГ - $0,64 \pm 0,11$ ммоль/л, ОХ - $3,37 \pm 0,23$ ммоль/л, α - хол - $0,64 \pm 0,09$ ммоль/л, β - холл - $2,67 \pm 0,20$ ммоль/л.

При этом концентрация ОЛ была наиболее высокой во 2 группе: выше, чем в 1 на 57,2 % и выше, чем в 3 - на 5,8 %. Содержание ФЛ и ТГ также было наиболее высоким у свиноматок 2 группы.