

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ ГУСЯТ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА

С.Л. Радченко, Д.С. Голубев (УО ВГАВМ),
В.Н. Никандров, Б.Я. Бирман “ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАН Б”

ВВЕДЕНИЕ

В комплексе мероприятий по предупреждению и ликвидации пастереллеза вакцинопрофилактика занимает ведущее место [1]. В странах с развитым птицеводством широко распространены инактивированные эмульсин-вакцины. Республика Беларусь определенную часть таких препаратов импортирует. Актуальным является вопрос о выпуске вакцин на территории нашего государства [6,9]. В ДУП “ИЭВ НАНБ” разработана отечественная инактивированная вакцина против пастереллеза птиц из штаммов “КМИЭВ-26, -27, -28”. Она содержит антигены типа А, серотипов 1, 3 и 4 *Pasteurella multocida*, инактивированных формалином и эмульгированных в масляном адьюванте. Ее применение в птицеводческих хозяйствах РБ является предпочтительным, учитывая высокую степень антигенного сродства вакцинных и эпизоотических штаммов пастерелл в РБ и низкую коммерческую стоимость.

При этом биохимические реакции в организме гусей, привитых данной вакциной, не изучены. Известно, что иммунизация птиц против инфекционных заболеваний индуцирует патологические нарушения или изменения в пределах физиологической нормы функции отдельных органов и связанные с ними нарушения обмена веществ. Эти изменения метаболизма затрагивает в первую очередь печень [11].

Печень выполняет разнообразные функции, связанные с обеспечением углеводного, белкового, нуклеинового и липидного метаболизма. В гепатоцитах происходит глюконеогенез, синтез и распад

гликогена, образование жирных кислот, холестерина, желчных кислот, кетоновых тел, синтез белков крови. В печени осуществляется метаболизм гормонов, детоксикация экзо- и эндогенных токсинов [7,10]. Рядом авторов показана связь состояния гепатоцитов с уровнем иммунного ответа [2,4]. Скрыто протекающие заболевания печени сопровождаются изменениями ее функций и приводят к нарушению многих биохимических показателей.

Целью наших исследований явилось изучение активности ферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аланин- и аспартатаминотрансфераз (АлТ и АсТ), холинэстеразы (ХЭ), щелочной фосфатазы (ЩФ), общих липидов (ОЛ), холестерина (ХС), общего билирубина (ОБ), а также некоторых показателей ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК) и ТБК-активных аддуктов- в печени гусят, парентерально иммунизированных против пастереллеза жидкой инактивированной эмульсин-вакциной производства ДУП “ИЭВ НАНБ”.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на 30 гусятах-аналогах 13-37-дневного возраста, разделенных на 2 группы, по 15 птиц в каждой. Интактная птица 1-ой группы служила контролем. Гусят 2-ой группы иммунизировали эмульсин-вакциной против пастереллеза согласно временному наставлению по ее применению, в 16-дневном возрасте, 1-кратно, подкожно, в дозе 0,5 мл в область нижней трети шеи. На 7-ой, 14-й и 21-й дни после вакцинации по 5 гусят из каждой группы убивали. Из печени готовили 2%-е гомогенна-

ты на трис-сахарозном буфере (рН-7,3). В полученных гомогенатах печени определяли активность ЛДГ, АсТ, АлТ, ХЭ, ЩФ и концентрацию ОЛ, ХС, ОБ унифицированными методами с использованием стандартных наборов реактивов производства НТПК "Анализ-Х" и "Lachema". Определение активности каталазы проводили по методу Королук М.А. с соавт. [8]. Активность СОД определяли по методу Костюк В.А с соавт. - спектрофотометрический метод определения активности СОД, основанный на определении степени торможения реакции окисления кверцетина [5]. За 1 условную единицу активности фермента принимали 50% ингибирования. Об интенсивности ПОЛ судили по количеству ТБК-активных продуктов, определяемых по методу Ohkawa [12] и диеновых конъюгатов, определяемых спектрофотометрически в гептан-изопропанольных экстрактах [3]. Все цифровые данные обработаны статистически.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На 7-й день исследований активность ЛДГ в печени гусят контрольной составила $38,26 \pm 2,45$ МЕ/г и не имела достоверных различий со 2-й группой. На 14-е сутки опыта активность фермента в печени контрольных птиц оставалась на уровне предыдущего срока исследования. Введение вакцины вызывало у птиц 2-й группы снижение активности ЛДГ на 30% по сравнению с контролем ($P < 0,05$). На 21-й день после иммунизации в печени гусят 1-й группы отмечено снижение активности ЛДГ по сравнению с предыдущим сроком исследований на 43% ($P < 0,05$). Введение вакцины гусятам 2-й группы повышало данный показатель на 47% ($P < 0,05$).

Активность АлТ печени гусят контрольной группы на 7-й день эксперимента составила $2,96 \pm 0,29$ МЕ/г. У вакцинированных птиц 2 группы статистически достоверных отличий данного показателя от контроля не отмечено. На 14-й день опыта активность фермента в печени кон-

трольных гусят оставалась на уровне предыдущего срока исследования, а у птиц 2-й группы превышала контрольные значения в 2 раза ($P < 0,05$). К 21-у дню эксперимента у гусят 1-й группы отмечено наблюдалось повышение данного показателя по отношению к предыдущему сроку исследования на 38% ($P < 0,05$) и незначительное снижение активности АлТ под действием вакцины во 2-й опытной группе.

Активность АсТ в печени контрольных гусят на 7-й день опыта составляла $4,24 \pm 0,37$ МЕ/г и оставалась примерно на таком уровне до конца эксперимента. У вакцинированных птиц 2-й группы статистически достоверных отличий от контроля во все сроки исследований не обнаружено, однако отмечались тенденции к его повышению.

Результаты наших исследований показали, что активность ХЭ в печени у 23-дневных утят (в сроки на 7-й день после вакцинации) составляла $8,63 \pm 0,82$ МЕ/г и не изменялась до окончания эксперимента. У вакцинированной птицы 2-й группы данный показатель статистически значимо не отличался от контроля. На 14-й день после вакцинации у вакцинированных птиц 2-й группы наблюдалось достоверное снижение активности фермента по отношению к контролю в 1,8 ($P < 0,01$) раза. На 21-й день эксперимента было отмечено снижение активности фермента у птиц 2-й группы по отношению к контролю в 1,25 раза ($P < 0,05$).

Активность ЩФ в печени гусят контрольной группы на 7-е сутки эксперимента составляла $11,35 \pm 1,12$ МЕ/г, сохраняясь примерно на таком уровне к 14-у дню эксперимента, и лишь на 21-е сутки повышалась до $14,83 \pm 1,48$ МЕ/г. У иммунизированных птиц 2-й группы данный показатель превышал контрольные значения в 2 ($P < 0,01$) раза. На 14-й день в печени гусят опытной группы происходила нормализация активности фермента по отношению к контролю.

Исследуя содержание ОЛ в печени, мы не зарегистрировали изменений возрастной динамики. Концентрация ОЛ в печени гусят контрольной группы на 7-й день эксперимента составила $0,28 \pm 0,03$ г/г ткани и статистически достоверных различий с опытной группой не имела. На 14-е сутки опыта содержание ОЛ в печени иммунизированных птиц 2-й группы снизилось на 33% по сравнению с предыдущим сроком исследования и на 23% ($P < 0,05$) по отношению к контролю. К 21-у дню эксперимента содержание ОЛ в печени вакцинированных птиц статистически значимо не отличалось от контроля.

На 7-й день эксперимента содержание ХС в печени контрольных гусят составило $0,17 \pm 0,01$ ммоль/г. На 14-е сутки после вакцинации данный показатель у контрольных и опытных птиц оставался на прежнем уровне. К 21-у дню в печени гусят 2-й группы концентрация ХС увеличивалась по сравнению в предыдущим сроком исследования в 1,9 ($P < 0,01$) раза и в 1,3 раза по сравнению с контролем ($P < 0,05$).

Содержание ДК в ткани печени на 7-ой день эксперимента у птиц контрольной группы составляло $0,186 \pm 0,018$ DE/мг общих липидов, тогда как на 14-ый и 21-ый соответственно $0,250 \pm 0,021$ DE/мг общих липидов и $0,210 \pm 0,020$ DE/мг общих липидов. У гусят 2-ой группы под действием вакцины происходит интенсификация окислительных процессов, выражающаяся в повышении первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов. Наибольший прирост происходит на 14-ые сутки – в 2,2 раза по сравнению с контрольной группой. Аналогичные тенденции отмечаются для ТБК-активных аддуктов, концентрация которых в контрольной группе на 7, 14 и 21 день эксперимента составила соответственно $40,42 \pm 0,34$; $140,33 \pm 1,87$; $68,15 \pm 1,50$ нмоль/г ткани, а в опытной – соответственно $60,12 \pm 0,54$; $248,12 \pm 2,51$; $180,15 \pm 2,93$ нмоль/г ткани.

Активность супероксиддисмутазы у гусят 1-ой группы составляла $6,50 \pm 0,28$; $7,12 \pm 0,30$ и $6,89 \pm 0,29$ усл.ед/г ткани соответственно на 7-ые, 14-ые и 21-ые сутки после вакцинации, тогда как у гусят 2-ой группы – $8,12 \pm 0,34$; $14,15 \pm 0,97$ и $7,24 \pm 0,89$ усл.ед/г ткани соответственно. Активность каталазы повышалась в печени гусят 2-ой группы на 7, 14 и 21 сутки после вакцинации соответственно на 38% ($P < 0,05$); 42% ($P < 0,05$) и 40% ($P < 0,05$) по отношению к 1-ой группе гусят. Полученные данные свидетельствуют как об усилении окислительных процессов после вакцинации, так и об интенсификации ферментативного звена антиоксидантной защиты организма гусят.

Для оценки конъюгирующей и выводящей функции печени используется тест на определение концентрации билирубина. Оценивая возрастную динамику изменения данного показателя в контрольных группах, мы отмечали тенденцию к росту на 14-е и 21-е сутки исследования. На 7-й день эксперимента концентрация ОБ в печени гусят контрольной группы составляла $8,12 \pm 0,89$ мкмоль/г. На 14-е сутки в опытной группе было отмечено достоверное повышение общего билирубина по сравнению с предыдущим сроком исследования на 107% ($P < 0,01$) и на 42% ($P < 0,05$) по сравнению с контролем. К 21-у дню опыта ОБ в печени вакцинированных гусят по-прежнему превышал контрольные значения у птиц 2-й группы на 53% ($P < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Однократная парентеральная иммунизация гусят против пастереллеза вызывает повышение активности АлТ, АсТ, ЩФ, ОБ, ХС в печени гусят, а также первичных и вторичных продуктов ПОЛ и антиоксидантных ферментов –СОД и каталазы.

2. Введение гусятам инактивированной вакцины против пастереллеза индуцирует снижение ЛДГ, ХЭ и ОЛ.

3. Наибольшие изменения исследуемых показателей происходят на 14-й и 21-й дни эксперимента. В эти сроки, по-видимому, наблюдаются пики иммунных реакций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бирман, Б.Я. Иммунодефициты птиц : практическое пособие / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов. – Минск : Бизнесофсет, 2001. – 140 с.

2. Вобликов, И.В. Функция иммунной системы при хронических гепатоксических воздействиях : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.13 / И.В. Вобликов ; Санкт-Петербургский медицинский институт. – СПб, 1992. – 22 с.

3. Волчегорский И.Ф., Налимов А.Г., Яровчинский Б.Г., Лифшиц Р.И. // Вопросы мед. Химии.-1989.-т.35.-№6.-с.127-131

4. Захирходжаев, Ш.Я. Состояние иммунного статуса у больных хроническими гепатитами различной клинической формы на фоне иммулирующей терапии препаратом тимуса / Ш.Я. Захирходжаев // Иммунология. – 1992. – № 2. – С. 60 – 61.

5. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии.-

1984.- № 4.-С. 88-91.

6. Максимович, В.В. Проблемы инфекционной патологии животных в республике Беларусь / В.В. Максимович // Ученые записки // УО ВГАВМ. – Витебск, 2003. – Т. 39, ч. 1. – С. 13 – 15.

7. Маршалл, В.Дж. Клиническая биохимия / В.Дж. Маршалл Пер. с англ. Под ред. Н.И. Новикова - М – СПб.: Изд-во «БИНОМ» – «Невский диалект», 2000.–368 с.

8. Метод определения активности каталазы / Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. // Лаб. дело. - 1988. - №1. - С.16-18.

9. Состояние и перспективы развития производства вакцин для птицеводства / К.К. Дягилев [и др.] // Ученые записки / УО ВГАВМ. – Витебск, 1999. – Т. 35, ч. 1. – С. 45.

10. Титов, В.Н. Патологические основы лабораторной диагностики заболеваний печени / В.Н. Титов // Клинич. лаб. диагностика. – 1996. - № 1. – С. 3 – 9

11. Хазанов, А.И. Функциональная диагностика болезней печени / А.И. Хазанов. – М.: Медицина, 1988. – 304 с.

12. Ohkawa H., Ohishi N., Yagu K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Analytical biochemistry. - 1979. - V. 95. - № 2. - P.351-358.

УДК 619:616.98:579.843.95-093.7

АКТИВНОСТЬ ИНДИКАТОРНЫХ ФЕРМЕНТОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ГУСЯТ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА

С.Л. Радченко, Д.С. Голубев (УО ВГАВМ),
В.Н. Никандров, Б.Я. Бирман "ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАН Б"

ВВЕДЕНИЕ

В условиях современного промышленного птицеводства птица сконцентрирована на ограниченной территории, поэтому остро стоит вопрос о соблюдении мер

профилактики и быстрой ликвидации остропротекающих заразных болезней, в частности пастереллеза, там, где они появились. В настоящее время интенсивно применяются самые разнообразные