

У щенков енотовидной собаки до 1 года в островках Лангерганса очень часто наблюдаются надъядерные скопления кислой фосфатазы. При этом активность ферментов в экзокринной части железы – умеренное, а в эндокринной – высокая. Также определяются очень высокая активность фермента сукцинатдегидрогеназы (СДГ). В островках Лангерганса при окраске суданом III выявляются суданофильные гранулы, которые в В-клетках располагаются вокруг жировых включений, которые локализируются по периферии клеток. В А-клетках гранул меньше, но их размер крупнее, чем в В-клетках. Суданофильные липиды оранжево-коричневого цвета, располагаются около ядер. Насыщенность окраски суданофильных липидов наблюдается на периферии островков Лангерганса и имеет золотисто-коричневый цвет.

В раннем постнатальном периоде площадь эндокринного отдела поджелудочной железы у енотовидных собак составляет  $2,09 \pm 0,56$  %, экзокринного -  $82,38 \pm 0,67$  % и стромы соответственно  $15,53 \pm 0,71$  %.

**Заключение.** В ранний постнатальный период (до 1 года) эндокринный аппарат поджелудочной железы енотовидной собаки отличается зрелостью, завершенностью своей структуры и метаболической организации. Данные, полученные на светооптическом уровне как количественными методами исследования, так и путем качественного анализа свидетельствуют о том, что наиболее быстрыми темпами морфологическая и гистохимическая дифференцировка происходит в первый год жизни щенков енотовидных собак на территории белорусского сектора зоны отчуждения Чернобыльской АЭС. Островки Лангерганса значительно раньше, чем экзокринная ткань железы завершают свое функциональное становление. Расположение и морфометрические параметры островков – количество, размер, клеточный состав – претерпевают наиболее сложную трансформацию. Основным типом островков щенков енотовидной собаки является «плащевой», и выделяются две зоны: гемоцеллюлярная (центральная) и гетероцеллюлярная (периферическая). Гемоцеллюлярная зона состоит преимущественно из В-клеток, в гетероцеллюлярной – преобладают А-, D-и PP-клетки. Формы островков Лангерганса: округлая, неправильная трапециевидная и узкая полигональная. У щенков енотовидной собаки до 1 года в островках Лангерганса наблюдается высокая активность ферментов – кислой фосфатазы и СДГ, а также выявляются суданофильные липиды, большая насыщенность которых регистрируется на периферии островков.

Изучение онтогенетических механизмов становления эндокринных островков – одного из звеньев эндокринной системы – имеет общебиологическое значение, так как дополняет имеющиеся сведения об ее уникальных свойствах.

**Литература.** 1. Животный мир в зоне аварии Чернобыльской АЭС ; под ред. Л. М. Суцени, М. М. Пилулика, А. Е. Пленина. – Минск : Наука і тэхніка, 1995. – С. 200-210. 2. Кучмель, С. В. Мониторинг охотничьих и промысловых видов млекопитающих на территории ПГРЭЗ. Результаты 2005 года / С. В. Кучмель // 20 лет после чернобыльской катастрофы : сборник научных трудов. – Гомель : РНИУП «Институт радиологии», 2006. – С. 216-225. 3. Савицкий, Б. П. Млекопитающие Беларуси / Б. П. Савицкий, С. В. Кучмель, Л. Д. Бурко. – Минск : Изд. Центр БГУ, 2005. – 319 с. 4. Федотов, Д. Н. Формообразовательные процессы и морфологические изменения периферических эндокринных желез при адаптивно-приспособительных реакциях енотовидной собаки в зоне снятия антропогенной нагрузки и при действии радиоактивного загрязнения / Д. Н. Федотов, И. С. Юрченко // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2019. – № 1 (10). – С. 68–71. 5. Федотов, Д. Н. Морфогенез щитовидной железы у енотовидной собаки в постнатальном онтогенезе на территории высокого радиоактивного загрязнения / Д. Н. Федотов // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2022. – Т. 58, вып. 3. – С. 60-65. 6. Heterogeneity of the langergans islets morphology in condition of hypo- and hyperglykemia / S. Donev [et al.] // Мед.прегл. Ser. Period. / Мед. универ. София. Центр. инф. Мед. – 2001. – Vol. 4, № 1. – P. 3-10.

Поступила в редакцию 09.02.2023.

УДК 619:576.895.132:636.32/38:612.015.1

## ВЛИЯНИЕ *TRICHOSTRONGYLUS COLUMBRIFORMIS* (GILES, 1892) НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ У ОВЕЦ

Кузьменкова С.Н.

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

В статье приведены результаты исследований активности протеазы, амилазы и липазы, для определения которых были применены методы хронического опыта и экспериментального заражения овец личинками трихостронгилюсов. Было установлено значительное снижение активности исследуемых ферментов под влиянием паразитов, что также сопровождалось и клиническими проявлениями. **Ключевые слова:** активность ферментов, амилаза, протеаза, липаза, трихостронгилез.

Kuzmenkova S.N.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

The article presents the results of studies of the activity of digestive enzymes protease, amylase and lipase, for the determination of which methods of chronic experience and experimental infection of sheep with larvae of trichostrongylus were used. A significant decrease in the activity of the studied enzymes under the influence of parasites was found, which was also accompanied by clinical manifestations. **Keywords:** enzyme activity, amylase, protease, lipase, trichostrongylosis.

**Введение.** Функционирование пищеварительной системы имеет важное значение в жизнедеятельности организма, любое ее нарушение отражается на всех органах и системах из-за снижения поступления необходимых элементов либо изменения их баланса. Уровень пищеварительных процессов в желудочно-кишечном тракте зависит от разнообразных факторов, что подтверждено исследованиями Талызина Ф.Ф. (1949), Крикунова М.С. (1964), Гусакова В.К. и Соколова Г.А. (1969), Никитина Ю.И. и Мандрусова А.Ф. (1969), Карасева В.Ф. и Гусакова В.К. (1976), Ятусевича А.И. (1978, 1983), Золотова В.М. (1980) и др. [1, 2, 3, 5].

Паразиты являются одной из причин, вызывающих значительные изменения в процессах пищеварения. Ятусевичем А.И. (1989) был проведен ряд хронических опытов по определению влияния простейших (эймерий и изоспор) на активность некоторых пищеварительных ферментов. В результате эксперимента было установлено нарушение секреторно-ферментативной функции желудочно-кишечного тракта свиней под влиянием указанных протозоозов. В наших исследованиях определено влияние наиболее распространенных желудочно-кишечных гельминтов овец, относящихся к подотряду *Strongilata*. Одним из таких представителей являются трихостронгилюсы.

Трихостронгилез – болезнь, вызываемая паразитами рода *Trichostrongylus*, виды *Tr. columbiformis* (Giles, 1892), *Tr. axei* (Cobbold, 1897) и др. Личинки этого паразита локализируются в подслизистом слое сычуга жвачных животных, реже – тонкого отдела кишечника, взрослый же гельминт, являясь гематофагом, фиксируется на слизистой оболочке, нарушая ее целостность и вызывая воспалительный процесс в этих участках за счет механического повреждения и воздействия продуктов своей жизнедеятельности. Учитывая эти факторы, можно предположить значительные изменения в секреции пищеварительных соков и в самой работе ферментов в сычуге и 12-перстной кишке овец.

Целью нашей работы было определение активности некоторых пищеварительных ферментов в сычуге и 12-перстной кишке у овец под влиянием трихостронгилюсов.

**Материалы и методы исследований.** Для проведения исследований было сформировано 2 группы 9-месячных овец по 3 головы в каждой. Животным, с соблюдением правил асептики и антисептики, были поставлены фистулы в сычуг и 12-перстную кишку. После заживления ран овцы первой группы были заражены личинками трихостронгилюсов в количестве 1 тыс./кг массы тела, вторая группа овец не заражалась. На 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 день проводили копроовоскопические исследования, а также определяли активность некоторых пищеварительных ферментов содержимого сычуга и 12-перстной кишки по следующим методикам:

активность протеазы – по методу Батоева Ц.Ж. (1993), основанному на определении уменьшения концентрации казеина при нефелометрическом контроле при длине волны 400 нм;

активность липазы – с использованием стандартного набора реагентов для биохимических исследований «Липаза» производства ООО «Анализ Мед Пром» (Беларусь). Сущность ферментативного колориметрического теста в том, что синтетический субстрат для липазы (эфир 1,2-одилаурил-рак-глицеро-3-глутаровой кислоты - (6-метилрезорфурина)) добавлен в микроэмульсию и специфически разлагается липазой в присутствии колипазы и желчных кислот. Комбинация липазы и желчных кислот делает это разложение надежным и специфичным для панкреатической липазы, без какой-либо реакции, происходящей за счет липолитических ферментов или эстераз. Поглощение красного красителя прямо пропорционально активности липазы в образцах. Длина волны 580 нм;

активность амилазы – с помощью стандартного набора реагентов для биохимических исследований «Амилаза G3» производства ООО «Анализ Мед Пром» (Беларусь) – альфа-амилаза катализирует реакцию гидролиза субстрата 2-хлор-4-нитрофенил- $\alpha$ -D-мальтотриозида (CNPG3) с образованием следующих соединений: 2-хлор-4-нитрофенола (CNP), 2-хлор-4-нитрофенил- $\alpha$ -D-мальтотриозида (CNPG2), мальтотриозы (M3) и глюкозы (G) по следующей схеме реакции:  $10\text{CNPG3} + \text{Амилаза} \rightarrow 9\text{CNP} + \text{CNPG2} + \text{M3} + \text{G}$ . Скорость образования 2-хлор-4-нитрофенола (CNP) пропорциональна активности фермента и определяется фотометрическим методом при длине волны 405 нм.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета анализа данных программы Excel.

**Результаты исследований.** В каждом из отделов желудочно-кишечного тракта овец, за исключением преджелудков, клетками слизистой оболочки или застенных желез вырабатывается сок,

содержащий ферменты, которые способны работать в характерных для этих отделов условиях. Так, в сычуге вырабатывается группа пепсинов, главным условием работы которых является высокая кислотность желудочного сока ( $pH \approx 1,4-3,9$ ), в последующих отделах работа ферментов происходит в условиях низкой кислотности ( $pH \approx 8-9$ ) [1]. Нарушение условий, необходимых для работы ферментов, либо недостаточное их образование, приводит к нарушению переваривания и усвоению продуктов обмена. К тому же недостаточно обработанный корм, за счет патогенной микрофлоры, начинает гнить, вызывая ряд патологических процессов в желудочно-кишечном тракте и в организме в целом.

Протеолитические ферменты играют важную роль в процессах пищеварения, под их воздействием происходит расщепление белков корма до аминокислот и пептидов с последующим всасыванием их в кровь и лимфу. Протеазы способны расщеплять любой белок, в том числе и собственного организма, поэтому они секретируются в неактивной форме и активируются компонентами пищеварительных соков после их выделения в просвет желудочно-кишечного тракта. Однако несмотря на то, что паразиты, как и большинство живых организмов, имеют белковую природу, они спокойно могут находиться в агрессивной среде пищеварительного тракта. По некоторым данным большинство паразитов выделяют белки, подавляющие работу протеолитических ферментов, чем и сохраняют свою популяцию [4].

Как было сказано выше, возбудители трихостронгилеза поражают, в первую очередь, подслизистый слой и саму слизистую оболочку, что, по нашему мнению, непосредственно влияет на секрецию пищеварительных соков, активность вырабатываемых ферментов и всасывание продуктов расщепления питательных веществ.

Проведенные нами исследования показали, что активность протеазы значительно снизилась в исследуемых отделах под влиянием трихостронгилид. Так, на 15 день исследований активностью фермента в содержимом сычуга овец опытной группы составила  $18,56 \pm 1,29$  мг/мл мин., что было ниже показателей контрольной группы на 26,35 % ( $P < 0,01$ ) (рисунок 1). В дальнейшем активность протеазы еще больше снизилась и к концу эксперимента составила  $9,91 \pm 1,00$  мг/мл мин., тогда как у овец контрольной группы активность протеолитического фермента составила  $25,03 \pm 1,65$  мг/мл мин., что было выше показателей овец опытной группы на 60,41 % ( $P < 0,001$ ).

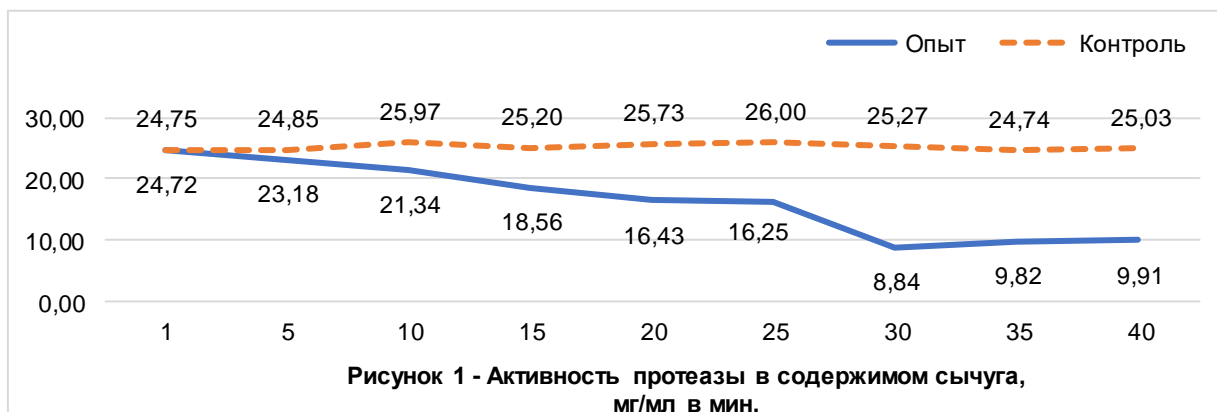
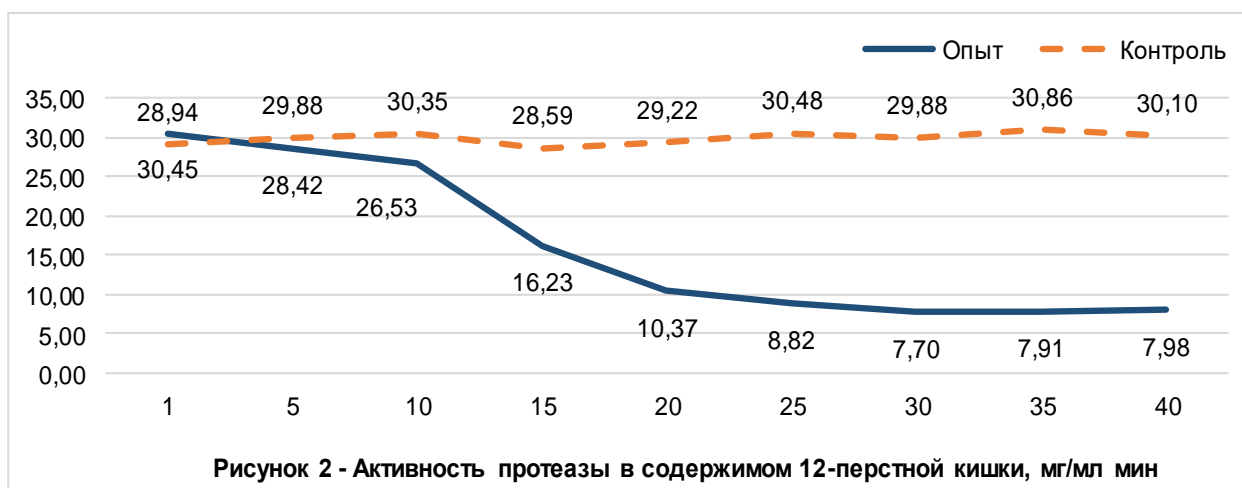


Рисунок 1 - Активность протеазы в содержимом сычуга, мг/мл в мин.

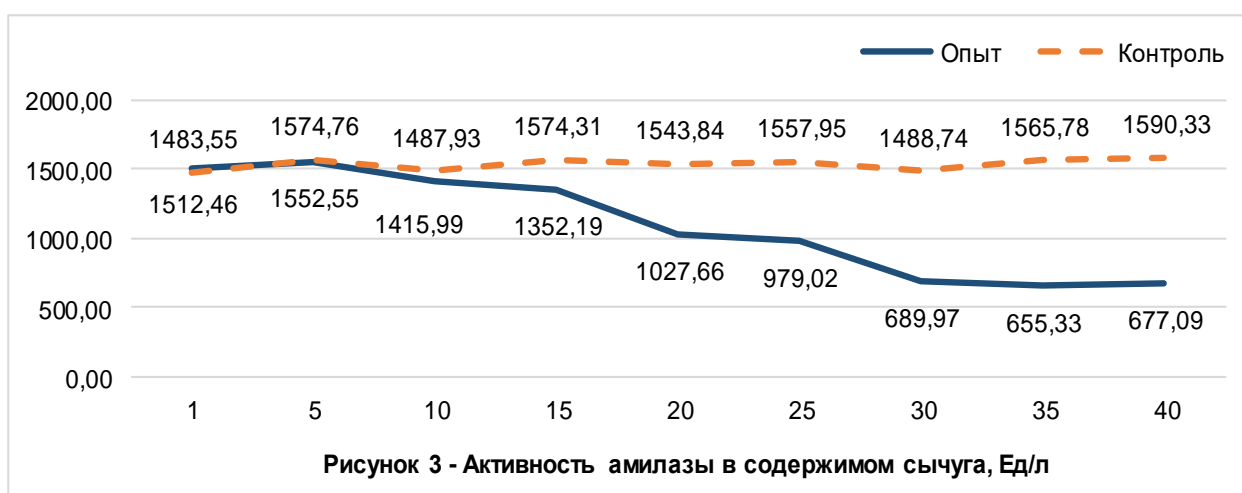
Следует также отметить, что в период с 25 по 30 день после заражения овец трихостронгилюсами отмечено резкое снижение активности протеазы, что можно объяснить прогрессированием болезни. С 30 по 40 день изменений в активности фермента больше не наблюдалось, и она осталась на низком уровне, что может говорить о переходе болезни в хроническую форму и некоторой адаптации организма зараженных овец.

Анализируя активность протеазы в содержимом 12-перстной кишки, установили, что в начале эксперимента ее показатели были несколько выше, чем в сычуге у овец, однако снижение, по сравнению с группой контрольных животных, было более значительным, и достоверная разница между здоровыми и зараженными овцами была уже на 10 день исследований. Активность фермента составила  $26,53 \pm 1,10$  мг/мл мин., тогда как в группе контроля она была равна  $30,35 \pm 0,49$  мг/мл мин., что выше на 14,40 % ( $P < 0,05$ ) (рисунок 2). С 10 по 25 день продолжалось снижение активности протеазы. В дальнейшем, как и в содержимом сычуга, с 25 по 40 день наблюдалось некоторое постоянство в активности протеазы, однако к концу опыта она была ниже показателей контрольной группы на 73,49 % ( $P < 0,001$ ).



Полученные результаты свидетельствуют о том, что трихостронгилюсы в значительной степени снижают активность протеолитических ферментов, что отражается и на клиническом проявлении болезни (истощение).

Основным ферментом, принимающим участие в переваривании углеводов, является  $\alpha$ -амилаза, этот фермент расщепляет полисахариды и олигосахариды до глюкозы и мальтозы. Учитывая то, что рацион овец в большей степени состоит из растительных кормов, которые поступают в большом количестве, у этих животных значительная часть процессов пищеварения отводится обработке корма микроорганизмами и инфузориями, населяющими рубец, поскольку растительные корма состоят в основном из клетчатки. Основная обработка ее проходит в рубце целлюлозолитическими бактериями до дисахарида целлобиозы, состоящего из двух остатков глюкозы, и амилолитическими бактериями – до глюкозы. В последующих отделах желудочно-кишечного тракта расщепление углеводов осуществляется ферментом  $\alpha$ -амилаза, секретлируемым, в первую очередь, клетками поджелудочной железы. В связи с этим полученные нами результаты по активности амилазы в сычуге у овец могут относиться к работе целлюлозолитических и амилолитических ферментов микроорганизмов рубца и амилазы слюны. В 12-перстной же кишке процесс расщепления углеводов осуществляется преимущественно за счет собственных ферментов. Однако, несмотря на это, как в сычуге, так и в 12-перстной кишке отмечались колебания активности амилазы в зависимости от влияния изучаемого фактора (рисунки 3 и 4).



Анализируя результаты проведенных исследований, можно отметить, что так же, как и в активности протеазы, достоверная разница в показателях работы амилазы в сычуге у овец, зараженных трихостронгилидами, по сравнению с овцами контрольной группы, отмечена на 15 день. На 25 день исследований этот показатель составил  $979,02 \pm 36,79$  Ед/л, тогда как у животных группы контроля активность амилазы составила  $1557,95 \pm 43,30$  Ед/л, что практически в два раза выше, чем у зараженных трихостронгилюсами овец ( $P < 0,001$ ). В дальнейшем активность амилазы у овец опытной группы продолжала снижаться и к концу эксперимента этот показатель составил  $677,09 \pm 97,42$  Ед/л, что на 57,42 % было ниже, чем у овец контрольной группы ( $P < 0,001$ ).

В начале опыта амилолитическая активность содержимого 12-перстной кишки была несколько выше, чем в содержимом сычуга у обеих групп животных, что объясняется секрецией ее не только клетками кишечника, а, в первую очередь, поджелудочной железой и поступлением фермента в просвет 12-перстной кишки. После заражения овец активность амилазы начала снижаться и к концу опыта у больных животных составила  $818,87 \pm 57,14$  Ед/л, в группе контроля же она была равна  $1782,16 \pm 98,94$  Ед/л, что выше на 54,06 % ( $P < 0,001$ ).

Как показывают проведенные исследования, трихостронгилюсы угнетают работу амилолитических ферментов, однако реакция была несколько ниже, чем в активности протеазы.

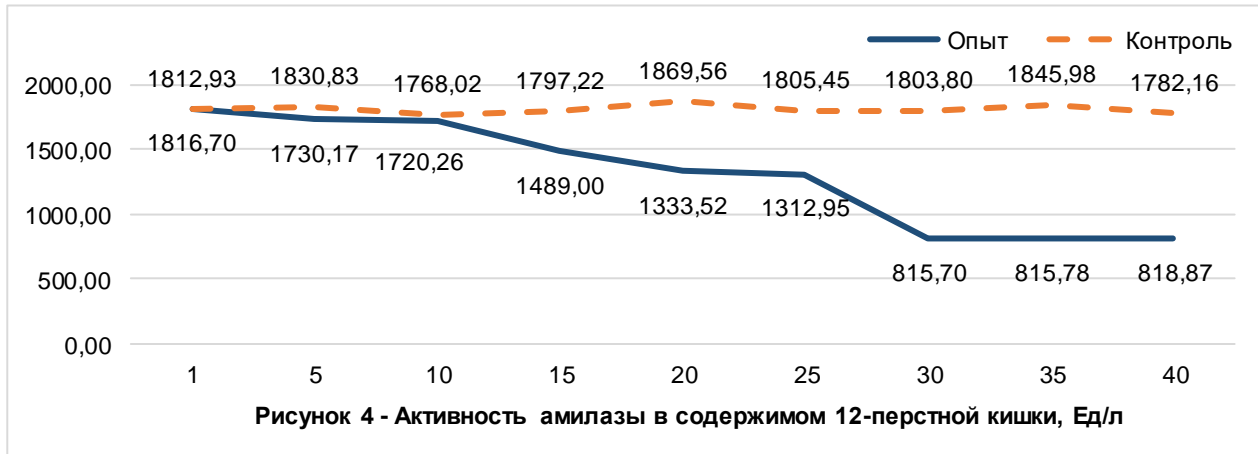


Рисунок 4 - Активность амилазы в содержимом 12-перстной кишки, Ед/л

Немаловажным участником пищеварения является липаза – фермент, расщепляющий жиры корма до глицерина и высших жирных кислот, которые в последующем используются для синтеза жиров, свойственных данному организму, либо за счет окисления образуется энергия. Различают желудочную липазу, панкреатическую и кишечную. Проведенные нами исследования показали, что активность липазы в содержимом сычуга у овец была изначально практически в два раза ниже, чем в содержимом 12-перстной кишки (рисунки 5 и 6), что объясняется участием желчи в функции этого фермента в кишечнике. Полученные данные свидетельствуют о том, что трихостронгилюсы в значительной степени влияют на активность липазы как в сычуге, так и в 12-перстной кишке.

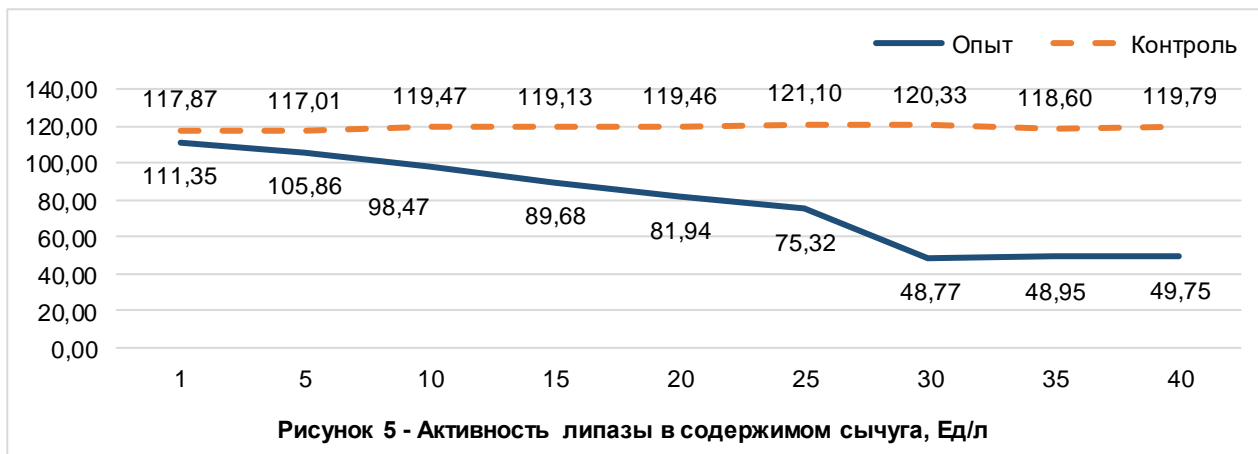
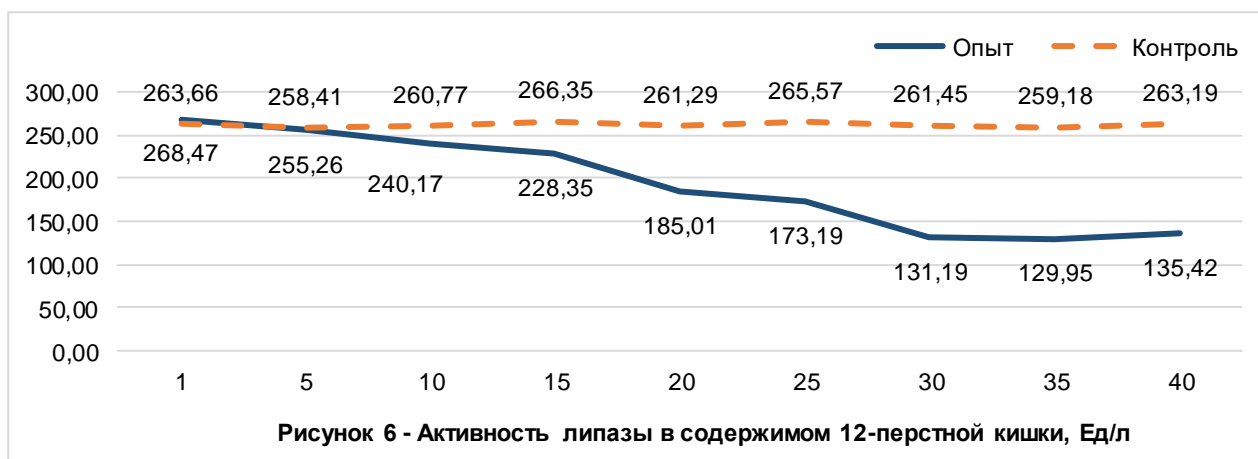


Рисунок 5 - Активность липазы в содержимом сычуга, Ед/л

Так, липолитическая активность у зараженных трихостронгилюсами овец снизилась на 55,32 % с  $111,35 \pm 4,69$  Ед/л в начале эксперимента до  $49,75 \pm 1,53$  Ед/л на последний день опыта, что говорит о высоком патогенном влиянии исследуемых паразитов. Достоверная разница между показателями животных контрольной и опытной групп отмечена на 5-й день после заражения овец, и к концу опыта активность липазы в сычуге была достоверно ниже показателей активности фермента у овец контрольной группы на 58,46 % ( $P < 0,001$ ). Активность липазы в содержимом 12-перстной кишки также снижалась на протяжении всего эксперимента и к концу опыта была достоверно ниже показателей овец контрольной группы на 48,54 % ( $P < 0,001$ ).



**Заключение.** Под влиянием трихостронгилюсов наблюдается значительное снижение активности пищеварительных ферментов. В ходе эксперимента отмечались достоверные различия в активности всех исследуемых ферментов. В большей степени была подвержена воздействию трихостронгилюсов активность протеазы. К концу эксперимента она была ниже показателей контрольной группы на 60,40 % ( $P < 0,001$ ) в содержимом сычуга и на 73,49 % ( $P < 0,001$ ) – в содержимом 12-перстной кишки. При этом, несмотря на преимущественную локализацию паразита в сычуге, снижение активности протеазы было выше в 12-перстной кишке, что может быть следствием воздействия продуктов жизнедеятельности паразита на поджелудочную железу, непосредственно участвующую в процессах пищеварения. Амилолитическая активность снизилась, по сравнению с животными группы контроля, на 57,42 % в содержимом сычуга и на 54,06 % – в содержимом 12-перстной кишки ( $P < 0,001$ ), активность липазы – на 58,46 и 48,55 % соответственно ( $P < 0,001$ ). Следует отметить, что снижение активности ферментов продолжалось до 30 дня опыта. В дальнейшем показатели стабилизировались на достигнутом уровне и к концу эксперимента больше не снижались, что может быть показателем перехода болезни в хроническую форму и некоторой адаптации организма.

**Литература.** 1. Адаптационные процессы и паразитозы животных : монография / А. И. Ятусевич [и др.] ; ред. А. И. Ятусевич ; рец.: В. В. Малашко, И. Дж. Мурзалиев ; М-во сельского хозяйства и продовольствия Респ. Беларусь, Витеб. гос. акад. ветеринарной медицины. – 2-е изд., перераб. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – 571 с. 2. Гельминтозы овец и их влияние на паразито-хозяйственные отношения и качество продуктов убоя : монография / А. И. Ятусевич, [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2010. – 162 с. 3. Гусаков, В. К. Некоторые данные по регуляции секреторно-ферментативной функции кишечника у овец / В. К. Гусаков // Профилактика и меры борьбы с болезнями крупного рогатого скота и свиней : тезисы докладов научно-практической конференции, посвященной 50-летию со дня основания Витебского ветеринарного института (20-22 ноября 1974 г.) / Витебский ветеринарный институт. – Витебск, 1974. – С. 70. 4. Извекова, Г. И. Протеолитические ферменты и их ингибиторы у цестод / Г. И. Извекова, Т. В. Фролова [Электронный ресурс]. – Режим доступа : [https://www.researchgate.net/publication/326772385\\_protcoliticeskie\\_fermenty\\_i\\_ih\\_ingibitory\\_u\\_cestod](https://www.researchgate.net/publication/326772385_protcoliticeskie_fermenty_i_ih_ingibitory_u_cestod). – Дата доступа: 15.03.2023. 5. Палазник, Н. В. Ферментативная активность пищеварительного тракта у плодов и телят / Ю. И. Никитин, В. К. Гусаков, Ю. И. Никитин // Фундаментальные проблемы гастроэнтерологии : тез. докл. XIII Всесоюзной конференции. – Киев : КГУ, 1981. – С. 189–190.

Поступила в редакцию 06.04.2023.

УДК 576.38: 577.215.3: 616.36-004

#### ПОИСК ВЗАИМОСВЯЗЕЙ МЕЖДУ КЛЮЧЕВЫМИ ГЕНАМИ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ КРЫС

\*Лебедева Е.И., \*Щастный А.Т., \*\*Красочко П.А., \*\*\*Бабенко А.С.

\*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь

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

\*\*\*УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь