

УДК 619:616:98:578.825.1:577.15:636.5

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПТИЦ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО ЛАРИНГОТРАХЕИТА

Громов И.Н., к. вет. н., доцент,
Громова Л.Н., к. биол. н., доцент,
Герман С.П., к. вет. н., доцент
E-mail: gromov_igor@list.ru

УО "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной
медицины", г. Витебск

Аннотация. Изучены биохимические изменения в плазме крови молодняка кур при иммунизации против инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ). Установлено, что вакцинация птиц против ИЛТ приводит к достоверному повышению активности ЛДГ, АсТ и ГГТ. Наибольшие метаболические нарушения наблюдаются на 3-й и 7-ой дни после введения вакцины.

Ключевые слова: молодняк кур, плазма крови, индикаторные ферменты, метаболиты, инфекционный ларинготрахеит, иммунизация, инактивированная эмульгированная вакцина.

Актуальность проблемы. Изучению процессов иммуногенеза у птиц, вакцинированных против инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ), посвящено значительное количество работ в отечественной и зарубежной литературе. При этом исследования большинства ученых направлены на установление иммуноморфологических изменений у вакцинированных птиц, а также на оценку напряженности поствакцинального гуморального иммунитета. Возможные биохимические изменения в организме птиц, сопровождающие вакцинный процесс, изучены недостаточно, а при вакцинации против ИЛТ вообще не изучены.

Любая проводимая вакцинация влечет за собой определенные изменения в обмене веществ, представляющем динамическую систему из разных метаболических путей и циклов. Для определения интенсивности различных метаболических процессов традиционно используют анализ ферментативной активности. Несмотря на обилие биохимических тестов, в клинической практике широко используется узкий, но стабильный диагностический набор методов, необходимых и достаточных для решения большинства клинических задач [6]. В отечественной и зарубежной литературе имеются разрозненные, а подчас и противоречивые сведения о влиянии вакцинации на активность индикаторных ферментов, наиболее часто исследуемых в клинической практике. Эта проблема обсуждается в публикациях С.А. Пигалева и др. [1], D. Sakar et al [10], З.З. Ильясовой [2] и других исследователей.

Задания исследования: изучить активность индикаторных ферментов и концентрацию метаболитов в плазме крови молодняка кур, иммунизированных против ИЛТ жидкой инактивированной эмульсин-вакциной, разработанной в ИЭВ им. С.Н. Вышеселского НАН Беларуси.

Материал и методы исследований. Исследования проведены на 40 головах молодняка кур 130-158-дневного возраста, подобранных по принципу аналогов, и разделенных на 2 группы, по 20 птиц в каждой. Птиц 1-ой (опытной) группы в 130-дневном возрасте иммунизировали жидкой инактивированной эмульгированной вакциной против ИЛТ согласно Временному Наставлению по ее применению, однократно, внутримышечно, в область бедра, в дозе 0,5 мл. Молодняк кур 2-ой группы служил контролем.

На 3-й, 7-ой, 14-й, 21-й и 28-ой дни после проведения иммунизации от 4 птиц из каждой группы отбирали пробы крови для биохимического исследования. В полученной плазме крови определяли активность аланин- (АлТ) и аспаратаминотрансфераз (АсТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинфосфокиназы (КФК), устанавливали содержание общего белка, альбумина, креатинина, мочевой кислоты и глюкозы. Активность индикаторных ферментов определяли кинетически на биохимических анализаторах «Cormay Lumel» (Польская Республика) и «Konelab-30i» (Финляндия) с помощью стандартизированных (сертифицированных) наборов реактивов фирм «Lachema» (Чешская республика) и Cormay (Польская Республика) для определения активности указанных энзимов. Активность индикаторных ферментов в плазме крови выражали в МЕ/л. Концентрацию общего белка в плазме крови определяли в биуретовой реакции, альбумина - в реакции с бромкрезоловым зеленым, креатинина - в реакции Яффе, мочевины - ферментативным (уреазным) методом, глюкозы - глюкозооксидантным методом с использованием наборов реактивов производства НТПК «Анализ-Х» и «Lachema» [3]. Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Результаты исследований. Во все сроки исследований активность КФК у контрольных и подопытных птиц колебалась в пределах $1635,00 \pm 213,48$ - $2134,00 \pm 271,07$ МЕ/л. При этом различия данного показателя между группами птиц были недостоверными. Учитывая, что КФК обеспечивает обратимое фосфорилирование креатина в мышечной ткани, можно констатировать, что иммунизация птиц против ИЛТ не оказывает влияния на состояние энергетического обмена в скелетных мышцах и миокарде.

Активность ЛДГ в плазме крови вакцинированных птиц на 3-й день после иммунизации достоверно возростала по сравнению с контрольными данными в 1,2 раза (рисунок 1). Аналогичные изменения были выявлены нами на 7-ой день эксперимента. Активность ЛДГ у птиц опытной группы составляла $1966,25 \pm 106,74$ МЕ/л, а в контроле - $1752,50 \pm 106,74$ МЕ/л ($P > 0,05$). В последующем (на 14-й, 21-й и 28-ой дни после иммунизации) в плазме крови вакцинированного молодняка кур отмечено постепенное выравнивание данного показателя по сравнению с контрольными значениями.

Таким образом, иммунизация птиц против ИЛТ вызывает кратковременное повышение активности ЛДГ в плазме крови. Сходные данные были получены С.Л. Радченко [4] и М.Е. Toukhy et al [9], которые наблюдали повышение активности ЛДГ у цыплят, вакцинированных против ньюкаслской болезни, и у гусей, привитых против пастереллеза. Учитывая, что этот фермент в норме поступает в кровь из клеток органов и тканей, можно предположить, что увеличение его активности обусловлено повышением проницаемости клеточных мембран в результате вакцинации.

Активность АсТ и АлТ в плазме крови птиц опытной группы на 3-й день после вакцинации составляла соответственно $59,33 \pm 6,48$ МЕ/л и $319,25 \pm 18,26$ МЕ/л, а у интактного молодняка кур - $41,39 \pm 2,77$ МЕ/л и $275,25 \pm 13,76$ МЕ/л ($P < 0,05$). К 7-му дню эксперимента указанные показатели постепенно снижались, но на 5-16% ($P > 0,05$) превышали контрольные значения. Изменение активности аминотрансфераз объективно отражает метаболические нарушения в печени [3]. Гепатоциты имеют прямой контакт, как с интерстициальным, так и внутрисосудистым пространством, к тому же проницаемость стенок синусоидных капилляров в печени высока. При патологии гепатоцитов ферменты, освобождающиеся из клеток, быстро попадают в кровь, причем АлТ выходит в кровь только из гиалоплазмы, а АсТ освобождается как из гиалоплазмы, так и из митохондрий. Учитывая, что АсТ и АлТ являются ферментами «выхода», и то, что вакцинация существенно влияет на их активность в плазме, можно констатировать, что компоненты вакцины против ИЛТ вызывают повреждение мембран гепатоцитов. Повышение активности АсТ и АлТ в сыворотке крови птиц при вакцинации против других инфекционных болезней наблюдали С.Л. Радченко [4], S.R. Tanwani et al [8], М.Е. Toukhy et al [9]. На 14-й, 21-й и 28-ой дни после

вакцинації активність аминотрансфераз в плазмі крові імунних птахів знаходилась на рівні контрольних показателів, що свідчить про відновлення мембран гепатоцитів в ці терміни досліджень.

На 3-й, 7-й і 14-й дні після імунізації в плазмі крові птахів 1-ої групи спостерігалося підвищення ферментативної активності ЩФ на 15-50% ($P > 0,05$) порівняно з контролем.

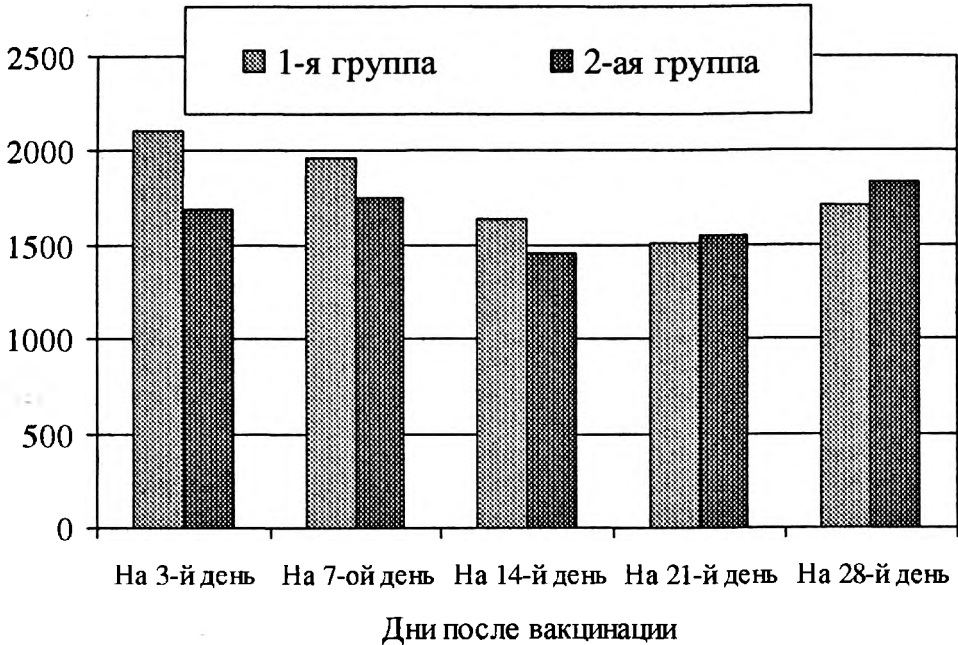


Рисунок 1. Активність ЛДГ в плазмі крові птахів (МЕ/л).

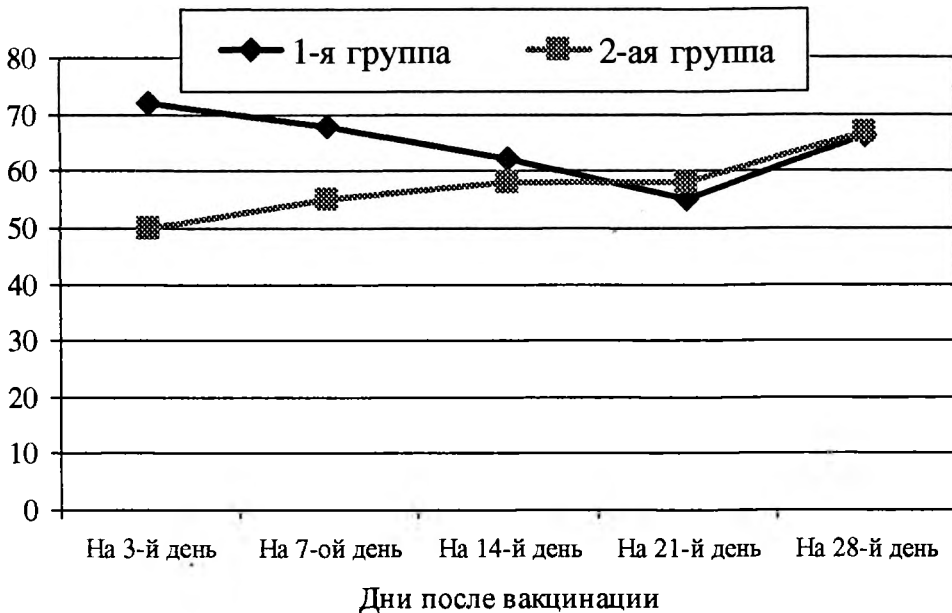


Рисунок 2. Активність ГТТ в плазмі крові птахів (МЕ/л).

На 21-й и 28-ой дни эксперимента у иммунных птиц активность ЩФ постепенно нормализовалась по сравнению с контрольными значениями. Возрастание активности ЩФ в плазме крови является возможным компенсаторным механизмом обеспечения потребностей организма в неорганических фосфатах, необходимых для усиленного синтеза АТФ и белка. По мнению Т.Г. Спиро [5], ЩФ может выступать в качестве трансферазы, которая переносит фосфорный остаток на молекулу акцептора. Предполагается, что фермент участвует в транспорте фосфата и обеспечивает его образование там, где возникает потребность в нем [7].

Активность ГГТ в плазме крови интактных птиц на 3-й и 7-ой дни после вакцинации находилась на уровне $50,50 \pm 4,78$ - $55,25 \pm 6,18$ МЕ/л (рисунок 2). В указанные сроки исследований у иммунного молодняка кур данный показатель был на 24-44% выше, чем в контроле, причем на 3-й день эксперимента различия были достоверными. На 14-й, 21-й и 28-ой дни эксперимента у птиц 1-ой группы активность ГГТ постепенно приходила в норму и существенно не отличалась от контрольных значений.

ГГТ содержится в основном в плазмолемме клеток, обладающих высокой секреторной или адсорбционной способностью: гепатоцитах, нефроцитах, эпителиоцитах тонкого кишечника и экзокринных отделов поджелудочной железы [3]. В порядке снижения удельной активности ГГТ ткани располагаются в следующей последовательности: поджелудочная железа, почки, печень, щеточная каемка эпителиоцитов тонкой кишки. Активность ГГТ не обнаружена в скелетных мышцах и миокарде. Возможно, инактивированная вакцина против ИЛТ обладает остаточной реактогенностью, вызывая структурные и метаболические нарушения в гепатоцитах и панкреатитах.

Содержание ОБ и альбумина в плазме крови иммунного молодняка кур на 3-й, 7-ой, 14-й и 21-й дни эксперимента превышало контрольные значения на 17-28%, однако различия не были достоверными. Такие изменения могут быть обусловлены попаданием в кровь иммуноглобулинов и клеточных белков, что согласуется с данными гистологического исследования органов иммунной системы и печени. На 28-ой день эксперимента у птиц 1-ой группы отмечена нормализация указанных показателей по сравнению с контролем.

При изучении концентрации креатинина и мочевой кислоты в плазме крови отмечено кратковременное (до 7-го дня после вакцинации) и недостоверное повышение указанных показателей в группе иммунного молодняка кур по сравнению с контролем. Следовательно, инактивированная вакцина против ИЛТ не оказывает существенного влияния на состояние эпителия мочеобразующих канальцев. Содержание глюкозы в плазме крови иммунных птиц на 3-28-ой дни после вакцинации оставалось неизменным и не имело существенных различий по сравнению с контрольными данными.

Выводы. Парентеральная иммунизация птиц против ИЛТ приводит к достоверному повышению активности ЛДГ, АсТ и ГГТ в плазме крови, что свидетельствует о возможном повреждении мембран гепатоцитов и панкреатитов.

1. Наибольшие метаболические нарушения наблюдаются на 3-й и 7-ой дни после введения вакцины. На 14-й день наступает нормализация метаболических процессов и завершение, проявляющаяся стабилизацией большинства биохимических показателей.

Литература

1. Влияние способа содержания и вакцинации против паратифа на ферментативную активность организма свиней / С.А. Пигалев [и др.] // Вопр. лечения и профилактики инфекц. и инваз. болезней с.-х. животных. – Саратов, 1989. – С. 50-57.
2. Ильясова, З.З. Иммунный статус и его коррекция прополисом, энтерозимом и кластерным магнитоорганическим соединением железа "Ферран" на фоне

- вакцинации против сальмонеллеза телят: Автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.04 / З.З. Ильясова; Башкирский гос. агроун-т. – Уфа, 2002. – 18 с.
3. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.С. Камышников. – Минск: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.
 4. Радченко, С.Л. Активность некоторых ферментов сыворотки крови гусят при иммунизации против пастереллеза / С.Л. Радченко // Ученые записки ВГАВМ: материалы III научно-практической конференции по результатам научных исследований ВГАВМ за 1999 год, Витебск, 25-26 апреля 2000 г. / ВГАВМ; редкол.: А.И. Ятусевич [и др.]. – Витебск, 2000. – Т. 36, ч.1 – С. 79-80.
 5. Спиро, Т.Г. Неорганическая биохимия / Т.Г. Спиро; под ред. Г.М. Эпхгорна. – М.: Мир, 1978. – С. 633-644, 656.
 6. Титов, В.Н. Патофизиологические основы лабораторной диагностики заболеваний печени / В.Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 1996. - № 1. – С. 3-9.
 7. Ehle, H. Alkaline phosphatase of the calf intestine hydrolyzes phospholipids / H. Ehle, E. Muller, A. Horn // FEBS Letters. – 1985. – Vol. 183. – P. 2-7.
 8. 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 [et al] // Indian J. Poultry Sc. – 1989. - Vol. 24. № 4. – P. 316-319.
 9. Toukhy, M.E. Physiological studies on the level of some electrolytes and enzymes in normal and Newcastle vaccinated chicks / M.E. Toukhy, S.A. Aly, M.K. Soliman // Assiut veter. med. J. – 1989. - Vol. 21, № 42. – P.7-14.
 10. Utjecaj vakcinacije protiv njukalske bolesti i zaraznog bronhitisa na aktivnost microsornih monooksigenaza jetre u tovnih pilica / D. Sakar [et al] // Praxis Veter, 1992. – Vol. 40, № 1. – S. 13-24.

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЛАЗМИ КРОВІ ПТИЦІ, ЩЕПЛЕНОЇ ПРОТИ ІНФЕКЦІЙНОГО ЛАРИНГОТРАХЕІТУ

Громов І.М., к. вет. н., доцент, Громова Л.М., к. біол. н., доцент, Герман С.П., к. вет. н., доцент

E-mail: gromov_igor@list.ru

УО "Вітебська ордена "Знак Пошани" державна академія ветеринарної медицини", м. Вітебськ

Анотація. Вивчені біохімічні зміни в плазмі крові курчат при імунізації їх проти інфекційного ларинготрахеїту (ІЛТ). Установлено, що щеплення птиці проти ІЛТ веде до достовірного підвищення активності ЛДГ, АсТ і ГГТ. Найзначніші порушення метаболізму відмічались на 3-й та 7-й дні після введення вакцини.

Ключові слова: курчата, плазма крові, індикаторні ферменти, метаболіти, інфекційний ларинготрахеїт, імунізація, інактивована емульсин-вакцина.

BIOCHEMICAL PARAMETERS OF PLASMA OF BLOOD OF HEN YOUNGSTERS, VACCINATED AGAINST INFECTIOUS LARYNGOTRACHEITIS

Gromov I.N., the candidate of veterinary sciences, the senior lecturer

Gromova L.N., the candidate of biological sciences, the senior lecturer

German S.P., the candidate of veterinary sciences, the senior lecturer

E-mail: gromov_igor@list.ru

The Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine

Summary. Biochemical changes in plasma of blood of hen youngsters parenteral immunized against infectious laryngotracheitis (ILT) have been observed. It is positioned, that vaccination of birds against ILT produces to authentic increase of activity LDH, AsT and GGT. The greatest metabolic infringements are observed for 3-rd and 7-th days after introduction of a vaccine.

Key words: *hen youngsters, plasma of blood, display enzymes, metabolites, infectious laryngotracheitis, immunization, inactivated oil-emulsion vaccine*