

ЛИТЕРАТУРА

1. Аликаев В.А. и др. Болезни недостаточности у свиней. Мн.: Ураджай, 1986.
2. Патологоанатомическая диагностика болезней свиней / Под ред. В.П. Шишкова, А.В. Жарова, Н.А. Налетова. М.: Колос, 1984.
3. Профилактика болезней свиней на комплексах / Под ред. Д.П. Иванова. Мн.: Ураджай, 1982.
4. Рекомендации по диагностике и профилактике аутоиммунных заболеваний у животных / И.М. Карпуть, Л.М. Пивовар, А.Г. Ульянов и др. Мн., 1987.

УДК 619:616.61:547.994:636.2

В.М.ХОЛОД, В.А.ПУШНЯКОВ, Витебский ордена "Знак Почета" ветеринарный институт им. Октябрьской революции

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИСК-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА В ПОЛИАКРИЛАМИДНОМ ГЕЛЕ И ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ-6000 ПРИ ИЗУЧЕНИИ ПРОТЕИНУРИИ У ЖИВОТНЫХ

При заболеваниях почек и поражении нефронов в мочу могут попадать белки как сыворотки крови, так и тканей почек и мочевыводящих путей, что обуславливает появление синдрома протеинурии. Характер протеинурии позволяет судить о степени нарушения функции почек и имеет важное диагностическое и прогностическое значение. Нарушение работы почечного фильтра приводит к появлению в моче сывороточных белков, а воспалительные и некротические процессы в почках и мочевыводящих путях — к появлению в моче тканевых белков. Обнаружение их в моче может иметь значение для выяснения патогенеза заболевания и дифференциальной диагностики.

Важное клиническое значение имеет не только происхождение белка, но и его молекулярная масса. При незначительном поражении гломерулярного аппарата почки наблюдается селективная протеинурия, при которой в мочу переходят белки невысокой молекулярной массы [1, 2]. При глубоком поражении почечного фильтра наблюдается неселективная или аселективная протеинурия, когда с мочой выделяются белки как низкой, так и высокой молекулярной массы (более 150 000 дальтон).

По мере нарастания степени повреждения клубочковой мембраны в мочу переходят белки с молекулярной массой порядка 150 000–200 000 дальтон и выше. При этом в белковом спектре мочи появляются и становятся все более выраженными фракции L - и β -глобулинов. При дальнейшем нарастании аселективности в моче появляются иммуноглобулины G и A. При очень резких повреждениях клубочковой мембраны в моче могут появляться сывороточные белки с молекулярной массой порядка 1 000 000 дальтон, например, иммуноглобулин M.

Тонкие молекулярные механизмы, лежащие в основе протеинурии, до сих пор неизвестны. Согласно одной теории, размер белков, способных пройти через клубочек, лимитируется размером пор, согласно другой — ос-

1. Качественная и количественная характеристика белковых фракций мочи коров (по данным электрофореза в полиакриламидном геле)

Показатели	Встречаемость, %	Содержание белка, г/л	
		среднее	пределы колебаний
Преальбумины	83	0,107	0,00—0,64
Альбумины	100	0,278	0,02—1,83
Л-глобулины	79	0,39	0,00—3,06
β-глобулины	72	0,107	0,00—0,52
γ-глобулины	72	0,56	0,00—2,79

новное значение, определяющее проницаемость, имеет заряд базальной мембраны. Возможность прохождения в мочу крупных белковых молекул скорее подтверждает вторую точку зрения.

В клинической практике – как медицинской, так и ветеринарной – при подозрении на почечную патологию определяют общий белок в моче. Белок в моче выше физиологических пределов (небольшое количество белка обнаруживается и при ненарушенной функции почек) свидетельствует о той или иной почечной патологии. Однако дифференциация уропротеинов представляет значительно более сложную задачу.

Для уточнения характера почечной патологии имеет значение происхождение белков мочи. Это могут быть как белки сыворотки крови, так и тканевые белки почек. В некоторых случаях при массивных некрозах ткани в мочу могут переходить и другие тканевые белки. Тканевую дифференциацию уропротеинов легче всего проводить с помощью специфических иммунных сывороток, полученных к белкам различных органов и тканей.

Разделение белков в зависимости от молекулярной массы проводят методом электрофореза в полиакриламидном геле, иммуноэлектрофореза, гель-фильтрацией на сефадексах и другими физико-химическими методами [3].

Основным методом, позволяющим получить детальное представление о белковом составе биологических жидкостей, является электрофорез в полиакриламидном геле. Высокая разрешающая способность его позволяет обнаружить и проводить качественную дифференциацию белков. В необходимых случаях проводят количественную обработку электрофорграмм и получают представление о количественном содержании тех или иных белков.

Исследовано 29 гол. крупного рогатого скота, у которых в моче обнаружен общий белок. Электрофорез в полиакриламидном геле показал широкие возможности изучения протеинурии (табл. 1). С учетом степени и характера поражения почек в моче обнаруживались преальбуминовая, альбуминовая, Л-, β-, γ-глобулиновые фракции белков. При низкой концентрации белков в моче при электрофоретическом исследовании обнару-

живались, как правило, быстрые фракции (альбумины, \mathcal{L} -глобулины), высокое содержание обычно сопровождалось появлением в спектре медленных фракций (γ -глобулинов).

Кроме того, даже визуальное изучение уропротеинограмм, полученных с помощью диск-электрофореза в полиакриламидном геле, дает представление о характере протеинурии и белковом составе мочи.

Однако недостатком метода электрофореза в полиакриламидном геле является его сложность и большие затраты времени на проведение анализа.

Дифференциация белков в моче может быть проведена более простым способом, основанным на использовании химических реагентов, осаждающих белки в зависимости от их физико-химических свойств. К таким химическим реагентам относится полиэтиленгликоль-6000. Известно, что при концентрации 10–12% он осаждаёт высокомолекулярные белки сыворотки крови, что используется для фракционирования белков. Используя в качестве специфического осадителя ПЭГ-6000, мы разработали простой способ оценки наличия высокомолекулярных белков в моче.

Для этого к 2,5 мл мочи добавляли 2,5 мл 25%-ного раствора полиэтиленгликоля-6000 (конечная концентрация в растворе 12,5%), тщательно перемешивали и через 10 мин колориметрировали на фотоэлектроколоримет-

2. Содержание общего белка и высокомолекулярных белков в моче коров

Содержание белка, г/л		Коэффициент аселективности 1:2
Метод с ПЭГ-6000 (1)	Метод с сульфосалициловой кислотой (2)	
0,00	1,2	0,00
3,15	6,6	0,48
1,9	3,0	0,63
0,11	0,5	0,22
0,04	0,06	0,87
0,405	0,46	0,88
3,0	5,0	0,6
0,00	0,1	0,00
1,15	3,18	0,36
0,045	0,7	0,06
0,015	0,04	0,37
0,00	0,06	0,00
0,165	0,84	0,2
3,25	5,4	0,6
1,2	1,8	0,67
0,00	0,225	0,00
0,00	0,14	0,00
0,6	0,95	0,63

ре с синим светофильтром. По величине экстинкции рассчитывали содержание белка в моче методом калибровочного графика. Для построения калибровочной кривой использовали сывороточный иммуноглобулин. Всего этим методом было исследовано 18 коров, у которых был обнаружен белок в моче, содержание которого было определено общепринятым методом с сульфосалициловой кислотой. По отношению содержания высокомолекулярных белков мочи к общему белку рассчитывали коэффициент аселективности (табл. 2).

Из данных табл. 2 видно, что чаще всего с увеличением общего белка в моче увеличивается и содержание высокомолекулярных белков. Однако в некоторых случаях (животное № 1) при довольно высоком содержании белка в моче высокомолекулярные белки могут отсутствовать. В то же время у некоторых животных (№ 5, 18) при низкой концентрации белка в моче обнаруживается довольно высокий относительный процент высокомолекулярных белков. Это говорит о различном характере поражения фильтрационно-реабсорбционного механизма почек и, возможно, о различном происхождении белков (сыворотка крови, ткань почки), перешедших в мочу.

При массовом обследовании животных можно использовать качественную пробу на обнаружение высокомолекулярных белков в моче. В этом случае фотометрирование не проводится, а интенсивность помутнения оценивается в один, два или три креста (+ – слабое помутнение, ++ – интенсивное помутнение, +++ – раствор мутный, выпадает хлопьевидный осадок).

Высокомолекулярные белки появляются при так называемой физиологической протеинурии, когда в моче может увеличиваться содержание низкомолекулярных белков (альбуминов). Поэтому помутнение, оцениваемое даже одним плюсом, уже является основанием для более детального исследования почек и мочевыводящих путей.

Полиэтиленгликоль -6000 может быть также использован для тканевой дифференциации высокомолекулярных белков, мигрирующих при электрофорезе в зону γ -глобулинов. При тяжелых протеинуриях в белковом спектре мочи обнаруживаются все основные фракции, присущие белковому спектру сыворотки крови, – альбуминовая, α -, β - и γ -глобулиновые. Дифференцировать их по тканевой принадлежности электрофоретическим исследованием не представляется возможным. Однако осаждение полиэтиленгликолем-6000 при концентрации 15% позволяет отделить сывороточные белки от белков почек. Если сывороточные белки этой зоны полностью осаждаются при этой концентрации, то белки почек, мигрирующие в зону γ -глобулинов в силу различия физико-химических свойств, более устойчивы и остаются в растворе.

Выводы

1. Метод диск-электрофореза в полиакриламидном геле при исследовании протеинурии животных детально характеризует спектр уропротеинов, но сложен и требует больших затрат времени на проведение анализа.

2. Использование полиэтиленгликоля-6000 при анализе уропротеинов позволяет вести экспресс-анализ обнаружения высокомолекулярных белков в моче и рассчитать коэффициент аселективности, а также дифференцировать сывороточные белки от тканевых белков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиж А.С. Протеинурия. Мн.: Выш. шк., 1983.
2. Шюк О. Функциональное исследование почек. Прага: Авиценум, 1975.
3. Холод В.М. Белки сыворотки крови в клинической и экспериментальной ветеринарии. Мн.: Ураджай, 1983.

УДК 636.22/28./085.57

Ю.Ф. МИШАНИН, М.П. КОВАЛЬ, М.Т. КЛЕПИЦКИЙ, Гродненский сельскохозяйственный институт

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КОРОВ И ТЕЛЯТ ПРИ БЕЛОМЫШЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ

Несбалансированность рационов сельскохозяйственных животных по уровню селена и соотношению с другими элементами питательных веществ неблагоприятно сказывается на физиологическом состоянии. При недостатке селена в рационе нарушается обмен веществ, снижается продуктивность, появляется беломышечная болезнь молодняка сельскохозяйственных животных и их падеж [1, 2, 4].

В зимне-весенний период в ряде хозяйств западных областей Белоруссии отмечаются случаи заболевания и падежа телят, ягнят и поросят от беломышечной болезни, что приносит большой экономический ущерб. В связи с этим целью нашей работы являлось изучение некоторых иммунобиологических показателей крови телят, больных беломышечной болезнью, проанализировать кровь их матерей и сравнить с гематологическими показателями здоровых телят и коров.

На стационарно неблагополучной ферме Пальница колхоза "Искра" Гродненского района по беломышечной болезни телят были проведены исследования крови коров и их потомства без клинического проявления каких-либо заболеваний и на телятах, заболевших беломышечной болезнью. Беломышечную болезнь устанавливали по следующим симптомам: телята отказывались от корма, наблюдалось угнетенное состояние, понос, скованные движения, ригидность мышц, нарушение координации движений, животные с трудом вставали, большую часть времени лежали, температура тела находилась в пределах 38,6–39,1°C, пульс 140–170 ударов в