

Криштофорова, Ю.Ю. Каргопольцев // Морфофункциональные основы формирования в онтогенезе адаптивных возможностей организма человека и животных. – Москва, 1991. – С. 52–58. 4. Розанов, В.И. Значение для птицеводства филогенетического увеличения костей скелета домашней курицы / В.И. Розанов // Актуальные проблемы производства продуктов животноводства : сб. науч. тр. / Самара, 2001. – С. 99–101. 5. Хрусталева, И.В. О взаимосвязи живой массы и массы скелета у молодняка и кур-несушек / И.В. Хрусталева, Б.В. Криштофорова // Сб. науч. тр. / Московская ветеринарная академия. – Москва, 1978. – Т. 100 : Изучение патоморфологических и биохимических изменений в организме сельскохозяйственных животных. – С. 67–69. 6. Williams, B. Effect of rate and body weight on bone quality in the broiler chicken / B. Williams, S. Solomon, D. Waddington, C. Farguharson. – S.I. – P. 123-125. - Bibliogr., p 125. 7. Velleman, S.G. The role of the extracellular matrix in skeletal development / S.G. Velleman // Poultry Sc. – 2000. – Vol. 79, № 7. – P. 985–989.

Статья передана в печать 16.07.2014 г.

УДК 619:616.071:636.2

## ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КОРОВ ПРИ ОСТЕОДИСТРОФИИ

Сливинская Л.Г., Федорович В.Л., Демидюк С.К., Максимович А.И.

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого, г. Львов, Украина

*Наведены результаты исследований отдельных биохимических маркеров крови и метаболитов соединительной ткани при остеодистрофии коров. Обоснованы наиболее информативные тесты ранней диагностики остеодистрофии и ее субклинического течения.*

*The results of studies of selected biochemical markers of blood and connective tissue metabolites in cow's osteodystrophy. Justifiably the most informative tests early diagnosis of subclinical bone disease and its course.*

**Ключевые слова:** коровы, остеодистрофия, диагностика, метаболиты, гликозаминогликаны, лимонная кислота, остеокальцин.

**Keywords:** cows, osteodystrophy, diagnostics, metabolites, glycosaminoglycans, citric acid, osteocalcin.

**Введение.** Болезни, протекающие с нарушением обмена веществ, в частности минерального, несмотря на профилактические меры, применяемые в скотоводстве, остаются и в дальнейшем распространенными и наносят значительный экономический ущерб отрасли, вызывают снижение продуктивности скота и препятствуют эффективной работе отрасли [1-4].

Особое значение приобретает эта проблема в западных областях Украины, которые принадлежат к биогеохимической зоне. Одно из первых мест занимает остеодистрофия коров. Заболевание часто имеет субклиническое течение, при котором развиваются разные метаболические нарушения, которые в стадии патогномичных симптомов еще обратимы и обуславливают низкую продуктивность животного, бесплодие и т.д. [1-6].

Для доклинической диагностики остеодистрофии у коров проводятся гематологические и биохимические исследования крови и мочи, где определяют концентрацию общего кальция, неорганического фосфора, общей щелочной фосфатазы, щелочной резерв. На ранних стадиях диагностики болезни эти показатели не всегда достаточно информативны вследствие способности гомеостаза к уравниванию. Несовершенство этих тестов требует разработки более чувствительных биохимических критериев костного метаболизма. Поэтому на сегодня актуальным является определение тех метаболитов, которые являются специфическими составляющими минерального и органического матрикса кости или ингредиентов, которые играют роль в ее формировании или деструкции [7]. К сожалению, их использование в отечественной ветеринарной диагностике ограничено, что связано с высокой стоимостью реагентов, необходимостью в специальном оборудовании, квалификации персонала. Наряду с этим существует ряд маркеров, которые могут быть надежным критерием для оценки состояния костной ткани и не требуют слишком ценных затрат и сложных манипуляций [3, 4, 6, 8].

Цель исследования: изучить метаболиты костной ткани в крови коров при остеодистрофии и их диагностическую информативность при различных формах течения.

**Материал и методы исследований.** Исследования проводили в трех хозяйствах Львовской области на коровах черно-пестрой породы в возрасте 3-10 лет, у которых проводили клинические и биохимические исследования сыворотки крови. В предыдущих работах нами было установлено, что районы животных не сбалансированы по содержанию макро- и микроэлементов и витаминов [9].

Для биохимических исследований у коров отбирали пробы крови, в которой определяли: общий кальций - с помощью реактива арсеназо III (Bauer P.I., 1981), неорганический фосфор - с амониймолибдатом за О.Н. Lopez, J.A. Lowry (1946), магний - по реакции с кальмагитом, лимонную кислоту - по E. Beutler и M.K. Veh (1959) в модификации Ат. Каракашова, Е. Вичева (1968) [10], остеокальцин - хемиллюминисцентным методом, гликозаминогликаны (ГАГ) в сыворотке крови с алциановым синим (В<sub>6</sub>) по E.W. Gold (1979) и их фракционный состав [11], сиалогликопротеины - по A. Gottschalk (1972) G.W. Jourdan et al. (1971), хондроитинсульфаты (ХТС) - по методике M. Nemeth-Csoka (1961) [12].

**Результаты исследований.** По результатам проведенного клинического обследования коров установили, что средняя температура тела составила 38,2±0,3 °С, дыхание 29,0±0,9 и пульс 62±1,4 в

минуту. Среди клинических признаков заболевания наблюдали: искажение аппетита, взъерошенность шерсти, задержку линьки, чрезмерное разрастание и деформацию копыт, истончение и частичный лизис последней пары ребер, рассасывания последних 2-3 хвостовых позвонков, частичную деформацию позвоночника, шаткость зубов, снижение упитанности и производительности.

Поскольку симптомы остеодинтрофии не всегда отражают состояние костной ткани на момент исследования, то для изучения патогенеза и выяснения метаболических нарушений болезни были проведены биохимические исследования крови. На основании выявленных симптомов и полученных результатов лабораторных исследований было создано три группы коров: 10 - клинически здоровые, 10 - с субклиническим течением остеодинтрофии без выраженных патогномоничных клинических признаков и 10 - больных с клиническими симптомами остеодинтрофии.

Содержание таких минеральных веществ, как кальций и фосфор (рисунок 1) у клинически больных остеодинтрофией коров было ниже соответственно на 16 и 22,4 % по сравнению с клинически здоровыми, в то время как у коров с субклиническим течением их уровень был ниже соответственно на 7,7 и 16 % ( $p < 0,05$ ). Это указывает на нарушение фосфорно-кальциевого соотношения, гипокальциемию и частичную гипофосфатемию.

Концентрация магния в крови находилась в пределах физиологической нормы у всех коров исследовательских групп, хотя наблюдается тенденция к его снижению у клинически больных коров остеодинтрофией.



Рисунок 1 – Содержание макроэлементов в сыворотке крови коров при остеодинтрофии, ммоль/л

Лимонная кислота (цитрат) – высокоинформативный показатель состояния костной ткани, ключевой метаболит в процессах минерализации путем образования комплексных соединений с фосфором и кальцием, что способствует повышению их содержания в кости до уровня, при котором начинаются процессы ее кристаллизации и минерализации [8].

Количество лимонной кислоты в сыворотке крови было ниже нормы у клинически больных остеодинтрофией коров и с субклиническим течением соответственно на 37,6 и 58 % по сравнению с здоровыми. Она находилась на критически низком уровне соответственно:  $157,7 \pm 6,21$  и  $146,8 \pm 5,89$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ).

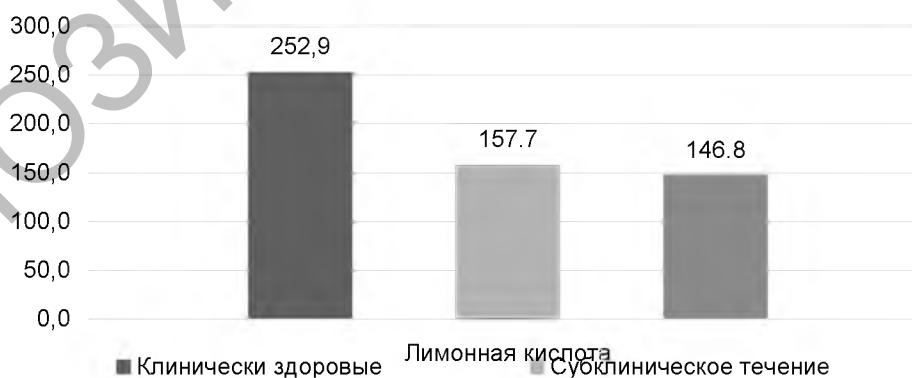


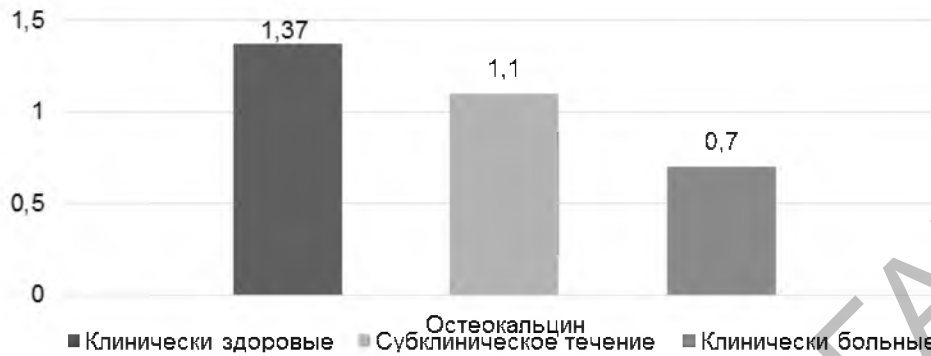
Рисунок 2 – Содержание лимонной кислоты в сыворотке крови коров при остеодинтрофии, мкмоль/л

Снижение концентрации лимонной кислоты у больных остеодинтрофией коров объясняется тем, что в норме витамин D способствует превращению пирувата в цитрат. Его недостаток вызывает накопление продуктов промежуточного обмена - пирувата и лактата, развивается ацидоз и тормозит образование лимонной кислоты [13, 14].

Сравнительно недавно был открыт новый неколлагеновый белок - остеокальцин, синтез которого специфически индуцируется витамином D [13]. Кроме того, отмечается связь остеокальцина и лимонной кислоты с кристаллами гидроксипатита, и вероятно они играют важную роль в его формировании и

резорбции кости в целом. Из всех исследуемых маркеров костного ремоделирования, остеокальцин первый, который широко исследуется в животных всех видов. В литературе описан метаболизм остеокальцина у лошадей, свиней, коз, овец, собак, котов и коров.

Нашими исследованиями установлено, что концентрация остеокальцина в крови коров при субклиническом течении остеодистрофии колебалась в пределах 0,93-1,28 нг/мл, а клинически больных - 0,58-1,05 нг/мл. В среднем его количество составляло  $1,10 \pm 0,03$  и  $0,7 \pm 0,04$  нг/мл и было достоверно ( $p < 0,001$ ) ниже на 19,7 и 49,0 % соответственно, чем у клинически здоровых коров (рисунок 3).



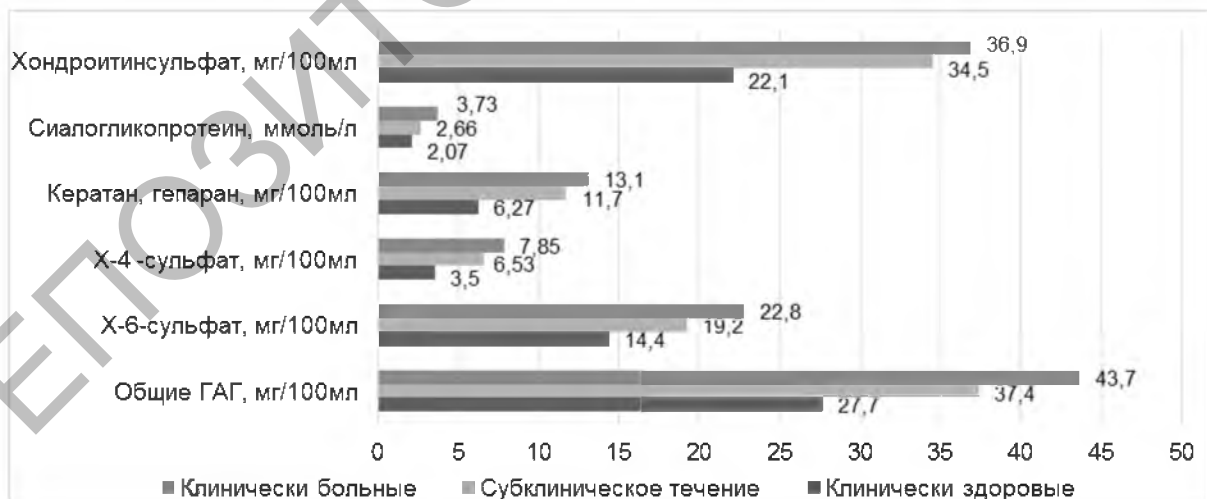
**Рисунок 3 – Содержание остеокальцина в сыворотке крови при остеодистрофии коров, нг/мл**

Снижение концентрации остеокальцина в сыворотке крови коров при субклиническом течении остеодистрофии объясняется тем, что в костном ремоделировании преобладают процессы резорбции костной ткани.

Изучая концентрацию остеокальцина в крови коров при остеодистрофии, можно сделать вывод о том, что данный маркер является высокочувствительным и специфическим показателем резорбции костной ткани, так как дает возможность выявить изменения в кости даже у коров за субклинического течения заболевания, в то время как уровень кальция и фосфора остаются еще неизменными.

Проведенные биохимические исследования крови коров показали, что соединительнотканые метаболиты выходят за пределы физиологических колебаний как у клинически больных коров остеодистрофией, так при субклиническом ее течении.

По содержанию общих ГАГ и сиалогликопротеинов можно судить о наличии деструктивных и дезорганизационных процессов в органическом матриксе костной ткани. Эти биополимеры вместе с коллагеном являются обязательным компонентом органического матрикса кости и способствуют ее оссификации и структурной организации. У коров при субклиническом течении остеодистрофии и клинически больных наблюдалось увеличение содержания общих ГАГ и сиалогликопротеинов по сравнению со здоровыми [8]. Увеличение концентрации ГАГ составило 35,0 и 58,0 % ( $p < 0,01$ ), а сиалогликопротеинов 28,5 и 80,2 % соответственно у здоровых коров ( $p < 0,05$ ). Повышение содержания ГАГ и сиалогликопротеинов в крови указывает на деструкцию органических частей кости.



**Рисунок 3 – Содержание соединительнотканых метаболитов в крови коров при остеодистрофии**

Существенная роль в формировании костной ткани принадлежит и отдельным компонентам ГАГ – их фракциям. Фракционным анализом ГАГ выявлено повышение хондроитин-4-сульфата на 20 % у больных остеодистрофией коров по сравнению с клинически здоровыми. Поскольку эта фракция в наибольшем количестве локализуется в костной ткани, то такое повышение свидетельствует о деструктивных изменениях именно в ней [11]. Повышение хондроитин-6-сульфата составило 58 %, а содержание гепарина, гепаран-, дерматан- и кератинсульфатов в 2 раза у коров, клинически больных остеодистрофией, в сравнении с клинически здоровыми.

В результате произведенных исследований и полученных результатов было проанализировано

информативность изучаемых показателей для ранней диагностики остео дистрофии коров (таблица 1).

Концентрация общего кальция и неорганического фосфора в сыворотке крови клинически здоровых коров находилась в пределах нормы. У коров с субклиническим течением содержания общего кальция было снижено в 18,9 %, а в 81,1 % лимиты его были в пределах нормы. В это время для гомеостаза кальция запускаются механизмы резорбции костной ткани, как его источник.

В 94,3 % коров с субклиническим течением остео дистрофии концентрация неорганического фосфора была в норме, а 5,7 % – развивается гипофосфатемия.

У 5 % коров, больных остео дистрофией, общий кальций был в норме, а в 95,0 % – выявлена гипокальциемия, которая сочеталась с гипофосфатемией в 35,0% больных животных. В этот период гомеостаз кальция и фосфора не может поддерживаться за счет костной ткани и других механизмов.

Концентрация лимонной кислоты в сыворотке крови 100 % коров с субклиническим течением и больных остео дистрофией была сниженной. Ее среднее содержание составило  $157,7 \pm 3,30$  и  $146,8 \pm 1,20$  мкмоль/л. Уменьшение ее концентрации происходит за счет угнетения цикла кребса в остеообластах под влиянием паратгормона, как основного регулятора кальцие-фосфорного обмена, который сначала запускает резорбцию кости, а затем подавляет ее минерализацию из-за снижения уровня лимонной кислоты в костной ткани. В целом снижение ее содержания в сыворотке крови наступает быстрее, чем развивается гипокальциемия.

Снижение лимонной кислоты у коров с субклиническим течением остео дистрофии параллельно сочетается с гипокальциемией и гипофосфатемией в 18,9 и 5,7 % коров.

По данным литературы остеокальцин является маркером формирования костной ткани, он отражает активность остеобластов. Дефицит кальция в рационе сопровождается снижением его концентрации. При восстановлении оптимального количества кальция в рационе и крови возрастает содержание остеокальцина, что указывает на уменьшение поступления кальция из кости в кровь. Уровень остеокальцина был снижен в 60,0 % коров с субклиническим течением и в 100 % больных остео дистрофией, что сочеталось со снижением концентрации лимонной кислоты. То есть в костной ткани в целом нарушались процессы кальцификации.

Определяя содержание составляющих соединительной ткани, а именно общих ГАГ, сиалогликопротеинов и хондроитинсульфатов, было установлено их увеличение у коров с субклиническим течением и больных остео дистрофией. Так, их количество было больше в 100 % коров обеих исследовательских групп.

Диагностическое значение данных показателей связано с тем, что они составляют основу межклеточного вещества органического матрикса костной ткани, в результате ее резорбции они первыми поступают в кровь и поэтому являются информативными критериями доклинической диагностики остео дистрофии.

**Заключение.** Проведенными исследованиями установлено, что при остео дистрофии у коров нарушается фосфорно-кальциевый обмен, метаболизм коллагена и гликопротеинов. Среди исследуемых биохимических компонентов сыворотки крови наиболее информативными для ранней диагностики остео дистрофии и ее субклинического течения является определение содержания лимонной кислоты, остеокальцина, гликозаминогликанов и их фракционного состава, а также общего кальция и неорганического фосфора.

**Литература.** 1. Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин / В.І. Левченко, В.В. Влізло, І.П. Кондрахін та ін.; За ред. В.І. Левченка і В.Л. Галіяса – Біла Церква, 2004. – 608с. 2. Слівінська Л.Г. Уміст у крові кісткових маркерів метаболізму за остео дистрофії корів / Л.Г. Слівінська, В.Л. Федорович // Наук. вісник вет. медицини: Зб. наук. праць. – Біла Церква, 2011. – Вип. 8 (87). – С. 151–155. 3. Федорович В.Л. Стан кісткового метаболізму за остео дистрофії корів / В.Л. Федорович, Л.Г. Слівінська // Наук. вісник Луган. нац. аграр. ун-ту. – Луганськ, 2011. – № 31. – С. 223–226. 4. Ковзов В.В. Діагностика порушень обміну речовин у високопродуктивних корів // Ученые записки Витеб. гос. акад. вет. медицины. – 2007. – Т.43 – Вып. 1. – С.109 – 111. 5. Кравців Р.Й. Проблеми мікроелементного живлення тварин і птиці, якості виробленої продукції, профілактики мікроелементозів та шляхи їх вирішення // Наук. вісник ЛДАВМ. – Львів, 2000. – Т.2 (№2) – Ч.4. – С.86 – 91. 6. Кондрахін І.П. Вторичная остео дистрофия бычков при интенсивном откорме // Ветеринария – 1980. – №1. – С.53 – 55. 7. Стадник А.М., Федорович В.Л. Современные направления доклинической молекулярной диагностики остео дистрофии // Ученые записки Витеб. гос. акад. вет. медицины. – 2007. – Т.43 – Вып. 1. – С.228 – 230. 8. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани // Медицина, Ленингр. отд., – 1969. – 375с. 9. Стадник А.М., Федорович В.Л., Биць Г.О. Мікроелементний статус кормів і крові корів та метаболічні зміни за ензоотичної остео дистрофії // Наука та практика – 2007: Зб. матеріалів міжнар. наук.-практ. конф. – Полтава, 2007. – С. 250 – 253. 10. Каракашов А.І., Вичев Е. Микрометоды в клинической лаборатории. – София: Медицина и физкультура, 1966. – 256 с. 11. Способ определения гликозаминогликансульфатов в сыворотке крови: А. С. №960626 СССР, М. кл<sup>3</sup>. G 01 №33148. / М.Р. Штерн, О.П. Тимошенко, Ф.С. Леонтьева, Г.Ф. Ключева. (СССР). – №2998857128 – 13; Заявлено 23.10.80. Опубл. 23.09.82. Бюл. №35 – С.163. 12. Nemeth-Csoka M. *Biochim. Biophys. Acta.* – 1961, – V.50. – P.585 – 590. 13. Бауман В.К. Биохимия и физиология витамина D. – Рига: Зинатне, 1989. – 480с. 14. Витамин D и его роль в обеспечении здоровья детей и беременных женщин. Монография. / Е.М. Лук'янова, Ю.Г. Антипкин, Л.И. Омельченко, Л.И. Апуховская. – К.: Эксперт, 2005. – 230с.

Статья передана в печать 26.08.2014 г.