

АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОЧНЫХ ТРАНСАМИНАЗ У КЛЕТОЧНОЙ АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ

Ревякин И.М., Дубина И.Н.

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

В статье изложены обобщенные данные, касающиеся аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы у клеточной американской норки. Проведен анализ их активности у зверей, содержащихся в звероводческих хозяйствах Республики Беларусь. С учетом отсутствия референтных значений трансаминаз предложен подход к диагностике и мониторингу болезней печени в стаде, основанный на параметрах распределения выборки и коэффициенте де Ритиса.

In article the generalized data concerning an aspartate aminotransferase and an alaninaminotransferase at a cell-like American mink are explained. The analysis of their activity at animals the farms of Republic of Belarus which are contained in the zverovodcheskikh is carried out. Taking into account lack of reference values of transaminases, the approach to diagnostics and monitoring of diseases of a liver in herd based on distribution parameters of selection and de Ritis's coefficient is offered.

Ключевые слова: американская норка, аспаратаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, коэффициент де Ритиса.

Keywords: American mink, aspartateaminotransferase, alaninaminotransferase, de Ritis's coefficient.

Введение. В настоящее время одним из основных методов диагностики в ветеринарной медицине является проведение морфологических и биохимических исследований крови, что при наличии известных референтных значений не вызывает особых затруднений. В отличие от большинства отраслей животноводства, в норководстве интерпретация результатов подобных исследований является затруднительной, что объясняется с отсутствием референтных значений для большинства показателей крови. В первую очередь это связано с тем, что по сравнению с другими сельскохозяйственными животными американская норка разводится в неволе относительно недавно и не утратила многие черты, свойственные диким предкам (ускоренный обмен веществ, сезонность размножения и линьки, агрессивность и т.д.). Особенности же нормы реакции состава крови в этой ситуации полностью не изучены.

С другой стороны, даже за столь короткий срок, благодаря направленной селекции, появилось более 150 цветовых типов норки, а масса тела разводимых зверей, по сравнению с дикими, увеличилась почти в 4 раза, что не могло не сказаться на закономерностях обмена веществ и, как следствие, на биохимических показателях крови. При этом следует учитывать, что в каждом хозяйстве используется специфический набор кормовых средств, накладывающий определенный отпечаток на состав крови. В частности, наши исследования, касающиеся ее минерального состава, в различных хозяйствах республики выявили существенное варьирование по содержанию некоторых микроэлементов [8].

С кормлением связана и другая проблема отрасли. В условиях звероводческого хозяйства звери получают большое количество не специфических для их питания в природе кормов, качество которых, оставляет желать лучшего. В результате этого наибольшей нагрузке подвергается печень, являющаяся одним из центральных звеньев в обмене веществ. Поражения этого органа при биохимическом исследовании крови хорошо отслеживаются по уровню активности ряда ферментов, среди которых наиболее «популярны» индикаторные: аспаратаминотрансфераза (АСТ) и аланинаминотрансфераза (АЛТ). Оба фермента имеют отношения к обмену аминокислот и, помимо печени, локализованы в других тканях и органах (миокард, почки, скелетные мышцы и т.д.). Однако, вследствие того, что в печени их больше всего, считается, что их излишнее присутствие в сыворотке крови в первую очередь свидетельствует о поражениях именно этого органа.

Аналізу биохимического состава крови у американской норки посвящено значительное количество работ. Среди них имеются исследования, в которых, по мнению авторов, приводятся показатели активности сывороточных трансаминаз в норме, которые представлены в таблице 1.

Из данных таблицы следует, что активность обоих ферментов для разных групп норок колеблется в довольно широких пределах. Данная ситуация объясняется зависимостью показателей от большого количества факторов. Помимо состояния печени, к таким факторам относятся возраст, цветовой тип, пол, период года, рационы кормления, функциональное состояние ряда органов и т.д. Кроме того, сильное влияние на значения показателей оказывают методы определения. Естественно, при определении доверительного интервала учесть все эти факторы сложно. Немаловажное значение играет и форма представления полученных результатов. Как правило, это средние значения по выборке, которые не дают представления о распределении показателя между отдельными особями. При анализе же активности указанных ферментов важно видеть не только конечный результат, но и тип распределения их значений, а также соотношения друг с другом.

Ввиду вышеизложенного, целью нашего исследования явился анализ активности сывороточных аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в различных хозяйствах Республики Беларусь с учетом закономерностей распределения показателей в выборке и отношений друг к другу.

Таблица 1 - Активность сывороточных трансаминаз у клеточной американской норки, по данным различных авторов, в норме, Е/л

АСТ	АЛТ	де Ритис	Цветовой тип	Возраст	Источник
85,4±13,35*	30,4±9,81*	2,8	-	взрослые	[1,с.43]
232,33±16,90	79,29±4,48	2,9	пастель	2 мес.	[2]
178,24±7,5	101,83±7,8	1,8	СТК	2 мес.	[2]
84,5±10,3	31,3±5,3	2,7	СТК	2 мес.	[4,с.86]
118±5	113±5	1,0	пастель	7 мес.	[7]
66,74	42,8	1,6	-	8 мес.	[6]
85,6±5,20	47,5±4,03	1,8	СТК	взрослые	[4,с.86]
125,6±8,79	80,1±5,35	1,6	СТК	взрослые	[10]
181,4±3,6	105,5±17,6	1,72	СТК	8 мес.	[3]
77,43±13,11*	113,29±15,82*	0,7	СТК	взрослые	[11]

Примечание. *M±s

Материалы и методы исследований. Исследования были проведены на 111 клеточных норках, в различных звероводческих хозяйствах Республики Беларусь в 2013-16 гг. Основные данные по составу выборок и времени проведения исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Некоторые характеристики выборок американской норки, использованной в исследованиях

Гр.	n	Пол	Цветовой тип	Период	Хозяйство
1	20	разнополые	разные цветные	март, 2013	СПК «Остромечево»
2	10	самцы	разные цветные	март, 2014	УП «Пинское зверохозяйство Белкоопсоюза»
3	20	разнополые	сканблэк	ноябрь, 2014	УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза»
4	19	самцы	сканблэк	март, 2015	
5	16	самцы	пастель	март, 2016	

Отбор проб крови у всех животных производился путем отсечения кончика хвоста. Исследования крови выполняли в лаборатории клинической биохимии и гематологии научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО ВГАВМ, аккредитованном в соответствии с СТБ ИСО/МЭК 17025, регистрационный номер: ВУ/122 02.1.0.0870. Активность АСТ и АЛТ определяли кинетически по методу IFCC без пиридоксаля.

Все использованное оборудование является проверенным в соответствии с требованиями СТБ/ISO 17025 в государственных органах, уполномоченных на проведение процедуры проверки.

Полученные результаты были обработаны статистически с вычислением выборочного среднего значения, среднего взвешенного значения (для суммарной выборки), выборочного стандартного отклонения (s), коэффициента вариации (C_v), а также медианы.

Результаты исследований. Известно, что с учетом большой численности разводимых в условиях звероводческих хозяйств норок провести биохимический анализ крови каждому зверю невозможно. Поэтому с этой целью используются выборочные показатели, которые более или менее достоверно дают представление о ситуации в стаде. При этом, как правило, распределение анализируемого признака в выборке не учитывается, а конечный результат дается по форме $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, а m – это ошибка репрезентативности выборочной средней. Такая форма записи, кроме среднего показателя, дает представление только о варьировании признака лишь при условии, что известно число животных в группе. Кроме того, ее преимущество распространяется только на выборки с нормальным распределением. На практике нормальное распределение в чистом виде встречается не всегда. Поэтому для более четкой характеристики исследуемых параметров полезно принимать в расчет и другие статистические показатели. В таблице 3 представлены показатели активности сывороточных трансаминаз у норок из нескольких звероводческих хозяйств в разные годы.

Из таблицы следует, что в целом для всех групп активность трансаминаз, по сравнению с литературными данными (таблица 1), находится на высоком уровне. Однако, с учетом отсутствия референтных значений, прийти к заключению о наличии в группе больных зверей по этим признакам нельзя. Более точно охарактеризовать группы можно, используя медиану. Медиана – это значение, которое делит распределение пополам. При условии нормального распределения медиана равна среднему значению, а чем больше разность между этими показателями, тем больше распределение отклоняется от нормального.

При нормальном распределении биохимические показатели отклоняются от среднего равномерно. Следовательно, в исследуемой выборке либо все животные здоровые, либо среди них присутствуют больные, находящиеся примерно на одной стадии болезни. По данным таблицы 3 замет-

но, что у норок 1-й и 5-й групп распределение активности как АСТ, так и АЛТ максимально приближено к нормальному. Поэтому, в случае если приведенные значения лежат вне пределов доверительного интервала нормы – животные в выборке могут иметь пораженную печень. Если же значения попадают в доверительный интервал, то звери окажутся здоровыми.

Вероятность наличия в выборке больных зверей соразмерно возрастает со степенью отклонения распределения от нормального. Параллельно с этим возрастает и вероятность присутствия животных на разных стадиях болезни. В исследуемых нами группах наибольшая разница между средними значениями и медианами наблюдается в 3-й группе, в которой, наверняка, имеются больные норки.

Таблица 3 – Показатели активности сывороточных трансаминаз и значения коэффициента де Ритиса у норок

Гр.	Показатель	M±m	Me	M-Me	Cv	min	max
1	АСТ, U/L	141,08±7,333	144,97	3,89	23,25	82,23	229,55
	АЛТ, U/L	108,06±6,469	108,96	0,09	26,77	65,03	182,41
	де Ритис	1,40±0,122	1,35	-	38,85	0,75	3,08
2	АСТ, U/L	138,57±18,427	130,43	8,17	42,02	55,31	226,18
	АЛТ, U/L	171,24±19,505	181,53	10,29	35,99	90,20	264,67
	де Ритис	0,89±0,124	0,93	-	43,99	0,21	1,64
3	АСТ, U/L	234,14±15,807	210,80	23,34	30,19	141,60	432,70
	АЛТ, U/L	229,36±24,077	194,74	34,62	46,95	116,80	498,33
	де Ритис	1,15±0,088	1,19	-	34,28	0,53	2,00
4	АСТ, U/L	167,45±13,249	163,10	4,35	34,49	92,50	308,40
	АЛТ, U/L	147,77±19,069	123,85	23,92	56,25	59,01	351,42
	де Ритис	1,40±0,232	1,20	-	72,19	0,59	5,23
5	АСТ, U/L	121,68±4,848	120,15	1,53	15,94	96,2	167,2
	АЛТ, U/L	108,43±4,450	108,84	0,41	16,42	74,65	140,45
	де Ритис	1,14±0,057	1,10	-	19,92	0,88	1,53

Для более полного анализа уровня трансаминаз при отсутствии референтных значений статистических показателей, как правило, оказывается недостаточно. В этом случае целесообразен расчет коэффициента де Ритиса – соотношения аспартатаминотрансферазы к аланинаминотрансферазе. Данный показатель, широко применяющийся в медицинской практике, не только хорошо отражает степень поражения печени, но и позволяет сделать предварительные заключения относительно этиологии этих поражений. Его нормальные значения для здорового человека лежат в пределах 1,3-1,7 [5].

Вопрос о возможности применения показателя де Ритиса для диагностических целей при патологии у норок остается открытым. Его наиболее вероятные значения в норме, исходя из литературных источников, лежат в пределах от 1 до 2,8 (таблица 1). В нашем случае для всех групп, кроме второй, значения коэффициента входят в этот гипотетический интервал. Однако во всех случаях его коэффициент вариации превышает аналогичное значение хотя бы одного из ферментов, чего в норме быть не должно [5]. Следовательно в выборках существуют особи, у которых коэффициент де Ритиса выходит за пределы гипотетического доверительного интервала. С целью конкретизации данного обстоятельства, зверей каждой группы мы разделили на 4 подгруппы (таблица 4).

Таблица 4-Распределения норок по показателю коэффициента де Ритиса, %

Группа	Коэффициент де Ритиса			
	меньше 1	1,00-1,49	1,50-1,99	больше 2
1	25,00	40,00	25,00	10,00
2	70,00	20,00	10,00	00,00
3	35,00	55,00	5,00	5,00
4	31,58	42,11	15,79	10,53
5	37,50	50,00	12,50	00,00

Для животных первой из них значения коэффициента де Ритиса составили меньше 1, что свидетельствует о большей активности АЛТ по сравнению с АСТ. Такая ситуация складывается, когда происходит интенсивное разрушение клеток печени, не затрагивающее их глубокие структуры. Чаще всего это наблюдается при жировой дистрофии печени. Поскольку подавляющее большинство исследований, касающихся норок, свидетельствует в пользу более высокой активности АСТ по сравнению с АЛТ, следует допустить, что обратная ситуация у этого биологического вида, также указывает на наличие гепатоза.

Основываясь на таком подходе, можно предположить, что из 5 групп норок 2-я группа является самой неблагоприятной по жировой дистрофии печени. Большая доля животных с коэффициентом де Ритиса меньше 1 существенно повлияла и на среднее значение этого показателя. Самой благоприятной группой является первая. Помимо того, что здесь наименьший процент поражения гепатозом, средние показатели активности ферментов практически не отклоняются от нормального распределе-

ния. С учетом закономерностей распределения статистических показателей, заслуживает внимания 3-я группа, где при наличии 35% животных с жировой дистрофией печени распределение ферментов наиболее сильно отклоняется от нормального. Одним из вариантов такой закономерности может быть осложнение первичного гепатоза вторичным, что в условиях звероводческих хозяйств встречается довольно часто.

У зверей 2-й подгруппы значения де Ритиса лежат в пределах от 1 до 1,49. При условии нормальных уровней трансаминаз этот интервал можно принять за норму. Его повышение до пределов 1,50–1,99 (3-я подгруппа) свидетельствует о нарастании активности АСТ или снижения активности АЛТ. Отсутствие референтных значений показателей трансаминаз не позволяет с большой точностью интерпретировать данный диапазон.

Наибольшие затруднения вызывает интерпретация значений коэффициента де Ритиса больше 2, когда повышение активности АСТ можно связать с глубокими поражениями печени, затрагивающими митохондрии, что характерно для активных гепатитов, либо с поражениями сердца. Кроме того, увеличение этого показателя способно вызвать снижение активности АЛТ, имеющее место при недостатке витамина В₆. У норок указанный диапазон, с одной стороны, может являться нормой. С другой стороны, у этих животных могут иметь место как активные гепатиты, так и нарушения обмена пиродина. Поэтому, при анализе клинического состояния стада следует процент животных с данным интервалом в выборке сопоставлять с распределением других значений коэффициента. В частности, для приведенных групп норок доля зверей с показателем де Ритиса больше 2 является небольшой. В тех же выборках, где отмечен наибольший процент гепатоза (2 и 5-я группы), такие звери и вовсе отсутствуют. На наш взгляд, такая ситуация свидетельствует об относительном благополучии стада, с точки зрения активных гепатитов и витаминной недостаточности.

Заключение. Таким образом, ввиду отсутствия референтных значений сывороточных трансаминаз для американской норки, представленный подход, на наш взгляд, можно использовать при оценке клинического состояния стада в связи с заболеваниями печени. Учитывая то, что жировая дистрофия печени в связи с особенностями кормления в современных условиях является острой проблемой для звероводческих хозяйств, предложенная методика, на наш взгляд, актуальна. Вместе с тем, следует заметить, что ее использование не пригодно для точной постановки диагноза. Для более полной оценки активности указанных ферментов, их значения необходимо сопоставлять с другими биохимическими показателями крови. Например, поражения печени, отягощенные внутрипеченочным холестаазом, вызывают рост активности щелочной фосфатазы и γ -глутамилтранспептидазы. Кроме того, помимо поражений печени существует целый ряд заболеваний, провоцирующих изменения активности трансаминаз [9]. Однако дифференцированный диагноз в условиях крупных звероводческих хозяйств важен не всегда. С одной стороны это обусловлено большим поголовьем разводимых зверей, когда индивидуальные подходы к диагностике и лечению невозможны. С другой стороны, срок хозяйственного использования норок очень короткий. Поэтому многие болезни не всегда успевают выйти за пределы субклинической стадии. На фоне этого целесообразно проводить общий мониторинг состояния стада, для чего показатели индикаторных ферментов (АСТ и АЛТ) подходят лучше всего. В дальнейшем полученные данные можно сопоставить итоговыми показателями качества шкурковой продукции и воспроизводства.

Литература. 1. Берестов, В. А. Клиническая биохимия пушных зверей : справочное пособие / В. А. Берестов. – Петрозаводск, Карелия, 2005. – 159 с. 2. Березина, Ю. А. Биохимическая картина сыворотки крови молодняка норок / Ю. А. Березина, О. Ю. Беспярых, А.Е. Кокорина // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. – 2011. – № 2 (21). – С. 39-42. 3. Беспярых, О.Ю. Влияние янтарной кислоты на показатели крови норок, больных алейтской болезнью / О. Ю. Беспярых // *Вестник Саратовского университета им. Н. И. Вавилова*. – 2012. – № 7. – С. 5 – 8. 4. Газизов, В. З. Физиологические и зоогиенические основы повышения продуктивности пушных зверей клеточного содержания / В. З. Газимов, С. Л. Жданов, Л. Е. Бояринцев. – Киров. – 2007. – 912с. 5. Молчанов, Д. Коэффициент де Ритиса: современное значение в диагностике заболеваний печени / Д. Молчанов // *Здоровье Украины [Электронный ресурс]* – Киев, 2015. – Режим доступа: http://health-ua.com/pics/pdf/ZU_2014_Gastro_3/43.pdf. дата доступа: 19.06.2016 6. Никонова, Э. Б. Энзиматическая активность сыворотки крови норок и ее коррекция на фоне нарушения минерального обмена / Э. Б. Никонова // *Ветеринарная патология*. – 2006. – № 3. – С. 136 – 139. 7. Перельдик, Д. Н. Биохимические показатели крови норок / Д. Н. Перельдик, В. В. Губский, Н. Е. Куликов // *Кролиководство и звероводство*. – 1980. – № 4. – С. 30-31. 8. Ревякин, И. М. Анализ содержания в цельной крови американской норки марганца, цинка, кобальта и меди / И. М. Ревякин, И. Н. Дубина // *Ученые записки учреждения образования Витебская государственная академия ветеринарной медицины : научно-практический журнал*. – Витебск : УО ВГАВМ, 2014. – Т. 51, вып. 1, ч.1. С. 119-122. 9. Терещенко, Ю. А. Бессимптомное повышение активности сывороточных аминотрансфераз: этапы диагностического поиска / Ю. А. Терещенко, С. Ю. Терещенко // *Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии*. – 2014. - № 1. – С. 29 – 38. 10. Экологическое значение сезонной изменчивости биохимических показателей крови американских норок и серебристо-черных лисиц / Ц. Ж. Батоев [и др.] // *Вестник Бурятского государственного университета*. – 2013. – № 4. – С. 179 – 184. 11. Nowakowicz-Debek, B. Chosen blood biochemical parameters in free-living wild and farmed minks, foxes and raccoon dogs / B. Nowakowicz-Debek // *Veterinarija ir zootechnika (Vet Med Zoot)*. – 2015. – Т. 70 (92). – Р. 48-52.

Статья передана в печать 18.08.2016 г.