

На правах рукописи



Пилипченко Ольга Владимировна

**Системное действие лейкоза
на изменение функций печени у коров**

16.00.02 - Патология, онкология и морфология животных

Автореферат

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук**

Саратов – 2006

Работа выполнена на кафедре биотехнологии, органической и биологической химии ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова»

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Блинов Валерий Анатольевич

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Бирбин Семён Степанович

кандидат ветеринарных наук,
Якунин Константин Александрович

Ведущая организация: ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

Защита состоится «3» февраля 2006 г. в 11.00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.061.01 в ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова» по адресу: 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова»

Автореферат разослан «20» декабря 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



А.В. Егунова

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1 Актуальность темы. Лейкоз крупного рогатого скота наносит существенный экономический урон животноводству из-за массовой выбраковки больного скота, недополучения приплода, нарушения племенной работы, увеличения затрат, связанных с проведением комплекса профилактических и оздоровительных мероприятий, а также необходимости утилизации пораженных органов и туш (А.П. Кузнецов с соавт., 1993, 2002; А.И. Павлова, 1999; М.И. Гулюкин с соавт., 2002; А.И. Кузин, 2002; Ю.П. Смирнов, 2002; И.Н. Резяпкин, 2003; О.Н. Паршина, 2004; С. Janicki et al., 1981; A. Butny, 1987; C. Jimenez et al., 1995; N.L. Harris, 1999; L.A. Leuzzi et al., 2001). Несмотря на очевидную важность этой проблемы многие стороны лейкоза (этиология, патогенез, особенности клиники, их взаимосвязь с нарушениями обмена веществ и функций) до сих пор исследованы явно недостаточно (Т.П. Кудрявцева, 1980; Е.А. Дун с соавт., 1982; Л.Г. Бурба с соавт., 1988; В.В. Разумовская, 2001; И.Г. Удина, 2001; В.А. Доронин, 2003; А.С. Цагадаева, 2003; Г.В. Сноз, 2005; Е.С. Jaffe, 2001; A. Dash, 2001; С.Т. Jordan, 2002; N.E. Kay et al., 2002). Исходя из этого, углубленное изучение системного влияния лейкоза на метаболизм и функции больных животных, является весьма актуальной задачей современной ветеринарии.

Однако надо подчеркнуть, что сведения о сдвигах обменных процессов в организме лейкозных коров немногочисленны и нередко противоречивы. Так, практически отсутствуют данные о системном действии заболевания на такие специфические функции печени как глюконеогенная и мочевинообразовательная. Между тем, именно печень играет фундаментальную роль в метаболизме всех важнейших соединений (Э. Ньюсхолм, К. Старт, 1977; С.М. Лейтес, 1978; А.И. Хазанов, 1988, 2003; Д.Г. Кнорре с соавт., 2003; Б.В. Уша с соавт., 2003), а ее глюконеогенная функция, в связи с особенностями пищеварения жвачных, необходима для поддержания гомеостаза углеводов (В.С. Шапот, 1973, 1974; В.А. Блинов, 1995, 2003; С.Ю. Зайцев, 2004). Кроме того, в литературе даже не обсуждается вопрос о системном влиянии лейкоза коров-матерей на клинко-гематологический статус, обмен веществ и функциональное состояние печени их потомства.

Разработка указанных проблем может стимулировать новые подходы для изучения патогенеза лейкозов, позволит с ранее неизвестных позиций оценивать функциональное состояние печени, наметить конкретные пути патогенетически обоснованной коррекции обмена веществ и терапии животных больных лейкозом.

1.2 Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилось изучение влияния лейкоза на изменение клинко-гематологических показателей, динамику углеводного, белково-азотистого обмена, глюконеогенной и мочевинообразовательной функций печени у больных коров.

Для реализации этой цели были поставлены *следующие задачи*:

1. Изучить клинко-гематологический статус коров черно-пестрой породы, пораженных лейкозом.

2. Выяснить в динамике сдвиги углеводного обмена и глюконеогенной функции печени у лейкозных коров в зависимости от степени тяжести патологического процесса.

3. В организме больных коров в динамике изучить белково-азотистый обмен и состояние мочевинообразовательной функции печени в зависимости от клинико-гематологических проявлений лейкоза.

4. Изучить влияние лейкоза коров-матерей на клинико-гематологическую картину, метаболизм углеводов и белков, а также на специфические функции печени их потомства.

1.3 Объект исследования. Здоровые и больные лейкозом коровы, а также их потомство, в возрасте 30 дней.

1.4 Предмет исследования. Сыворотка крови, углеводный и белково-азотистый обмен, глюконеогенная и мочевинообразовательная функции печени у здоровых, лейкозных коров и их потомства.

1.5 Научная новизна. Впервые в динамике установлено, что развитие лейкоза у коров сопровождается существенным снижением содержания глюкозы в сыворотке крови. У животных, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС), в среднем за 12 месяцев эксперимента уровень глюкозы в сыворотке крови, по сравнению со здоровыми животными, снизился на 21,3%, а у коров, с гематологическими проявлениями лейкоза – на 36,2%.

Впервые показано, что у коров, инфицированных ВЛКРС, не развивается глубокая гипогликемия из-за усиления глюконеогенной функции печени. Напротив, у коров с гематологическими проявлениями лейкоза, значительная гипогликемия является следствием угнетения в печени синтеза глюкозы из углеводовных соединений.

У коров, пораженных лейкозом, развивается дисбаланс белково-азотистых соединений: в сыворотке крови у них снижается содержание общего белка, мочевины, орнитина и активность аргиназы и повышается активность аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, концентрация аммиака и глутамина. Полученные данные ранее были неизвестны и свидетельствуют об угнетении мочевинообразовательной функции печени у лейкозных коров.

Впервые установлено, что лейкоз коров-матерей оказывает отчетливое системное действие на метаболизм и функциональное состояние печени их потомства. У таких телят снижена живая масса тела, в периферической крови уменьшено число эритроцитов, при одновременном повышении числа лейкоцитов, преимущественно за счет лимфоцитов. У них развивается тенденция к нарушению углеводного и белково-азотистого обмена, глюконеогенной и мочевинообразовательной функций печени.

1.6 Теоретическая и практическая значимость работы. Комплексное изучение углеводного, белково-азотистого обмена и специфических (мочевинообразовательная, глюконеогенная) функций печени позволило раскрыть ранее неизвестные стороны патогенеза лейкоза коров, в том числе в зависимости от проявлений заболевания. Полученные данные патогенетически

обосновывают коррекцию нарушенного метаболизма и терапию лейкоза жвачных.

Угнетение указанных функций печени следует использовать в качестве дополнительного теста при проведении углубленной диагностики лейкоза коров.

Установленный факт системного действия лейкоза коров-матерей на их потомство, диктует необходимость повышенного внимания специалистов к таким телятам.

1.7 Апробация и реализация результатов исследования. Результаты научных исследований доложены, обсуждены и одобрены на Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (г. Ульяновск, 25-26 сентября 2003 г.), на Межрегиональной научной конференции молодых ученых и специалистов системы АПК Приволжского федерального округа (г. Саратов, 2-5 ноября 2003 г.), на Международной научно-практической конференции «ЭМ-технология - сельскому хозяйству» (г. Саратов, 11-13 ноября 2003 г.), на Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 117-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова (г. Саратов, 24-26 ноября 2004 г.), на Международной научно-практической конференции «Наука – сельскохозяйственному производству и образованию», посвященной 30-летию со дня образования ФГОУ ВПО «Смоленский СХИ» (г. Смоленск, 14-15 декабря 2004 г.), на ежегодных научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова» по итогам научно-исследовательской и учебно-методической работы (г. Саратов, 2-6 февраля 2004 г., 4-8 февраля 2005 г.), на конференции, посвященной 118-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова (г. Саратов, 23-25 ноября 2005 г.).

Результаты научных исследований внедрены в производство через Саратовский ЦНТИ (информационные листки №№13 и 14-2005), закреплены актом внедрения от 24.05.2004 г., и используются в учебном процессе кафедры биотехнологии, органической и биологической химии ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова».

1.8 Публикация результатов исследования. Основные положения диссертации опубликованы в восьми работах.

1.9 Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 136 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и списка литературы, включающего 247 источников литературы, в том числе 97 зарубежных. Работа иллюстрирована 12 таблицами и 17 рисунками.

1.10 Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Характеристика клинико-гематологического статуса коров, пораженных лейкозом.
2. Изменение углеводного обмена и глюконеогенной функции печени у лейкозных коров.

3. Динамика белково-азотистого обмена и мочевинообразовательной функции печени у коров при лейкозе.
4. Системное действие лейкоза коров-матерей на некоторые клинико-лабораторные показатели их потомства.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в 2002-2005 гг. на базе СПК им. Чапаева Петровского района и СПК «Орловское» Ново-Бурасского района Саратовской области и в научной лаборатории кафедры биотехнологии, органической и биологической химии ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ». В опытах находилось 127 коров чернопестрой породы, из них здоровых было 45, пораженных лейкозом – 82. Кроме того, под нашим наблюдением находилось 24 теленка, двенадцать из которых получены от здоровых, а двенадцать – от лейкозных коров.

В зависимости от задач исследования все животные были разделены по принципу групп-аналогов. Первую группу составили коровы, у которых в крови не выявлялись специфические антитела к вирусу лейкоза крупного рогатого скота (РИД(-)); вторую – коровы, инфицированные вирусом лейкоза крупного рогатого скота, т.е. с подозрением на лейкоз (РИД(+)) и третью – большие животные с гематологическими проявлениями лейкоза (ГЕМ(+)).

Диагноз «лейкоз крупного рогатого скота» ставился комплексно, с учетом эпизоотической обстановки в хозяйстве, на основании серологического и морфологического исследования крови, анализа патологоанатомических и гистологических данных, согласно Приказа №13-7-2/2130 Минсельхоза России от 23.08.2000 «Об утверждении методических указаний по диагностике лейкоза крупного рогатого скота».

Клинический статус животных оценивали по общепринятым методикам с тщательным исследованием всех систем организма (А.М. Смирнов с соавт., 1981). Материалом для гематологических исследований служила кровь, взятая натошак из яремной вены жвачных; для биохимических анализов из цельной крови готовили сыворотку.

Гематологические исследования включали определение общего числа эритроцитов и лейкоцитов, выведение лейкоформулы (Л.А. Данилова, 2002). В сыворотке крови изучали содержание глюкозы высокоспецифическим ферментативным глюкозооксидазным методом (В.В. Меньшиков, 1987) с помощью наборов реактивов «Фотоглюкоза» производства ООО «Импакт»; общего белка рефрактометрическим методом (В.А. Блинов с соавт., 1996); мочевины – по реакции с диацетилмонооксимом (В.С. Камышников, 2000) с помощью наборов реактивов ООО «Агат-Мед»; глутамина и аммиака по методу А.И. Силаковой и др. (1962); орнитина и активность аргиназы исследовали по методике В.А. Храмова и др. (1973); аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) динитрофенилгидразиновым методом Райтмана-Френкеля (Ф.И. Комаров с соавт., 2002).

Изучение гликогеногенной функции печени у животных проводили по методике Н.В. Блиновой (1988) путем нагрузочной пробы глицерином. Эта методика позволяет построить гликемические кривые, рассчитать прирост

глюкозы, образовавшейся из глицерина, скорость глюконеогенеза, толерантность периферических тканей к глюкозе глюконеогенного генеза, а также изучить влияние перорального введения глицерина животным на сдвиги белково-азотистого обмена.

Все исследования проводили в первый день начала эксперимента для получения исходных данных, затем через 15 дней, далее через 1, 2, 3, 6, 9 и 12 месяцев. Статистическую обработку полученных данных осуществляли на персональном компьютере Pentium IV с помощью стандартного пакета статистических программ Microsoft Excel. Достоверность различий определяли методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента (В.Л. Петухов с соавт., 1996), различия считали достоверными при $P < 0,05$.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клиника коров больных лейкозом

Клинический статус коров, инфицированных ВЛКРС и здоровых жвачных оказался практически одинаковым. Что касается коров с гематологическими проявлениями лейкоза, то для них был характерен дискомфорт, вялость, беспричинное беспокойство, они плохо переносили высокую температуру воздуха. Аппетит у таких жвачных несколько снижен, жвачка вялая, отрыжка редкая. Слизистые оболочки - бледные с желтушным оттенком. У некоторых лейкозных коров отдельные поверхностные лимфатические узлы разной локализации увеличены, подвижны, безболезненны и эластичны. На протяжении опыта температура тела у больных лейкозом коров не имела существенных различий. Со стороны сердечно-сосудистой системы отмечалась брадикардия, ослабление сердечных тонов и пульса, иногда аритмия. У больных животных была нарушена моторика желудочно-кишечного тракта (периодические запоры и поносы), а граница печеночного притупления несколько увеличена. Полученные нами клинические данные не отличались от ранее известных (Т.П. Кудрявцева, 1980; В.М. Лемеш с соавт., 1986; Л.Г. Бурба с соавт., 1988; Н.И. Петров, 2001).

3.2 Морфологическая картина крови коров больных лейкозом

Результаты морфологических исследований периферической крови свидетельствуют о том, что у коров, инфицированных вирусом лейкоза, в среднем на 7,2% снижено число эритроцитов, а число лейкоцитов, напротив, увеличено на 44,5% (таблица 1). В лейкоформуле коров указанной группы статистически достоверно снижен процент сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов, соответственно на 25,0 и 26,5%, по сравнению с нормой. У коров с подозрением на лейкоз в 1,9 раза снижен процент эозинофилов, и число моноцитов оказалось на 40,2% меньше, чем у жвачных контрольной группы. Процент лимфоцитов в лейкограмме у коров, инфицированных ВЛКРС, оказался на 18,4% выше, чем у контрольных животных. В то же время нам не удалось обнаружить статистически достоверных различий в содержании базофилов крови в группах инфицированных ВЛКРС и здоровых коров.

Наконец, процент лимфоцитов у больных лейкозом коров оказался равным $90,67 \pm 0,50\%$ от общего числа лейкоцитов, тогда как у здоровых и инфицированных вирусом лейкоза коров, он был меньше, соответственно на 48 и 25%.

3.3 Клиника и морфология периферической крови у телят, родившихся от лейкозных коров

Под наблюдением находились телята в возрасте 30 дней, полученные от здоровых и лейкозных коров. Общее состояние телят, родившихся от лейкозных матерей, не отличалось от нормы: аппетит у них был хороший, каких-либо отклонений со стороны жизненно-важных органов и систем не установлено. Однако у этих телят имелась тенденция к повышению температуры тела, учащению числа сердечных сокращений и дыхательных движений. Весьма существенно то, что у телят опытной группы на 13,7% ($P < 0,01$) снижена живая масса тела.

У потомства, родившегося от коров пораженных лейкозом, число эритроцитов в периферической крови было снижено на 8,5% ($P < 0,001$), а общее число лейкоцитов, напротив, повышено на 7,6% ($P < 0,01$), за счет увеличения доли лимфоцитов в среднем на 8,8% ($P < 0,05$), по сравнению со телятами, полученными от здоровых коров.

Остальные показатели лейкоцитарной формулы у телят обеих групп не имели статистически достоверных различий.

3.4 Характеристика глюконеогенной функции печени у лейкозных коров и их потомства

Нами установлено, что содержание глюкозы в сыворотке крови коров, инфицированных вирусом лейкоза, от первого к двенадцатому месяцам опыта постепенно снижалось и в среднем оказалось на 21,3% ниже, чем у здоровых животных. Еще более отчетливо выраженное снижение уровня глюкозы в сыворотке крови мы наблюдали у коров, с гематологическими сдвигами, характерными для лейкоза. В начале опыта концентрация глюкозы в сыворотке крови у них составляла $3,04 \pm 0,04$ ммоль/л, а через год - всего $2,24 \pm 0,07$ ммоль/л ($P < 0,001$) и в среднем оказалась ниже, чем у здоровых и инфицированных ВЛКРС животных соответственно на 36,2 и 19,0%. Следовательно, у лейкозных жвачных развивается тенденция к хронической гипогликемии, степень выраженности которой находится в зависимости от стадии болезни.

Как известно, постоянство содержания глюкозы в периферической крови обеспечивается многими регуляторными механизмами, в том числе и глюконеогенезом как процессом. Исходя из этого, в дальнейшем, была прослежена взаимосвязь между содержанием глюкозы в сыворотке крови и интенсивностью глюконеогенной функции печени у животных всех обследуемых групп. Для оценки глюконеогенеза *in vivo* была использована однократная пероральная нагрузка глицерином. Полученные гликемические кривые показали, что у всех групп животных максимальный подъем уровня глюкозы, образовавшейся из глицерина, был к первому часу исследования. Однако у здоровых коров, содержание глюкозы повысилось на 33,6%, у

инфицированных ВЛКРС - на 40,9%, а у животных с гематологическими сдвигами – всего на 20,9%. Значит, у последних «глюконеогенный» ответ организма на нагрузку глицирином оказался самым неэффективным. Именно поэтому у них и был самым низким уровень глюкозы в сыворотке крови.

Данные гликемических кривых позволили рассчитать прирост новообразованной глюкозы за три часа опыта (рисунок 1). Этот показатель у жвачных здоровой группы за 12 месяцев эксперимента составил в среднем $1,95 \pm 0,08$ ммоль/л, у инфицированных ВЛКРС - $2,22 \pm 0,13$ ммоль/л, а у больных лейкозом - всего $1,02 \pm 0,06$ ммоль/л.

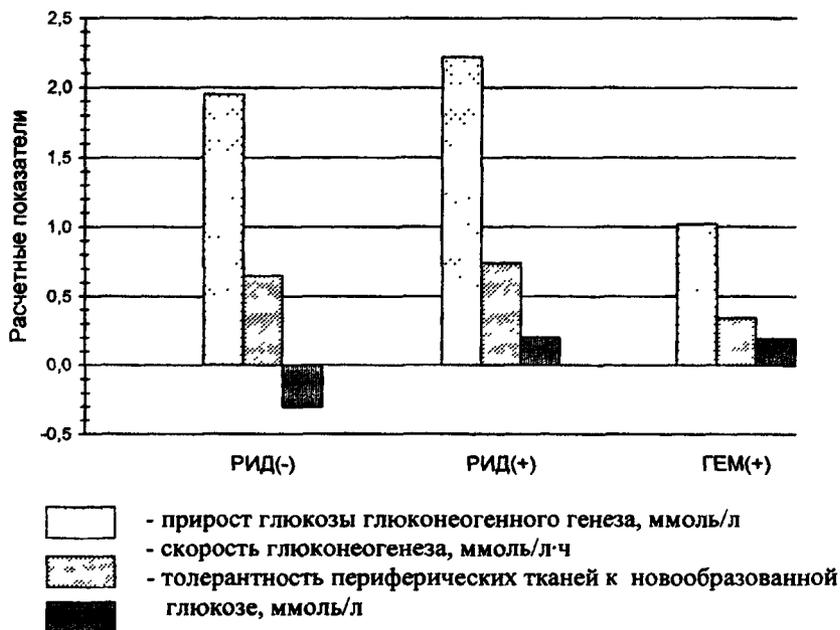


Рисунок 1 – Динамика показателей глюконеогенеза у здоровых и лейкозных коров

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у коров с гематологическими изменениями, характерными для лейкоза, существенно ослаблена глюконеогенная функция печени. Подтверждение этому мы обнаружили и при анализе скорости глюконеогенеза. Действительно, у жвачных, с подозрением на лейкоз, скорость глюконеогенеза за весь период эксперимента составляла в среднем $0,74 \pm 0,04$ ммоль/л·ч, у больных лейкозом коров - $0,34 \pm 0,01$ ммоль/л·ч, против нормы - $0,65 \pm 0,03$ ммоль/л·ч.

Дополнительная оценка гликемических кривых глюконеогенного генеза, кроме того, позволила установить, что к третьему часу эксперимента уровень глюкозы в сыворотке крови здоровых коров опускался ниже исходного. В то время как у коров, пораженных лейкозом, не наблюдалось возврата уровня

глюкозы в сыворотке крови к тощаковому значению. Это свидетельствует о повышении порога чувствительности периферических тканей больных животных к глюкозе глюконеогенного генеза (рисунок 1).

Итак, у лейкозных коров глюкоза, образовавшаяся из глицерина, хуже усваивается периферическими тканями, чем у здоровых животных. Мы считаем, что у коров, инфицированных ВЛКРС, повышена лабильность обмена углеводов, что позволяет им сохранять уровень глюкозы в крови на нижней границе нормы. У больных лейкозом жвачных, по-видимому, снижена чувствительность ферментных систем к индуцирующему глюконеогенез действию глицерина, что проявляется ослаблением глюконеогенной функции печени и, как следствие этого, развитием значительного снижения содержания глюкозы в периферической крови.

В последующих экспериментах было установлено, что у потомства, полученного от лейкозных коров, развивается тенденция ($P > 0,05$) к снижению содержания глюкозы в сыворотке крови натощак (на 8,7%) и уменьшению прироста глюкозы глюконеогенного генеза (на 3,0%). Вместе с тем, у телят, родившихся от больных коров, существенно, в 2,8 раза, повышается толерантность периферических тканей к углеводам. По нашему мнению, это является результатом действия компенсаторно-приспособительных механизмов, направленных на поддержание физиологической концентрации глюкозы в периферической крови у потомства в ответ на имевшееся системное гипогликемическое действие лейкоза коров-матерей.

3.5 Сдвиги белково-азотистого обмена и мочевинообразовательной функции печени у лейкозных коров и их потомства

Установлено, что содержание общего белка натощак в сыворотке крови у коров, инфицированных ВЛКРС, оказалось всего на 3,1% ниже, чем в контроле (таблица 2). В то же время у больных коров содержание общего белка в сыворотке крови было ниже, чем у здоровых и инфицированных ВЛКРС жвачных на 18,1 и 15,5%.

Системное действие лейкоза отчетливо проявлялось в изменении активности ферментов трансаминирования. Так, активность аланинаминотрансферазы в сыворотке крови у коров, инфицированных вирусом лейкоза, на протяжении всего опыта в среднем была больше на 15,2%, чем у здоровых жвачных. У коров с гематологическими изменениями, активность аланинаминотрансферазы в сыворотке крови натощак оказалась выше, чем у здоровых и инфицированных ВЛКРС животных соответственно в 1,9 и 1,7 раза.

Активность аспаратаминотрансферазы в сыворотке крови коров с подозрением на лейкоз также была выше, чем у здоровых жвачных, в среднем на 6,0%. Активность этого фермента у коров, больных лейкозом, оказалась выше, чем у здорового и инфицированного ВЛКРС поголовья, соответственно на 60,3 и 48,7%.

Полученные данные свидетельствуют о существенном изменении в системе трансаминирования аминокислот у больных жвачных. Причем у лейкозных коров всегда преобладала активность аланинаминотрансферазы.

Таблица 2 – Сдвиги биохимических показателей крови у обследованных коров

Группы животных	РИД(-)	РИД(+)	ГЕМ(+)	P ₁	P ₂	P ₃
Показатели						
Общий белок, г/л	64,1±0,3	62,1±0,4	52,5±0,4	<0,01	<0,001	<0,001
АЛТ, нмоль/с·л	125,01±5,82	144,01±3,97	242,56±11,25	<0,05	<0,001	<0,001
АСТ, нмоль/с·л	143,26±4,60	154,45±5,24	229,69±6,77	<0,01	0,001	0,001
Мочевина, ммоль/л	6,67±0,08	5,80±0,05	4,84±0,07	<0,001	<0,001	<0,001
Глутамин, мкмоль/л	0,038±0,002	0,048±0,003	0,073±0,003	<0,001	<0,001	<0,001
Аммиак, мкмоль/л	0,112±0,004	0,129±0,003	0,164±0,004	<0,01	<0,001	<0,001
Орнитин, мкмоль/л	4,34±0,06	4,34±0,04	4,01±0,08	>0,5	<0,01	<0,01
Аргиназа, мкмоль/0,1мл сыворотки крови	0,075±0,004	0,054±0,004	0,035±0,005	<0,01	<0,001	<0,001

Примечание: P₁ - достоверность различий между РИД(-) и РИД(+),
P₂ - между РИД(-) и ГЕМ (+), P₃ - между РИД(+) и ГЕМ (+)

На это указывают не только абсолютные цифры активности трансаминаз, но и снижение коэффициента де Ритиса (отношение АСТ/АЛТ), который у здоровых коров был равен 1,14, а у инфицированных ВЛКРС и больных животных соответственно 1,07 и 0,95.

Что касается метаболитов орнитинового цикла мочевинообразования (мочевина, аммиак, орнитин) и активности аргиназы, то они изменялись следующим образом. У коров с подозрением на лейкоз содержание мочевины в сыворотке крови за весь период опыта оказалось меньше, чем в контроле, в среднем на 12,1%, а у больных животных - на 26,7%. У последних жвачных оно было ниже, чем у инфицированных ВЛКРС коров на 16,6%. Полученные результаты косвенно могут отражать недостаточную интенсивность образования мочевины в печени у лейкозных жвачных. Об этом свидетельствует не только снижение уровня орнитина в сыворотке крови больных коров, но и резкое падение активности аргиназы – последнего фермента цикла мочевинообразования, катализирующего расщепление аргинина на орнитин и мочевину. Действительно, у животных,

инфицированных ВЛКРС, активность аргиназы оказалась на 28,0%, у а больных коров – на 53,3% ниже, чем жвачных контрольной группы.

Полученные данные а ргіоті позволяют предположить повышение содержания аммиака в крови у лейкозных животных. Действительно, у жвачных, инфицированных вирусом лейкоза, концентрация аммиака в сыворотке крови натошак на протяжении всего наблюдения была в среднем на 13,2%, а у больных лейкозом коров – на 46,4% выше, чем у здоровых жвачных. Причем, содержание аммиака в сыворотке крови коров с гематологическими сдвигами было всегда выше, чем у инфицированных ВЛКРС животных, в среднем на 27,1%.

Итак, у животных, пораженных лейкозом, детоксикация аммиака осуществляется не в полной мере, из-за существенного ослабления мочевинообразовательной функции печени, которая нарушается в большей степени у коров с гематологическими изменениями.

Однако детоксикация аммиака в организме, как известно, осуществляется не только в орнитиновом цикле мочевинообразования. Значительная роль в обезвреживании этого токсического агента принадлежит системе глутаминовая кислота – глутамин. Нами установлено, что содержание глутамин в сыворотке крови у коров, инфицированных ВЛКРС, оказалось на 26,3% больше, чем у животных здоровой группы. Для коров, с гематологическими проявлениями лейкоза, также весьма характерным оказалось возрастание концентрации глутамин. Уровень этого метаболита у них был в 1,9 раза выше, чем у коров здоровой группы и в 1,5 раза выше, чем у инфицированных ВЛКРС жвачных.

Исходя из этого, можно заключить, что у лейкозных коров для детоксикации аммиака восстановительное аминирование глутаминовой кислоты приобретает особое значение. Однако, обезвреживающая аммиак роль системы глутаминовая кислота – глутамин, в валовом отношении, всегда менее значительна, чем орнитинового цикла мочевинообразования. Иными словами, лейкозные коровы, из-за развивающегося дисбаланса систем обезвреживания аммиака, вынуждены находится в состоянии хронической гипераммониемии.

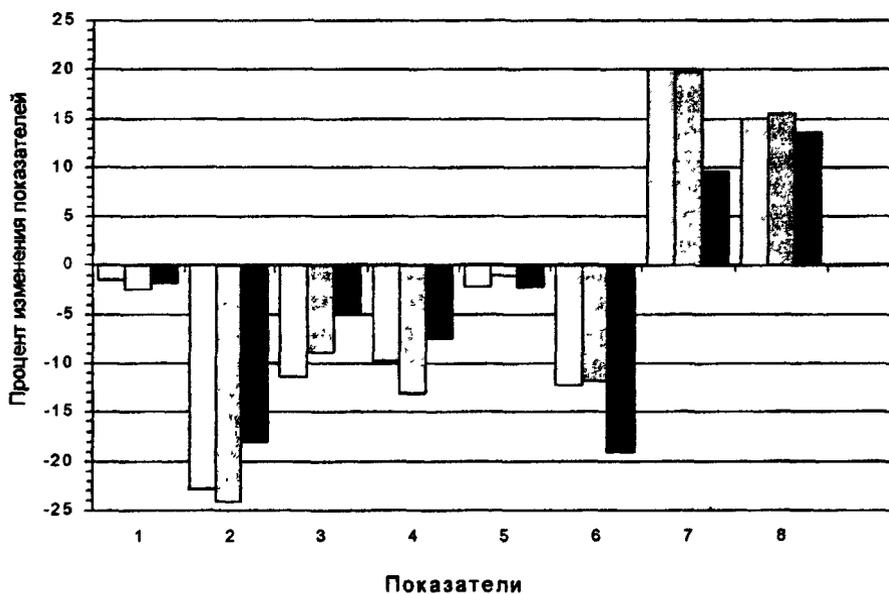
В следующей серии экспериментов, было выяснено, что у потомства полученного от лейкозных коров развивается тенденция к нарушению белково-азотистого метаболизма. У них, по сравнению с телятами, полученными от здоровых коров, в сыворотке крови на 4,1% снижено содержание общего белка, на 8,2% - мочевины, на 16,1% - орнитина и на 24,1% снижена активность сывороточной аргиназы. В то же время в сыворотке крови телят, полученных от лейкозных коров, содержание глутамин соответствовало норме, а уровень аммиака был выше, в среднем на 10,8%. Что касается активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, то в сыворотке крови подопытных телят, она была выше нормы, соответственно на 29,0% и 23,7%.

3.6 Влияние нагрузки глицерином на белково-азотистый обмен у лейкозных коров и их потомства

Приведем теперь результаты метаболического ответа организма коров всех трех групп на однократную пероральную нагрузку глицерином, который

обладает явно выраженным азотсберегающим и регулирующим белково-азотистый обмен действием (рисунок 2).

Было установлено, что у здоровых коров через три часа после перорального введения глицерина содержание общего белка в сыворотке крови снизилось на 1,4% ($P < 0,05$), а у инфицированных вирусом лейкоза и у больных животных, соответственно на 2,4 и 1,8%, но не имело достоверных различий ($P > 0,05$) с тощачковым значением. Под влиянием глицерина в сыворотке крови у всех коров весьма значительно снижалась концентрация мочевины: у здоровых – на 22,9%, у инфицированных вирусом лейкоза – на 24,2%, и у больных лейкозом – на 18,0%. Нагрузка глицерином вызывала снижение и уровня глутамина в сыворотке крови всех жвачных ($P < 0,001$): у здоровых – на 11,4%, у инфицированных вирусом лейкоза – на 8,9% и у больных лейкозом – на 4,8%. Что касается аммиака, то его содержание после введения глицерина у здоровых коров снижалось – на 9,7% ($P > 0,05$), у инфицированных ВЛКРС – на 13,0% ($P < 0,01$) и у коров с гематологическими сдвигами – на 7,4% ($P > 0,05$).



□ – РИД(-), ▨ – РИД(+), ▩ – ГЕМ(+) коровы,

0 – исследованные показатели до введения глицерина,
 1 – общий белок, 2 – мочевина, 3 – глутамин, 4 – аммиак, 5 – орнитин,
 6 – активность аргиназы, 7 – активность АЛТ, 8 – активность АСТ

Рисунок 2 – Влияние нагрузки глицерином на изменение некоторых показателей сыворотки крови у здоровых и больных коров

Пероральное введение глицерина практически не изменило в крови коров содержание орнитина. Весьма существенно на нагрузочную пробу реагировала активность сывороточной аргиназы. Действительно, у здоровых жвачных, получавших глицерин, снижение аргиназной активности в сыворотке крови составляло в среднем 12,2% ($P < 0,01$), у коров с подозрением на лейкоз – 11,8% ($P < 0,001$), а у больных лейкозом жвачных – 19,0% ($P < 0,001$).

Как установлено далее, активность аланинаминотрансферазы после нагрузочной пробы у животных всех групп повышалась: у здоровых - на 20,1% ($P < 0,05$), у инфицированных ВЛКРС – на 19,8% ($P < 0,001$) и у больных коров - на 9,5% ($P > 0,05$). Активность аспаратаминотрансферазы изменялась после введения глицерина следующим образом: у здоровых коров и коров, инфицированных ВЛКРС, она возрастала в среднем на 15,0% ($P < 0,05$), а у больных жвачных - на 13,5% ($P < 0,01$).

Следовательно, нами на лейкозных коровах было подтверждено белок- и азотстабилизирующее действие глицерина. Однако инфицированные вирусом лейкоза и больные лейкозом жвачные оказались более резистентными к действию глицерина, особенно это касается коров с гематологическими изменениями.

В последующем нами было изучено влияние однократной нагрузки глицерином на изменение показателей белково-азотистого обмена у потомства здоровых и лейкозных коров. Установлено, что эта нагрузка не изменила содержание общего белка, глутамина, орнитина и активность аргиназы в сыворотке крови телят обеих групп ($P > 0,05$). В то же время, пероральное введение глицерина способствовало снижению содержания мочевины: у здоровых телят – на 17,4%, а у подопытных – на 7,0% ($P < 0,01$) и уровня аммиака, соответственно на 31,2% и 5,8% ($P < 0,05$). Однако глицериновая нагрузка, как и у взрослых животных, инициировала повышение активности АЛТ и АСТ в сыворотке крови у всех телят: у здоровых - соответственно на 26,7% и 13,2% ($P < 0,05$), у телят, полученных от больных коров - на 13,9% и 10,6% ($P < 0,01$). Таким образом, нами показано, что потомство лейкозных коров отвечает на нагрузку глицерином менее отчетливо, чем телята контрольной группы, то есть у них повышена метаболическая резистентность организма в ответ на введение глицерина.

4 ВЫВОДЫ

1. У коров, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота и у коров с гематологическими проявлениями лейкоза, по сравнению со здоровыми животными, снижено в крови число эритроцитов, соответственно на 7,2% и 8,7%, а число лейкоцитов, напротив, оказалось выше, соответственно в 1,5 и 4 раза, в основном за счет увеличения доли лимфоцитов (в 1,2 и 1,5 раза). У лейкозных коров в лейкоформуле существенно снижен процент сегментоядерных, палочкоядерных нейтрофилов, эозинофилов и моноцитов, причем, всегда значительнонее у больных лейкозом жвачных.

2. Впервые у жвачных, пораженных лейкозом, в динамике установлена тенденция к снижению содержания глюкозы в сыворотке крови. За двенадцать

месяцев наблюдения уровень глюкозы в сыворотке крови коров, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота, снизился в среднем на 21,3%, а у больных лейкозом – на 36,2%, по сравнению со здоровыми животными.

3. В организме коров, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота, в ответ на тенденцию к хронической гипогликемии компенсаторно усиливается глюконеогенная функция печени. У жвачных, больных лейкозом, интенсивность этой специфической функции печени оказывается недостаточной для противодействия глубокой гипогликемии. У лейкозных коров существенно повышается толерантность периферических тканей к глюкозе, образовавшейся из глицерина.

4. Лейкоз крупного рогатого скота, сопровождается снижением в сыворотке крови содержания общего белка и повышением активности аланинаминотрансферазы (у коров, инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота - на 15,2%, а у коров, пораженных лимфолейкозом – на 94,0%) и аспартатаминотрансферазы (соответственно на 7,8% и 60,3%), относительно аналогичных показателей здорового поголовья.

5. Впервые установлено, что у коров больных лейкозом угнетается мочевинообразовательная функция печени, что проявляется снижением содержания в крови мочевины, активности сывороточной аргиназы и одновременным повышением уровня аммиака. У больных животных усиливается детоксикация аммиака в системе глутаминовая кислота – глутамин. При проведении оценки метаболического ответа организма лейкозных коров на пероральную однократную нагрузку глицерином установлено, что они оказались более резистентными к действию глицерина, особенно это касается коров с гематологическими изменениями.

6. Системное действие лейкоза коров-матерей проявляется у их потомства снижением живой массы тела, на 13,7%, числа эритроцитов, на 8,5% и увеличением общего числа лейкоцитов на 7,6%. Процентное содержание лимфоцитов в периферической крови у подопытных телят оказалось на 8,8% выше, чем у здорового молодняка.

7. У телят, полученных от лейкозных коров, уровень глюкозы в сыворотке крови был ниже нормы и у них повышен порог чувствительности периферических тканей к глюкозе глюконеогенного генеза. Дисбаланс белково-азотистого обмена у потомства лейкозных коров проявляется тенденцией к снижению в сыворотке крови содержания общего белка, мочевины, орнитина, активности аргиназы, при одновременном повышении содержания аммиака, активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы. Впервые показано, что у потомства лейкозных коров, по сравнению с контрольными телятами, повышена метаболическая резистентность организма в ответ на введение глицерина.

5 ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Полученные результаты исследований следует использовать для оценки метаболического статуса и специфических функций печени у лейкозных коров

и их потомства.

В качестве дополнительного теста при проведении углубленной верификации лейкоза коров предложена нагрузка глицерином.

Специалистам АПК необходимо учитывать системное действие лейкоза коров-матерей на рост и развитие их потомства.

Результаты исследований, изложенные в диссертации, рекомендуется для использования в учебном процессе при изучении дисциплины «Биохимия», «Клиническая биохимия», «Физиология животных»; на курсах по повышению квалификации ветеринарных врачей, а также при написании учебников и учебных пособий.

6 СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Блинов, В.А. Системное действие лейкоза крупного рогатого скота / В.А. Блинов, *О.В. Пилипченко* // Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ветеринарной медицины». – Т.1. – Ульяновск, 2003. – С. 111-112.

2. *Пилипченко, О.В.* Гематологическая картина у коров, больных лейкозом / О.В. Пилипченко // Материалы Межрегиональной научной конференции молодых ученых и специалистов системы АПК Приволжского федерального округа. – Саратов, 2003. – С. 36-37.

3. *Пилипченко, О.В.* Клинико-гематологическая характеристика инфицированных и больных лейкозом коров / О.В. Пилипченко // Достижения ЭМ-технологии в России: сборник трудов. – М.: ЭМ-кооперация, типография Тверской обл., 2004. – С. 217-220.

4. *Пилипченко, О.В.* Изменение мочевинообразовательной функции печени у коров, больных хроническим лимфолейкозом / О.В. Пилипченко // Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 117-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. – Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2004. – С. 40-41.

5. *Пилипченко, О.В.* Особенности глюконеогенной функции печени у инфицированных и больных лейкозом коров / О.В. Пилипченко, В.А. Блинов // Наука сельскохозяйственному производству и образованию: сборник материалов Международной научно-практической конференции, посвященной 30-летию со дня образования Смоленского СХИ. – Смоленск: ФГОУ ВПО «Смоленский СХИ», 2004. – Т.1. – С. 260-262.

6. *Пилипченко, О.В.* Влияние лейкоза крупного рогатого скота на гематологические показатели коров / О.В. Пилипченко // Информационный листок №13-2005. – Саратов: Саратовский ЦНТИ, 2005. – 2 с.

7. *Пилипченко, О.В.* Дифференциальные критерии метаболизма белков у инфицированных ВЛКРС и больных хроническим лимфолейкозом коров чернопестрой породы / О.В. Пилипченко // Информационный листок №14-2005. – Саратов: Саратовский ЦНТИ, 2005. – 2 с.

8. *Пилипченко, О.В.* Системное действие хронического лимфолейкоза коров-матерей на их потомство / О.В. Пилипченко // Материалы конференции, посвященной 118-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. – Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ». – Секция ветеринарии и биотехнологии. – 2005. – С. 81-83.

Подписано к печати 15.12.2005г.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.
Гарнитура «Таймс». Усл.печ.л. 1.
Тираж 100. Заказ № 2159.

Отпечатано с оригинал-макета
в ООО «Ладога-ПРИНТ»
410012, г. Саратов, ул. Московская 160. тел.: (845-2) 507-888

2006 A

23

2006 A