

УДК 619:616.993.192.1:636.92

БІЛКОВИЙ ОБМІН ТА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ У КРОВІ КРОЛІВ ЗА СПІРОХЕТОЗУ

Дуда Ю. В.¹, Прус М. П.², Кунєва Л. В.¹,
Шевчик Р. С.¹, Блискавка К. Ю.³

¹ Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет,
м. Дніпро, Україна, e-mail: dudajulia1976@gmail.com

² Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

³ Запорізька регіональна державна лабораторія
ветеринарної медицини, м. Запоріжжя, Україна

У крові хворих на спірохетоз кролів, у порівнянні зі здоровими, виявили: зниження вмісту загального білку на 14,76 % ($p < 0,001$), альбуміну — на 8,15 % ($p < 0,01$); підвищення вмісту α_1 - і γ -глобулінів на 4,31 % ($p < 0,01$) і 6,14 % ($p < 0,05$) відповідно; зниження активності α -амілази — на 54,28 % ($p < 0,001$), АлАТ у 7,43 рази ($p < 0,001$); підвищення активності холінестерази у 2,77 рази ($p < 0,001$) та гама-глутамілтранспептидази — в 1,62 рази ($p < 0,05$). Зміни в білковому обміні та активності ферментів у хворих кролів пов'язані з негативним впливом збудника і його токсинів на організм.

Ключові слова: спірохетоз, *Treponema cuniculi*, білковий обмін, глобулінові фракції, ферменти

Стимулюючим фактором інтенсивного розвитку кролівництва в Україні є низький рівень виходу та збереженості кроленят. Схильність до захворювань, особливо маточного поголів'я, зумовлена, у першу чергу, зниженою резистентністю організму кролів, яка залежить від кількості окролів на рік, умов утримання, годівлі та складу раціону. Спірохетоз реєструється у ряді кролівницьких господарств європейських держав, Америки та Азії, де спостерігалися епізоотії з великим відсотком захворюваності (до 90 %) [1]. Одним із найбільш поширених захворювань, як на великих, так і малих приватних кролефермах Дніпропетровської, Запорізької та Черкаської областей є спірохетоз кролів. До завезення кролів із-за кордону ця хвороба, за нашими даними, на території України не реєструвалась [2].

У кролів це захворювання вперше описане в 1912 році, коли був виявлений збудник — *Treponema cuniculi* (*Spirochaeta cuniculi*) родини *Spirochaetaceae*, класу *Spirochaetae*. Спірохетоз був описаний під різними назвами, як: «спонтанний спірохетоз кролів», «сифіліс кролів», «заразна статева хвороба кролів». Кроляча спірохета зовні дуже схожа на *Treponema pallida* — збудника сифілісу людини, однак вона патогенна тільки для зайців і кролів. Збудник здебільшого уражає слизові оболонки статевих органів та дистальної частини прямої кишки гризунів, призводить до запалення, яке триває декілька місяців. Хворі тварини за цей час є не придатними для відтворення, це призводить до економічних збитків у господарствах [3].

Деякими вченими [4–6] вивчалась проблема спірохетозу кролів, але патогенетичні механізми ще до кінця не розкриті. Отже, дослідження змін біохімічних процесів, зокрема обміну білків та ферментної активності в організмі кролів під впливом *Treponema cuniculi* є актуальним.

У зв'язку з цим **метою** нашої роботи було визначити вплив збудника на білковий обмін та активність ферментів крові кролів.

Матеріали та методи. Робота виконувалась впродовж 2016–2018 рр. Експериментальна частина роботи виконана в ТОВ «Олбест» Дніпропетровської області та ТОВ «Кролікофф Плюс» Черкаської області. У цих господарствах використовують кліткове утримання тварин з додержанням усіх зоогігієнічних вимог і збалансованим раціоном годівлі. Лабораторні дослідження проводили в науковій лабораторії кафедри паразитології та ветсанекспертизи Дніпровського державного агроекономічного університету.

Для дослідів були відібрані за принципом аналогів групи кролів-самців 3–4 місячного віку. З метою визначення рівня ураженості кролів, їх екскременти досліджували за методом Мак-Мастера. Кров у кролів відбирали вранці, у стані спокою, з яремної вени у пробірки з антикоагулянтом. Місце проколу обробляли спиртом. Біохімічні дослідження крові проводили з

використанням наборів реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна, м. Дніпро). Спектрофотометричним методом у сироватці крові тварин визначали: вміст загального білку біуретовим методом, альбумінів — з індикатором бромкрезоловим зеленим, глобулінів (розрахунковий показник) дорівнює різниці вмісту загального білку та альбумінів, вміст глобулінових фракцій — методом осадження, білковий коефіцієнт (розрахунковий показник) обчислювали як співвідношення альбумінів до глобулінів; активність аланінамінотрансфераз (АлАТ) та аспартатамінотрансфераз (АсАТ) — методом Райтмана-Френкеля, α -амілази — методом Каравея, холінестерази — методом з ацетилхолінхлорідом, гама-глутамілтранспептидази — методом з субстратом γ -L-(+)-глутаміл-4-нітроанлідом, індекс де Рітиса (розрахунковий показник) дорівнює відношенню активності АсАТ та АлАТ.

При роботі з тваринами дотримувалися вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.1986 р.). У дослідженнях використано понад 70 кролів.

Статистичну обробку експериментальних результатів для визначення біометричних показників (середні значення та їх похибки, порівняння середніх значень за критерієм Стьюдента) здійснювали з використанням програми Microsoft Excel-07.

Результати досліджень. Дослідженнями встановлено, що інтенсивність ураження кролів збудником спірохетозу складала в середньому $1960,00 \pm 247,81$ спірохет в 1 г фекалій.

У крові хворих тварин вміст загального білку (табл.) достовірно знижений до $60,18 \pm 3,58$ ($p < 0,001$) та альбуміну на $8,15\%$ ($p < 0,01$) у порівнянні із показниками здорових тварин. Це призвело до зниження альбумін-глобулінового співвідношення ($p < 0,01$), яке у хворих тварин складало $1,44 \pm 0,17$ у порівнянні зі здоровими — $2,06 \pm 0,17$. Низький вміст альбуміну на тлі зростання вмісту глобулінів у крові хворих кролів може свідчити про порушення білоксинтезуючої функції печінки через пошкодження її паренхіми. Гепатоцити печінки, ймовірно, пошкоджуються токсинами, що виділяються в результаті життєдіяльності *Treponema cuniculi*, і продуктами запалення, які утворюються як в статевих органах, так і дистальному відділі прямої кишки.

Таблиця — Показники білкового обміну та активності ферментів у крові кролів за спірохетозу ($M \pm m$)

Показники	Здорові(n=37)	Хворі(n=35)
Загальний білок, г/л	$70,60 \pm 1,48$	$60,18 \pm 3,58^{***}$
Альбумін, г/л	$36,87 \pm 1,18$	$32,15 \pm 0,80^{**}$
Глобуліни, г/л	$21,90 \pm 1,65$	$28,03 \pm 2,88$
Білковий коефіцієнт	$2,06 \pm 0,17$	$1,44 \pm 0,17^{**}$
АлАТ, нмоль/(с*л)	$1291,51 \pm 197,16$	$173,79 \pm 15,58^{***}$
АсАТ, нмоль/(с*л)	$356,97 \pm 56,11$	$280,57 \pm 38,29$
Індекс де Рітиса	$1,91 \pm 1,16$	$1,66 \pm 0,28$
α -амілаза, мг/(с*л)	$31,52 \pm 2,31$	$17,11 \pm 1,58^{***}$
Холінестераза, мкмоль/(с*л)	$43,59 \pm 4,25$	$120,76 \pm 16,24^{***}$
Гама-глутамілтранспептидаза, нмоль/(с*л)	$151,39 \pm 27,96$	$245,02 \pm 40,31^*$

Примітка: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - порівняно із здоровими тваринами.

Дослідженням глобулінових фракцій встановлено достовірне збільшення вмісту α_1 - і γ -глобулінів відповідно на $4,31\%$ ($p < 0,01$) і $6,14\%$ ($p < 0,05$) у крові хворих кролів, у той час як рівень α_2 - і β -глобулінів істотно не змінився (рис.). Підвищення вмісту α_1 -глобулінів у крові хворих кролів, ймовірно, пов'язано з гострим запальним процесом слизових оболонок статевих органів і патологією печінки. Оскільки до складу γ -глобулінів переважно входять імуноглобуліни, підвищення їх вмісту в крові, вірогідно, пов'язано із імунною відповіддю організму тварин на наявність антигену.

Нашими дослідженнями встановлене вірогідне значне зниження активності АлАТ у крові хворих тварин у $7,43$ рази ($p < 0,001$), що, можливо, пов'язано з довготривалим виходом ферменту з гепатоцитів, особливо за масового руйнування паренхіми печінки, а також з нирковою недостатністю [7–8].

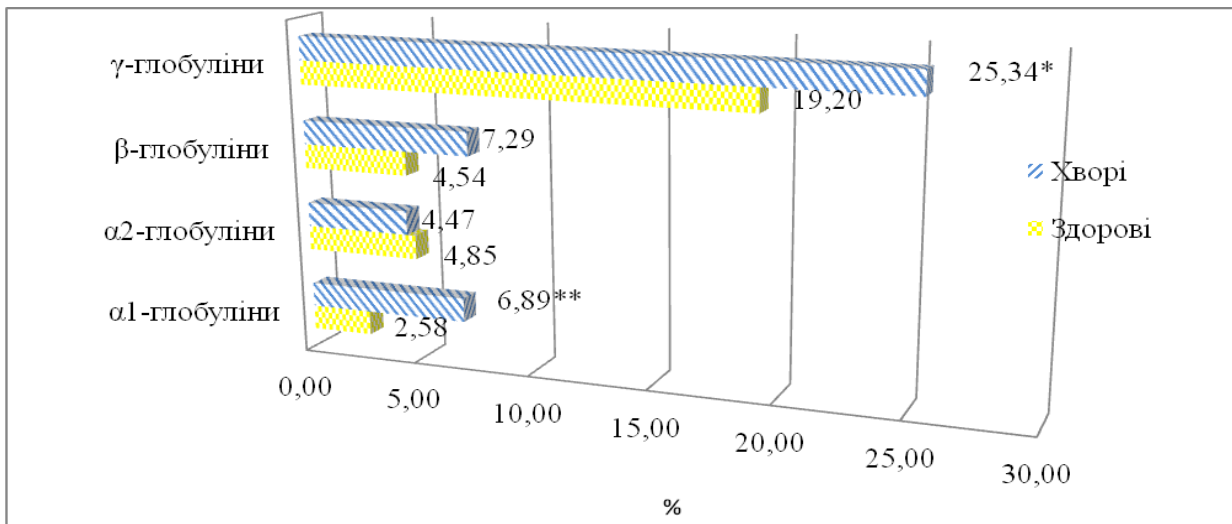


Рис. Відсотковий вміст глобулінових фракцій у крові кролів за спірохетозу (* — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ порівняно із здоровими тваринами).

Нами виявлене вірогідне зниження активності α-амілази на 54,28 % ($p < 0,001$) у крові хворих тварин, порівняно із клінічно здоровими. Підшлункова залоза може, звичайно, продукувати достатню кількість α-амілази, але через тривалу дію токсичних речовин починає відбуватися збій в процесі синтезу ферменту, що призводить до низької його активності в крові.

Регуляція стану мембран клітин, участь в утворенні пептидів (молекулярних сполук залишкових амінокислот), метаболізм холіну — ось далеко не повний перелік функцій, які здійснює холінестераза у крові [9]. Холінестераза успішно охороняє організм від різних токсинів, тому збільшення її активності у крові уражених *Treponema cuniculi* кролів у 2,77 рази ($p < 0,001$) можна пояснити інтоксикацією їх організму токсинами, що виділяються збудником і утворюються у разі порушення обмінних процесів.

Як відомо, гама-глутамілтранспептидаза бере участь в складних біохімічних реакціях, виступаючи в ролі каталізатора при перенесенні і обміні амінокислотами між клітинами організму. Цей білок міститься всередині клітини, однак у разі її руйнування проникає у кров. Даний білок значно швидше реагує на ушкодження клітин печінки, ніж інші печінкові ферменти [8, 9]. За нашими результатами у разі розвитку спірохетозу, вірогідно, процес руйнування клітин істотно прискорюється, що призводить до зростання активності гама-глутамілтранспептидази у крові кролів до $245,02 \pm 40,31$ нмоль/(с*л) ($p < 0,05$).

Висновки. Нами встановлено, що у хворих на спірохетоз кролів: низький вміст загального білку ($p < 0,001$) за рахунок зниження вмісту альбуміну на 8,15 % ($p < 0,01$); збільшення вмісту α1- і γ-глобулінів відповідно на 4,31 % ($p < 0,01$) і 6,14 % ($p < 0,05$); зниження активності АлАТ у 7,43 рази ($p < 0,001$) та α-амілази — на 54,28 % ($p < 0,001$); збільшення активності холінестерази у 2,77 рази ($p < 0,001$) та гама-глутамілтранспептидази — до $245,02 \pm 40,31$ нмоль/(с*л) ($p < 0,05$).

Виявлені характерні зміни в білковому обміні хворих кролів пов'язані, вірогідно, з негативним впливом збудника і його токсинів на клітини печінки, підшлункової залози, функцію нирок, а також з імунною відповіддю організму тварин на дію антигену.

Патологічні процеси, які відбуваються в організмі на тлі спірохетозу, приводять до підвищення навантаження на всі системи ферментів в організмі, що підтверджують отримані нами результати досліджень.

Перспективи подальших досліджень. Вивчити розвиток імунної відповіді за впливу *Treponema cuniculi* в організмі кролів.

Список літератури

1. Noguchi, H., 1921. A note on the venereal spirochetosis of rabbits. J. Amer. med. Ass., 77: 2052.
2. Duda Y.V., Kuneva L. V., Shevchik R.S., Koreyba L. V. Effect of treponema cuniculi on protein metabolism of rabbits. Abstract book: 439
3. Nordhoff M1, Wieler LH., 2005. Incidence and significance of treponemes in animals. Berl Munch Tierarztl Wochenschr Jan-Feb;118(1-2): 24-36.

4. Saito K., Tagawa M., Hasegawa A., 2003. RPR Test for Serological Survey of Rabbit Syphilis in Companion Rabbits. J. Vet. Med. Sci. 65(7): 797-799.
5. Saito K., Tagawa M., Mimura M., et al., 2005. Clinical Features and Rapid Plasma Reagin Antibody Titers in Spontaneous and Experimental Rabbit Syphilis. J. Vet. Med. Sci. 67(7): 739.
6. Saunders R.A., Davies R.R., 2005. Notes on Rabbit Internal Medicine. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK: 1–68.
7. Дуда Ю.В. Особливості природної резистентності корів голштинської породи різного фізіологічного стану за впливу біологічно активних речовин (прополісу та гідрогумату): автореф. дис... канд. вет. наук.:03.00.13 / Нац. аграр. ун-т. - К., 2005. - 19 с.
8. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : Довідник / В. В. Влізло, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін. — Львів: Сполом, 2012. — 764 с.
9. Зозуляк В. І., Зозуляк Н. В., Пилипенко І. І. Біохімічні особливості порушення функції печінки у хворих на деструктивний туберкульоз та їх корекція // Прикарпатський вісник НТШ. Пульс. - 2014. - № 4. - С. 74-80.

PROTEIN METABOLISM AND ENZYME ACTIVITY DURING SPIROCHAETOSIS OF RABBITS

Duda Yu. V.¹, Prus M. P.², Kunieva L. V.¹, Shevchyk R. S.¹, Blyskavka K. Yu.³

¹ Dnepropetrovsk State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

² National University of Bioresources and Nature Management of Ukraine, Kiev, Ukraine

³ Zaporizhzhia Regional State Laboratory of Veterinary Medicine, Zaporizhzhia, Ukraine

*The purpose of our work was to determine the influence *Treponema cuniculi* on protein metabolism and the rabbit blood enzymes activity.*

***Materials and methods.** Analog groups of male rabbits of 3–4 months of age were selected for the experiments. Intensity of invasion was determined by the method of the MacMaster. By spectrophotometric method in the blood of animals was determined: the content of total protein, albumin, globulin fractions, activity of alanine-aminotransferases (ALT) and aspartate-aminotransferases (AST), α -amylase, cholinesterase, gamma-glutamyl transpeptidase, globulins and de Ritis index by calculation method.*

***Results of the work.** We found that during spirochaetosis of rabbits it was: low albumin content of 8.15 % ($p < 0.01$) on the background of the decreasing of the total protein ($p < 0.001$); increasing of the concentration of $\alpha 1$ - and γ -globulins by 4.31 % ($p < 0.01$) and 6.14 % ($p < 0.05$), respectively; decreasing of ALT of 7.43 times ($p < 0.001$) and α -amylase by 54.28 % ($p < 0.001$); increasing of cholinesterase 2.77 times ($p < 0.001$) and gamma-glutamyl transpeptidase to 245.02 ± 40.31 nmol/(s*l) ($p < 0.05$).*

***Conclusions.** During our researching we revealed characteristic changes in the protein metabolism of rabbits associated with the negative effect of the causative agent and its toxins on liver, pancreas, kidney, and also the stimulation of mechanisms of nonspecific resistance of the animal organism*

The results of our research are confirm that the pathological processes that occur in the body on the background of spirochaetosis lead to an increasing of the load on all the enzyme systems in the body.

***Keywords:** spirochaetosis, *Treponema cuniculi*, protein metabolism, globulin fractions, enzymes*

УДК 619:615.9:546.33'141:636.932.028

ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ НЕОРГАНІЧНОГО БРОМУ ДЛЯ БІЛИХ ЩУРІВ

Коренева Ю. М. *

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», м. Харків, Україна, e-mail: k.17.nk08@gmail.com*

Проведено експеримент з визначення параметрів гострої токсичності Бром у щурах-самцях ($n=35$) та самках ($n=35$). Встановлено, що за одноразового перорального введення Бром у формі натрію броміду білим щурам DL_{50} самцям складала $(3728,91 \pm 260,16)$ мг/кг маси тіла, а самкам — $(3324,26 \pm 184,98)$ мг/кг. Тому, згідно класифікації шкідливих речовин ГОСТ 12.1.007-76 Бром у формі натрію броміду за ступенем токсичності слід віднести до помірнонебезпечних речовин (III-й клас небезпеки: DL_{50} 151-5000 мг/кг маси тіла). Клінічні симптоми отруєння щурів натрію бромідом, незалежно від статі, характеризуються порушенням координації рухів, наростаючим пригніченням з переходом у коматозний стан,

* Науковий керівник — доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН О. Т. Куцан.