

Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC

Biochemical indicators of connective tissue in goats with cardiovascular insufficiency

D.V. Kibkalo, O.P. Timoshenko, G.V. Vikulina

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

Article info

Received 7.02.2018

Received in revised form
5.03.2018

Accepted 18.03.2018

Kharkov State Veterinary
Academy, Academic, 1, smt.
Malaya Danylivka,
Dergachivskiy r-n, Kharkiv
region, 62341, Ukraine.
Tel.: + 38-066-713-41-65
E-mail:
fed.anua@gmail.com

The research article presents data of a comprehensive analysis (conducted using clinical and biochemical methods) of goats of Zaanen breed aged 3 to 5 years. When analyzing animals using clinical methods, according to the generally accepted scheme, our attention was drawn to the presence of such heart condition symptoms as dyspnea, edema, cyanosis of mucous membranes, endocardial murmurs and changes in cardiac sounds. When clinical pathology revealed cardiac pathologies in animals, a serum blood test was carried out using biochemical methods, among which the most important diagnostic significance was given to cardioselective enzymes (aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, creatine phosphokinase and its MB-isozyme). Additionally, we determined the content of total protein, urea and creatinine. To determine the informative value of connective tissue indices in the diagnosis of this pathology, the content of glycoproteins, chondroitin sulfates and fractions of glycosaminoglycans was analyzed in goat serum. During the research, we formed 2 groups of goats: control (clinically healthy animals) and experimental one (animals with cardiovascular collapse according to the clinical examination). In the experimental group of goats, the main symptoms were an increase of heart rate, pulse, and intensification of heart beats. In addition, 2 animals showed edemas in submaxillary and dewlap areas. In the experimental group of goats, a significant increase by 2 times in activity of aspartate aminotransferase was observed, creatine phosphokinase was increased by 1.76 times and its MB isoenzyme was revealed in 100% of animals. But in the goats of experimental group, along with the clinical and biochemical changes typical for heart insufficiency, there were no signs of a metabolic disorder in the connective tissue components (such as glycoproteins, chondroitin sulfates, total glycosaminoglycans and their I, II, III fractions). The data obtained coincide with similar studies of horses in which, in the presence of arrhythmia and increased activity of creatine phosphokinase and aspartate aminotransferase, there was no change in the level of indicators of connective tissue condition. We conducted these studies earlier and published them in the corresponding research article.

Keywords: blood serum; glycoproteins; chondroitinsulfates; glycosaminoglycans; heart; pathology

Біохімічні показники сполучної тканини за серцево-судинної недостатності в кіз

Д.В. Кібкало, О.П. Тимошенко, Г.В. Вікуліна

Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна

Наведена інформація щодо діагностичної значимості біохімічних показників стану сполучної тканини за серцевої патології у кіз віком від 3 до 5 років, що розглядаються у комплексі з кардіоспецифічними показниками та клінічними методами дослідження. Встановлено, що початкова стадія серцево-судинної недостатності в кіз характеризується наступними клінічними проявами – підвищенням частоти пульсу і серцевих скорочень та розбіжності між ними, посиленням серцевого поштовху, наявністю патологічних шумів різного походження за аускультатії; за результатами біохімічного аналізу сироватки крові – підвищенням активності

Citation:

Kibkalo, D.V., Timoshenko, O.P. & Vikulina, G.V. (2018). Biochemical indicators of connective tissue in goats with cardiovascular insufficiency. *Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC*, 6 (1), 25–29.

аспартатамінотрансферази, креатинфосфокінази та її МВ-ізоферменту на тлі відсутності змін рівня показників стану сполучної тканини – глікопротеїнів, хондроїтинсульфатів та фракцій глікозаміногліканів.

Ключові слова: сироватка крові; глікопротеїни; хондроїтинсульфати; глікозаміноглікани; серце; патологія

Вступ

Останні дослідження гуманної та ветеринарної медицини свідчать про те, що наслідком багатьох інфекційних і неінфекційних захворювань є порушення метаболізму сполучної тканини, що істотно впливає на виникнення та розвиток багатьох патологічних процесів, а іноді відіграє провідну роль у подальших структурних і функціональних змінах органів. Тому вивчення ролі та місця сполучної тканини в патогенезі внутрішніх захворювань є одним із актуальних наукових напрямів у ветеринарній медицині (Ferlazzo et al., 1997; Morozenko, 2014). У гуманній медицині багато дослідників вивчають генетично обумовлені патології сполучної тканини – системні дисплазії. У ветеринарній медицині захворювання, пов'язані з порушеннями метаболізму цієї тканини, відносно нещодавно почали вивчатися в деяких видів свійських тварин, а саме: за хвороб респіраторної та репродуктивної системи, печінки, нирок, сечовидільних шляхів, кістково-суглобового апарату тощо (Kartashov et al., 2005; Sjegodin, 2007; Maslak et al., 2010; Parashhenko, 2011; Vikulina, 2012).

Серед них є роботи, присвячені патології серцево-судинної системи, але, в основному, ці роботи носять експериментальний характер або ж присвячені хворобам дрібних домашніх тварин та коням (Pivnenko et al., 2005; Kibkalo, 2010).

Захворювання серця у тварин часто перебігають латентно та залишаються не діагностованими (Kuz'mina, 1999; Bogdanova and Donskaja, 2000; Noè et al., 2003; Danylenko, 2005; Trevisi et al., 2005; Dorohova, 2007). Для успішного лікування серцево-судинних захворювань надзвичайно важливо поставити діагноз на ранніх стадіях, до появи дистрофічних та деструктивних змін.

У кіз захворювання серцево-судинної системи становлять до 42% від загальної маси захворювань незаразної етіології тварин цього виду (Bogdanova and Donskaja, 2000; Danylenko, 2005), значна частина з яких у жуйних пов'язана з дистрофічними змінами міокарда, як наслідок хронічної гіпоксії, інтоксикації або його недостатнім живленням, що призводить до виникнення деструктивних або ж дистрофічних змін (Bogdanova and Donskaja, 2000; Dorohova, 2007). Тому **метою роботи** було виявлення змін показників стану біополімерів сполучної тканини за серцево-судинної недостатності в кіз.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на базі НВЦ “Рослинництва і тваринництва Харківської державної зооветеринарної академії”. Об'єктом досліджень були кози-самиці зааненської породи, віком 3–5 років. Тварин обстежували за загально прийнятою схемою клінічного дослідження тварин.

Особливу увагу при збиранні анамнестичних даних та первинному огляді тварин звертали на наявність ознак серцевої недостатності, а саме: задишки, набряків, ціанозу слизових оболонок, хрипів у легенях, змін тонів серця за аускультатії та ендокардіальних органічних шумів.

За результатами загально-клінічного обстеження, які описані у нашій попередній роботі (Kibkalo et al., 2010), було сформовано дві групи кіз.

До **дослідної групи** увійшли п'ять тварин, у яких спостерігалися порушення діяльності серцево-судинної системи, зокрема збільшення частоти серцевих скорочень (4 тварини), розбіжності між частотою серцевих скорочень і частотою пульсу (2 тварини), посилення серцевого поштовху (1 тварина), наявність ендокардіальних шумів серця (2 тварини), зміни другого тону серця (2 тварини). Крім того, з анамнезу відомо, що у 2-х тварин спостерігали післяродові залежування та стійкі набряки підщелепового простору в ділянці підгруддя. Отже, з отриманих результатів можна зробити висновок, що у тварин дослідної групи встановлена серцево-судинна недостатність на різних етапах розвитку.

До **контрольної групи** увійшли 15 клінічно здорових кіз, без клінічних ознак патології серцево-судинної системи.

У тварин обох груп проводили відбір зразків крові з ранку натщесерце шляхом пункції яремної вени та отримували сироватку крові центрифугуванням після утворення згустку при 3000 обертів за хвилину 15 хвилин. Лабораторні дослідження проводили на базі біохімічної лабораторії Інституту патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка АМНУ міста Харкова.

У сироватці крові визначали:

- активність аланін- та аспартатамінотрансферази (АлАТ та АсАТ) – кінетичним методом (за допомогою діагностичного набору ТОВ НВП “Філісіт-Діагностика”),

- активність креатинфосфокінази (КФК) та її МВ-ізоферменту (КФК-МВ) – кінетичними методами,

- вміст глікопротеїнів (ГП) – за методом Штейнберг-Доценка,

- вміст хонроїтинсульфатів (ХСТ) – метод Nemeth-Csoka у модифікації Л.І. Слущького,

- фракційний склад глікозаміногліканів (ГАГ'с) – нефелометричним методом (Levchenko et al., 2010).

Крім загально-клінічних і біохімічних досліджень проводили електрокардіографічні дослідження за допомогою п'ятиканального апарату – ЕКІТ-03М2, силою імпульсу 1 мВ та швидкості стрічки 25 см/хв.

Отримані результати оброблені статистично за допомогою методів варіаційної статистики з використанням програм Statistica 6.0 (StatSoft Inc. USA).

Результати та їх обговорення

При проведенні електрокардіографічних досліджень не вдалося отримати достатньо інформативну та придатну для розшифрування кардіограму, оскільки лякливість і рухливість кіз, їх прагнення скинути електроди, створювали великі перешкоди, навіть до западання термічного

самописця. Отже, дана ситуація призвела до неможливості отримання коректної кардіограми.

При порівнянні результатів біохімічних досліджень сироватки крові тварин обох груп встановлено наступні відмінності. Зокрема, активність АлАТ у тварин обох груп знаходилась у межах норми (20–40 Од/л), але дещо різнилася між значеннями (так, у хворих тварин її показники склали $27,5 \pm 1,31$ проти здорових $34,2 \pm 1,62$ Од/л, що різняться на 19,8% із вірогідністю $p < 0,05$). Активність АсАТ у тварин дослідної групи вірогідно ($p < 0,01$) та на 95% вища і становила $61,4 \pm 3,45$ Од/л. При цьому у тварин контрольної групи активність АсАТ склала $31,4 \pm 1,17$ Од/л. Отже, відносно норми (25–45 Од/л) у хворих тварин вона вища на 36,4%. Активність КФК у хворих кіз становила $163 \pm 5,00$ Од/л, а у клінічно-здорових $92,7 \pm 5,11$ Од/л, що вірогідно ($p < 0,01$) вище на 75,8 %. Активність КФК-МВ у хворих тварин становила $21,5 \pm 1,71$ Од/л, а у тварин контрольної групи $16,1 \pm 0,74$ Од/л, що вірогідно вище ($p < 0,05$) на 33,5% (рисунк). Нажаль, нормативні значення для КФК та її МВ-фракції у тварин даного виду ще є недостатньо з'ясованими та у літературі не знайдені.

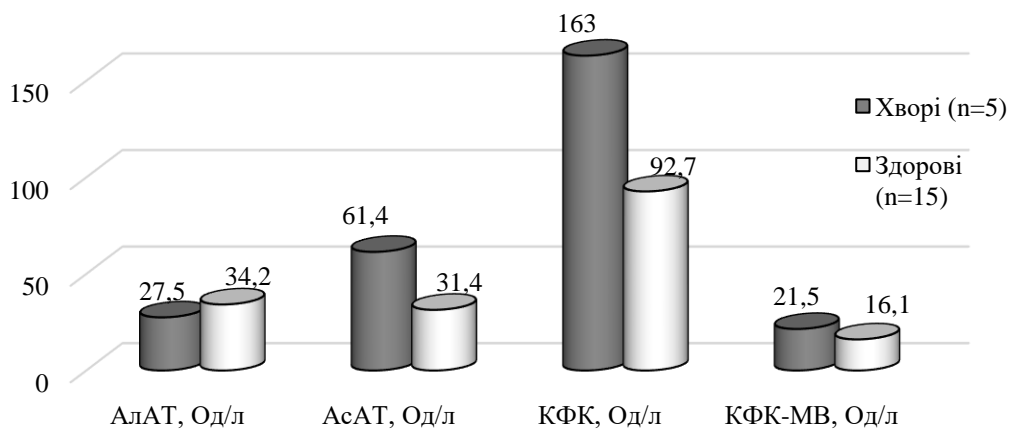


Рисунок. Активність ферментів сироватки крові клінічно здорових кіз і за серцево-судинної недостатності

Таблиця.

Показники стану сполучної тканини в сироватці крові клінічно здорових та хворих кіз ($M \pm m$)

Групи тварин	ГП, од.	ХСТ, г/л	Сума ГАГ'с, од.	I фракція ГАГ, од.	II фракція ГАГ, од.	III фракція ГАГ, од.
Хворі (n=5)	$0,60 \pm 0,01$	$0,12 \pm 0,01$	$11,68 \pm 0,58$	$6,78 \pm 0,36$	$2,86 \pm 0,24$	$2,02 \pm 0,14$
Здорові (n=15)	$0,60 \pm 0,62$	$0,11 \pm 0,01$	$10,20 \pm 0,62$	$5,90 \pm 0,55$	$2,63 \pm 0,08$	$2,00 \pm 0,17$

У таблиці наведено дані щодо вмісту показників стану сполучної тканини в сироватці крові кіз із ознаками серцевої недостатності та клінічно здорових тварин. Виявилось, що в обох

групах тварин показники достовірно не відрізнялись і вкладались у межі норми для даного виду тварин.

У той же час наявність серцевої недостатності внаслідок патології міокарду в кіз свідчить гіперферментемією за рахунок зростання таких кардіоспецифічних ферментів, як АсАТ, КФК та її ізоферменту – МВ-фракції.

За результатами дослідження кіз із ознаками патології серцево-судинної системи (збільшення частоти серцевих скорочень, розбіжність між їх частотою та частотою пульсу, посилення серцевого поштовху, наявність ендокардіальних шумів та зміни другого тону серця, у деяких випадках післяродове залежування, яке супроводжувалось стійкими набряками підщелепного простору та в ділянці підгруддя) діагноз підтверджений результатами біохімічних досліджень. Вірогідним виявилось підвищення активності АсАТ у 2,0 рази та КФК у 1,76 рази у 100% тварин порівняно з клінічно здоровими тваринами поряд зі зростанням активності МВ-КФК в усіх тварин. Стосовно змін показників стану біополімерів сполучної тканини, а саме ГП, ХСТ та глікозаміногліканограма, за серцево-судинної недостатності в кіз нашими дослідженнями їх не виявлено.

Результати, які отримані раніше за обстеження коней із аритміями та гіперферментемією КФК та АсАТ, але без видимих клінічних ознак серцево-судинної недостатності, співпадають із даними щодо відсутності змін рівня показників стану біополімерів сполучної тканини в кіз (Kibkalo, 2010; Kibkalo et al., 2010). На той час у коней виявили роздвоєння першого тону в 2 тварин, синусові аритмії на електрокардіограмі, в 2 тварин відмічали швидку втомлюваність. В усіх тварин вірогідно ($p < 0,05$) підвищений рівень МВ-КФК – 20,5–46,6 Од/л проти значення в клінічно здорових 18,1–26,2 Од/л. Також вірогідно ($p < 0,01$) підвищувалось співвідношення МВ-КФК/загальна КФК та складало 16,9–31,5 проти 9,3–15,6 % відповідно. Вірогідної різниці між вмістом глікопротеїнів, ХСТ і фракцій ГАГ у сироватці крові клінічно здорових та тварин із ознаками серцево-судинної патології не виявлено (Kibkalo, 2010).

Проте, за дилатаційної міокардіодистрофії (ДКМП) у собак (Pivnenko et al., 2005) та за розвиненої форми серцево-судинної недостатності виявлені вірогідні зміни вмісту показників метаболізму сполучної тканини в сироватці крові, а саме підвищення ХСТ та фракцій ГАГ. За ДКМП у сироватці крові собак різної статі підвищений вміст хондроїтинсульфатів. Так, у самців на 20,1% та у самок на 15,5%. У самок підвищений на 75% рівень III фракції ГАГ, що пов'язано з підвищенням концентрації гепарансульфатів. Відношення вмісту I фракції до вмісту II фракції II ГАГ в обох групах і в інтактних тварин були однаковими. Ці дані є свідченням перебудови

сполучної тканини серця собак, хворих на ДКМП, що супроводжується викидом у загальний кровообіг продуктів катаболізму протеогліканів міокарда. За розвитку ДКМП, яка ускладнена миготливою аритмією, метаболічні процеси в сполучній тканині міокарда мають наступні показники – у сироватці крові значно підвищується концентрація загальних хондроїтинсульфатів (на 69%) та стає меншим співвідношення I фракції ГАГ до II (на 20%) порівняно з собаками, хворими на ДКМП без миготливої аритмії. При миготливій аритмії у собак при ДКМП із ушкодженого міокарду у загальний кровообіг виходить хондроїтин-4-сульфат, який заміщується у сполучнотканинних прошарках серцевого м'язу на хондроїтин-6-сульфат. Це є показником фіброзу міокарда та зниження еластичності стінки судин.

Отже, з наведених даних можна зробити висновок про діагностичну інформативність показників стану сполучної тканини за розвитку ДКМП у собак.

У наших дослідженнях патологія серця у кіз пов'язана з порушенням трофіки міокарда та виникненням аритмій. Відсутність змін показників стану біополімерів сполучної тканини сироватки крові є свідченням розвитку дистрофічних процесів у міокарді без розростання сполучнотканинного компоненту.

Таким чином, гіперферментемія середнього ступеня (до 2-х разів), яка не супроводжується достовірними змінами рівня показників сполучної тканини в кіз є підтвердженням наявності у тварин ранньої стадії захворювання серцево-судинної системи, на тлі її недостатності. У той же час, захворювання на цій стадії в кіз перебігає без значних змін структури сполучної тканини міокарду. За даними J. Ausma зі співавторами довгострокова (9-23 тижні) експериментальна фібриляція передсердь у кіз приводила переважно до структурних змін міоцитів передсердь та шлуночків. У значній частині міоцитів передсердь (до 92%) виявили виразні зміни їх клітинних субстратів, а саме: втрату міофібрил, накопичення глікогену, зміни форми та розміру мітохондрій, фрагментацію саркоплазматичного ретикулуму та дисперсію ядерного хроматину. Ці зміни супроводжувались збільшенням розміру міоцитів (до 195%). Проте практично не виявлено ознак типової клітинної дегенерації і міолітичних змін клітин (Ausma et al., 1997).

Висновки

Початкова стадія серцево-судинної недостатності в кіз характеризується такими клінічними проявами – підвищенням частоти пульсу, частоти серцевих скорочень і розбіжності між ними, посиленням серцевого поштовху,

наявністю патологічних шумів різного походження за аускультатції. За результатами біохімічного аналізу – підвищенням активності АсАТ, КФК, МВ-КФК, що є показником цитолітичного синдрому внаслідок руйнування клітин міокарду, на тлі відсутності змін рівня показників стану сполучної тканини (ГП, ХСТ та глікозаміногліканограми).

References

- Ausma, J., Wijffels, M., Thone, F., Wouters, L., Alessie, M., & Borgers, M. (1997). Structural Changes of Atrial Myocardium due to Sustained Atrial Fibrillation in the Goat. *Circulation*, 96(9), 3157–3163.
- Bogdanova, E.A. & Donskaja, T.S. (2000). Osnovnye bolezni koz [Basic goat diseases]. Moscow (in Russian).
- Danylenko, G.V. (2005). Osnovni hovoroby kiz [Basic goat diseases]. *Propozycja*, 1, 124–125 (in Ukrainian).
- Dorohova, M. (2007). Bolezni ovec i koz [Sheep and goats diseases]. Moscow (in Russian).
- Ferlazzo, A. M., Campo, S., Vinci, R., Ferlazzo, A., & Calatroni, A. (1997). Concentration and Composition of Serum and Plasma Glycosaminoglycans in Domestic Animal Species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 118(4), 935–942.
- Kartashov, M.I., Borovkov, S.B. & Kibkalo D.V. (2015). Kliniko-biohimichni aspekty diagnostyky osteodystrofii' u koriv [Clinical-biochemical aspects of diagnosis of osteodystrophy in cows]. *Visnyk Bilocerkivs'kogo derzhavnogo agrarnogo universytetu*, 33, 69–75 (in Ukrainian).
- Kibkalo, D.V. (2010). Informativnost' opredelenija hondroitinsul'fatov i glikozaminoglikanov v diagnostike serdechno-sosudistoj patologii u loshadej [Informativity of determining of chondroitinsulfates and glycosaminoglycans in diagnosis of cardiovascular pathology in horses]. *Bjulleten' nauchnyh rabot FGOU VPO «Belgorodskaja gosudarstvennaja sel'skohozjajstvennaja akademija»*, 21, 39–41 (in Russian).
- Kibkalo, D.V., Korenev, M.I., Pasichnyk, V.A. & Ivannikova, S.V. (2010). Klinichni proyavy ta diagnostyka sercevo-sudynnoi' nedostatnosti u kiz [Clinical manifestations and diagnosis of cardiovascular insufficiency in goats]. *Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny Bilocerkivs'kogo nacional'nogo agrarnogo universytetu*, 5, 75–78 (in Ukrainian).
- Kuz'mina, T.N. (1999). Osnovnye bolezni koz ih lechenie i profilaktika [Main goats diseases, their therapy and prevention]. Moscow (in Russian).
- Levchenko, V.I., Golovaha, V.I., Kondrahin, I.P., Rublenko, M.V., Sahnjuk, V.V., Cvilihovs'kyj, M.I., Apuhovs'ka, L.I., Bezuh, V.M., Vovkotrub, N.V., Kibkalo, D.V., Moskalenko, V.P., Rozumnjuk, A.V., Slivins'ka, L.G., Tyshkivs'kyj, M.Ja. & Chub, O.V. (2010). Metody laboratornoi' klinichnoi' diagnostyky hvorob tvaryn [Methods of laboratorial clinical diagnosis of animals diseases]. Kiev (in Ukrainian).
- Maslak, Ju.V., Tymoshenko, O.P. & Kibkalo, D.V. (2010). Zminy biohimichnyh pokaznykiv syrovatky krovi ta sechi u vagitnyh kiz na doklinichnij stadii' osteodystrofii' [Changes of biochemical indexes of blood serum and urine in pregnant goats on preclinical stage of osteodystrophy]. *Problemy zooinzhenerii' ta veterynarnoi' medycyny*, 21, 2, 1, 119–126 (in Ukrainian).
- Morozenko, D.V. (2014). Patogenetychna rol' porushen' metabolizmu spoluchnoi' tkanyny, informatyvniost' jogo pokaznykiv dlja diagnostyky ta ocinky efektyvnosti likuvannja sobak i kotiv za vnutrishnih hvorob [Pathogenetic role of violations of connective tissue metabolism, informativity of it's indexes for diagnosis and value of therapy efficacy in dogs and cats with internal diseases]. *Extended abstract of Doctor's thesis*. Bila Cerkva (in Ukrainian).
- Noè, L., Comazzi, S., D'Angelo, A. & Gaviraghi, A. (2003). Goats on alpine grazing: study on metabolic and hematologic profiles. *Italian Journal of Animal Science*, 2, 1, 584–586.
- Parashhenko, I.V. (2011). Dynamika geksoz spoluchenyh iz bilkom, glikozaminoglikaniv ta glikoprotei'niv u plazmi krovi koriv za riznyh stadij statevogo cyklu ta stanu statevoi' funkcii' [Dynamic's of hexoses that are connected with protein, glycosaminoglycans and glycoproteins in blood plasma of cows with different stages of the sexual cycle and state of the sexual function]. *Visnyk Sums'kogo nacional'nogo agrarnogo universytetu. Serija "Veterynarna medycyna": naukovo-metodychnyj zhurnal*, 2, 116–119 (in Ukrainian).
- Pivnenko, T.V., Kartashov, M.I., Tymoshenko, O.P. & Kibkalo, D.V. (2005). Dylatacyjna kardiomiopatija sobak [Dilatational cardiomyopathy of dogs]. *Visnyk Bilocerkivs'kogo derzhavnogo agrarnogo universytetu*, 33, 200–210 (in Ukrainian).
- Sjogodin, O.B. (2007). Patogenetyчне obg'runtuvannja roli glikozaminoglikaniv u diagnostyci ta likuvanni osteoartrozu v sobak [Pathogenetic rationale of glycosaminoglycans role in diagnosis and therapy of osteoarthritis in dogs]. *Extended abstract of candidate's thesis*. Bila Cerkva (in Ukrainian).
- Trevisi, E., D'Angelo, A., Gaviraghi, A., Noè, L., & Bertoni, G. (2005). Blood inflammatory indices in goats around kidding. *Italian Journal of Animal Science*, 4 (sup2), 404–405.
- Vikulina, G.V. (2012). Maloizuchennye zven'ja patogeneza bronhopnevmonii porosjat [Little-studied data of bronchopneumonia pathogenesis in pigs]. *Nauchno-proizvodstvennyj zhurnal «Vestnik veterinarii»*, 63 (4), 11-14 (in Russian).