

УДК 619:616.12-07:612.128:636.2.034

Шарандак П.В., канд. вет. наук; ©*Луганський національний аграрний університет***Левченко В.І.**, доктор вет. наук;*Білоцерківський національний аграрний університет***Шарандак В.В.**, канд. вет. наук;*Державний Комітет ветеринарної медицини України, м. Київ*

ІНФОРМАТИВНІСТЬ КРЕАТИНКІНАЗИ І ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ СУБКЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ МІОКАРДІОДИСТРОФІЇ У ВИСОКОПРОДУКТИВНИХ КОРІВ

Лабораторні методи є одним із видів ранньої діагностики захворювань внутрішніх органів. У ветеринарній кардіології поряд із аускультатією, фонометрією та електрокардіографією використовують ензимодіагностику, а саме – визначають активність креатинкінази (КК), лактатдегідрогенази (ЛДГ) та їх кардіоспецифічних ізоферментів. Клінічним дослідженням високопродуктивних корів змін при аускультатії серця виявлено не було. Встановлені фізіологічні ліміти активності загальної креатинкінази – 10–80 ОД/л; КК-МВ – 1–20 ОД/л, співвідношення КК-МВ/КК-НАС – 10–40 %. Активність лактатдегідрогенази в нормі становить: ЛДГ_{заг.} – 200–455 ОД/л; ЛДГ₁ – 80–215 ОД/л та відношення ЛДГ₁/ЛДГ_{заг.} – 30–56 %. Виявили 29,4 % корів із збільшеною проти норми активністю КК та 25,9 % із гіперферментемією ЛДГ. Найбільш інформативним тестом ранньої діагностики порушення серцевої діяльності у високопродуктивних корів є визначення співвідношення активності серцевої фракції креатинкінази до загальної активності ензиму, інформативність якого становить 92,9 %, тоді як ЛДГ₁/ЛДГ_{заг.} – 86,7 %.

У діагностиці захворювань внутрішніх органів важливе місце займає рання ідентифікація патологічного процесу, що дозволяє провести більш ефективне лікування на ранніх стадіях. З цією метою найчастіше використовують лабораторні методи діагностики.

Біохімічні методи дослідження ґрунтовані на збільшенні концентрації речовин або активності ферментів, що є специфічними для окремих органів та систем. Проте таких специфічних тестів не так і багато, оскільки в організмі тварин та людини все взаємопов'язане. Саме тому в ензимодіагностиці на перший план виходить ідентифікація ізоферментів, що функціонують в клітинах за певних умов [1].

Ензимодіагностика захворювань серця ґрунтована на закономірному зростанні активності ряду ферментів сироватки крові вже в перші години після виникнення захворювання. Однак слід зазначити, що ферменти, які використовують для діагностики, не володіють органною специфічністю. Вони знаходяться не лише в серці, а й в паренхіматозних органах, скелетній

мускулатурі, центральній нервовій системі та біологічних рідинах [2]. У серці найбільш активними ферментами є лактатдегідрогеназа (ЛДГ), малатдегідрогеназа (МДГ), креатинкіназа (КК), аспартатамінотрансфераза (АСТ), каталаза, глікоген-синтеза, 5'-нуклеотидаза, сукцинатдегідрогеназа, аденозинтрифосфатаза [3].

Матеріали та методики досліджень. Об'єктом досліджень були високопродуктивні корови 1–4 лактації різних технологічних груп: глибокотільні корови та нетелі, новорозтелені та дійні корови української чорно-рябої породи з продуктивністю 5–6 тис. кг молока за лактацію.

Клінічне дослідження тварин здійснювали загальноприйнятими методами. Активність кардіоспецифічних ферментів визначали активність ферментів ЛДГ та ЛДГ₁ за методом Севела-Товарека, КК-НАС та КК-МВ визначали кінетичним методом наборами фірми "Біофарма" за допомогою біохімічного аналізатора Stat Fax 1904.

Результати досліджень. При клінічному дослідженні 116 високопродуктивних корів, змін характерних для міокардіодистрофії, а саме: набряків у ділянці підгрудка, змін тонів – виявлено не було.

Одним із показників стану серцево-судинної системи є частота серцевих скорочень (ЧСС) [4]. Нами встановлено, що у глибокотільних корів і новорозтелених корів, частота пульсу становила в середньому $71 \pm 0,83$ та $72 \pm 0,7$ уд./хв (58–78 і 64–76), а в групі корів ранньої лактації – $72 \pm 0,74$ уд./хв. (64–80).

В основі органоспецифічності ізоферментної діагностики хвороб серця лежить різниця співвідношення ізоферментів в окремих органах, а отже й у сироватці крові при їхньому ураженні [5]. Такими маркерами при ураженні серця є активність кардіоспецифічних ізоферментів, зокрема креатинкінази (КК-МВ) та лактатдегідрогенази (ЛДГ) [6].

Креатинкіназа – фермент, що каталізує фосфорилювання креатину за участі аденозинтрифосфату. Найбільш багаті ним скелетна мускулатура, однак значна його кількість міститься у серцевому м'язі, мозку, щитоподібній залозі та легнях. У печінці та еритроцитах активність ферменту низька [7]. У сироватці крові КК присутня у вигляді таких ізоферментів: серцевого – КК-МВ, м'язового – КК-ММ, мозкового – КК-ВВ [8].

При дослідженні сироватки крові 10 клінічно здорових глибокотільних корів активність загальної креатинкінази була у межах 22,0–55,0 Од/л, а її серцевого ізофермента – 2,8–8,3 Од/л. Співвідношення КК-МВ/КК-НАС становило 5,1–37,7 %.

У групі клінічно здорових новорозтелених корів (6 голів) активність КК-НАС і КК-МВ у сироватці крові становила відповідно 24,8–100,4 та 5,5–19,3 Од/л. Співвідношення КК-МВ/КК-НАС знаходилося в межах 10,0–34,6 %. У однієї тварини (16,7 %) виявили гіперферментемію загальної КК (100,4 Од/л), що може бути спричинено збільшенням активності м'язового або мозкового ізоферментів, оскільки активність КК-МВ у цієї тварини знаходилася в межах норми (19,3 Од/л).

Активність загальної креатинкінази та її кардіального ізоферменту в сироватці крові 8 клінічно здорових високопродуктивних корів ранньої лактації знаходиться у межах 30,3–61,3 Од/л та 2,8–18,0 Од/л відповідно, а відношення КК-МВ/КК-НАС – від 8,9 до 35,8 %.

При розрахунку середнього квадратичного відхилення ($\pm 2 \delta$, $n = 24$) визначено фізіологічні ліміти креатинфосфокінази та її ізофермента в сироватці крові корів. Так, межі КК-НАС ($\delta = \pm 16,0$) мають становити від 10,0 (min) до 80,0 (max) Од/л, а КК-МВ ($\delta = \pm 4,8$) – 1,0–20,0 Од/л. Частка кардіоспецифічного ізоферменту (КК-МВ) ($\delta = \pm 10,0$) у структурі загальної креатинфосфокінази складає у нормі 10,0–40,0 %.

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) – цитозольний цинковмісний фермент, який каталізує окиснення L-лактату до піровиноградної кислоти. Він має значне поширення в клітинах різних органів, тобто є відносно неспецифічним ензимом, що знижує його діагностичну цінність при визначенні загальної активності [1]. До її спектру входять 5 ізоферментів, чий профіль достатньо специфічний та ідентичний. Так, у серці в основному міститься ЛДГ₁, легенях – ЛДГ₂ та ЛДГ₃, у печінці – ЛДГ₄ і ЛДГ₅ [6].

Активність ізоферменту ЛДГ₁ характерна для міокарда як для тканини з анаеробним типом гліколізу. При гіпертрофії міокарда і хронічній гіпоксії синтез ЛДГ₁ у кардіоміоцитах починає підвищуватися, при гострому перебігу міокардиту порушується співвідношення ЛДГ₁/ЛДГ, тому суттєвим є визначення активності ізоферментів ЛДГ [9].

Нами встановлено, що активність загальної ЛДГ та її міокардіального ізоферменту в сироватці крові клінічно здорових глибокотільних корів знаходилися на рівні 151,0–442,0 та 78,0–254,0 Од/л відповідно. Частка кардіального ізоферменту в загальній активності ЛДГ знаходиться у межах 26,3–52,3 % (табл. 4.2).

У сироватці крові клінічно здорових новорозтєлених тварин активність ЛДГ і ЛДГ₁ становила 242,0–396,0 та 111,0–184,0 Од/л, у корів ранньої лактації відповідно 215,0–447,0 і 64,0–199,0 Од/л. Частка міокардіального ізоферменту в загальній активності ЛДГ у новорозтєлених корів становить 40,4–48,8 %, у корів ранньої лактації – 16,2–55,4 % (табл. 4.2).

Шляхом розрахунків середнього квадратичного відхилення ($\pm 2 \delta$, $n=46$) нами встановлено, що фізіологічні ліміти загальної лактатдегідрогенази ($\delta = \pm 64,0$) у сироватці крові 95,0 % високоудійних корів становлять 200,0–455,0 Од/л, а її кардіоспецифічного ізофермента ($\delta = \pm 33,7$) – ЛДГ₁ – 80,0–215,0 Од/л. Частка ЛДГ₁ ($\delta = \pm 7,5$) у структурі загальної лактатдегідрогенази в нормі становить 30–56 %.

Нами було встановлено, що у 29,4 % корів різних технологічних груп, у яких не було виявлено клінічних змін у роботі серця, а саме: послаблення серцевого поштовху, зміни тонів при аускультатії, тахікардію, активність загальної креатинкінази та її ізофермента – виходила за межі 80,0 та 20,0 Од/л відповідно, що вважається верхньою межею норми. Так, активність КК-НАС у тварин становила в середньому $60,7 \pm 10,09$ Од/л (24,8–129,3), а КК-МВ –

30,8±4,99 Од/л (13,8–57,8), що вірогідно вище, ніж у клінічно здорових ($p < 0,001$). Гіперферментемію виявили у 13,6 та 17,0 % тварин відповідно. Відношення кардіоспецифічного ізоферменту до активності загальної креатинкінази у цих корів становило в середньому 51,4±3,5 % (38,5–66,7), що вірогідно вище, ніж у клінічно здорових тварин ($p < 0,001$). Збільшення співвідношення КК-МВ/КК-НАС виявили у 92,9 % корів, що свідчить про наявність деструктивних змін у міокарді, які неможливо виявити клінічними методами (табл. 1).

Таблиця 1

Активність креатинкінази у сироватці крові високопродуктивних корів із субклінічним перебігом міокардіодистрофії

Клінічний стан корів	КК-НАС, Од/л	КК-МВ, Од/л	КК-МВ/ КК-НАС, у проц.
Клінічно здорові	43,1±4,82	8,8±1,01	20,4±2,0
Корови із субклінічним перебігом міокардіодистрофії $p <$	60,7±10,09 0,1	30,8±4,99 0,001	51,4±3,5 0,001

Примітка. $p <$ – порівняно з клінічно здоровими тваринами

Нами було виявлено 25,9 % клінічно здорових корів, у яких активність ЛДГ та її кардіального ізоферменту ЛДГ₁ були вищою від норми. Так, активність загальної лактатдегідрогенази становила в середньому 328,8±16,68 Од/л (163,0–530,0), ЛДГ₁ – 202,5±12,95 Од/л (106,0–391,0) ($p < 0,001$) та ЛДГ₁/ЛДГ – 61,7±1,84 % ($p < 0,001$, порівняно з клінічно здоровими) (табл. 2). Гіперферментемію виявили, відповідно, у 6,7 та 36,7 %, а збільшення частки ЛДГ₁ в активності загальної ЛДГ – у 86,7 % тварин, що свідчить про високу інформативність цього тесту для ранньої діагностики міокардіодистрофії.

Таблиця 2

Активність лактатдегідрогенази у сироватці крові високопродуктивних корів із субклінічним перебігом міокардіодистрофії

Клінічний стан корів	ЛДГ _{заг.} , Од/л	ЛДГ ₁ , Од/л	ЛДГ ₁ / ЛДГ _{заг.} , у проц.
Клінічно здорові	331,8±9,86	155,7±4,03	46,9±0,72
Корови із субклінічним перебігом міокардіодистрофії $p <$	328,8±16,68 0,1	202,5±12,95 0,001	61,7±1,84 0,001

Примітка. $p <$ – порівняно з клінічно здоровими тваринами

За літературними даними [11–15], підвищення активності лактатдегідрогенази є більш пізнім діагностичним тестом ураження міокарда на відміну від КК. Проте у високопродуктивних корів, хворих на міокардіодистрофію, гіперферментемію серцевої фракції ЛДГ виявляли не менше, ніж у 72,3 % тварин, тобто цей тест є досить інформативним.

При визначенні активності загальної лактатдегідрогенази та її серцевого ізофермента необхідно враховувати частку ЛДГ₁/ЛДГ, що практично безпомилково вказує на ураження міокарда у високопродуктивних корів, незалежно від їх фізіологічного стану та наявності клінічних ознак серцевої недостатності.

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. При клінічному дослідженні високопродуктивних корів змін у серцевій діяльності виявлено не було.

2. Встановлено фізіологічні ліміти активності креатинкінази загальної – 10–80 ОД/л; КК-МВ – 1–20 ОД/л, співвідношення КК-МВ/КК-НАС – 10–40 %.

3. Активність лактатдегідрогенази у клінічно здорових високопродуктивних корів знаходиться у таких межах: ЛДГ_{заг.} – 200–455 ОД/л; ЛДГ₁ – 80–215 ОД/л та відношення ЛДГ₁/ЛДГ_{заг.} – 30–56 %.

4. При біохімічному дослідженні сироватки крові нами було виявлено 29,4 % корів із збільшеною проти норми активністю КК та 25,9 % із гіперферментемією ЛДГ.

5. Найбільш інформативним тестом ранньої діагностики порушення серцевої діяльності у високопродуктивних корів є визначення співвідношення КК-НАС/КК-МВ, інформативність якого становить 92,9 %, тоді як ЛДГ₁/ЛДГ_{заг.} – 86,7 %.

6. Перспективою подальших досліджень є визначення інших маркерів пошкодження міокарда, таких як міоглобін та кардіотропоніни.

Література

1. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Минск: Беларусь, 2003. – Т. 1. – 495 с.

2. Spirito P., Bellone P. The natural history of hypertrophic cardiomyopathy // *British Heart Journal*. – 1994. – № 72. – 10 p.

3. Жукова Н.М. Ранняя диагностика, лечение и профилактика миокардоза коров голштино-фризской породы в условиях молочно-промышленного комплекса: Автореф. дисс. ... канд. вет. наук. – М., 1987. – 16 с.

4. Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин / В.І. Левченко, В.В. Влізло, І.П. Кондрахін та ін., За ред. В.І. Левченка. – Біла Церква, 2004. – 608 с.

5. Внутрішні хвороби тварин / В.І. Левченко, І.П. Кондрахін, М.О. Судаков та ін.; За ред. В.І. Левченка. – Біла Церква, 1999. – Ч. 1. – 376 с.

6. Сахнюк В.В., Шарандак П.В. Інформативність ензимодіагностики для оцінки функціонального стану серця у високопродуктивних корів // *Наук. вісник Львів. нац. акад. вет. медицини ім. С.З. Гжицького*. – Т. 7 (№2), ч. 1. – Львів, 2005. – С. 135–142.

7. Вилкинсон Д. Принципы и методы диагностической энзимологии: Пер. с англ. – М.: Медицина, 1981. – 624 с.

8. Johnson J.E., Wold B.J. and Hauschka S.D. Muscle creatine kinase sequence elements regulating skeletal and cardiac muscle expression in transgenic mice // *Mol. Cell Biol.* – 1989. – № 9 (8). – P. 3393–3399.

9. Bessman S. A Molecular basis for the mechanism of insulin action. – Am. J. Med. – 1966. – № 40. – P. 740–749.
10. Левченко В.І., Сахнюк В.В. Ферментодіагностика внутрішніх хвороб у високопродуктивних корів // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – Вип. 13, ч. 2. – Біла Церква, 2000. – С. 116–124.
11. Изоферменты в медицине // Н.М. Петрунь, Л.Л. Громашевская, Т.В. Фетисова и др. / К.: Здоров'я. – 1982. – С. 90–113.
12. Меньшиков В.В. Ферменты в диагностике: проблемы и методы // Клини. лабор. диагностика. – 1996. – № 6. – С. 51–52.
13. Johnson J.E., Wold B.J. and Hauschka S.D. Muscle creatine kinase sequence elements regulating skeletal and cardiac muscle expression in transgenic mice // Mol Cell Biol. – 1989. – №9 (8). – P. 3393–3399.
14. Two tissue-specific isozymes of creatine kinase have closely matched amino acid sequences / L. Pickering, H. Pang, K. Biemann et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1985. – №82 (8). – P. 2310–2314.
15. Jockers W., Wretou E., Pfeleiderer G. Quantitation of creatine kinase isoenzymes in human tissues and sera by an immunological method // Clin. Chim. Acta. – 1975. – № 58 (3). – P.223–232.

Summary

P. Sharandak, V. Levchenko, V. Sharandak

INFORMATIVE CHARACTERIZATION OF CREATINE KINAZE AND LACTATEDEHYDROGENAZE FOR DIAGNOSTICS OF SUBCLINICAL CURRENTS OF MYOCARDIUM DYSTROPHY BESIDE HIGHLY-PRODUCTIVE COWS

Laboratory methods are one of the type of the early diagnostics of the internal organ diseases. In veterinary cardiology together with auscultation, tonometry and electrocardiography the enzyme diagnostics is used, as follows define the activity of creatine kinaze (CK), lactatedehydrogenaze (LDG) and their cardiac isoenzymes. The clinical study of highly-productive cows of the change at auscultation of heart was not found. Were installed physiological limits of activities of common creatine kinaze – 10–80 U/l; KK-MB – 1–20 U/l, correlation KK-MB/KK-NAC – 10– 40 %. The activity of lactatedehydrogenaze in rate forms: common LDG – 200– 455 U/l; LDG₁ – 80–215 U/l and LDG₁/LDG – 30–56 %. 29,4% of cows had an increased rate of CK activity and 25,9 % with hyperfermentation of LDG₁. Most informative test of the early diagnostics of the heart disturbances beside highly-productive cows is identification correlation between activity of cardiac fraction of creatine kinaze to the general activity of the enzyme, which is informative in 92,9 % then LDG₁/LDG – 86,7 %.

Стаття надійшла до редакції 9.04.2010