

УДК 619:612.015:619:616.1:636.2

Кісера Я.В., д.вет.н., професор[©]*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького*

МЕТАБОЛІЗМ БІЛКІВ У ХВОРОЇ ЛЕЙКОЗОМ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Встановлений зв'язок між кількістю імуноглобулінів у сироватці крові і розвитком лейкозного процесу на різних його стадіях. У інфікованих тварин кількість імуноглобулінів майже не змінюється, в той час як у хворих в ранній стадії захворювання і у хворих з клінічними ознаками (активна стадія) рівень окремих ізотипів імуноглобулінів різко понижений. Кількість імуноглобулінів у сироватці крові хворих лейкозом тварин знижується на 35-41% порівняно з їх кількістю у здорових тварин. Такий імунодефіцитний стан розвивається паралельно з прогресуванням лейкозного процесу і розвитком постійного лімфоцитозу.

В сироватці молока досліджено 15 амінокислот, сума яких у здорових корів склала $910,14 \pm 189,70$ мг%; в групах корів, які знаходились в передлейкозному стані і в ранній стадії лейкозу загальна їх кількість підвищується до $992,25 \pm 232,01$ мг%, тоді як в активній стадії лейкозу настає значне зменшення їх кількості до $686,04 \pm 173,96$ мг%, тобто на 224,10 мг% (24,62%) порівняно з показниками у здорових тварин.

Ключові слова: велика рогата худоба, лейкоз, білки, кров, молоко, імуноглобуліни, амінокислоти, білкові фракції.

Вступ. Центральне місце в організмі, займають білки. Вони мають винятково важливе значення для будови та функціонування всіх клітин, тканин і систем органів. Білки становлять основу структури та процесів обміну всіх клітин і цілого організму.

Про інтенсивність і характер обміну білків можна судити за концентрацією білків та їх складових частин (альбуміни, α -, β -, γ - глобуліни). Глобулярні білки розділяються на α -, β -, та γ - глобуліни. Найбільшу молекулярну масу мають гама-глобуліни, до яких відносяться імуноглобуліни (Ig) [2, 14]. Із загальної кількості всіх імуноглобулінів у сироватці крові більш як 70% припадає на білки класу G. [13, 19].

Висока продуктивність тваринництва вимагає обґрунтованого впливу на процеси обміну речовин та розробку методів цілеспрямованого впливу на організм тварин, які розкривають механізм метаболіту в них [3, 5, 8]. Виходячи з вищенаведеного перед нами постало завдання дослідити метаболізм білків у великої рогатої худоби на різних стадіях розвитку лейкозного процесу.

Матеріали і методи. Дослідження проводились в Інституті патології крові та трансфузійної медицини Академії медичних наук України (м. Львів) і у

Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнології імені С.З.Гжицького. В неблагополучних щодо лейкозу господарствах - "Тарасівка", "Поділля" і "Славутич" Збарзького району Тернопільської області були проведені дослідження на 75 клінічно здорових та хворих лейкозом коровах чорно-рябої породи, віком 5-10 років.

За результатами гематологічних досліджень було сформовано п'ять дослідних груп. Перша група – здорові тварини. Друга група – інфіковані тварини – РІД позитивно реагуючі. Третя група – хворі тварини в передлейкозній стадії, які кваліфікувались як підозрілі в захворюванні лейкозом. Четверта група – рання стадія лейкозу – до цієї групи відбирались тварини, які характеризувались сублейкемічним рівнем лейкоцитозу в крові. Пята група – активна стадія лейкозу – цю групу формували тварини, в яких виявили низькі показники еритроцитів – 4,80 млн/мкл і гемоглобіну – 6,89 г%, що відображає анемію.

Для дослідження брали кров з яремної вени, одержували сироватку, в якій проводили кількісне визначення імуноглобулінів методом радіальної імунодифузії в гелі [1]. Досліджувалось молоко мікрометодом нисхідної розподільчої хроматографії на папері. В гідролізатах сироватки молока корів визначали кількість 7-и замісних і 8-и незамісних амінокислот [18]. Статистичну обробку результатів проводили за Стьюдентом.

Результати досліджень. Ступінь захисту організму від інфекції корелює з рівнем імуноглобулінів в сироватці крові. Особливо актуальна дана проблема при лімфопроліферативних захворюваннях, до яких відноситься і лейкоз великої рогатої худоби, обумовлений дефектністю імунної системи [4, 7, 17]. Вірус лейкозу великої рогатої худоби інтегрується в геном В-лімфоцитів (Н.В.Ніколаєва і співавтори, 1981; В.І.Тамошюнас, 1981), які є попередниками плазматичних клітин, синтезуючих і секретуючих імуноглобуліни. Тому кількісна оцінка рівня імуноглобулінів на різних етапах розвитку лейкозного процесу є актуальною для встановлення ступеня порушення функції імунної системи [6, 16, 20].

Нашими дослідженнями показано [9], що кількість імуноглобулінів у сироватці крові в інфікованих корів (РІД-позитивно реагуючі) незначно відрізняється від їх кількості у здорових тварин (таблиця 1). В той же час, зниження кількості імуноглобулінів проходить паралельно з прогресуванням лейкозного процесу і розвитком постійного лімфоцитозу. Так, у хворих тварин в активній стадії розвитку хвороби кількість імуноглобулінів була значно понижена порівняно з здоровими тваринами. Вміст IgG₂ в сироватці крові у цієї групи тварин знизився в середньому до 8,34 мг/мл; IgG₁ – до 6,93 мг/мл і IgM – до 1,63 мг/мл. Одержані результати досліджень свідчать, що між кількістю імуноглобулінів в сироватці крові і перебігом лейкозного процесу на різних його стадіях існує прямий зв'язок. Кількість імуноглобулінів в сироватці крові знижується у хворих тварин на 35-41% порівняно з їх кількістю у здорових тварин. Результати наших досліджень узгоджуються з результатами R.M.Jacobs (1980), E.B.Кузнецова (1989).

Таблиця 1

**Кількісні зміни імуноглобулінів сироватки крові
великої рогатої худоби при лейкозі, $M \pm m$, $n=15$, (мг/мл)**

Імуно-глобуліни	Здорові	Інфіковані	Стадії лейкозного процесу		
			Перед-лейкозна-	Рання	Активна
IgG ₁	10,7±2,3	10,5±1,5*	9,8±1,1*	7,98±0,97*	6,93±1,2*
IgG ₂	14,08±1,7	13,43±2,74*	11,27±1,8*	10,68±2,5*	8,34±1,9***
IgM	2,52±0,38	2,49±0,47*	2,30±0,28*	2,17±0,33*	1,63±0,23**

Примітка: вірогідність різниць із здоровими тваринами: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$.

Для з'ясування динаміки змін обміну білків і білкових фракцій проведені біохімічні дослідження крові та молока від здорових і хворих лейкозом корів з метою виявлення особливостей цих змін залежно від стадій перебігу лейкозного процесу [10, 11]. Дослідження показали, що кількість загального білка в сироватці крові (таблиця 2) здорових корів складає в середньому 8,12г%. Ці дані показують, що сезони року і різний фізіологічний стан організму, при яких досліджувались тварини, суттєво не впливають на його стабільність. У хворих лейкозом корів відмічається тенденція до його зниження, що складає в активній стадії 7,06 г%. Аналіз показників білкових фракцій показав, що спостерігається зниження глобулінів і гама-глобулінів на всіх стадіях лейкозного процесу.

Таблиця 2

**Кількість загального білка і білкових фракцій в сироватці крові корів
на різних стадіях лейкозного процесу, $M \pm m$, $n=24$**

Пока-зники	Одиниця виміру	Клінічно здорові	Стадії лейкозного процесу		
			Передлейкозна	Рання	Активна
Загальний білок	г%	8,12 ± 0,01	7,52 ± 0,02**	7,30 ± 0,02**	7,06 ± 0,03**
Гло-буліни	г%	4,95 ± 0,02	4,36 ± 0,03**	4,14 ± 0,02**	3,86 ± 0,03**
Гама-глобуліни	г%	3,04 ± 0,04	2,59 ± 0,01**	2,42 ± 0,02**	2,10 ± 0,02**

Примітка: вірогідність різниць із здоровими тваринами: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$.

Динаміка змін загального білка і білкових фракцій в молоці (таблиця 3) засвідчила, що кількість загального білка в молоці і в сироватці молока знижується на всіх стадіях лейкозного процесу. З показників білкових фракцій сироватки молока суттєві зміни виявлені у вмісті альфа-лактоальбумінів, кількість яких від початку до кінця захворювання достовірно зменшується порівняно із здоровими тваринами.

Таблиця 3

Динаміка змін загального білка і білкових фракцій в молоці корів на різних стадіях лейкозного процесу, $M \pm m$, $n=24$

Показники	Одиниця виміру	Клінічно здорові	Стадії лейкозного процесу		
			Передлейкозна	Рання	Активна
Загальний білок в молоці	г%	3,21 ± 0,281	2,99 ± 0,47	2,63 ± 0,05*	2,58 ± 0,04*
Загальний білок сироватки молока	г%	0,93 ± 0,01	0,89 ± 0,02**	0,80 ± 0,02**	0,72 ± 0,01**
Альфа-лактоальбуміни сироватки молока	г%	0,187 ± 0,002	0,171 ± 0,003**	0,169 ± 0,003**	0,157 ± 0,002**

Примітка: вірогідність різниць із здоровими тваринами: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$.

Результати досліджень показали, що ступінь порушення білкового обміну у корів знаходиться в прямій залежності від стадії протікання лейкозного процесу і цілком залежить від кількісних показників крові, тобто кількості лейкоцитів в 1 мкл крові і відсоток лімфоцитів в лейкоформулі, які відображають як благополучність від лейкозу, так і наявність захворювання на різних стадіях його прояву.

В роботах В.К.Рудзит (1973), М.О.Раушенбаха (1974), В.Н. Байковой (1977), О.В.Жуковой (1981) відмічається, що розвиток лейкозу у людини зв'язаний з глибокими змінами в обміні ароматичних амінокислот, які займають ключові позиції в метаболічних циклах біологічно активних сполук [15]. Виходячи з вищенаведеного, перед нами постало завдання дослідити стан метаболізму амінокислот сироватки молока у здорових і хворих лейкозом корів з метою виявлення їх ролі в патогенезі лейкозу. Проведені дослідження показали [12], що в групі здорових тварин кількість амінокислот у різних тварин і при кожному дослідженні коливалась в широких межах, що, на наш погляд, було пов'язано з індивідуальними особливостями і фізіологічним станом організму в період досліджень. При інших дослідженнях кількість амінокислот коливалась від мінімальних до максимальних величин.

У хворих тварин зміни проходять в загальній кількості амінокислот. Кількість їх в групі здорових тварин склала $910,14 \pm 189,70$ мг%, у хворих лейкозом тварин спостерігається зниження їх вмісту до $686,04 \pm 173,96$ мг%, тобто на 224,1 мг% (24,62%) порівняно з показниками у здорових тварин. Подібні зміни відмічені і в сумі замісних і незамінних амінокислот. Так, кількість незамінних амінокислот з $502,76 \pm 99,91$ мг% знизилась до $391,80 \pm 95,09$ мг%, тобто на 110,96 мг% (22,07%). Показники замісних амінокислот з $407,38 \pm 89,79$ мг% знизились до $294,26 \pm 78,87$ мг%, що на 113,12 мг% або на 27,77% нижче показників здорових корів. При цьому необхідно відмітити, що в процентному співвідношенні загальна кількість незамінних амінокислот переважає над замісними.

Висновки. 1. При прогресуванні лейкозного процесу загальна кількість імуноглобулінів і їх окремих ізотипів, особливо IgG₂, в сироватці крові хворих лейкозом тварин знижується. В активній стадії захворювання кількість IgG₁, IgG₂, IgM знижується відповідно на 35,2, 40,8 і 35,3% порівняно з їх рівнем в сироватці крові здорових тварин.

2. В сироватці молока сума амінокислот склала 910,14±189,70 мг%, в той час як у хворих лейкозом корів настає значне зменшення загальної кількості амінокислот до 686,04±173,96 мг%, тобто на 224,10 мг% нижче рівня здорових корів.

Література

1. Адаменко Г.П. Модификация метода Mancini для количественного определения иммуноглобулинов. Лабораторное дело. 1981, №6, с. 371-372.
2. Бережная Н.М., Ядкунт С.И. Биологическая роль иммуноглобулина М. Киев. 1983, 132 с.
3. Бусол В.А., Доронин Н.Н., Мандыгра Н.С. и другие. Лейкоз сельскохозяйственных животных. – К., Урожай, 1988. – 264 с.
4. Бусол В.О., Шаповалова О.В. Деякі особливості розвитку імунної реакції у телиць, вакцинованих проти лейкозу. Збір. статей наук.-практ. конф., Харків, 1994, с. 82-83.
5. Васильева Е.А. Клиническая биохимия сельскохозяйственных животных. – Москва: Россельхозиздат, 1974. – 192 с.
6. Вознюк В.П. Активность естественной и антителозависимой цитотоксичности лейкоцитов при лимфолейкозе и миеломной болезни. Лікарська справа. 1995, №5-8, с. 103-104.
7. Гусева С.А., Федько А.А. Взаимодействие лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови в стимуляции лимфокинообразования при хронических лейкозах. Гематол. и трансфузиол., 1991, №6, с. 6-9.
8. Завірюха А.І. Здобутки та перспективи в боротьбі з лейкозом великої рогатої худоби //Аграрний вісник Причорномор'я: Збірник наукових праць "Ветеринарні науки". – Одеса, 2003. – Вип. 21. – С. 65-70.
9. Кісера Я.В. Характеристика імуноглобулінів великої рогатої худоби при лейкозі. //Науково-технічний бюлетень.- Львів.-2005, випуск 6, №2.- С.80-83.
10. Кісера Я.В. Виявлення і оцінка ступеня ураженості корів лейкозом. //Науковий бюлетень „Ветеринарна біотехнологія”.-Київ.-2005, № 6.- С.94-99.
11. Кісера Я.В. Біохімічні зміни в крові і молоці корів на різних стадіях лейкозного процесу. //Міжвідомчий тематичний науковий збірник.- Ветеринарна медицина. Харків.-2005, том 1.- С.509-513.
12. Кісера Я.В. Амінокислотний склад сироватки молока у здорових і хворих лейкозом корів. //Науковий вісник ЛНАВМ ім.С.З. Гжицького. Том 7, № 1.- Львів.-2005.- С.46-52.
13. Маслянюк Р.П. Биосинтез иммуноглобулинов у животных //С.-х. биология.- 1976.- В. 2.-С. 61-66.
14. Маслянюк Р.П. Основи імунобіології.-Львів:Вертикаль, 1999.-472 с.

15. Мельник Ю.Ф., Мандигра М.С. Епізоотологічна ефективність заходів боротьби з лейкозом великої рогатої худоби //Вісник аграрної науки, лютий 2004. – С. 26-28.

16. Нагаева Л.И. Патогенез и иммунология лейкоза крупного рогатого скота. Рига, Зинатне, 1988, 220с.

17. Николаева Н.В. Иммунная система при лимфопролиферативных заболеваниях у крупного рогатого скота. Иммунологические аспекты лимфопролиф. забол. Новосибирск, 1987, с. 32-70.

18. Пасхина Т.С. Количественное определение аминокислот при помощи хроматографии на бумаге методом образования медных производных аминокислот с нингидрином. Методические письма. М., 1959, 1, с.12-18.

19. Шмелева С.Б., Костина Г.А. Сыворотка крови животных реконвалесцентоv //Ветеринария.- 1996.- № 7.- С. 34-38.

20. Schiltz P.M. Characterization of tumor-infiltrating lymphocytes derived from human tumors for use as adoptive immunotherapy of cancer. // J.Immunother.- 1997.-V. 20.-P. 377-387.

Summary

Y.V. Kiser, Doctor of Veterinary Sciences, Professor

*Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies
named after S.Z.Gzhytskyj, Lviv, Ukraine*

METABOLISM OF PROTEINS IN SICK CATTLE WITH LEUKEMIA

It was distinguished the correlation between the quantity of immunoglobulines in blood serum and the development of leucosis processes at its different stages. In infected animals the quantity of immunoglobulines isn't almost changed an the same time as in sick animals at carly stage of disease and in sick animals with clinical symptoms (active stage) of level of some izotypes of immunoglobulines is reduced suddenly. The quantity of immunoglobulines in blood serum of sick animals which have leucosis is reduced on 35-41 per cent in comparison with their quantity in healthy animals. Such immunodeficite state is developing together with the leucosis processes and the development of constant lymphocytosis.

It was found out fifteen aminoacids in milk serum, sum of which in healthy cows consisted of $910,40 \pm 189,70$ mg%, in groups of cows, which are found at pre-leucosis state and at the carly stage of leucosis, and their common quantity is exceeded to $992,25 \pm 232,01$ mg%, at the same time as at the active stage of leucosis, the considerable diminishing of their quantity is coming to $686,04 \pm 173,96$ mg%, that is on 224,10 mg% (24,62%) in comparison with the indicer in healthy animals.

Key words: *Cattle, leucosis, blood, serum, milk, common protein, protein fraction, immunoglobulines, aminoacids.*

Рецензент – к.б.н., доцент Турко І.Б.