

## **Розділ 8. Патологія тварин, клінічна біохімія, якість і безпека тваринницької продукції**

менение сорбционных свойств, активация растворения, нарушение проницаемости мембран и ряд других процессов.

Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод о том, что вакуумную сушку виноградной выжимки в качестве сырья для фармакологической промышленности необходимо проводить при температурах не превышающих 323 °К.

### *Список литературы*

1. Быков, В. И., Вишневская, Т. И., Холина, Н. Ф. Об интенсификации массообмена в пористом теле при пульсациях давления на его границе // Химическая промышленность. – 1995. – №3. – С. 42-44.
2. Хрыстюк, В. Т., Узун, Л. Н., Барышев, М. Г. Влияние электромагнитного поля на выход и состав клюквы // Известия вузов. Пищевая технология. – 2002 – №4. – С. 73-74.
3. Орлов, И. В. Настои, полученные при водной и ультразвуковой экстракции из трав душицы, пустырника, мяты перечной // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2002. – №12. – С. 26-27.
4. Белобродов, В. В. Проблемы экстрагирования в пищевой промышленности // Известия вузов. Пищевая технология. – 1986. – №3. – С. 6-11.
5. Болотов, В. М., Нечаев, А. П. Пищевые красители // Пищевые ингредиенты: сырье и добавки. – 2001. – №1. С.4-11.
6. Hupe, M. Effects of moisture content in cigar tobacco on nicotine extraction – similarity between Soxhlet and focused open-vessel microwave assisted techniques / J. Chromatogr. – 2003. – 1011. № 1-2. – P. 213-219.
7. Барская, А. В., Курец, В. И., Лобанова, Г. Л. Способ экстракции водорастворимых веществ из растительного сырья / Пат. 2191520 Россия, МПК А 23 F3/36. От 28.10.98. Опубликовано 27.10.2002.
8. Вакуумная сушка сельхозпродукции, влияние различных видов и режимов сушки на энергетические затраты, биологическую и пищевую ценность: Препринт ХФТИ 2003-4/ Кутовой, В. А., Медведева, Е. П., Николаенко, А. А. и др.- Харьков: ННЦ ХФТИ, 2003. – 23 С.
9. Химия: Справочное издание. Под. Ред. В. Шретера и др. М.: – 1989. – С. 173-176.
10. Тарусов, Б. Н., Иванов, И. И., Петрусевиц, Ю. М. Сверхслабое свечение биологических систем. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1967. – 70 с.

### **INFLUENCE OF VACUUM DRYING AND DOSE OF THE IRRADIATION ELECTRONS ON DYNAMICS OF EXTRACTION OF SUBSTANCES FROM GRAPE SQUEEZING**

**Kutovoy V.O., Medvedeva O.P.**

*National Scientific Center "Kharkov Physical-Technical Institute", Kharkov,*

**Stegniy B.T., Kutsan A.T., Mischenko A.A.**

*National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkov*

*Application of ionizing radiation in the technology of phytochemical products from dried plant material is presented in the article. Treatment of grape squeezing by fast electrons increases the extraction of raw materials with respect to troubled.*

УДК 619:636.1:591.478:577.175.1:616-097

## **ОБМІН АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕЇНУ В КОНЕЙ ЗА АСЕПТИЧНИХ ПОДОДЕРМАТИТІВ ТА КОПИТНИХ ДЕФОРМАЦІЙ**

**Лазоренко А.Б.**

*Сумський національний аграрний університет, м. Суми*

**Іздєпський В.Й.**

*Луганський національний аграрний університет, м. Луганськ*

Розвиток запальної реакції та регенерації в різні періоди свого перебігу супроводжується зміною типів клітинних взаємодій, адекватність і біологічна доцільність яких, на всіх етапах регулюється міжклітинними взаємозв'язками, опосередкованими через синтез різних груп медіаторів, особливо білкової природи, що включають в себе низку гострофазних протеїнів [1-3].

Серед чисельних реактантів запальної реакції та регенерації, маловивченим у патогенезі пододерматитів й унгулярних деформацій у коней є такий багатофункціональний білок як альфа-фетопротейн, що потребує більш ґрунтовного і деталізованого дослідження передусім сполучнотканинних структур, де саме і відбувається його експресія та метаболізм, з метою опрацювання на цій основі обґрунтованих методів лікування.

Альфа-фетопротейн (AFP) – онкофетальний глікопротеїн, який вміщує поліпептидні ділянки, що визначають адгезивні функції та об'єднують його із родиною протеїнів екстрацелюлярного матриксу сполучної тканини – колагеном, фібронектином, ламініном, тромбоспондином, вітронектином, тощо [4, 5].

На рівні організму AFP являє собою багатофункціональний білок із селективною клітинною та стимулюючою активністю. Ефекти AFP реалізуються на рівні комплексної регуляції процесів клітинної проліферації, ініціації механізмів апоптозу, забезпеченні клітин енергетичним та пластичним матеріалом, індукції регуляторних сигналів через посилення експресії рецепторів та забезпечення синтезу простагландинів, тромбосанів, лейкотрієнів, взаємодії із структурами сполучнотканинного матриксу, імуномодуючих ефектів [6-10].

Установлено, що AFP впливає на активність клітин імунної системи і, зокрема, на ті, що проліферують, не зачіпаючи їх зрілі форми. В залежності від активації клітин, альфа-фетопротейн стимулює або супресує окремі клони специфічних Т-хелперів і Т-супресорів, пригнічує синтез антитіл та дозрівання цитотоксичних Т-лімфоцитів, інгібує проліферацію лімфоцитів у відповідь на мітоген, модулює фагоцитарну активність макрофагів, зменшує синтез активованими макрофагами фактору некрозу пухлин та інтерлейкіну-1, а також стимулює ріст і проліферацію фібробластів [4, 6, 7, 11].

Експериментально доведено, що AFP здатен зв'язувати цитоплазматичні білки, які у фізіологічних умовах транспортують ядерні фактори або транскрипційні кофактори до поверхні органел клітин, що свідчить про тісний зв'язок даного протеїну з клітинною проліферацією та її диференціюванням. Альфа-фетопротейн здатен спрямовано доставляти регуляторні сигнали в клітини, що мають рецептори до нього, посилюючи інформаційний контроль за реалізацією генетичної програми клітин, які знаходяться в стані проліферації, в істотній мірі впливаючи на рівень їх функціональної активності [5, 11, 12].

Основними ділянками синтезу AFP в ембріогенезі є ектодерма жовточного міхура та фетальна печінка, тоді як після народження продукція даного протеїну істотно знижується і він виявляється в крові в мінімальній концентрації [7]. У крові дорослих тварин AFP може бути присутнім у наслідок активації будь-яких репаративних процесів та пов'язаною із ними клітинною проліферацією, а також як маркер онкологічної патології [6, 8-10].

Окрім гепатоцитів, що продукують мінімальну кількість AFP у дорослому організмі, відбувається й ектопічний його синтез різними популяціями лімфоцитів [5].

У дорослому організмі без онкологічної патології фонові значення AFP пояснюються саме репаративними процесами та клітинною проліферацією. Водночас, більша частина AFP швидко споживається у тканинах і не потрапляє в кровообіг, тому регенеративні процеси супроводжуються незначним та нетривалим зростанням концентрації даного білку в крові [4, 5].

Метою наших досліджень було визначення концентрації AFP у тканинах гомогенатах копитної дерми за пододерматитів, латеральних хрящів та сухожилків глибокого пальцевого згинача за унгулярних деформацій у коней.

**Матеріали і методи.** Оскільки AFP швидко метаболізується в тканинах і потрапляє в кровообіг у мінімальній кількості, з метою збільшення інформативності досліджень доцільно визначати його рівень у відповідних тканинах.

Матеріалом для досліджень були фрагменти основи шкіри стінок та підшви копит коней української верхової та російської рисистої порід, а також безпородних з копитами анатомічно правильної форми, без ортопедичної патології (n=12), із гострими асептичними пододерматитами (n=10) та хронічними ламінітами (n=8). Фрагменти латеральних хрящів та сухожилків глибокого пальцевого згинача відбирали в коней з копит анатомічно правильної форми (n=12), а також за наявних унгулярних деформацій – іжакове, пласке та повне копито (n=10). Слід зазначити, що всі наведені вище деформації копит супроводжувались супутніми асептичними запальними процесами у дермі стінок та підшви, а в деяких випадках із порушенням дермо-епідермального з'єднання.

Зразки основи шкіри, хрящової та сухожилкової тканин (1-5 г) відбирали після забою тварин на м'ясокомбінатах, відмивали у фізіологічному розчині та піддавали кріоконсервації у пластикових мікропробірках за температури мінус 20 °С. У день проведення визначення концентрації AFP у тканині зразки гомогенізували на холоді у PBS буфері (pH 7,4), що утримував 1 % розчин тритону X-100 у співвідношенні 1:40 та залишали за температури 4 °С на 2 години [13].

Надалі гомогенат тканин центрифугували при 3000 об/хв. протягом 15 хв. У надосадовій рідині визначали концентрацію AFP.

Вміст AFP у тканинних гомогенатах проводили методом твердофазного імуноферментного ELISA аналізу із використанням тест-системи «AFP – ІФА – Бест – 400 (200) – стріп», (Росія).

Фактичний вміст AFP у зразках тканинних гомогенатів розраховували з урахуванням співвідношення (тканина–PBS буфер).

Отриманий цифровий матеріал оброблено методами варіаційної статистики з використанням параметричного t-критерію Стюдента.

**Результати роботи.** Як видно із даних, наведених на рисунку 1, розвиток гострих асептичних пододерматитів у коней супроводжується істотним зростанням концентрації AFP у гомогенатах копитної дерми майже в 2,1 рази з  $11,0 \pm 0,87$  до  $22,80 \pm 1,46$  ME/ml ( $p < 0,001$ ), а за хронічного ламініту до  $18,0 \pm 1,07$  ME/ml ( $p < 0,001$ ), що складає 63,6 %, порівняно із показником клінічно здорових тварин, відповідно.

Зростання концентрації AFP у основі шкіри копит коней за гострого пододерматиту та хронічного ламініту, може бути пов'язане із реалізацією процесів проліферації клітин сполучної тканини та експресії ектопічного синтезу AFP лімфоцитами запального осередку.



Рис. 1 Вміст AFP у гомогенаті копитної дерми коней

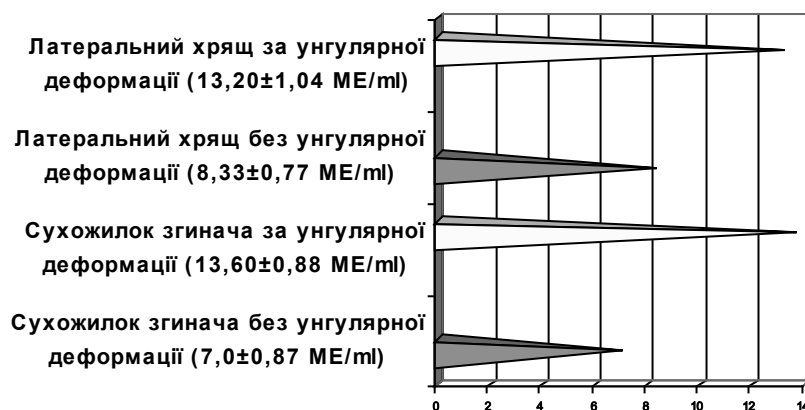
Попередніми нашими дослідженнями було з'ясовано, що розвиток асептичних пододерматитів у коней супроводжується значним зниженням концентрації у гомогенатах основи шкіри глікопротеїнів та глікозаміногліканів, за одночасного збільшення вмісту імуноглобулінів, що, очевидно, є свідченням формування передумов до розвитку імунозалежного запалення в копитній дермі [14]. За даними деяких авторів, структурні глікопротеїни і продукти їх деградації володіють імуногенністю та здатні ініціювати алергічні реакції сповільненого типу, чим забезпечують імунозалежну пролонгацію запального процесу [15].

Відомо, що AFP володіє імуносупресивною дією через здатність істотно пригнічувати синтез імуноглобулінів та аутоантитіл, гальмувати клітинно-опосередковану імунну відповідь та дозрівання цитотоксичних Т-лімфоцитів [5, 7, 12].

Слід зазначити, що за хронічного ламініту концентрація імуноглобулінів у копитній дермі досягає максимальних значень порівняно із показником коней без ортопедичної патології та за гострого пододерматиту [14]. Водночас, рівень AFP у гомогенатах основи шкіри за її хронічного запалення, навпаки, був вірогідно нижчим на 21,1 % ( $p < 0,05$ ) відносно показника за гострих пододерматитів, що свідчить про зменшення локальної експресії AFP лімфоцитами запального інфільтрату та посиленням синтезу ними антитіл до продуктів деградації компонентів копитної дерми.

Дослідження вмісту AFP у гомогенатах сухожилків глибокого пальцевого згинача та латеральних хрящів за унгулярних деформацій (рис. 2) свідчать, що рівень даного протеїну зазнає істотного зростання в обох сполучнотканинних утвореннях.

Зокрема, концентрація AFP у гомогенатах сухожилків глибокого пальцевого згинача за копитної деформації зростає майже на 94,3 % з  $7,0 \pm 0,87$  до  $13,60 \pm 0,88$  ME/ml ( $p < 0,001$ ), порівняно із клінічно здоровими тваринами. У гомогенатах латеральних хрящів за копитної деформації вміст AFP зростає відносно показника коней без ортопедичної патології на 58,5 % з  $8,33 \pm 0,77$  до  $13,20 \pm 1,04$  ME/ml ( $p < 0,01$ ), відповідно.



**Рис. 2** Вміст AFP у гомогенаті сухожилків глибокого згинача та латеральних хрящів коней

Зростання концентрації AFP у гомогенатах сухожилків глибокого пальцевого згинача та латеральних хрящів за унгулярних деформацій свідчить про посилення його локальної продукції і, очевидно, розвитку та активації репаративних процесів і пов'язаною із ними клітинною проліферацією в сухожилковій та хрящовій тканинах.

Таким чином, у коней за асептичних пододерматитів та супутніх унгулярних деформаціях, основа шкіри, сухожилки глибокого пальцевого згинача, латеральні хрящі стають ділянками ектопічного синтезу та експресії AFP лімфоцитами запального інфільтрату, що засвідчує наявність регенеративно-проліферативних процесів у сполучнотканинних утвореннях копит.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** 1. Розвиток гострих асептичних пододерматитів та хронічних ламінітів у коней супроводжується істотним зростанням вмісту AFP у гомогенатах копитної дерми до  $22,80 \pm 1,46$  та  $18,0 \pm 1,07$  ME/ml, відповідно, що пов'язане із реалізацією процесів проліферації клітин сполучної тканини та експресії ектопічного синтезу AFP лімфоцитами запального осередку.

2. Концентрація AFP у гомогенатах сухожилків глибокого пальцевого згинача та латеральних хрящів за копитної деформації зростає до  $13,60 \pm 0,88$  та  $13,20 \pm 1,04$  ME/ml, відповідно, що свідчить про посилення його локальної продукції, а також розвитку та активації репаративних процесів і пов'язаною із ними клітинною проліферацією в сухожилковій та хрящовій тканинах.

Перспективою подальших досліджень є вивчення ролі порушення обміну AFP у продукції аутоантитіл до структурних компонентів клітин сполучнотканинних утворень копит коней за ортопедичної патології та опрацювання на цій основі патогенетично обґрунтованих методів лікування.

#### Список літератури

- Шубич, М.Г. Медиаторные аспекты воспалительного процесса / М.Г. Шубич, М.Г. Авдеева // Архив патологии. – 1997. – №2. – С. 3-8.
- Андрієць, В.Г. Вміст у плазмі крові корів з ортопедичною патологією низки гострофазних білків / В.Г. Андрієць, В.В. Мельніков // Наук. вісник Білоцерк. націон. аграр. ун-ту. – 2010. – Вип.4.(76). – С. 151-153.
- Шевченко, О.П. Белки острой фазы воспаления / О.П. Шевченко // Лаборатория. – 1996. – №1. – С. 3-7.
- Решетников, С.С. Иммуноферментный анализ альфа-фетопротеина, использование в диагностике заболеваний человека // С.С. Решетников // Новости «Вектор-Бест». – 1997. – №6. – С. 12-16.
- Альфа-фетопротеин / [В.А. Черешнев, С.Ю. Родионов, В.А. Черкасов и др.] – Екатеринбург: УрО РАН, 2004. – С. 20-57.
- Абелев, Г.И. Альфа-фетопротеин: биология, биохимия, молекулярная генетика // Г.И. Абелев // Иммунология. – 1994. – №3. – С. 4-9.
- Шмагель, К.В. Альфа-фетопротеин: строение, функции и роль в эмбриогенезе / К.В. Шмагель, В.А. Черешнев // Акушерство и гинекология. – 2002. – №5. – С. 6-8.
- Semenkova, L.M. Induction of apoptosis in human hepatoma cell by alpha-fetoprotein / L.M. Semenikova, E.I. Dudich, I.V. Dudich // Tumor Biol. – 1997. – Vol. – 18. – №5. – P. 261-273.
- Dudich, E. Alpha-fetoprotein causes apoptosis in tumor cell via a pathway independent of CD 95, TNF R1 and TNF R2 through activation of caspase-3-like proteases fetoprotein / E. Dudich, L. Semenikova, I. Dudich // Eur. J. Biochem. – 1999. – Vol. – 266. – №3. – P. 750-761.
- Dudich, E.I. Alpha-fetoprotein-induced apoptosis of cancer cell / E.I. Dudich, L.M. Semenikova, I.V. Dudich // Bull. Exp. Biol. Med. – 2000. – Vol. – 130. – №12. – P. 1127-1133.
- Mizejewski, G.J. Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes and conformational variants / G.J. Mizejewski // Exp. Biol. Med. (Maywood) – 2001. – Vol. – 226. – №5. – P. 377-408.
- Mizejewski, G.J. Alpha-fetoprotein binding proteins: implications for transmembrane passage and subcellular localization / G.J. Mizejewski // Life Sci. – 1994. – Vol. – 56. – №1. – P. 1-9.
- Токмакова, А.Ю. Особенности хронических ран у больных сахарным диабетом и пути их коррекции / А.Ю. Токмакова, Г.Ю. Страхова, М.И. Арбузова // Эндокринная хирургия. – 2007. – №1(1). – С. 38-42.
- Лазоренко, А.Б. Зміни вмісту білково-вуглеводних сполук у основі шкіри копит коней за асептичних пододерматитів / А.Б. Лазоренко // Наук. вісник Білоцерк. націон. аграр. ун-ту. – 2010. – Вип.4.(76). – С. 64-67.
- Зайко, Я.Я. Патологическая физиология соединительной ткани. В кн.: Патологическая физиология / Я.Я. Зайко, Ю.В. Быць – К.: Логос, 1996. – 644 с.

#### EXCHANGE OF ALPHA-FETOPROTEIN IN HORSES AT ASEPTIC PODODERMATITIS AND HOOFED DEFORMATIONS

**Lazorenko A.B.**

Sumy National Agrarian University,

**Izdepskiy V.Y.**

Lugansk National Agrarian University

Results of researches of exchange of alpha-fetoprotein for horse at aseptic pododermatitis and hoofed deformations are resulted in the article. It is set that development sharp aseptic pododermatitis and chronic laminitis for horse accompanied a substantial increase maintenance of alpha-fetoprotein in homogenic of hoofed derma, that is related to realization of processes of proliferations of cages of connecting fabric and expression of ectopic synthesis of AFP lymphocyte of inflammatory hearth. Concentration of alpha-fetoprotein in homogenic tendons of deep digit flexor and lateral cartilages during hoofed deformation increased also, that testifies to strengthening of his local synthesis, development and activating of reparations processes and cellular proliferations related to them in tendon and cartilaginous fabrics.