

УДК 636.09:995.122

АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ КОРІВ ЗА АСОЦІАЦІЇ МІКОБАКТЕРІОЗУ ТА ФАСЦІОЛЬОЗУ

О. В. Куляба
terena4@gmail.com

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С. З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

У статті наведено результати досліджень впливу фасціольозу та мікобактеріозу на активність ензимів сироватки крові корів. У клінічній практиці ветеринарної медицини важливе прогностичне значення має визначення активності амінотрансфераз у сироватці крові, оскільки вони стоять на межі обміну білків, жирів і вуглеводів. Як видно із результатів досліджень, активність амінотрансфераз за асоціації фасціольозу та мікобактеріозу у сироватці крові корів підвищувалася. Підвищена активність амінотрансфераз пояснюється тим, що при пошкодженні біологічних мембран клітин, зумовленому фасціолами та мікобактеріями, відбувається вивільнення із гепатоцитів та серцевого м'яза у кров внутрішньоклітинних ензимів — аланін- і аспартат-амінотрансферази. Чим глибші структурні пошкодження біологічних мембран клітин, тим вищий рівень амінотрансфераз у сироватці крові.

За умов активації вільнорадикального окиснення важливе значення має функціональна активність внутрішньоклітинних захисних систем організму, до яких належить насамперед система антиоксидантного захисту, представлена комплексом спеціалізованих ензимів антиоксидантів. Стан антиоксидантної системи за фасціольозу і мікобактеріозу оцінювали за активністю у крові ензимів: каталази та супероксиддисмутази. Встановлено, що за розвитку фасціольозу та мікобактеріозу у корів знижується активність каталази (КТ) та супероксиддисмутази (СОД) відповідно на 23 % і 28 %. Встановлені у наших дослідках зміни активності каталази та супероксиддисмутази у сироватці крові дослідних корів розкривають додаткові аспекти токсичної дії фасціол і мікобактерій та можуть бути використані не лише як критерії оцінки стану організму, але й для підвищення лікувальної ефективності антидотних препаратів при цих захворюваннях.

Ключові слова: ПАРАЗИТОЛОГІЯ, МІКРОБІОЛОГІЯ, КОРОВИ, ФАСЦІОЛЬОЗ, МІКОБАКТЕРІОЗ, АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА, ЕНЗИМИ, АМІНОТРАНСФЕРАЗИ

ACTIVITY OF ENZYME IN COWS SERUM BLOOD AT MYCOBACTERIOSIS AND FASCIOSIS ASSOCIATION

O. Kulyaba
terena4@gmail.com

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies
named after S. Z. Gzhytskyj,
50 Pekarska Str., Lviv 79010, Ukraine

The article deals with the results of research of fasciolosis and mycobacteriosis influence on the activity of enzymes in cows blood serum. The aminotransferase activity determination in serum has an important prognostic meaning in clinical practice of veterinary medicine, as they are on the bound of the metabolism of proteins, fats and carbohydrates. As it has been shown from the results of research the aminotransferase activity at associations of fasciolosis and mycobacteriosis in blood serum of cows was increased. The increased activity of aminotransferases because of damaged biological cell membranes, caused by fasciola and mycobacteria, is released from hepatocytes and cardiac muscle in the blood of intracellular enzymes: alanine and aspartate aminotransferase. The deeper structural damage cells biological membranes, the higher the level of serum transaminases.

By the given activation of free radical oxidation, has the importance meaning of functional activity of intracellular defense systems, which, in the first place belongs to the antioxidant defense system, represented a set of specialized enzymes antioxidants. The state of antioxidant system at fasciolosis and mycobacteriosis

was evaluated by the activity of blood enzymes: catalase and superoxide dismutase. It was established that at the development of fasciolosis and mycobacteriosis in cows the activity of catalase and superoxide dismutase is decreases respectively to 23 % (CT) and 28 % (SOD). In our experiments it is set up changes in the activity of catalase and superoxide dismutase in blood serum of experimental cows reveal additional aspects of toxic effects of fasciola and of mycobacteria and may be used as criteria for evaluating not only the assessment of the body, but also the medical effectiveness of antidote drugs for these diseases.

Key words: PARASITOLOGY, MICROBIOLOGY, COWS, FASCIOSIS, MYCOBACTERIOSIS, ANTIOXIDANT SYSTEM, ENZYMES, AMINOTRANSFERASE

АКТИВНОСТЬ ЭНЗИМОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КОРОВ ПРИ АССОЦИАЦИИ МИКОБАКТЕРИОЗА И ФАСЦИОЛЕЗА

О. В. Куляба
terena4@gmail.com

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий
имени С. З. Гжицкого,
ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина

В статье приведены результаты исследований влияния фасциоза и микобактериоза на активность энзимов сыворотки крови коров. В клинической практике ветеринарной медицины важное прогностическое значение имеет определение активности аминотрансфераз в сыворотке крови, поскольку они стоят на грани обмена белков, жиров и углеводов. Как видно из результатов исследований, активность аминотрансфераз при ассоциации фасциоза и микобактериоза в сыворотке крови коров повышалась. Повышенная активность аминотрансфераз объясняется тем, что при повреждении биологических мембран клеток, обусловленном фасциолами и микобактериями, происходит высвобождение из гепатоцитов и сердечной мышцы в кровь внутриклеточных энзимов — аланин- и аспартат-аминотрансфераз. Чем глубже структурные повреждения биологических мембран клеток, тем выше уровень аминотрансфераз в сыворотке крови.

В условиях активации свободнорадикального окисления важное значение имеет функциональная активность внутриклеточных защитных систем организма, к которым в первую очередь относится система антиоксидантной защиты, которая представлена комплексом специализированных энзимов антиоксидантов. Состояние антиоксидантной системы фасциоза и микобактериоза оценивали по активности в крови энзимов — каталазы и супероксиддисмутазы. Установлено, что при развитии фасциоза и микобактериоза у коров снижается активность каталазы (КТ) и супероксиддисмутазы (СОД), соответственно, на 23 % и 28 %. Установленные в наших опытах изменения активности каталазы и супероксиддисмутазы в сыворотке крови опытных коров раскрывают дополнительные аспекты токсического действия фасциол и микобактерий и могут быть использованы в качестве не только критериев оценки состояния организма, но и для повышения лечебной эффективности антидотных препаратов при данных заболеваниях.

Ключевые слова: ПАРАЗИТОЛОГИЯ, МИКРОБИОЛОГИЯ, КОРОВЫ, ФАСЦИОЛЕЗ, МИКОБАКТЕРИОЗ, АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА, ЭНЗИМЫ, АМИНОТРАНСФЕРАЗЫ

Особливе місце в соціально-економічному розвитку України займає сільське господарство. Продукти сільського господарства і промислові товари, що виробляються з сільськогосподарської сировини, складають 75 % фонду народного споживання. Однією з найважливіших галузей сільського господарства України є скотарство, яке постачає незамінні продукти харчування і цінну

сировину для харчової і переробної промисловості.

Серед соціальних та економічних причин, які гальмують розвиток сільського господарства, невід'ємними є як гельмінтозні, так і інфекційні захворювання [1]. Згідно з даними літератури встановлено, що фасціолез — одне з найбільш небезпечних і широко розповсюджених гельмінтозів жуйних

тварин [1]. Хвороба реєструється на всіх континентах земної кулі і поширена на всій території нашої держави [2–5]. Внаслідок цього захворювання у тварин спостерігається на шарування і вторинної інфекції.

Є низка науковців, які вивчали патогенез, діагностику та лікування тварин при фасціольозі жуйних [6–11]. Проте недостатньо вивчений патогенез асоціації мікобактеріозу та фасціольозу. Нез'ясованим залишається вплив цих захворювань на ензимну систему крові та обмін речовин у жуйних тварин, особливо у великої рогатої худоби. Не розроблено методику корекції імунної системи та біохімічних показників крові організму великої рогатої худоби при асоціації мікобактеріозу та фасціольозу.

Метою наших досліджень було вивчити вплив фасціол та мікобактерій на активність ензимів у сироватці крові корів.

Матеріали і методи

Для дослідів було відібрано 10 корів української чорно-рябої молочної породи, з яких сформували дві групи по п'ять тварин у кожній. Корови контрольної групи були клінічно здоровими, тварини дослідної групи — уражені мікобактеріозом та фасціольозною інвазією.

Під час проведення досліджень дотримувалися правил, обов'язкових при виконанні зоотехнічних дослідів щодо підбору та утримання тварин-аналогів у групі, технології заготівлі, використання й обліку спожитих кормів. Раціон корів був збалансованим за поживними і мінеральними речовинами, які забезпечували потребу тварин в основних елементах живлення.

Кров для аналізу брали з яремної вени до зараження та на 7-, 14-, 21- і 28-му добу дослідів. У сироватці крові досліджували активність аспартат-амінотрансфери (АсАТ) (К.Ф. 2.6.1.1.) і аланін-амінотрансфери (АлАТ) (К.Ф. 2.6.1.2.) за методом Райтмана і Френкеля, у модифікації К. Г. Капетанакі; активність каталази (К.Ф. 1.11.1.6) — за методом М. А. Корольок; активність супероксиддисмутази (КФ 1.15.1.1.) — за методом Е. Е. Дубиніної; активність лужної фосфатази (ЛФ)

(К.Ф. 3.1.3.1.) — методом, що базується на визначенні кількості фенолу, який звільняється за гідролізу динатрійфенолфосфатази [12].

Результати й обговорення

Печінка в організмі тварин виконує низку найважливіших функцій. У печінці відбувається велика кількість різноманітних біохімічних реакцій, за що її називають «біохімічною фабрикою організму». У печінці синтезується або працює велика кількість ферментів, за активністю яких можна робити висновки про стан всього органу. Функціональний стан печінки корів за асоціації мікобактеріозу та фасціольозу ми досліджували за активністю амінотрансфери, а саме аланін- і аспартатамінотрансфери.

Активність аланін-амінотрансфери за асоціації мікобактеріозу та фасціольозу великої рогатої худоби наведена у *Таблиці 1*. Встановлено, що у корів, за фасціольозною інвазією та мікобактеріозу у крові настає підвищення активності аланін-амінотрансфери внаслідок збільшення проникності клітинних мембран і вихід цього ензиму в русло крові. Активність аланін-амінотрансфери у корів дослідної групи на 7-ту і 14-ту добу дослідів зросла на 14 % ($P < 0,05$) і 22 % ($P < 0,05$) порівняно з тваринами контрольної групи. На 21-шу добу дослідів активність досліджуваного ензиму була найвищою і становила відповідно $212,5 \pm 10,5$ нкат/л. На 28-му добу дослідів активність аланін-амінотрансфери у сироватці крові хворих корів була вищою на 25 % ($P < 0,05$) відносно показників у здорових корів.

Аналогічні зміни спостерігали і при дослідженні активності аспартат-амінотрансфери: у крові корів дослідної групи на 14-ту добу дослідів активність аспартат-амінотрансфери сягала $306,2 \pm 15,9$ нкат/л, у тварин контрольної групи — $270,0 \pm 16,2$ нкат/л. Найвищою активність ензиму була на 21-шу добу дослідів, де, порівняно з контролем, вона зросла на 22 % ($P < 0,05$).

Також слід зазначити, що активність аланін-амінотрансфери у крові хворих корів зростає більшою мірою, ніж активність

Таблиця 1

**Активність ензимів у сироватці крові корів за асоціації мікобактеріозу і фасціольозу
($M \pm m; n=5$)**

Показник	Групи тварин	На початку досліджу	Термін досліджень (доба)			
			7	14	21	28
АлАТ, нкат/л	К	160,0 $\pm$ 10,5	160,5 $\pm$ 10,1	160,9 $\pm$ 10,0	161,0 $\pm$ 10,2	160,7 $\pm$ 10,3
	Д ₂	165,3 $\pm$ 10,2	182,5 $\pm$ 10,5*	196,4 $\pm$ 10,2*	212,5 $\pm$ 10,5*	200,3 $\pm$ 10,0*
АсАТ, нкат/л	К	270,2 $\pm$ 16,1	269,7 $\pm$ 13,4	270,0 $\pm$ 16,2	270,9 $\pm$ 15,1	270,6 $\pm$ 14,4
	Д ₂	276,2 $\pm$ 17,4	297,4 $\pm$ 15,1	306,2 $\pm$ 15,9	330,8 $\pm$ 15,0*	302,5 $\pm$ 13,6
ЛФ, Од/л	К	42,5 $\pm$ 1,5	42,1 $\pm$ 1,1	42,4 $\pm$ 1,3	42,3 $\pm$ 1,4	42,2 $\pm$ 1,1
	Д ₂	43,1 $\pm$ 1,2	45,6 $\pm$ 1,2*	48,3 $\pm$ 1,2*	50,1 $\pm$ 1,4**	48,8 $\pm$ 1,2**
КТ, мкат/л	К	47,34 $\pm$ 1,12	47,23 $\pm$ 1,11	47,30 $\pm$ 1,12	47,27 $\pm$ 1,10	47,31 $\pm$ 1,10
	Д ₂	47,04 $\pm$ 1,10	40,10 $\pm$ 1,11*	38,75 $\pm$ 1,12**	36,15 $\pm$ 1,15**	38,14 $\pm$ 1,13**
СОД, у.о/мг білка	К	1,34 $\pm$ 0,04	1,32 $\pm$ 0,02	1,33 $\pm$ 0,04	1,30 $\pm$ 0,03	1,31 $\pm$ 0,02
	Д ₂	1,30 $\pm$ 0,02	1,17 $\pm$ 0,03*	1,08 $\pm$ 0,03*	0,96 $\pm$ 0,03**	1,05 $\pm$ 0,02**

Примітка: * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$

аспартат-аміотрансферази. Очевидно, це зумовлено тим, що аспартат-аміотрансфераза міститься в мітохондріях гепатоцитів і для того, щоб проникнути у кров, необхідно спочатку проникнути крізь мембрану мітохондрій, а потім — через мембрану клітини. Висока активність АлАТ і АсАТ у сироватці крові корів за фасціольозу та мікобактеріозу вказує на деструктивні процеси у печінці, які призводять до вивільнення з клітинних органел у кров аміотрансaminaз. Таким чином, одержані результати вказують на посилення деструктивних процесів в організмі корів за мікобактеріозу і фасціольозної інвазії.

Важливе значення має дослідження активності лужної фосфатази у крові дослідних тварин, оскільки вона впливає на процес відкладення кальцію в кістковій тканині, а також на транспортування й обмін ліпідів. Лужна фосфатаза у сироватці крові становить загальну активність її ізоферментів, що містяться у печінці, кістках, нирках, слизовій оболонці кишечника та плаценті. У сироватці крові хворих корів встановлено підвищення активності лужної фосфатази. Можливо, причину зростання активності ЛФ є негативний вплив фасціол і мікобактерій на тканини печінки. Також підвищення активності відбувалося за рахунок печінкового ізоферменту. Активність лужної фосфатази у сироватці крові хворих корів на 7-му добу досліджу підвищилася на 8 % ($P < 0,05$), на 14-ту та 28-му добу досліджу — на 14 %

($P < 0,05$ та $P < 0,01$ відповідно) порівняно з клінічно здоровими коровами. Найбільше активність лужної фосфатази підвищилася на 21-шу добу досліджу — з 42,3 $\pm$ 1,2 Од/л до 50,1 $\pm$ 1,4 Од/л, що на 18 % ($P < 0,01$) більше, ніж у клінічно здорових корів.

В організмі тварин постійно утворюються активні форми кисню (АФК) внаслідок перенесення електронів у мітохондріальному дихальному ланцюзі, в реакціях, які каталізуються оксидазами, і утворюється перекис водню. Однак при інтенсифікації вільнорадикальних процесів, особливо перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) поліненасичених жирних кислот спостерігається розвиток загального неспецифічного адаптаційного процесу (стресу). Речовини, що нейтралізують шкідливий ефект вільних радикалів, зазвичай об'єднують під загальною назвою — антиоксидантна система захисту. Одним із ензимів цієї системи є каталаза, яка нейтралізує перекис водню, що сприяє руйнуванню клітинних структур. Активність каталази у крові хворих корів на 7-му добу досліджу була на 15 % ($P < 0,05$) нижчою порівняно з клінічно здоровими. На 14-ту і 21-шу доби досліджу знову фіксували зниження активності вказаного ензиму на 18 % ($P < 0,01$) та 24 % ($P < 0,01$) відповідно, а на 28-му добу досліджу вона дещо підвищилася (на 20 %, $P < 0,01$) і становила 38,14 $\pm$ 1,13 мкат/л. Зниження активності каталази можливо зумовлене зменшенням кількості еритроцитів у хворих корів.

Поряд із визначенням активності каталази є необхідним і визначення активності супероксиддисмутази, оскільки занадто різке підвищення в клітині активності СОД без відповідної активації КТ саме по собі є токсичним. Активність супероксиддисмутази у сироватці крові корів за мікобактеріозу та фасціольозної інвазії на 7-му добу досліджу становила $1,17 \pm 0,03$ у.о/мг білка, що на 11 % ($P < 0,05$) нижче від контролю. На 14-ту добу досліджу активність ензиму знизилася на 19 % ($P < 0,05$), що становило $1,08 \pm 0,03$ у.о/мг білка. На 28-му добу активність СОД у сироватці крові хворих корів була нижчою на 20 % ($P < 0,01$), ніж у клінічно здорових корів. Найнижчою активність супероксиддисмутази у сироватці крові корів дослідної групи спостерігали на 21-шу добу досліджу, де, порівняно з клінічно здоровими тваринами, вона була на 28 % ($P < 0,01$) нижчою. Зниження активності цього ензиму, можливо, зумовлене токсичним впливом як фасціол, так і мікобактерій на печінку та запуском вільнорадикального окиснення.

Висновок

За розвитку фасціольозу та мікобактеріозу, збудники захворювань, токсично впливають на гепатоцити, сприяючи до підвищення проникності біологічних мембран оболонки клітин. Вказані зміни спричиняють до збільшення активності ензимів у сироватці крові, зокрема амінотрансфераз (АсАТ і АлАТ) і ЛФ та зниження активності ензимів антиоксидантної системи (СОД та КТ).

Встановлені у наших досліджах зміни активності каталази та супероксиддисмутази у сироватці крові дослідних корів розкривають додаткові аспекти токсичної дії фасціол і мікобактерій та можуть бути використані не лише як критерії оцінки стану організму, але й лікувальної ефективності антидотних препаратів при цих захворюваннях.

Перспективи подальших досліджень.

Отримані результати досліджень будуть застосовані у подальшому вивченні системи антиоксидантного захисту та процесів перекисного окиснення ліпідів у крові корів для роз-

робки ефективної лікувальної схеми за фасціольозу та мікобактеріозів у жуйних тварин.

1. Mereminskij A. I. Economic loss by Fascioliasis. *Problems of Parasitology*. K., 1961, pp. 158–163. (In Russian).

2. Kararo M. V. By spreading of animal Fascioliasis in Moldova. Methods of prevention and control of Fascioliasis and other ruminants Trematodiasis in watered and drained areas of the USSR. *Proc. rep. All-Union. Conf.* (Velikie Luki 21–23 June, 1977). M., 1977, pp. 43–45. (In Russian).

3. Klesov M. D. Fascioliasis spreading in the Ukrainian SSR. *Veterinary science*. 1963, № 1, pp. 10–14. (In Russian).

4. Boray I.C. Experimental fascioliasis in Australia. *Aav Parasitol.* 1969, vol. 7, pp. 95–210.

5. Zubaidy A. J. Studies on experimental ovine fascioliasis to *Fasciola gigantica*: haematological and serum protein changes. *Hematology*. 1990, vol. 27, N. 3, P. 173–182.

6. Dovgiy Y. Y. Fasciolosis influence on cattle natural resistance and treatment their in the area of radioactive contamination. *Veterinary Medicine of Ukraine*. 1998, № 4, P. 32–33. (in Ukrainian).

7. Dovgiy Y. Y., Grischuk G. P. Changes micronuclei in erythrocytes of cows patients Fasciolosis. *Veterinary Medicine of Ukraine*. 2003, № 2, P. 24–25. (in Ukrainian).

8. Kiselev V. A., Marcinovskij V. P. Guidelines to effort of cattle and sheep Fascioliasis in the area of Polesye USSR. Rovno, 1987, 4 p. (In Russian).

9. Charlier J., Duchateau L., Claerebout E., Williams D., Vercruyse J. Associations between anti-*Fasciola hepatica* antibody levels in bulk tank milk samples and production parameters in dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 2007, vol. 78, pp. 57–66.

10. Mezo M., González-Warleta M., Castro-Hermida J. A., Muíño L., Ubeira F. M. Field evaluation of the MM3-SERO ELISA for detection of anti-*Fasciola* IgG antibodies in milk samples from individual cows and bulk milk tanks. *Parasitol. Int.* 2010, vol. 59, pp. 610–615.

11. Rana M. A. A., Roohi N., Khan M. A. Fascioliasis in cattle — a review. *The Journal of Animal and Plant Sciences*. 2014, vol. 24, N 3, pp. 668–675.

12. Vlizlo V. V., Fedoruk R. S., Ratych I. B. [et al.] Laboratory methods of investigation in biology, stock-breeding and veterinary: *Reference book*; Edited by V. V. Vlizlo. Lviv : SPOLOM. 2012:764. (in Ukrainian).