

УДК 619:577.121.6:616-006.446.2

**ЗАВИСИМОСТЬ ВОСПРИИМЧИВОСТИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА К ЛЕЙКОЗУ ОТ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ****Малинин М.Л., Кузнецова А.Е., Шibaева М.А., Караблин П.М.,  
Тихомирова Е.И., Ласкавый В.Н.***ГНУ «Саратовский НИВИ Россельхозакадемии», Саратов, e-mail: mik-malinin@yandex.ru*

Исследовалась кровь коров из неблагополучного по лейкозу хозяйства. Клинически все животные были здоровы, гематологические параметры находились в пределах нормы. У РИД + животных были достоверно повышены показатели активности креатинкиназы, кислой и щелочной фосфатаз и снижены активности АСТ, величина индекса фосфатаз, концентрация липопротеидов очень низкой плотности. У невосприимчивых животных корреляция между активностью кислой фосфатазы и концентрацией липопротеидов очень низкой плотности была высокой, а у восприимчивых животных корреляция между этими параметрами была низкой. Отрицательная корреляция между содержанием липопротеидов очень низкой плотности и активностью кислой фосфатазы показывает возрастающее потребление липидов при увеличении активности клеток крови. Выявлено нарушение взаимосвязи активности кислой фосфатазы и концентрации липопротеидов очень низкой плотности у восприимчивых животных.

**Ключевые слова:** лейкоз крупного рогатого скота, ферменты, липиды, восприимчивость**DEPENDENCE OF SENSIBILITY OF CATTLE TO LEUKEMIA  
BY BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS****Malinin M.L., Kuznetsova A.E., Shibaeva M.A., Karablin P.M.,  
Tikhomirova E.I., Laskavy V.N.***State Institution Saratov Scientific and Research Veterinary Institute Russian Academy for Agricultural Sciences, Saratov, e-mail: mik-malinin@yandex.ru*

We investigated the blood of cows from disadvantaged by leukemia farm. Haematological parameters of all the animals were in the normal range. Clinically, all the animals were healthy. Animals RID + were significantly elevated creatine kinase, acid and alkaline phosphatases. At the same time, these animals were significantly reduced AST, the value of the index phosphatase concentration of very low density lipoproteins. Do not susceptible animals correlation between the activity of acid phosphatase and the concentration of very low density lipoproteins reached -0.92, while in susceptible animals correlation between these parameters was low (0.32). Because very low density lipoproteins transports endogenous triglycerides, phospholipids, cholesterol and its esters in the liver, a negative correlation between the activity of acid phosphatase and the concentration of very low density lipoprotein show increasing consumption of lipids by increasing the activity of the blood cells. Found a violation of the relationship of acid phosphatase, reflecting, in particular, and functional status of white blood cells, and the concentration of very low density lipoproteins in susceptible animals.

**Keywords:** bovine leukosis, enzymes, lipids, susceptibility

Влияние биохимических показателей крови на устойчивость животных к заболеваниям изучалось на примере лейкоза крупного рогатого скота. Вирус лейкоза крупного рогатого скота относится к РНК-содержащим вирусам подсемейства *Oncornavirinae* (опухолевые вирусы) семейства *Retroviridae* [2, 4]. Основным признаком вирусов данного семейства является наличие в вирионе фермента инвертазы. Подсемейство *Oncornavirinae* включает 3 рода, дифференцируемые морфологически на вирусы типов В, С и D. Вирусы типа С подразделяются на вирусы типа С млекопитающих и вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) [1, 2]. Репликация ВЛКРС ограничивается лимфоидными клетками.

Доказано решающее этиологическое значение ВЛКРС при возникновении гемобластозов крупного рогатого скота [7, 10]. Вместе с тем имеются данные о том, что канцерогенный эффект вирусов проявляется в зависимости от иммунобиологиче-

ского состояния организма и воздействия стрессовых факторов. Различные породы крупного рогатого скота подвержены заболеванию ВЛКРС в различной степени [8]. Лейкозом крупного рогатого скота, как правило, болеют животные старше 4-х лет. Телята в возрасте до 6 месяцев устойчивы к ВЛКРС, что, вероятно, обусловлено колостральным иммунитетом [3].

Гемобластозы КРС относятся к медленно развивающимся инфекционным заболеваниям. Контагиозность лейкоза невысока. Инфицированность поголовья может в некоторых стадах достигать 50%, тогда как характерные для гемобластозов гематологические сдвиги проявляются не более чем у 10% животных, а клинические признаки наблюдаются лишь у 1–2% инфицированных животных.

Вышеизложенное обуславливает актуальность исследования зависимости восприимчивости крупного рогатого скота к лейкозу от биохимических показателей крови.

### Материалы и методы исследования

Исследовали кровь коров, которую забирали пунктированием яремной вены в соответствии с методическими указаниями [3, 7, 8] и доставляли в течение суток в биохимическую лабораторию Саратовского НИИ ветеринарной медицины. Все животные были клинически здоровы.

Определяли в крови такие биохимические показатели, как активность креатинкиназы (КК), щелочной фосфатазы (ЩФ), кислой фосфатазы (КФ), отношение общего белка к мочеvine, концентрацию ионизированного кальция, активность АСТ, величину индекса фосфатаз и альбумин-глобулинового соотношения, концентрацию альбуминов, мочевины, глюкозы, липопротеидов очень низкой плотности и триглицеридов по общепринятым методикам [5].

Полученные результаты обрабатывали статистически с определением средних арифметических и расчетом средних квадратичных отклонений и корреляционных коэффициентов Пирсона [9].

### Результаты исследования и их обсуждение

В данной работе исследовалась кровь коров из неблагополучного по лейкозу хозяйства. Реакция иммунодиффузии (РИД) на ВЛКРС и гематологические параметры у них находились в пределах нормы. В дальнейшем у части коров выявлена положительная реакция иммунодиффузии (РИД) на ВЛКРС.

Установлены достоверные отличия коров, РИД-положительных на вирус лейкоза крупного рогатого скота, но клинически и гематологически здоровых, от РИД-отрицательных. Так, у животных РИД+ были достоверно повышены активность КК, ЩФ, КФ, отношение общего белка к мочеvine, концентрация ионизированного кальция. В то же время у этих коров были достоверно снижены значения следующих биохимических показателей: активность АСТ, величина индекса фосфатаз и альбумин-глобулинового соотношения, концентрация альбуминов, мочевины, глюкозы, липопротеидов очень низкой плотности, триглицеридов (таблица). Полученные данные указывают на большую активность периферической зоны метаболизма и меньшую активность центральной зоны метаболизма у РИД+ коров.

Особенно значительным (в 3,8 раза) было различие двух групп животных по активности кислой фосфатазы (КФ 3.1.3.2). КФ относится к классу гидролаз, подклассу гидролаз фосфорных моноэфиров. Как и другие фосфатазы, катализирует гидролиз ортофосфорных сложных моноэфиров с отщеплением фосфат-иона. Термин «кислая фосфатаза» объединяет все изоферменты, проявляющие активность при оптимуме рН < 7,0. Оптимум рН для большинства

кислых фосфатаз находится в интервале рН 4,7–6,0. Молекулярная масса этих ферментов находится в пределах 47–84 кДа.

### Биохимические показатели РИД+ и РИД- по ВЛКРС коров

Параметры	РИД+		РИД-	
	М	± m	М	± m
АСТ*	1,73	0,1	2,27	0,2
АЛТ	0,64	0,1	0,66	0,1
Коэффициент Де Ритиса	2,80	0,3	3,51	0,3
КК*	2,13	0,3	1,45	0,2
ЛДГ	54,20	3,4	54,28	3,2
Индекс ферментемии	2,88	0,3	3,58	0,1
ГГТ	0,51	0,1	0,34	0,02
ЩФ*	2,37	0,3	1,48	0,3
КФ*	7,89	0,6	2,09	0,1
Индекс фосфатаз*	0,32	0,05	0,72	0,1
Амилаза	0,43	0,04	0,42	0,05
Липаза	0,09	0,003	0,13	0,01
Общий белок	74,26	3,3	69,24	2,4
Альбумины*	30,05	1,3	33,80	1,0
Глобулины	44,21	3,9	35,44	2,0
Альбумин/Глобулин*	0,72	0,1	0,97	0,05
Мочевина*	1,37	0,1	2,07	0,3
Креатинин	121,76	15,5	110,41	10,7
Мочевая кислота	50,67	3,0	50,49	2,7
Общий белок / Мочевина*	945,52	83,9	605,70	71,8
Глюкоза*	3,32	0,1	4,55	0,3
Общий холестерин	2,19	0,2	1,85	0,2
Хс-ЛПВП	1,27	0,1	1,10	0,2
Хс-ЛПНП	0,61	0,2	0,39	0,1
Хс-ЛПОНП*	0,31	0,004	0,37	0,01
Индекс атерогенности	0,76	0,2	0,78	0,1
Триглицериды*	0,67	0,01	0,80	0,03
Кальций Ca <sup>2+</sup> *	2,31	0,1	1,91	0,1
Магний Mg <sup>2+</sup>	0,85	0,01	0,87	0,0001
Фосфор неорганический	1,96	0,05	1,73	0,1

Примечание. \* p < 0,05.

Активность кислой фосфатазы обнаруживается в клетках различных тканей и органов, как в лизосомах, так и вне их. Довольно высока активность кислой фосфатазы в остеокластах, а также в макрофагах. Активность кислой фосфатазы в макрофагах

служит показателем кислороднезависимого килинга. Нормальный, низкий уровень активности КФ в сыворотке обусловлен в основном тартратрезистентной КФ остеокластов. Активность КФ сыворотки крови в норме связана также с выходом фермента из гепатоцитов и клеток крови.

При патологии активность КФ в сыворотке крови обусловлена повышенной продукцией фермента патологическими клетками (например, при клоновых лейкоцитозах) и выходом фермента в кровь из разрушающихся клеток.

Увеличенная активность кислой фосфатазы может наблюдаться при миелоцитарной лейкемии и других гематологических заболеваниях. Кислая фосфатаза в гранулоцитарном ряду начинает выявляться со стадии миелобласта и достигает максимума в промиелоцитах. По мере дальнейшего созревания клеток активность фермента снижается и отмечается только у части зрелых нейтрофилов. Повышение активности кислой фосфатазы наблюдается в нейтрофилах при воспалительных процессах, при туберкулезе, злокачественных опухолях, при иммунизации, при различных аллергических заболеваниях. Определение кислой фосфатазы является важным тестом при лейкозах. В бластных клетках при острых лейкозах характер распределения продукта реакции, катализируемой КФ, различен в зависимости от формы лейкоза. При лимфобластных формах активность кислой фосфатазы выявляется в гранулярной форме, при миелобластных – в диффузной форме. При Т-клеточной форме лейкоза бласты Т-клеточного происхождения имеют высокую активность КФ, что характеризует наиболее неблагоприятный прогноз.

Активность КФ – очень важный признак лейкозной лимфоидной клетки. Кислая фосфатаза рядом авторов трактуется как характерный для Т-клеток фермент. В лейкозных лимфоидных клетках с низким содержанием ШИК-положительного материала отмечается высокая активность КФ и чаще наблюдается реакция прямого розеткообразования с эритроцитами барана. Ritter с соавторами находят соответствие между активностью кислой фосфатазы в лейкозных клетках и их способностью давать прямые розетки с эритроцитами барана [9]. Другие исследователи считают высокое содержание кислой фосфатазы в бластных клетках показателем злокачественности при остром лимфолейкозе и плохим прогностическим признаком. При рецидивах заболевания лейкозные лимфоидные клетки всегда проявляют значительную активность кислой фосфатазы. Особенности клиники и про-

гноза при лимфолейкозе с крайне высокой активностью КФ в лейкозных лимфоидных клетках позволили выделить варианты лимфоидной формы лейкоза и дать характеристику типов клеток. У лимфоидных лейкозных клеток I типа активность кислой фосфатазы в большинстве клеток нулевая. У лимфоидных лейкозных клеток II типа часто выявляются лизосомоподобные образования, что подтверждается высокой активностью кислой фосфатазы в большинстве клеток (более 60%). Тестирование лейкозных лимфоидных клеток по активности в них кислой фосфатазы имеет значение и в диагностическом, и в прогностическом плане.

При лимфолейкозе, эритромиелозе и монобластном лейкозе положительная реакция на КФ зачастую может быть резко выраженной. При редко встречающемся варианте, волосатоклеточном лейкозе, для лейкозных мононуклеарных клеток неясного, возможно, В-клеточного происхождения, также характерна реакция на кислую фосфатазу, не подавляемая тартратом натрия. Активность кислой фосфатазы повышается и при миелолейкозах, особенно при промиелоцитарном варианте.

При исследовании сыворотки крови коров активность кислой фосфатазы во всех случаях не выходила за рамки референтных значений (см. таблицу). Однако из 14 коров в 6 случаях активность кислой фосфатазы оказалась повышенной относительно средней по группе на 40–98%. В одном случае активность КФ была ниже средней, но лишь на 2%, что не превышает коэффициента вариации методики. Это указывает на высокую физиологическую активность органов ретикуло-эндотелиальной системы, что, в свою очередь, свидетельствует о повышенном распаде клеток крови, характерном для лейкоза. У этих животных при дальнейшем наблюдении выявлена положительная реакция на ВЛКРС в тесте РИД и ПЦР. Высокая активность КФ, которой богаты лейкоциты, у клинически здоровых животных может свидетельствовать об увеличении количества и/или физиологической активности белых клеток крови. Раздражение лейкоцитарного ростка кроветворения, в свою очередь, является фактором, предрасполагающим к заболеваниям крови. У 7 коров активность КФ была ниже средней по группе в 2,3–2,9 раза (см. таблицу). При последующем наблюдении у этих животных ВЛКРС не выявлен.

Помимо активности кислой фосфатазы на повышенную чувствительность животных к лейкозу могут указывать значения показателей липидного обмена, таких как

активность липазы, концентрация триглицеридов, липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП). Триглицериды – основная форма депонирования жиров в организме. ЛПОНП транспортируют эндогенные триглицериды, фосфолипиды, холестерин и эфиры холестерина, выполняя функцию переносчика липидов в организме. По мере гидролиза под действием липопротеинлипазы ЛПОНП превращаются в липопротеиды промежуточной плотности, а затем – в липопротеиды низкой плотности. Липазы (КФ 3.1) присутствуют в слюне, желудочном соке, панкреатическом соке, желчи, кишечном соке. Триглицеридлипазы катализируют гидролиз триглицеридов до моноглицеридов и жирных кислот. Моноглицеридлипаза (КФ 3.1.1.23) катализирует гидролиз моноглицеридов до глицерина и жирной кислоты. Понижение активности липазы отмечается при раке различной локализации (кроме карциномы поджелудочной железы), а также при избытке триглицеридов в пище.

В наших исследованиях концентрация триглицеридов у всех РИД+ коров была ниже средней, а у РИД– коров в 5 случаях она была выше средней, а в двух случаях незначительно (не более чем на 3%) ниже средней. Концентрация ЛПОНП, богатых триглицеридами, у всех РИД+ коров была ниже средней на 6–15%, а у РИД– коров в 5 случаях она была выше средней на 6–24%, в одном случае равна средней и в одном случае незначительно (на 2,9%) ниже средней. У всех РИД+ коров активность липазы была ниже средней, а среди РИД– коров активность липазы была в четырех случаях выше средней, в двух случаях равна средней и в одном случае незначительно (на 9%) ниже средней (см. таблицу).

Синхронное уменьшение активности липазы, концентрации свободных триглицеридов и богатых триглицеридами липопротеидов очень низкой плотности свидетельствует о заметном снижении интенсивности липидного обмена у РИД+ коров. У невосприимчивых животных интенсивность липидного обмена несколько выше, чем в среднем.

#### Закключение

Таким образом, выявлено нарушение взаимосвязи активности кислой фосфатазы, отражающей в том числе и функциональное состояние белых клеток крови, и концентрации ЛПОНП у восприимчивых к ВЛКРС животных. Установлено, что главный признак восприимчивости – активность КФ не ниже средней  $\pm 10\%$  и содержание липопротеидов очень низкой плотности не выше средней  $\pm 3\%$ .

При проведении корреляционного анализа биохимических показателей у животных в целом обнаружена высокая отрица-

тельная корреляция (коэффициент Пирсона  $r = -0,77$ ) активности кислой фосфатазы с концентрацией липопротеидов очень низкой плотности. Поскольку ЛПОНП осуществляют транспорт эндогенных триглицеридов, фосфолипидов, холестерина и его эфиров из печени, отрицательная корреляция между активностью кислой фосфатазы и концентрацией ЛПОНП показывает возрастающее потребление липидов при увеличении активности клеток крови.

У невосприимчивых животных корреляция между активностью кислой фосфатазы и концентрацией ЛПОНП была еще выше и достигала  $r = -0,92$ , в то время как у восприимчивых животных корреляция между этими параметрами почти отсутствовала ( $r = +0,32$ ).

#### Список литературы

1. Алтухов Н.Н. Краткий справочник ветеринарного врача. – М.: Агропромиздат, 1990. – 574 с.
2. Бакулов И.А. Эпизоотология с микробиологией – М.: Агропромиздат, 1987. – 415 с.
3. Гавриш В.Г. Справочник ветеринарного врача. – 4-е изд. – Ростов-на-Дону: «Феникс», 2003. – 576 с.
4. Инфекционные болезни животных / Б.Ф. Бессарабов, Е.С. Воронин и др. / под ред. А.А. Сидорчука. – М.: КолосС, 2007. – 671 с.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. Т. 1. – Минск: Беларусь, 2000. – 495 с.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. – 4-е изд. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
7. Справочник ветеринарного врача / А.Ф. Кузнецов. – М.: Лань, 2002. – 896 с.
8. Справочник ветеринарного врача / П.П. Достоевский, Н.А. Судаков, В.А. Атамас и др. – К.: Урожай, 1990. – 784 с.
9. Ahmed M.M., Chendil D., Lele S., Venkatasubbarao K., Dey S., Ritter M., Rowland R.G., Mohiuddin M. (2001) Early growth response-1 gene: Potential radiation response gene marker in prostate cancer. – Am J Clin Oncol, 2001, 24: 500–50.
10. Довідник лікаря ветеринарної медицини / П.І. Вербицький, П.П. Достоевський. – К.: «Урожай», 2004. – 1280 с.

#### References

1. Ahmed M.M., Chendil D., Lele S., Venkatasubbarao K., Dey S., Ritter M., Rowland R.G., Mohiuddin M. Early growth response-1 gene: Potential radiation response gene marker in prostate cancer. Am J Clin Oncol, 2001, 24: 500–50.
2. Altukhov N.N. Quick Reference veterinarian M.: Agropromizdat, 1990. 574 p.
3. Bakulov I.A. Epizootology with microbiology. M.: Agropromizdat, 1987. 415 p.
4. Directory veterinarian / A.F. Kuznetsov. M.: Doe, 2002. 896 p.
5. Directory veterinarian / P.P. Dostoevsky, N.A. Sudaakov, V.A. Atamas etc. K.: Vintage, 1990. 784.
6. Dovidnik likarja veterinarnoї medicin i/ P.I. Verbic'kij, P.P. Dostoevs'kij. K.: Urozhaj, 2004. 1280p.
7. Gavriush V.G. Directory veterinarian, 4th ed. Rostov-on-Don, «Phoenix», 2003. 576 p.
8. Infectious diseases of animals / B.F. Basarabians, E.S. Voronin, etc. Under ed. A.A. Sidorchuk. M.: Colossus, 2007. 671 p.
9. Kamyshnikov V.S. Handbook of clinical and biochemical laboratory diagnostics: in 2 vols. Vol. 1. Mn.: Belarus. 2000. 495 p.
10. Lakin G.F. Biometrics. 4th ed. M.: Higher School, 1990. 352 p.

#### Рецензенты:

Карпунина Л.В., д.б.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и биотехнологии, СГАУ им. Н.И. Вавилова, г. Саратов;

Коннова С.А., д.б.н., профессор, зав. кафедрой биохимии и биофизики, НИУ СГУ им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 17.10.2013.