

В.І. ЛЕВЧЕНКО, В.В. ВЛІЗЛО, І.П. КОНДРАХІН,
Д.О. МЕЛЬНИЧУК, Л.І. АПУХОВСЬКА, В.Л. ГАЛЯС,
В.І. ГОЛОВАХА, В.В. САХНЮК, В.А. ТОМЧУК,
В.А. ГРИЩЕНКО, М.І. ЦВІЛХОВСЬКИЙ

ВЕТЕРИНАРНА КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ



Розділ 8

КЛІНІЧНА ВІТАМІНОЛОГІЯ

У 1880 р. російський лікар М.І.Лунін першим виявив, що в продуктах, крім відомих на той час речовин, містяться й інші, необхідні для життя людей і тварин. У 1882 р. М.В.Савельєв довів, що причиною виникнення “курячої сліпоти” в людей є недостатній вміст у продуктах харчування жирових речовин. Але лише через 30 років був виділений розчинний у жирах А-фактор, який попереджував ксерофталмію і відновлював сутінковий зір. У 1916 р. цей фактор назвали вітаміном А, оскільки за кілька років до цього (1911 р.) польський учений К.Функ із рисових висівок виділив речовину, яка виліковувала і запобігала виникненню поліневриту в людей та птиці і містила у своєму складі аміногрупу. Враховуючи значення подібних речовин для життя і наявність аміногрупи в їхньому складі, К.Функ назвав ці сполуки вітамінами (лат. – *vita* – життя; *amin* – амін). На сьогодні вивчено більше 30 вітамінів. Більшість із них не містять аміногрупи, навіть азоту, однак термін *вітаміни* зберігся. Учення про вітаміни, зародившись наприкінці 19 ст., у 20 ст. виокремилось у самостійний розділ науки про повноцінне живлення людей і тварин.

У визначенні поняття “вітаміни” суттєві протиріччя існують ще досі, оскільки ряд прикладів свідчать про те, що окремі вітаміни є незамінними факторами живлення для людини і в той же час не є такими для тварин деяких видів. З іншого боку, окремі амінокислоти і рослинні ненасичені жирні кислоти (лінолева, ліноленова) виявилися незамінними для людини, тому що вони не синтезуються в організмі. Однак ці сполуки не належать до вітамінів, оскільки останні відрізняються від усіх інших органічних харчових речовин двома характерними ознаками: вони не включаються у структуру тканин і не використовуються організмом як джерело енергії.

Таким чином, *вітаміни* – це незамінні фактори живлення, які є низькомолекулярними органічними сполуками, виконують функцію біологічних каталізаторів самостійно або у складі ферментів як кофактори, забезпечуючи нормальний розвиток організму тварин і людей.

Більшість вітамінів в організмі не синтезується або утворюється в кількості, яка не забезпечує потреби організму. Джерелом вітамінів для тварин є переважно корми рослинного і меншою мірою – бактеріального та тваринного походження.

За відсутності вітамінів в організмі розвиваються гіповітамінози, причиною яких можуть бути *екзогенні*, *ендогенні* та *змішані* фактори. До *екзогенних* факторів належить недостатнє надходження вітамінів або їхніх попередників із кормом і посилене руйнування їх у шлунково-кишковому каналі антивітамінами та солями тяжких металів.

Антивітаміни поділяються на дві групи: а) сполуки, що мають структуру, подібну до структури нативного вітаміну і дія яких ґрунтуються на конкурентних взаємовідносинах із ним; б) антивітаміни, які зумовлюють модифікацію хімічної структури вітамінів або утруднюють їх усмоктування і транспорт, що супроводжується зниженням або втратою біологічного ефекту вітамінів.

Таким чином, термін “анттивітаміни” стосується будь-яких речовин, які зумовлюють, незалежно від механізму їхньої дії, зниження або повну втрату активності вітамінів.

Структуроподібні аналоги вітамінів є, по суті, антиметаболітами і при взаємодії з апоферментом утворюють неактивний ферментний комплекс. Антивітаміни біологічного походження, у тому числі ферменти і білки, спричиняють розщеплення або зв’язування молекул вітамінів і таким чином інактивують їхню біологічну дію. До таких антивітамінів належать, зокрема, тіамінази, які викликають розпад молекул тіаміну, аскорбатоксидаза, яка катализує руйнування вітаміну С, та білок авідин, який зв’язує біотин у біологічно неактивний комплекс.

Ендогенна вітамінна недостатність розвивається на фоні збалансованого повноцінного раціону і зумовлюється такими факторами: а) зниженням асиміляції вітамінів із кормів та препаратів унаслідок ураження шлунка, кишечнику, печінки, підшлункової залози, серцево-судинної системи (застій крові в системі ворітної вени); б) зниженням синтезу вітамінів у рубці та кишечнику мікрофлорою внаслідок різних захворювань і неконтрольованого застосування кокцидіостатиків та антимікробних препаратів; в) порушенням синтезу біологічно активних сполук вітамінів унаслідок патології окремих органів і недостатності ферментативних систем, які беруть участь у перетворенні вітамінів; г) порушенням депонування вітамінів; д) посиленим виведенням вітамінів з організму, особливо за нестачі білка, при ураженні різних органів та при інфекціях, що мають хронічний перебіг;

е) конкурентним заміщенням антивітаміном вітаміну з ферментного комплексу, у результаті чого утворюється неактивний фермент із наступним порушенням метаболізму.

В останнє десятиліття в медицині описана велика кількість уроджених захворювань, симптоми яких подібні до типових гіповітамінозів і які розвиваються в ранньому дитячому віці незалежно від за-безпеченості організму вітамінами. Зокрема, описані випадки вітамін-D-резистентного рапахіту, вітамін-D-залежного рапахіту (Спіричев В.Б., 1977), тіамінзалежної мегалобластичної та піридоксинзалежної анемії, перніціозної анемії. У тварин описаний уроджений рапахіт. Причиною цих захворювань є генетичні дефекти, пов'язані з порушенням всмоктування вітамінів у кишечнику, транспорту їх до органів-мішней або ж з порушенням перетворення вітамінів у коферменти чи біологічно активні форми. Відомі факти спадкового дефекту синтезу білкової частини ферменту (апоферменту) у розвитку вроджених розладів функції вітамінів, а також порушення зв'язку коферменту (активної форми вітаміну) зі специфічним білком – апоферментом.

Окрім гіповітамінозів, у літературі описані захворювання, зумовлені надходженням вітамінів в організм у надмірно великій кількості – *гіпервітамінози*, які, однак, зустрічаються значно рідше, оскільки дози, що спричиняють їх розвиток, значно вищі за терапевтичні.

Сучасна класифікація вітамінів ґрунтуються на їхніх фізико-хімічних властивостях, зокрема розчинності, та на хімічній природі. Залежно від розчинності, розрізняють вітаміни *жиророзчинні* (A, D, E, K) і *водорозчинні* (B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₁₂, B_c, H, C, P). Окрім цих двох головних груп вітамінів, виділяють групу різноманітних хімічних сполук, що мають вітамінні властивості – *вітаміноподібні речовини*, до яких, зокрема, належать холін, вітаміни B₁₃ і B₁₅, інозит, убіхіон, карнітин, лінолева і ліноленова кислоти (вітамін F), вітамін U (S-метилметіонін), параамінобензойна кислота.

ЖИРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ

Обмін вітаміну А та його зміни при патології

“Вітамін А” – це термін, що використовується для позначення всіх сполук, які проявляють біологічну активність, характерну для ретинолу, який є головною природною формою. Відомі три вітамінні групи А: A₁, A₂ і цис-форма вітаміну A₁. Біологічна активність вира-

жається в міжнародних одиницях. 1 МО ретинолу за активністю відповідає 0,3 мкг ретинолу або 0,344 мкг ретиніл-ацетату, або 0,55 мкг ретиніл-пальмітату. Таким чином, 1 г чистого ретинолу містить 3,33 х 10⁶ МО. 1 мкг ретинолу (3,33 МО) прирівнюється до 6 мкг β-каротину або 12 мкг суміші каротиноїдів.

В організмі тварин вітамін А існує у двох формах: – A₁ і A₂. Вітамін A₁ міститься в печінці ссавців і морських риб, вітамін A₂ – у печінці прісноводних риб. Біологічна активність вітаміну A₂ становить близько 40 % біологічної активності вітаміну A₁.

А-вітамінну активність проявляють також каротиноїди, з яких найбільш біологічно активним є бета-каротин. Його частка в загальному вмісті активних каротиноїдів становить: у траві – 75 %, червоній моркві – 85, жовтій кукурудзі – 40, овочах, картоплі – близько 50, персиках – 10, абрикосах – 60 %. Активність інших ізомерів менша.

Вітамін А синтезується із каротину в стінці тонкого кишечнику. Теоретично з 1 молекули β-каротину завдяки наявності в ній двох симетрично розташованих кілець (центральне окиснення) може утворюватись 2 молекули вітаміну А. Проте результати більшості експериментів показують, що з однієї молекули β-каротину утворюється 1 молекула вітаміну А. Перетворення каротину у вітамін А каталізується β-каротин-15,15'-діоксигеназою, яка міститься в цитозольній фракції слизової оболонки кишечнику. Позитивний вплив на активність ферменту мають повноцінний за амінокислотним складом білок, антиоксиданти (селен, токоферол), цинк, глутатіон, вітамін B₁₂ і цистеїн.

Система біотрансформації β-каротину відсутня в перші дні після народження і з'являється в більшості тварин у місячному віці (у телят, очевидно, дещо раніше). Забезпечення організму вітаміном А в цей період залежить від його вмісту в молозиві і молоці матері.

У тварин окремих видів (велика рогата худоба, коні, птиця) та людей частина каротину всмоктується в кишечнику в незміненому вигляді, проте лише у великої рогатої худоби вміст його в крові може досягати в пасовищний період значної кількості (1600–2300 мкг/100 мл). У крові людей вміст каротину не перевищує 300 мкг/100 мл, у собак, птиці і коней містяться лише сліди каротину (у птиці – 4–5 мкг/100 мл). В овець, кіз, свиней, кролів, котів, хутрових звірів каротин не проникає через стінку тонкого кишечнику. Крім того, каротин-15,15'-діоксигеназа не виділена з кишечнику кішок, а її активність у норок і лисиць дуже низька.

Активність каротину щодо біосинтезу вітаміну А у тварин різних видів неоднакова. Найбільш інтенсивно синтез проходить у птиці,

гірше – у сільськогосподарських тварин і зовсім погано – у хутрових звірів. Для великої рогатої худоби, овець, свиней і коней 1 мг кристалічного бета-каротину еквівалентний 476 МО, або 143 мкг вітаміну А, для птиці – 1112, собак – 536, хутрових звірів – 277 МО. Проте А-вітамінна активність різних кормів значно відрізняється. Наприклад, з 1 мг бета-каротину трави у сільськогосподарських тварин утворюється 416 МО вітаміну А, моркви – 440, жовтої кукурудзи – 333, сіна злаково-бобового – 400–450 МО. Низьку біологічну активність має каротин силосу кукурудзи, з 1 мг якого утворюється 150–200 МО вітаміну А. У зв'язку з цим у корів, для яких у стійловий період основним джерелом каротину є силос кукурудзи, розвивається А-гіповітаміноз. Причому, засвоєння каротину з різних кормів неоднакове: із силосу кукурудзи його засвоюється 36,9 %, сіна конюшини – 62, трав'яного борошна – 25 %, а з кукурудзи молочної стигlostі каротин взагалі не засвоюється. Варто також враховувати те, що варіння, силосування, прогрівання, висушування спричиняють утворення менш активних форм каротину.

У шлунково-кишковому каналі овець виявлені штами мікроорганізмів, які синтезують каротин, проте поки що не відомо, яку роль відіграє цей біосинтез у загальному балансі вітаміну А. Okрім кишечнику, перетворення каротину у вітамін А можливе і в інших тканинах.

На абсорбцію каротину з кишечнику і його перетворення у вітамін А суттєво впливає білковий склад раціону. Зменшення перетворення каротину у вітамін А за дефіциту білка в раціоні тварин зумовлене низькою активністю 15,15'-каротиндіоксигенази.

На ефективність абсорбції каротиноїдів впливають кількість і якість жирів. Виключення їх із раціону значно знижує інтенсивність перетворення каротину у вітамін А. Оптимальним для трансформації і абсорбції ретинолу є 5 %-ний уміст жиру. Позитивно впливають на ефективність біотрансформації каротину у вітамін А антиоксиданти, особливо токоферол, проте надмірна кількість їх інгібує засвоєння ретинолу. Антиоксиданти, вітаміни К₃, В₁₂ підвищують активність каротиндіоксигенази, внаслідок чого збільшується кількість молекул каротину, що розщеплюються по центру, а тому ефективність утворення вітаміну А з каротину зростає у 1,5–2 рази. Позитивно впливає на процеси всмоктування каротину і його трансформацію в ретинол повноцінність раціону за фосфором, цинком, цукром і самим каротином. Тварини погано засвоюють значні надходження каротину після тривалого періоду його недостатності в раціоні у зимово-весняний період.

Негативно впливають на засвоєння каротину і вітаміну А продукти гіркнення жирів, хімічні консерванти кормів, антивітаміни, до яких належать нітрати та хлориди нафталіну. Ознаки А-гіповітамінозу у великої рогатої худоби спостерігали при вмісті нітратів у раціоні 0,5–1,5 %, що є особливо небезпечним в умовах кислого середовища, коли з нітратів і кисню повітря утворюється газоподібний оксид азоту. Оскільки у високоудійних корів величина pH вмісту рубця перебуває в межах 6,0–6,6, то це, очевидно, є однією з причин А-гіповітамінозу в них. Нітрати і нітрати негативно впливають на перетворення каротину і засвоєння вітаміну А не лише в жуйних, а й у свиней.

Біотрансформація каротину значною мірою залежить від стану ендокринної системи, особливо щитоподібної залози. У тиреоектомованих кролів, незважаючи на наявність у їхньому раціоні каротину, спостерігалася ксерофталмія. За аналогічного стану в молоці кіз виявляли не ретинол, а каротин. При експериментальному гіпотиреозі в сироватці крові корів було більше каротину і менше вітаміну А, порівняно з контрольною групою, де тиреостатики не використовувалися.

Засвоєння вітаміну А та його порушення

Вітамін А засвоюється в тонкому кишечнику. Причому, ступінь засвоєння його залежить від дози, збільшення якої відносно фізіологічної зменшує абсорбцію ретинолу. Необхідним етапом в абсорбції вітаміну А є емульгування його сполук жовчними і жирними кислотами. Жовчні кислоти диспергують і емульгують ефіри ретинолу, внаслідок чого полегшуються процеси його гідролізу і всмоктування. Про роль жовчі в абсорбції ретинолу свідчить також швидкий розвиток ознак А-гіповітамінозу при захворюваннях печінки і жовчовивідних шляхів. Такі зміни виявлені в молодняку великої рогатої худоби з патологією печінки (гнійний гепатит, гепатодистрофія), коли кількість виділеної жовчі і жовчних кислот зменшується у 2–3 рази.

Звільнені ефіри ретинолу переносяться у складі міцел до мікровійок. Тут на зовнішній поверхні мембрани ентероцитів відбувається гідроліз вітаміну А-ефіру під впливом ретинолефіргідролази соку підшлункової залози, епітеліальних клітин слизової оболонки тонкого кишечника і печінки (рис. 14), активність якої залежить від стану цих органів і кількості жовчних кислот.

Вільний вітамін А-спирт проходить мембрани ентероцита (IV) і в мікросомах етерифікується за участю ацил-КоА-ретинілацетилтранс-

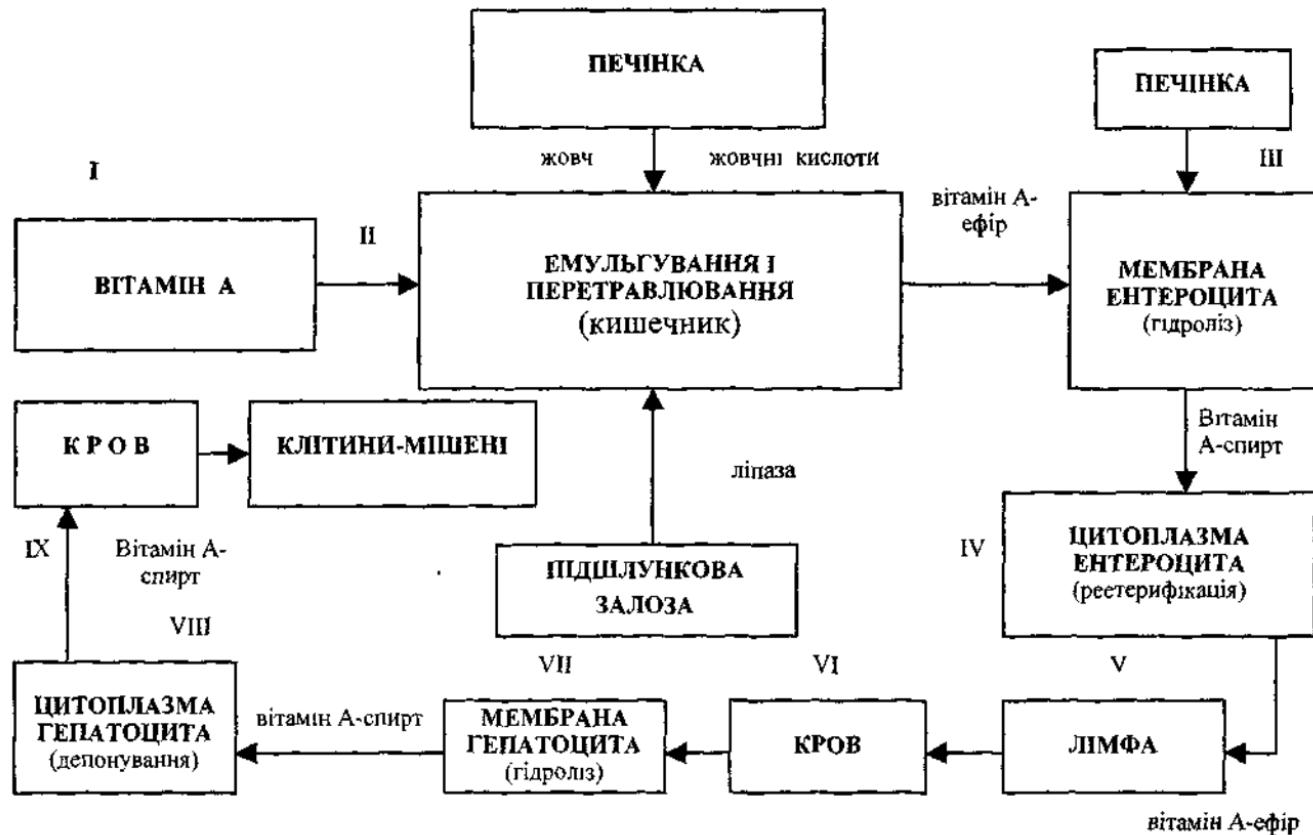


Рисунок 14 – Основні етапи метаболізму вітаміну А

ферази з утворенням ретинолпальмітату. З енteroцитів ефірна форма вітаміну А транспортується у складі ліпопротеїнів, а вільна форма — із специфічним ретинолоз'язувальним білком (РЗБ) у лімфу (V), потім у кров і надходить у гепатоцити. Проміжним етапом при проникненні ретинолу всередину гепатоцитів є взаємодія ретинолоз'язувального білка з його специфічним рецептором на плазматичній мембрані, розпізнавання ним клітин-мішеней. На мембрахах гепатоцитів знову проходить гідроліз ефірів вітаміну А, і в цитоплазму надходить вітамін А-спирт. У гепатоцитах відбувається реетерифікація ретинолу і депонування у складі ліпопротеїнів. Відсутність РЗБ спричинює порушення цих процесів і розвиток А-гіповітамінозу.

Основним місцем депонування вітаміну А в етерифікованій формі є печінка. Більше 80 % його зберігається в зірчастих клітинах. Крім печінки, ефіри ретинолу у значній кількості надходять у жирову тканину, пігментний епітелій ретини. У периферійні тканини вітамін А транспортується у вигляді ретинолу за участі РЗБ або в комплексі з альбумінами. При патології печінки порушується не лише обмін, а й депонування ретинолу, що підтверджується значно меншою кількістю його в депо при гепатодистрофії та абсцесах.

Ендогенна недостатність ретинолу розвивається, зокрема, в новонародженого молодняку при шлунково-кишкових хворобах вірусно-бактеріальної етіології (рис. 15).

У хворих телят зменшується секреторна функція сичуга, кишечника і підшлункової залози; молозиво недостатньо обробляється ферментами; порушується гідроліз білків і ліпідів, розвивається діарея, при якій засвоєння вітаміну А з молозива зменшується. У них також знижується активність ліпази підшлункової залози, що порушує гідроліз ліпідів. Цей процес внаслідок розвитку вторинного гепатозу ускладнюється зменшенням секреції жовчі і синтезу жовчних кислот (Сахнюк В.В., 1996).

Подальші етапи абсорбції вітаміну А відбуваються на мікровійках, але у хворих телят вони десквамовані; цитоплазма більшості енteroцитів вакуолізована; спостерігається набухання та вакуолізація мітохондрій. Тобто, порушуються ті структури, у яких відбувається гідроліз ефірів вітаміну А, а в подальшому і їх реетерифікація. Крім того, дистрофічні процеси, що розвиваються в печінці, впливають не лише на депонування ретинолу А-ефіру, а й на його транспортування, оскільки вітамін А-спирт зв'язаний у крові з альбумінами, синтез яких при хворобах печінки знижений (рис. 15).

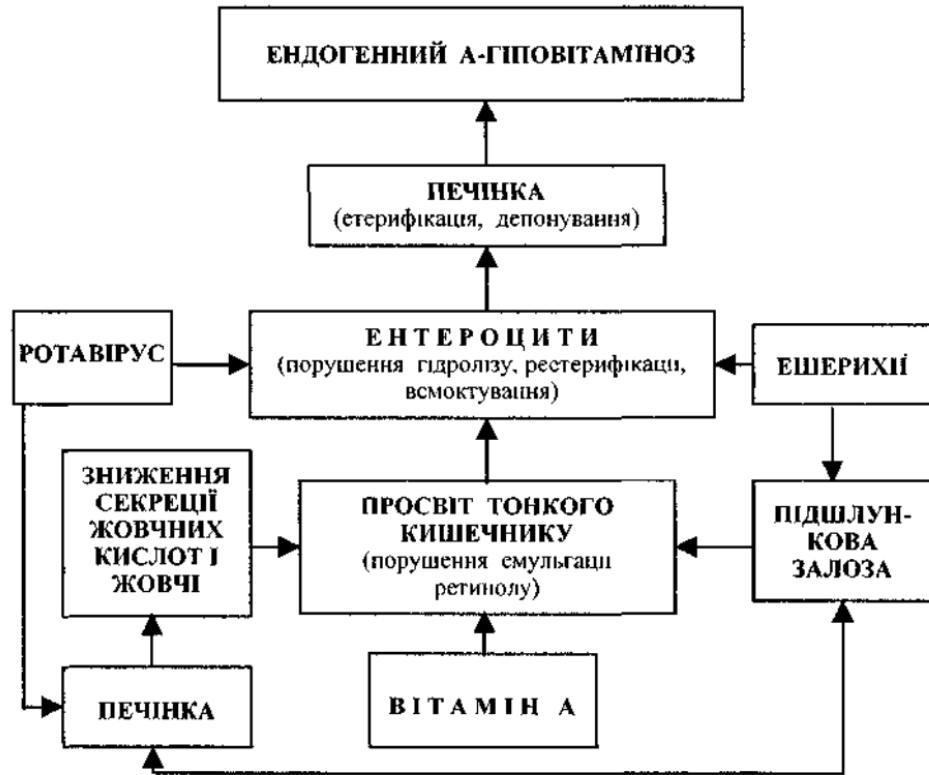


Рисунок 15 – Схема розвитку ендогенного А-гіповітамінозу при ротавірусній та ешерихіозній інфекції
(Левченко В.І., Сахнюк В.В., 1996)

Біологічна роль вітаміну А

Перше, дуже коротке і точне, описання А-гіповітамінозу і причин його виникнення зустрічається у Біблії: “Дикі звірі стояли на пагорбах, вдихали в себе повітря, ніби дракони, іх очі плакали, тому що не було трави” (цит.за Душейко А.А., 1989). Описи ксерофталмії містяться і в єгипетських папірусах. Особливо дивним є те, що уже в ті далекі часи давались дуже чіткі і правильні рекомендації щодо лікування цього захворювання – як основний лікарський засіб рекомендувалася печінка. “Захворювання очей – трава – печінка” – такими були перші контури людських знань про вітамін А. Відтоді пройшло багато часу, проте й нині молекулярні механізми впливу вітаміну А на організм залишаються не повністю з’ясованими.

Вітамін А відіграє важливу роль у взаємодії білків із ліпідами у клітинних мембрах, забезпечує їх функціонування і регулює проникність. Найбільш чутливі до дефіциту вітаміну А мембрани лізосом: за його дефіциту збільшується елімінація ферментів із них. Порушення мембрани мітохондрій у гепатоцитах призводить до роз'єдання дихання і фосфорилування. Нестача вітаміну А в організмі тварин посилює вільнорадикальне окиснення. При дефіциті вітаміну А у тканинах тварин порушується біосинтез білків, змінюються їхні електрофоретичні властивості.

Вітамін А безпосередньо або опосередковано впливає на синтез гліказаміногліканів і протеогліканів, ультраструктуру келихоподібних клітин у слизовій оболонці кишечнику. У хворих тварин при цьому знижується інтенсивність синтезу високомолекулярних глікопротеїнів, які в мембрах епітеліальних клітин руйнуються, внаслідок зниження рівня глюкозидування, і тому епітеліальні клітини кератинізуються. Секреторні клітини не досягають своєї стадії спеціалізації, а утворюють плоский багатошаровий епітелій, оскільки за відсутності вітаміну А не повністю проходять процеси гідратації, глюкозидування, сульфатування і ліпідування слизового секрету. Ці процеси залежать від стану мембрах комплексу Гольджі, у якому синтезуються глікокон'югати слизового секрету (Душейко А.А., 1989). Порушенням біохімічних процесів утворення слизового секрету, складу міжклітинної речовини пояснюються морфологічні зміни слизових оболонок, шкіри, аномалії розвитку плода, спричинені нестачею вітаміну А. В епітеліальних покривах, які в нормальніх умовах кератинізуються (рогівка, епідерміс), за відсутності вітаміну А цей процес посилюється. Нашарування лускатого кератинізованого епітелію порушує функції слінних і слізних каналів, потових і сальних залоз, знижує захисні властивості епітелію, що викликає розвиток різних хвороб.

Закупорення слізного каналу призводить, зокрема, до сухості рогової оболонки ока – ксерофталмії (*xerophthalmia*; *xeros* – сухий + *ophthalmus* – oko). Очне яблуко при цьому не обмивається слізою, яка має бактерицидні властивості. Тому під впливом мікрофлори розвивається запалення кон'юнктиви, набряки, роз'якшення рогівки (кератомалія; від грец. *keras* – ріг + *malakia* – м'якість) й утворення виразок на ній (рис. 16).

Унаслідок гіперплазії та ороговіння епітелію шкіри атрофуються сальні і потові залози; шкіра стає сухою, складчастою; волосяний покрив – тъмяним, місцями випадає. Кератинізація слизової оболонки

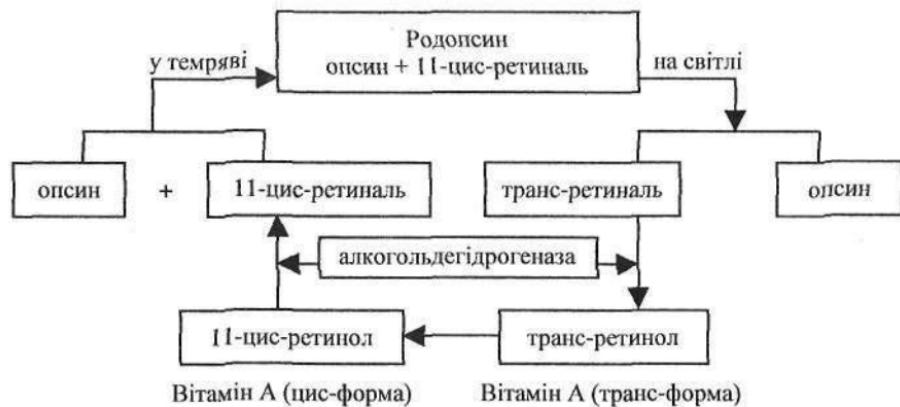
дихальних шляхів супроводжується в подальшому розвитком бронхіту та пневмонії. При кератинізації слизової оболонки шлунка та кишечнику розвиваються гіпо- або анацидний гастрит та ентероколіт.



Рис. 16. Кератит при А-гіповітамінозі (за Щуревичем Г.О.)

Дефіцит вітаміну А супроводжується зниженням гостроти зору, втратою здатності розрізняти предмети в темряві (гемералопія; від грец. *hemera* – день + *alaos* – сліпий + *ops* – зір). Пояснюються це тим, що фоторецептори сітківки – палички і колбочки – містять білок *родопсин*, до складу якого входять ліпопротеїн опсин і альдегід вітаміну А – 11-цис-ретиналь. Родопсин поглинає кванти світла, під впливом якого цис-ретиналь переходить у стереоізомер – транс-ретиналь, після чого родопсин розпадається на білок опсин і ретиналь. При цьому виникають електричні сигнали, які передаються по шарах нервових клітин сітків-

ки через зоровий нерв у середній і проміжній мозок та зорові ділянки кори великих півкуль. Утворений транс-ретиналь частково відновлюється у транс-ретинол (вітамін А), який разом із транс-ретинолом, що надходить із кров'ю, під впливом ферменту ретинол-ізомерази перетворюється в цис-ретинол. Останній за участю алкогольдегідрогенази окиснюється в цис-ретиналь, який разом із опсином забезпечує ресинтез родопсину (схема). При відщепленні ретиналу



від родопсину частина його руйнується. Тому для ресинтезу родопсина потрібні нові молекули вітаміну А. При їх нестачі гальмується утворення ретиналю, а отже – і родопсина. Тому тварини і люди втрачають здатність розрізнити предмети в сутінках, тобто розвивається “куряча” сліпота.

Вітамін А забезпечує також репродуктивну функцію у тварин: сперміо- та оогенез, ріст ембріонів, настання статевої зрілості, синтез статевих гормонів. Нестача ретинолу зумовлює кератинізацію епітелію матки, піхви і нерегулярність еструсу; порушує перебіг вагітності, спричинює загибель плода, дефекти його розвитку (мікрофтальмію, анофтальмію, полідактилію), народження мертвого або нежиттєздатного приплоду. Причиною аномалій плода може бути порушення функцій комплексу Гольджі. У період ембріонального розвитку процеси проліферації, диференціювання, формоутворення, у яких провідна роль належить екстрацелюлярним структурам, проходять більш інтенсивно, ніж у постнатальний період. Тому будь-які порушення цих структур можуть привести до неправильного розташування клітин. Це узгоджується з тим, що найбільш часто при А-гіповітамінозі спостерігаються аномалії розвитку очей.

A-гіпервітаміноз у курей супроводжується підвищеннем проникності мембрани ентероцитів, зменшенням у мембраних клітин відношення фосфоліпіди : холестерол, накопиченням продуктів перекисного окиснення ліпідів у тканинах при одночасному порушенні всмоктування вітамінів і мікроелементів. Знижуються запаси глікогену, зменшується активність ферментів гліколізу і циклу трикарбонових кислот у печінці, уповільнюється використання токоферолу і каротинійдів, накопичених у процесі ембріонального розвитку.

Курчата при А-гіпервітамінозі малорухливі, у них виявляють ознаки серозного кон'юнктивіту, запалення повік із наступним злипанням очей і появою дерматиту в кутках рота. При розгині загиблих курчат виявляють набрякання слизової оболонки залозистого шлунка, зменшення селезінки, поодинокі крапкові крововиливи, заповнення сечоводів білою масою (очевидно, уратами).

Особливості метаболізму вітаміну А в сільськогосподарських тварин

Велика рогата худоба. Каротин в організмі корів відіграє важливу роль у процесах відтворення: за його відсутності порушуються статевий цикл, запліднення і ріст плода. При додаванні до раціону корів у період від отелення до запліднення β-каротину в дозі 300 мг

на добу сервіс-період скорочується на 15–20 днів, а ефективність осіменіння підвищується на 15–30 %. Рівень каротину в сироватці крові, молозиві та молоці корів значно коливається і залежить від сезону року. Телята народжуються з незначним умістом вітаміну А в печінці та сироватці крові, проте після випоювання повноцінного молозива вміст його швидко зростає. Каротин у сироватці крові телят у перші дні життя майже відсутній (його міститься близько 5 мкг/100 мл). За даними літератури, у телят до місячного віку каротин у вітамін А не трансформується, проте це питання залишається поки що остаточно не з'ясованим.

Вівці і кози. Бета-каротин у їхньому організмі не депонується. У молозиві і молоці кіз вітаміну А міститься приблизно удвічі більше, ніж у корів.

Свині дуже чутливі до дефіциту вітаміну А: порісні свиноматки народжують нежиттєздатних поросят. Каротин у їхній сироватці крові відсутній.

Птиця найбільш чутлива до дефіциту вітаміну А, що зумовлено інтенсивним обміном речовин в їх організмі. Дефіцит вітаміну А в раціоні спричинює зниження інтенсивності росту і яичної продуктивності, появу ксерофталмії і атаксії, послаблення імунітету до інфекційних захворювань. У перші 7–10 днів життя птиця не здатна засвоювати вітамін А.

Методи діагностики порушень А-вітамінного обміну

У великої рогатої худоби каротинне живлення контролюють за вмістом провітаміну в сироватці крові. У молодняку старше 6-місячного віку і в дорослого поголів'я каротину має бути влітку не менше 900, у зимово-весняний період – 450 мкг/100мл. У телят до тримісячного віку та у тварин інших видів визначення його не має діагностичного значення.

Уміст вітаміну А в сироватці крові є обов'язковим критерієм для діагностики патології. А-вітамінна недостатність характеризується вмістом ретинолу в сироватці крові телят місячного віку менше 10 мкг/100 мл (норма – 12,5–25), тримісячного – менше 15 (норма – 15–35), молодняку і корів – 20 мкг/100 мл (норма – взимку 25–80, влітку – не менше 40); свиней – 15 (норма – 20–50); вівцематок і коней – 10 (у нормі – 15–25 мкг/100 мл); у птиці – 25 (у нормі 50–230).

Уміст ретинолу в сироватці крові тварин тривалий час підтримується за рахунок депо – печінки, і тому зниження його вмісту в крові

настає пізніше, ніж у молозиві. Критичний уміст ретинолу в молозиві першого-другого надоїв становить 2,3 мг/л (оптимальний – 3–6 мг/л).

Визначення вмісту ретинолу в печінці дає змогу враховувати його запаси в організмі, тому цей метод є найбільш точним. Уміст ретинолу в печінці становить (мкг/г сирої тканини): в одноденних телят – 6–10; молодняку великої рогатої худоби – 30–90; корів – 60–200; поросят одноденних – 9–12 взимку і 15–17 влітку, двотижневих – 12–20, 1–2-місячних – 15–30, у групі вирощування та відгодівельних – 25–60; у добових курчат – 20–30, каченят – 12–80, гусенят – 26–140, індичат – 40–50, у молодняку птиці – не менше 60.

Про ступінь забезпечення потреби птиці вітаміном А судять за його вмістом у жовтку інкубаційних яєць. У курей уміст вітаміну А повинен становити 6–8, а каротину – більше 15 мкг/г, індичок – 7–10 і більше 15; качок – 8–12 і більше 20; гусей – 10–13 і більше 20 мкг/г.

Обмін вітаміну D та його зміни при патології

На сьогодні відомо 6 вітамінів групи D – D₂–D₇. Найбільш розповсюдженими є вітамін D₂ (ергокальциферол), який є похідним ергостеролу, і вітамін D₃ (холекальциферол) – похідний холестеролу (стерину тваринного походження). За 1 міжнародну одиницю (МО) прийнята активність 0,025 мкг вітаміну D₂ або D₃, тобто 1 мкг цих вітамінів дорівнює 40 МО.

Вітамін D₂ утворюється з ергостеролу при висушуванні рослин під впливом ультрафіолетового опромінення. Тому найбільше вітаміну D₂ міститься в сіні, значно менше – у соломі, силосі та сінажі. Вітамін D₃ міститься (МО/100 г) у печінці (10–60), маслі вершковому (35), вершках (50), ячному жовтку (25), яловичині (13), олії (9), у жирі печінки тріски (10000).

Забезпечення організму тварин вітаміном D можливе двома шляхами: за рахунок асиміляції екзогенного ерго- і меншою мірою – холекальциферолу з кормів та ендогенного синтезу холекальциферолу в шкірі під впливом ультрафіолетового опромінення. Екзогенний вітамін D всмоктується в тонких кишках (засвоюваність становить 30–50 %). Важлива роль у процесі абсорбції належить жовчі, яка солюбілізує жиророзчинний вітамін у водному середовищі з утворенням міцелярних структур, які транспортуються в грудну лімфатичну протоку, а потім у кровоносну систему. Проте основним джерелом забезпечення організму тварин вітаміном D₃ є ендогенний синтез: у шкірі із провітаміну (дегідрохолестеролу) під впливом УФ-опромінення синтезується пре-

вітамін, який потім унаслідок ізомеризації перетворюється у вітамін D₃. Інтенсивність синтезу вітаміну в людей становить 0,4–1,0 МО/см². Варто зазначити, що в шкірі собак і котів вітамін D₃ не синтезується. В останні роки швидкість синтезу вітаміну D₃ у шкірі значно знизилася. Причиною цього явища є зміна фізико-хімічних властивостей атмосфери Землі під впливом різних антропогенних факторів (промислові викиди, надмірна хімізація сільського господарства, озонні “дірки” тощо), що призвело до змін спектра УФ-радіації в бік підвищення більш жорсткої короткохвильової її частини. Зміна УФ-спектра призводить, з одного боку, до ізомеризації провітаміну в біологічно інертні речовини, а з іншого – до руйнування вже синтезованого вітаміну.

Біологічна активність вітамінів D₂ і D₃ значно відрізняється. Кількісно цю різницю прийнято оцінювати коефіцієнтом дискримінації, який показує, у скільки разів активність вітаміну D₃ вища за активність D₂. Для різних організмів цей коефіцієнт варіє від 10 до 100. Це пояснюється значно кращим, порівняно з ергокальциферолом, обміном холекальциферолу в печінці і нирках та більш інтенсивним зв’язуванням його специфічними рецепторними білками.

Вітаміни D₂ і D₃ є біологічно інертними сполуками. Вони є лише попередниками дійсно активних речовин, що мають назву “активні метаболіти вітаміну D”. Перший етап цього перетворення відбувається в печінці. Екзогенний вітамін D надходить у кровоток із кишечнику і транспортується в печінку у складі хіломікронів. Ендогенний вітамін D₃, що синтезується в шкірі, транспортується у вигляді комплексу з вітамін-D-зв’язувальним білком та ліпопротеїнами низької щільноті. При деяких хворобах, наприклад ураженні нирок, цирозі печінки, гострому гепатиті, кількість вітамін-D-зв’язувального білка зменшується, що може бути однією з причин D-гіповітамінозу.

Із кровотоку близько 70 % вітаміну D₃ поглинається клітинами печінки – ретикулоцитами і гепатоцитами. Ретикулоцити щодо вітаміну D₃ виконують роль депо, звідки він транспортується в гепатоцити. За таких умов створюються найбільш оптимальні умови для поступового перетворення вітаміну D₃ в гепатоцитах у 25-гідроксихолекальциферол (25OHD₃), антирахітична активність якого у 1,5–2,0 рази вища, ніж самого вітаміну. Окрім того, накопичення вітаміну D₃ в ретикулоцитах і його наступний поступовий транспорт у гепатоцити забезпечують підтримання його фізіологічного рівня протягом 3–4 місяців. Гідроксилювання холекальциферолу відбувається під впливом вітамін-D₃-гідроксилаз, які локалізуються в мікросомах і мітохондріях

гепатоцитів. Найбільше фізіологічне значення має мікросомальний фермент, оскільки він гідролізує вітамін D₃ при його фізіологічних концентраціях в організмі. При надмірній дозі вітаміну D₃ у процес трансформації вітаміну вклучається мітохондріальний фермент – 25-гідроксилаза, активність якого не регулюється вітаміном D₃, тобто в організмі не існує жорсткого механізму захисту від утворення високих концентрацій 25OHD₃, які є токсичними. Тому надзвичайно важливим є правильний підхід щодо дозування препаратів вітаміну D₃.

25OHD₃ є основною транспортною формою вітаміну D₃, що циркулює в крові, і важливим біорегулятором, оскільки низька концентрація його є пусковим фізіологічним механізмом для подальшого гідроксилювання вітаміну D₃ і транспорту кальцію та фосфору. Концентрація 25OHD₃ слугить індикатором D-вітамінного статусу в організмі. Його кількість у плазмі крові молодняку великої рогатої худоби становить 30–70 нг/мл, у хворих на рапіт – 7–12, у птиці – близько 10 нг/мл.

При хворобах печінки (гепатит, гепатодистрофія) синтез метаболіту зменшується. Крім того, уміст 25OHD₃ у плазмі крові зменшується при хронічній нирковій недостатності внаслідок підвищеного виділення його із сечею, при застосуванні протисудомних препаратів (седуксен, фенобарбітал, дифенін) і кортикостероїдів, які інгібують гідроксилуючу активність гепатоцитів. Уміст 25OHD₃ може зменшуватися при кетозі, отруєнні мікотоксинами і токсинами мінерального походження внаслідок ураження печінки.

Синтезований у печінці 25OHD₃ транспортується в нирки, де гідроксилюється з утворенням гормонально активних метаболітів вітаміну D₃, серед яких найбільш активними є 1 α ,25-дигідроксихолекальциферол [1,25(OH)₂D₃] та 24,25-дигідроксихолекальциферол [24,25(OH)₂D₃]. Синтез метаболітівздійснюється ферментами, які локалізуються у проксимальних звивистих канальцях нирок. При дефіциті кальцію в раціоні та низькому рівні його в сироватці крові переважає синтез 1,25(OH)₂D₃, а реакція утворення 24,25(OH)₂D₃ інгібується. При високій концентрації кальцію спостерігається зворотна залежність. Парат-гормон, інкреміція якого зростає при низькій концентрації кальцію в крові, стимулює синтез 1,25(OH)₂D₃, антирахітична активність якого в 5–10 разів вища, ніж вітаміну D₃.

У 90-х роках 20 ст. було встановлено, що синтез гормонально активних метаболітів у невеликій кількості відбувається в клітинах усіх органів і систем. У вагітних додатковим органом їх синтезу є плацента, де інтенсивність утворення 1,25(OH)₂D₃ перевищує синтез цього метаболіту в нирках.

При хворобах нирок спостерігається зниження вмісту активних метаболітів вітаміну D в сироватці крові (Апуховская Л.І. зі співавт., 2002). Одностороння нефректомія в щуриць також супроводжується зниженням забезпеченості їх організму дигідроксисиметаболітами вітаміну D, що корелює з розвитком у них гіпокальціємії і гіпофосфатемії. Плоди цих самок менше забезпечені активними метаболітами вітаміну D і мінеральними елементами, а новонароджені щурята мають ознаки дефіциту вітаміну D. У вагітних жінок з ураженням нирок спостерігається низький рівень усіх метаболітів вітаміну D, а в новонароджених малят – знижений удвічі рівень 25OHD₃, загального кальцію, неорганічного фосфору, підвищений уміст паратгормону та збільшена активність лужної фосфатази, що є типовим проявом D-вітамінної недостатності.

Обмін вітаміну D₃ порушується також при цукровому діабеті. Концентрація 25OHD₃, 24,25(OH)₂D₃ і 1,25(OH)₂D₃ в сироватці крові щурів знижується, порівняно з їхнім рівнем у здорових, на 50–62 %. Причиною цього є порушення всмоктування вітаміну D₃ в тонкому кишечнику, зниження поглинання вітаміну печінкою і порушення його транспорту в гепатоцити, а також зниження інтенсивності його гідроксилювання у 25OHD₃ внаслідок інгібування вітамін-D₃-25-гідроксилазної системи.

Гормонально активні метаболіти вітаміну D₃ проявляють свій фізіологічний ефект подібно до дії стероїдних гормонів: вони проникають у клітину-мішень і зв'язуються з вільними специфічними рецепторними білками. Утворений комплекс транспортується до ядра клітини і вступає у взаємодію з окремими ділянками молекули ДНК. У результаті цього синтезуються нові молекули мРНК, які служать кодом для синтезу специфічних білків, що беруть участь у транспорті кальцію і фосфору через епітеліальні клітини слизової оболонки кишечнику і клітини канальців нирок.

Найбільш вивченим є вплив метаболітів вітаміну D на фосфорно-кальцієвий обмін. Наприклад, вітамін D₃ безпосередньо впливає на процеси всмоктування Ca і P в кишечнику, реабсорбцію їх у ниркових канальцях і мобілізацію із кісткової тканини. 1,25(OH)₂D₃ стимулює синтез у кишечному епітелії кальцієзв'язувального білка, який забезпечує транспорт Ca в епітеліальних клітинах кишечнику від апікальної до базальної мембрани, поліпшує абсорбцію кальцію завдяки збільшенню проникності плазматичних мембран і впливу на кальцієві канали. 1,25(OH)₂D₃ впливає також на внутрішньоклітинний обмін кальцію (розділ 7).

Доведено вплив метаболітів вітаміну D₃, зокрема 1,25(OH)₂D₃, на абсорбцію фосфору в кишечнику, проте поки що не вдалося виділити з нього специфічний для вітаміну D білок, який би брав участь у транспорті фосфору. Імовірно, дія вітаміну D опосередковується лужною фосфатазою, під впливом якої на поверхні кишкового епітелію проходить гідроліз різних моноефірів фосфорної кислоти, що призводить до підвищення концентрації аніонів фосфору в місцях його транспорту.

Окрім стимуляції абсорбції кальцію і фосфору в кишечнику, вітамін D впливає на їх абсорбцію в нирках. щодо кальцію цей вплив реалізується через кальцієзв'язувальний білок, який синтезується в клітинах нирок під дією 1,25(OH)₂D₃, та через безпосередній вплив його на мембраний потенціал і транспорт кальцію в проксимальних канальцях нирок. Роль вітаміну D у нирковій екскреції фосфору тривалий час залишалася не з'ясованою. І лише в останні десятиліття 20 ст. доведено стимулювальний вплив фізіологічних доз 1,25(OH)₂D₃ на реабсорбцію фосфору в ниркових канальцях.

Вітамін D підтримує оптимальний рівень кальцію в сироватці крові не лише за рахунок стимуляції абсорбції його в кишечнику і реабсорбції в нирках, а й завдяки мобілізації його із кісткової тканини. У тварин, які мали низькокальцієву дієту, введення 1,25(OH)₂D₃ підтримувало в сироватці крові нормальний рівень кальцію, джерелом якого була кісткова тканина. При цьому знижувалася мінералізація діафізів і епіфізів. Механізм остеолізису за участі вітаміну D став предметом вивчення лише в останні десятиріччя. Була доведена, зокрема, участь у цьому процесі лимонної кислоти, синтез якої в кістках під впливом вітаміну D підвищується. Лимонна кислота підвищує розчинність мінерального компоненту і мобілізацію кальцію із кісток у взаємодії з білком – остеокальцином, синтез якого стимулюється вітаміном D. Саме тому кальцитріол вважають “аварійним” гормоном, який діє при вираженій гіпокальціємії, швидко відновлюючи оптимальний рівень кальцію в крові шляхом активації всмоктування його з кишечнику і резорбції кісток.

Інший метаболіт вітаміну D₃ – 24,25(OH)₂D₃ – порівняно з 1,25(OH)₂D₃, є менш активним щодо стимуляції всмоктування кальцію і фосфору в кишечнику, синтезу СaЗБ, транспорту кальцію та реабсорбції його в ниркових канальцях. Однак цей метаболіт проявляє високу ефективність у процесах мінералізації кісткової тканини, сприяє накопиченню кальцію в ній, не викликає резорбції кісток, по-переджує патологічні зміни в кістковій тканині і виявляє високу ак-

тивність у репаративному остеогенезі. Його вважають гормоном, який діє в умовах нормокальцемії, забезпечуючи остеогенез і мінералізацію кісток (Спирічев В.Б., Конь И.Я., 1989). Обидва метаболіти активують процеси диференціювання та проліферації хондроцитів і остеобластів кісток. При цьому $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ впливає на проліферуючі клітини, збільшуючи в них синтез специфічного органічного матриксу – колагену. Утворений під впливом метаболітів колаген є “незрілим”, тому в нього відкладаються солі кальцію і фосфору. При нестачі вітаміну D в епіфізах і діафізах кісток зменшується вміст незрілого колагену, що порушує їх мінералізацію. Кальцитріол у фізіологічній кількості сприяє відкладанню кальцію в діафізах, а $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – як у діафізах, так і в епіфізах.

Доведено вплив вітаміну D_3 на синтез деяких гормонів. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, наприклад, стимулює синтез кальцитоніну в щитоподібній залозі і гальмує секрецію паратгормону, який у свою чергу стимулює синтез $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Тобто, між секрецією паратгормону і синтезом кальцитріолу існує взаємодія за принципом зворотного зв’язку. Паратгормону ж належить основна роль у стимуляції 1α -гідроксилази в нирках. Надлишок вітаміну D майже повністю пригнічує активність 1α -гідроксилази і синтез $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, проте при цьому активується інший фермент – 24α -гідроксилаза і починає синтезуватися менш активний метаболіт – $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Тривалий час фізіологічна роль вітаміну D_3 обмежувалася його участю в регуляції мінерального обміну. Відкриття рецепторних білків у клітинах органів і тканин, які не беруть участі в мінеральному обміні, і синтез метаболітів вітаміну D_3 в цих клітинах передбачають більш широку сферу його фізіологічної дії (рис. 17). Можна виділити кілька груп процесів, які безпосередньо регулюються вітаміном D_3 . Це – проліферація та диференціація клітин органів і тканин (β -клітин, імунокомпетентних клітин крові, м'язів, мозку тощо); обмін речовин: синтез ліпідів, білків, у тому числі рецепторних, гормонів, ферментів; процес модуляції імунної відповіді та функціональної активності серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту, печінки, нирок тощо.

Велика увага приділяється ролі вітаміну D_3 в репродуктивній функції. Вважають, що вітамін D_3 відіграє важливу роль в ембріональному, фетальному та постнатальному періодах життя, про що свідчить наявність високоспецифічних рецепторів щодо активних метаболітів вітаміну в клітинах органів і тканин, які забезпечують цю функцію. Вітамін D_3 впливає на формування, функціональну зрілість органів

плоди та обмін речовин у них. За дефіциту вітаміну D₃ у матері виявляється недостатня інтенсивність росту новонароджених і низька функціональна активність органів. На захисну функцію вітаміну D₃ вказує локальне підвищення синтезу гормонально активних форм вітаміну D₃ у клітинах, що мають патологічне ураження. Бактерицидний ефект відомий при туберкульозі. 1,25(OH)₂D₃ інгібує проліферацію *Mycobacterium tuberculosis*, а також впливає на дозрівання альвеолярних макрофагоцитів і підвищує їхню кількість. При перитоніті він активує макрофагоцити, що сприяє очищенню вогнища запалення.

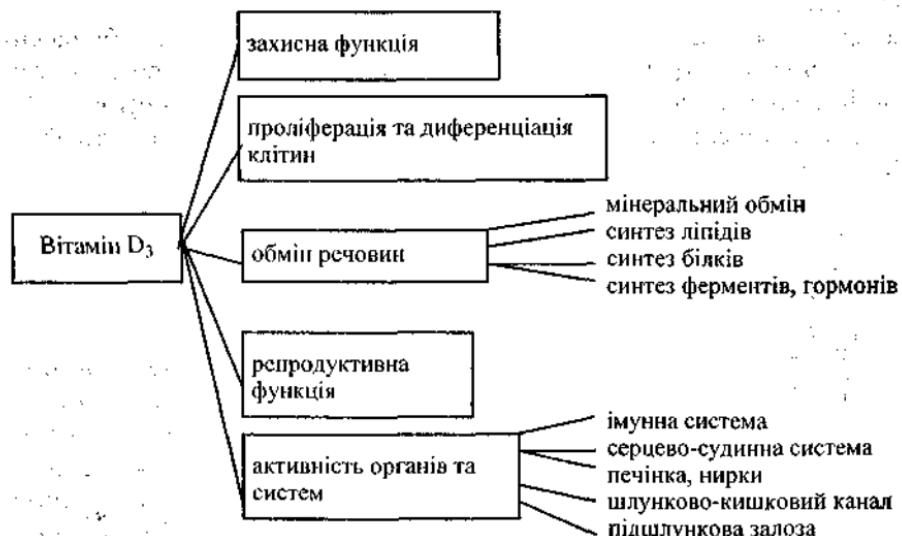
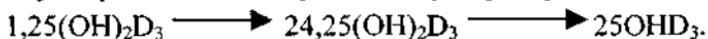


Рис. 17. Фізіологічна дія холекальциферолу

У регуляції фізіологічних процесів в організмі активність метаболітів вітаміну D₃ розподіляється у спадному порядку:



Найвища активність мають перші два метаболіти, фізіологічна дія яких в організмі інтегрується. При сумісному їх використанні підвищується активність цих метаболітів, послаблюється токсичний ефект дії високих доз 1,25(OH)₂D₃. Тобто, оптимізація фізіологічного стану організму досягається за наявності балансу основних метаболітів вітаміну D₃.

Порушення обміну вітаміну D проявляється гіпер- або гіповітамінозами. *Гіпервітаміноз* частіше розвивається у птиці та дрібних до-

машніх тварин внаслідок використання високих доз вітаміну D₃ або при порушенні його обміну за умов активації ниркового і позаниркового синтезу 1,25(OH)₂D₃ та первинного гіперпаратиреозу. Для птиці будь-якого виду і віку вміст вітаміну D₃ в раціоні не повинен перевищувати 5–6 тис. МО в 1 кг корму.

D-гіпервітаміноз у птиці характеризується гіперкальціємією і гіперфосфатемією з кальцифікацією м'яких тканин і судин. Особливо інтенсивним є ураження легень, серця, стінок кровоносних судин, нирок і шлунка. У птиці знижуються апетит, маса тіла; виявляють тахіпноє, м'язову слабість, діарею, затвердіння кінцівок, у деяких випадках – уролітіаз. Біохімічні зміни проявляються стійким збільшенням у сироватці крові кальцію та фосфору, низькою активністю лужної фосфатази. Гіперкальцифікація легень зумовлює розвиток емфіземи, пригнічення активності прищитоподібних залоз, їх атрофію. Отже, використання великих доз вітаміну D₃ є фізіологічно недоцільним, оскільки надлишок спричинює інгібування його обміну.

D-гіповітаміноз може бути причиною розвитку різних захворювань, передусім рахіту та остеодистрофії (рис. 18). Існують екзо- та

ендогенні фактори D-гіповітамінозу. Екзогенні фактори – це недостатнє надходження вітаміну в організм із кормом. До ендогенних факторів належать: а) зниження синтезу вітаміну D₃ в шкірі (у собак і котів не синтезується); б) порушення всмоктування в кишечнику (хронічний гастроентерит); в) порушення обміну вітаміну D в печінці (гепатодистрофія, гепатит, цироз, пухлини); г) порушення обміну в нирках (нephротичний синдром, при якому підвищується втрата комплексу вітамін-D-зв'язувальний білок – метаболіт вітаміну D₃; д) порушення регуляції синтезу гормонально активних форм вітаміну при гіпотиреозі і гіпофосфатемічному рахіті; ж) генетичні порушення синтезу 1,25(OH)₂D₃; з) порушення синтезу рецепторних білків в органах-мішенях до активних метаболітів вітаміну D.



Рис. 18. Природжений рахіт у теляти (за Левченком В.І. і Налточієм В.П.)

ті; ж) генетичні порушення синтезу 1,25(OH)₂D₃; з) порушення синтезу рецепторних білків в органах-мішенях до активних метаболітів вітаміну D.

Методи контролю обміну вітаміну D можна поділити на анамнестичні (аналіз умов утримання та годівлі), клінічні та спеціальні. Серед останніх найбільш поширеними є лабораторні методи. Звичайно, найбільш точна діагностика ґрунтується на визначенні метаболітів вітаміну D в сироватці чи плазмі крові. У літературі наявні лише окремі дані щодо їхньої кількості (табл. 12), проте визначення метаболітів вітаміну D₃ є надто складним, і тому для діагностики патології використовують непрямі методи: визначення вмісту загального кальцію, неорганічного фосфору та активності лужної фосфатази в сироватці крові. З інших спеціальних методів варто згадати визначення швидкості проходження ультразвуку по кістковій тканині. За даними літератури (Костюк М.М., 1999), у корів, хворих на остеодистрофію, швидкість проходження ультразвуку зменшується.

Таблиця 12 – Уміст вітаміну D₃ та його метаболітів у плазмі крові тварин

Вітамін D ₃ і його метаболіти	Велика рогата худоба	Вівці	Свині	Собаки
Вітамін D ₃ , нг/мл	1,7 ± 0,7	0,6 ± 0,5	10,2 ± 4,1	2,3 ± 0,3
25 OHD ₃ , нг/мл	36,9 ± 7,1	12,9 ± 5,3	75 ± 21	25,3 ± 3,9
24,25(OH) ₂ D ₃ , нг/мл	2,6 ± 0,7	4,3 ± 0,7	20,2 ± 10,3	2,3 ± 0,2
1,25(OH) ₂ D ₃ , нг/мл	38,0 ± 10,0	36,0 ± 30,0	60,0 ± 7,0	21,0 ± 2,0

Клінічна біохімія обміну токоферолу

Токоферол (від грец. *tokos* – потомство і *phero* – несусь), або вітамін Е, вперше був виділений із зародків пшеници і бавовникової олії. Відомо 7 сполук, які володіють біологічною активністю токоферолу. Найвищу активність має альфа-токоферол, синтетичну ефірну форму якого DL – альфа-токоферил-ацетат – використовують у тваринництві. Препарат прийнятий за міжнародний стандарт вітаміну Е: 1 мг його дорівнює 1 МО. Інші ізомери токоферолу менш активні. У кормах міститься суміш різних ізомерів токоферолу. Частка альфа-токоферолу становить: у соняшниковій олії – 94 %, оливковій – 88, персикової – 69, ріпакової – 33, кукурудзяній – 27 % від загального вмісту токоферолів. Велика кількість токоферолу міститься в зелених кормах і трав'яному борошні, зокрема з люцерни – 150–200 мг в 1 кг, конюшини – 180, озимої пшениці – 190–200.

Всмоктується токоферол після емульгування із жовчю і транспортується у складі міцел. Звільняється на слизовій оболонці тонких кишок і всмоктується на всій їх довжині. Транспортну роль виконує ліipoproteїн, який зв'язується з токоферолом. Він був виділений із сли-

зової оболонки кишечнику, печінки і сироватки крові. Ефірні форми токоферолу перед абсорбцією гідролізуються, напевне, ферментами підшлункової залози. Отже, інтенсивність всмоктування залежить від активності естераз. Гальмують всмоктування токоферолу надлишок ненасичених жирних кислот і дефіцит селену в кормах, антагоністи токоферолу, які виділені із люцерни і бобів сої та дріжджів раси *To-*ruma**. Зменшується абсорбція токоферолу при патології печінки та холестазі.

Вітамін Е має широкий спектр біологічної дії: він бере участь в обміні білків, жирів і вуглеводів, реакціях окиснення і відновлення; діє як стабілізатор при обміні ненасичених жирних кислот, що запобігає утворенню перекисних і гідроперекисних сполук, кетонів і альдегідів. Токоферол входить до ліпопротеїнової структури мембрани із високим умістом поліненасичених жирних кислот, завдяки чому за-безпечується їхня структурно-функціональна стабільність, яка реалізується опосередковано кількома молекулярними механізмами: взаємодією з ліпідними радикалами, упорядкуванням ліпідного бішару мембрани. Підтримуючи цілісність мембрани, токоферол опосередковано стимулює локалізовані в них ферменти, зокрема Na^+ , K^+ -АТФази, необхідної для підтримання оптимального співвідношення іонів натрію і калію всередині клітин і поза ними. Недостатній або надлишковий уміст токоферолу в мембрахнах призводить до їхньої дезорганізації, тобто посилення перекисного окиснення ліпідів, збільшення проникності та інших змін. Зокрема, порушення лізосомальних мембрани зумовлює підвищення активності бета-глюкуронідази і кислої фосфатази, мітохондріальних – до порушення окиснювального фосфорилування. Збільшується активність аспартатамінотрансферази, лактатдегідрогенази і холінестерази в плазмі крові, кислих гідролаз – у скелетних м'язах. При Е-гіповітамінозі мембрани еритроцитів менш стійкі до руйнівного впливу перекису водню.

Порушення мембрани за нестачі токоферолу підтверджено електронно-мікроскопічним дослідженням: у мембрахнах мітохондрій і мікросом слизової оболонки тонкого кишечнику знижувалася кількість поліненасичених жирних кислот. Порушення нормального функціонування клітинних мембрани (гемоліз еритроцитів), структури лізосомальних мембрани і вихід у кров лізосомальних ферментів (кислої фосфатази, трансаміназ, бета-глюкуронідази), ферментів катаболізму (кеатинфосфокінази), збільшення у тканинах умісту гідроперекисних сполук ненасичених жирних кислот та їхніх метаболітів (малонового діальдегіду) дало підстави висловити гіпотезу про антиоксидант-

ну роль вітаміну Е, який інгібує перекисне окиснення ліпідів. Згідно з теорією самоокиснення, ненасичені жирні кислоти приєднують за місцем подвійного зв'язку кисень і перетворюються в перекиси і гідропероксиди. Приєднуючи воду, перекиси перетворюються в ліпопероксиди, які легко виділяють активний кисень, що є причиною пошкодження мембрани і сприяє утворенню особливо токсичних альдегідів і кетонів. Вітамін Е, приєднуючи кисень, гальмує процес окиснення ліпідів, а також протидіє токсичному впливу самих перекисних сполук. Ліпідні перекиси, які утворюються в нормальніх умовах обміну, нейтралізуються природними антиоксидантами, до яких належить і глутатіонпероксидаза.

Подальші дослідження показали, що кожний моль цього ферменту містить 4 молі селену. Було встановлено, що вітамін Е і селен переджують пероксидацію мікросомальних і мітохондріальних мембрани гепатоцитів. Це дозволило висловити гіпотезу про поєднану антиоксидантну дію вітаміну Е і селену: вітамін Е попереджує утворення пероксидних сполук, а селен у складі глутатіонпероксидази руйнує ті пероксиди, що утворилися. Така гіпотеза пояснює зв'язок селену і токоферолу. Токоферол також попереджує окиснення селенідів, які входять до складу негемового феропротеїну і функціонують в електронно-транспортній системі.

Е-вітамінна недостатність характеризується гальмуванням перетворення метіоніну в цистин. Вітамін Е і селеніт натрію відновлюють цей синтез.

Вітамін Е запобігає негативному впливу препаратів заліза, після орального чи парентерального введення яких у поросят розвиваються дистрофічні зміни скелетних м'язів, гідроперикард і гідроторакс, які викликають загибель тварин. Не виключено, що введене залізо є проксидантом і спричинює окиснення ненасичених жирних кислот та руйнування токоферолу. Застосування з профілактичною метою селену і токоферолу після введення препаратів заліза значно зменшує кількість поросят з ураженням печінки й серця. Водночас вітамін Е активує синтез гему, який входить до складу гемоглобіну, міоглобіну, каталаз, пероксидаз і цитохромів. Збільшуючи синтез гему, токоферол стимулює еритроцитопоез, синтез дихальних ферментів тканин, енергетичні та синтетичні процеси в них і є, таким чином, синергістом протианемічної дії препаратів заліза.

У курчат, каченят та індиченят за нестачі токоферолу розвивається енцефаломаляція з характерним ураженням мозочка (множинні крововиливи, розм'якшення, набряки). Okрім енцефаломаляції, у мо-

лодняку 2–4-тижневого віку за одночасного дефіциту токоферолу і селену може розвиватися ексудативний діатез, який проявляється множинними набряками під шкірою в ділянці грудей, шиї, голови, живота, біля основи стегон і крил, інколи спостерігається набряк головного мозку, легень, нирок, серця. При Е-гіповітамінозі в каченят також розвиваються м'язова дистрофія, нефроз і виразки гладеньких м'язів м'язового шлунка, часто – пероз, у свиней – некроз гепатоцитів (токсична гепатодистрофія і м'язова дистрофія).

У молодняку тварин різних видів при порушенні обміну токоферолу і селену розвивається аліментарна м'язова дистрофія, або білом'язова хвороба (розділ 7).

Біохімічна діагностика недостатності токоферолу ґрунтуються на визначенні його вмісту в різних субстратах. У сироватці крові клінічно здорових телят токоферолу міститься 0,3–0,7 мг/100 мл, у ягнят – не менше 0,25, корів – 0,4–0,6 у стійловий і 0,7–1,4 – у пасовищний періоди; у кобил – відповідно, 0,28–0,32 і 0,45–0,55; свиней – 0,2–0,4, у птиці – 0,9–1,0 мг/100 мл. У молозиві здорових корів вітаміну Е міститься 3,5–5,0 мг/л, у молоці влітку – близько 2, взимку – 0,4–1,0 мг/л. Яйця курей (жовток і білок) містять 8–12 мкг вітаміну Е в 1 г, жовток – 16–39 мкг/г. У дефіцитному щодо вітаміну Е раціоні в 1 г жовтка міститься лише 5–6 мкг токоферолу (Вальдман А.Р. із співавт., 1993). Унаслідок порушення структури мембрани у крові при Е-гіповітамінозі виявляють підвищену активність індикаторних для печінки ферментів (ГЛДГ, АСТ, АЛТ).

Біохімія обміну вітаміну К

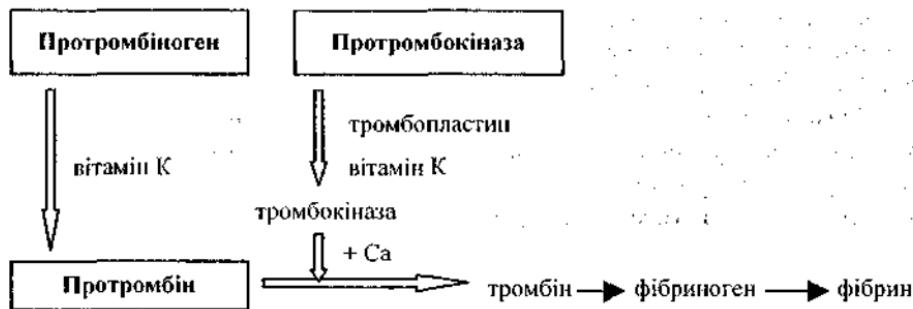
Вітамін К (антигеморагічний, коагуляційний) є незамінним фактором для згортання крові. У дослідах на курчатах із штучно знежиреною дієтою було встановлено порушення згортання крові з крововиливами в міокард, стінки шлунка, нирки і печінку. Виліковували хворобу жиророзчинною речовиною, яку назвали вітаміном К – від слова *Coagulation* (згортання).

Є кілька сполук, які мають властивості вітаміну К: *філохітон* (вітамін K₁) – синтезується у рослинах; *менахітон* (K₂) – синтезується мікроорганізмами в передшлунках жуїних і товстому кишечнику; *менадіон* (K₃) – синтетична речовина, водорозчинну форму якої називають *вікасолом* (синтезована в 1942–1944 рр. академіками А.В.Палладіним і М.М.Шемякіним).

Природний вітамін K₁ усмоктується в тонкому кишечнику в присутності жовчі. Усмоктування і транспорт відбуваються через лімфа-

тичну систему. Синтезований мікроорганізмами вітамін К₂ абсорбується без змін. Накопичується вітамін К в основному в мітохондріях (блізько 60 %), у яких відбувається ферментативне перетворення різних форм вітаміну К у вітамін K₂₍₂₀₎. Найбільш інтенсивно цей процес проходить у птиці. Активна трансформація вітаміну K₁ у вітамін K₂₍₂₀₎ проходить у нирках і міокарді.

Молекулярні механізми згортання крові, у яких бере участь вітамін К, з'ясовані ще не повністю. Процес згортання крові здійснюється в чотири фази, у яких беруть участь 12 факторів-проокоагулянтів. Вітамін К впливає на синтез наступних факторів і білків: *протромбіну* (фактор III), який утворюється в печінці із протромбіногену; утворенні (фактор IX) та активації тромбопластину (за участі факторів VII і X). Характерною рисою цих білків є присутність унікальної аміно-кислоти – гамма-карбоксиглутамінової, синтезованої за участі вітаміну К. Ця кислота дає можливість К-залежним білкам зв'язувати іони кальцію. Вітамін К стимулює утворення печінкою протромбіну та проконвертину. Протромбін під дією тромбокінази сполучається з кальцієм, перетворюється у тромбін, який діє на фібриноген, завдяки чому утворюється згусток фібрину і припиняється кровотеча (див. схему).



Дефіцит вітаміну К уповільнює швидкість згортання крові внаслідок зменшення в крові вмісту не лише протромбіну, а й тромбопластину.

K-гіповітаміноз аліментарного походження виникає при недостатньому надходженні філохіонону з рослинними кормами (люцерна, коношина та трав'яне борошно з них). Ендогенна недостатність вітаміну K розвивається при хворобах печінки, унаслідок яких зменшується надходження в кишечник жовчі і жовчних кислот та засвоєння вітаміну; припиненні синтезу менахіонону при дисбактеріозі, що розвивається внаслідок застосування кокцидіостатиків, антибіотиків і суль-

фаніламідів. Дефіцит вітаміну К може бути зумовлений надходженням в організм антивітаміну – дикумаролу, який міститься в листках буркуну або утворюється з кумарину під впливом плісненевих грибів (у силосі та сіні конюшини). Активними продуцентами дикумарину є гриби з роду *Penicillium*.

Діагностика К-вітамінної недостатності ґрунтуються на визначені тривалості згортання крові. В оптимальних умовах у птиці цей процес триває 18–20 с. Утворення згустка через 50–55 с свідчить про недостатність, а через 60 с і більше – про гострий дефіцит вітаміну К в організмі. У здорових свиней кров згортается протягом 4–5 хв, у хворих – 10–12 хв, у собак – відповідно за 3–5 і 10–12 хв. Окрім того, для діагностики визначають уміст вітаміну К у жовтках яєць, якого повинно міститися не менше 0,4 мкг/г.

КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ОБМІНУ ВОДОРОЗЧИННИХ ВІТАМІНІВ

Вітамін B₁ (тіамін)

В 1911 році Казимир Функ із рисових оболонок виділив речовину, що містила азот і виліковувала поліневрит. Цій речовині він дав назву *вітамін*. Новий водорозчинний вітамін, на відміну від жиророзчинного вітаміну A, одержав назву “вітамін B₁”. Структура його була визначена лише в 1934–1937 рр.

Тіамін надходить в організм тварин із кормами і синтезується в жуїйних мікрофлорою передшлунків, у тварин з однокамерним шлунком – у товстому кишечнику. За рахунок цього синтезу свині задовільняють потребу в тіаміні на 50 %. Усмоктування тіаміну кормів проходить в основному в тонкому кишечнику; у товстих кишках абсорбція його менш інтенсивна. Абсорбується тіамін лише у вільному стані за допомогою переносника. В ентероцитах близько половини вільного тіаміну фосфорилується. Частина його використовується в клітинному метаболізмі, а більша частина через базальну мембрани всмоктується у кров. Частина тіаміну, що надходить в організм, виділяється із сечею – від 15 до 30 % введеної дози.

Засвоєння тіаміну залежить також від можливої присутності в кормах антагоністів вітаміну B₁. Вони виявлені в деяких видів прісноводної риби, молюсків, мікроорганізмах і грибах. У рослинах знайдені антивітаміни фенольної природи. Антагоністами тіаміну є також похідні геміну, орізотоксин шліфованого рису, деякі ненасичені жирні кислоти. В органах хребетних (переважно в гіпофізі) виявлено

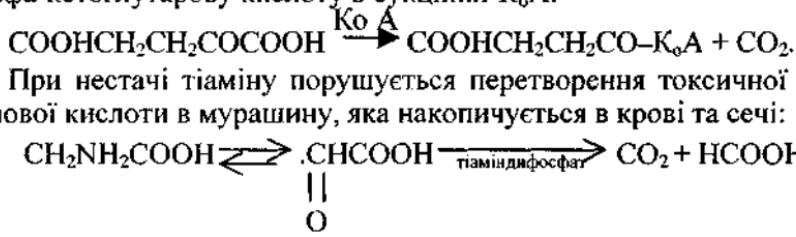
фермент тіаміндегідразу, який розщеплює молекулу тіаміну на дві неактивні частини – піримідинову і тіазольну.

У тканинах організму вільний тіамін міститься в незначній кількості. Біологічно активною формою тіаміну є *тіаміндифосфат (ко-карбоксилаза)*, який синтезується в печінці. Кокарбоксилаза є коферментом карбоксилаз, у складі яких вона виконує кілька важливих реакцій – декарбоксилювання і карбоксилювання, зокрема кетокислот, а також є коферментом транскетолази, яка відіграє важливу роль в аеробному окисненні глюкози в пентозному циклі і продукуванні НАДФН₂, необхідних для багатьох обмінних реакцій. За нестачі тіаміну активність транскетолази знижується, особливо в еритроцитах, що часто враховують при діагностиці вітамінної недостатності. Порушується пентозофосфатний шлях окиснення глюкози, що викликає дефіцит пентоз і відновлених форм нікотинаміденіндинуклеотидфосфату (НАДФН₂), який є донором водню для процесів біосинтезу статевих гормонів, гормонів надниркових залоз, карбонових кислот та інших сполук.

У складі піруватдекарбоксилази тіаміндифосфат бере участь в окиснювальному декарбоксилюванні піровиноградної кислоти, перетворюючи її в активний ацетил, який надходить у ЦТК:



Тіаміндифосфат є коферментом дегідрогенази альфа-кетоглутарової кислоти, яка разом із K_oA і ліпоевою кислотою перетворює альфа-кетоглутарову кислоту в сукциніл-K_oA:



Тіаміндифосфат входить до складу дегідрогенази гамма-оксіальфа-кетоглутарової кислоти, яка каталізує утворення яблучної кислоти. За відсутності тіаміну і цієї дегідрогенази блокується цикл трикарбонових кислот.

Функціонування карбоксилаз може інгібуватися внаслідок витіснення з них тіаміну його структурними аналогами – окситіаміном і пірітіаміном.

За нестачі тіаміну в клітинах головного мозку порушується вуглеводний обмін, зменшується перетворення піровиноградної кислоти і включення її в цикл Кребса. У клітинах нагромаджуються піровиноградна, молочна та гліоксалова кислоти, які мають токсичний вплив на мозкову тканину; розвивається некроз нейронів (кортико-церебральний некроз). М'язи кінцівок у хворих тварин судомно скорочуються, тварина здійснює рухи кінцівками в ритмі галопу. М'язи ший знаходяться у стані опістотонусу (рис. 19). Характерні сліпота, медіальна косоокість, дрижання очей. Порушення функціонування циклу Кребса призводить до зменшення синтезу АТФ, що погіршує м'язову активність, особливо міокарда, виникають аритмія і серцева недостатність. Нагромадження молочної і піровиноградної кислот спричинює розвиток метаболічного ацидозу.



Рис. 19. Тонічна судома м'язів шиї при В₁-гіповітамінозі

Біохімічними критеріями діагностики недостатності тіаміну є зменшення вмісту тіаміну в крові хворих тварин. У здорових телят уміст загального тіаміну становить 7–15 мкг/100 мл; у свиноматок – 5–17 мкг/100 мл, а тіамін-дифосфату – 4–10 мкг/100 мл; у новонароджених поросят – відповідно 10–25 і 5–10 мкг у 100 мл, у відлучених – 20–35 і 10–25 мкг. У хворих тварин

зменшується не лише вміст загального тіаміну, а й відносна частка його активної форми. Одночасно з цим у сироватці крові підвищується вміст піровиноградної (у телят – понад 1,7, у норок – до 3,5–5,0, порівняно з 1,6–2,4 мг/100 мл у здорових) і молочної (більше 13 мг/100 мл, або 1,44 ммоль/л) кислот.

Уміст тіаміну можна визначати також у печінці. У хворих телят він менший 20 мкг/100 г, у новонароджених поросят становить 30, відлучених – менше 40, норок – 100, песців – 60, нутрій – 30 мкг/100 г.

Вітамін В₂

Рибофлавін ($C_{17}H_{20}N_4O_6$) синтезується в передшлунках жуїних, а в моногастрічних тварин – мікрофлорою товстого кишечнику. Багато рибофлавіну містять дріжджі, зерно злаків, висівки, молоко, трава і сіно бобових, рибне, м'ясо-кісткове і сінне борошно, сире м'ясо, ри-

ба, печінка. Кролі свою потребу в рибофлавіні задовольняють копрофагією.

У кишечнику абсорбується лише вільна форма рибофлавіну. Сприяють усмоктуванню солі жовчних кислот та повноцінне протеїнове живлення. Після всмоктування частина вітаміну В₂ фосфорилується. При цьому утворюється рибофлавін-5-фосфат або *рибофлавін-мононуклеотид* (ФМН). У слизовій кишечнику вільний рибофлавін і утворений рибофлавін-5-фосфат (ФМН) потрапляють у кров, де найбільша кількість їх зосереджена в тромбоцитах і лейкоцитах, значно менша концентрація – в еритроцитах і плазмі крові.

У крові вони зв'язуються зі специфічним білком і таким чином транспортуються в печінку, де відбувається синтез *flavінаденіндинуклеотиду* (ФАД) і частково ФМН. У тканинах, наприклад у печінці та нирках, 70–90 % рибофлавіну міститься у формі ФАД. Обидві сполуки – *flavінмононуклеотид* (ФМН) і *flavінаденіндинуклеотид* (ФАД) – є коферментами понад 60 *flavінових* ферментів (*flavопротеїнів*). Рибофлавінові ферменти присутні практично у всіх тканинах і беруть активну участь у тканинному диханні – перенесенні водню з НАДФН (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату) на цитохроми і назад і таким чином є проміжними акцепторами – донорами водню. *Flavопротеїни* беруть участь в окисненні амінокислот, оксикислот, глюкози, альдегідів, НАДН і НАДФН. За дефіциту вітаміну В₂ рівень ФАД у печінці та міокарді знижується.

Вільний рибофлавін та його сполуки виявлені в пігментному шарі сітківки ока, де вони беруть участь у функціонуванні зорового пурпуру, імовірно, оберігаючи сітківку від шкідливого впливу ультрафіолетового проміння.

Рибофлавін зустрічається також у комплексі з металами: залізом, молібденом, міддю, кобальтом, цинком. Ці сполуки є високоактивними.

Недостатність вітаміну В₂ частіше реєструють у птиці, хутрових звірів, свиней, рідше – у жуйних. У телят В₂-гіповітаміноз розвивається в ранній період життя, коли ще не почав функціонувати рубець. У хутрових звірів причиною В₂-гіповітамінозу є нестача в раціоні мускульного м'яса, печінки, дріжджів, молока. Ендогенна недостатність рибофлавіну розвивається при хронічних розладах травлення, пригніченій життєдіяльності мікрофлори рубця і товстого кишечнику антимікробними та іншими засобами.

За нестачі рибофлавіну знижується активність багатьох ферментних систем організму, тому порушується обмін білків, вуглеводів,

ліпідів, виділяється багато амінокислот, унаслідок чого розвивається негативний азотистий баланс, який проявляється виснаженням тварин і затримкою їхнього росту, дерматитом, анемією, порушенням функцій нервової системи, зору (кератит, катараракта), серця. У птиці порушується формування оперення, розвивається васкуляризація рогівки (кров'янисте око). Кінцівки болючі, відведені убік, розвивається атрофія м'язів, скарлючення пальців (рис. 20).



Рис. 20. Скарлючення пальців при B_2 -гіповітамінозі

B_2 . Найбільше його міститься в молозиві й молоці овець (близько 20 і 4 мг в 1 л), менше – у корів, кіз і свиноматок (5–7 і 1,5–2,3 мг/л), найменше – у молоці кобил (0,15–0,65 мг/л).

Пантотенова кислота

Пантотенова кислота (від грецьк. *pantos* – повсюди), або вітамін B_3 , була виділена в 1933, а синтезована – в 1940 р. Пантотенова кислота – це біологічно малоактивна речовина. Найбільш важливою похідною сполукою її є коензим А (КоА), якому належить провідна роль у функціонуванні циклу трикарбонових кислот, синтезі ацетилхоліну, стероїдних гормонів, жовчних кислот, синтезі та окисненні жирних кислот, фосфоліпідів, утворенні кетонових тіл.

При бета-окисненні жирних кислот утворюється оцтова кислота, яка активується КоА з наступним окисненням його в циклі Кребса ($\text{CH}_3\text{-CO}\approx\text{S-KoA}$). При синтезі жирних кислот з ацетил-КоА на певній стадії (β -окси- β -метилглутарил-КоА) у гепатоцитах під впливом мітохондріального ферменту утворюється ацетооцтова кислота, частина якої за певних умов відновлюється до бета-оксимасляної кис-

Діагноз B_2 -вітамінної недостатності ґрунтуються на визначенні вітаміну в різних субстратах. У крові рибофлавіну міститься 8–16 мкг/100 мл; у печінці (мкг/г) телят – 30–65, свиней – 30–44, у курей – 15–22, пescів – не менше 15, норок – не менше 13. Об'ективним показником є вміст рибофлавіну в яйцях. У білку яєць курей та індичок його має бути 2–3, у жовтку – 3–5 мкг/г, у качок і гусей – відповідно 1–2 та 6–7 мкг/г.

Уміст ФАД у крові здорових телят становить 8–16 мкг/100 мл, у хворих – 2,7–6,0. Молоко і молочні продукти є досить хорошими джерелами вітаміну

лоти, а інша частина декарбоксилюється, що приводить до утворення ацетону.

КоА виконує головну роль у синтезі лимонної кислоти, яка утворюється при конденсації щавлевооцтової кислоти з ацетил-КоА. Щавлевооцтова кислота є кінцевим продуктом окиснювального декарбоксилювання піровиноградної кислоти. Таким чином, роль КоА є провідною у вуглеводному та жировому обміні, у звільненні енергії в циклі Кребса.

У жуйних тварин особливо важливе значення КоА відіграє в метаболізмі ЛЖК, які після активації їх КоА є джерелом енергії (у циклі Кребса), глюкози, молочного жиру і цукру.

У жуйних потреба у вітаміні В₃ задовольняється синтезом його мікрофлорою передшлунків, у моногастричних тварин – товстих кишок. Особливо інтенсивно синтезується пантотенова кислота в кишечнику кролів. У сільськогосподарських тварин (крім птиці), які уtrzymуються на звичайних, а не синтетичних раціонах, дефіцит пантотеної кислоти не проявляється.

Екзогенна пантотенова кислота всмоктується в кишечнику. Багаті на неї дріжджі (7,3–7,5 мг/100 г сухої речовини), борошно люцерні (3,3–4,6), пшеничні висівки (2–3), м'ясні субпродукти (0,8–1,8), капуста, морква.

Дефіцит пантотеної кислоти в хутрових звірів може виникати при годівлі сухими і вареними кормами, які містять окиснені жири, а також за нестачі в раціоні дріжджів і печінки. Кролі не потребують екзогенного надходження пантотеної кислоти.

Симптоми В₃-гіповітамінозу частіше виявляють у курчат, індичат і каченят. Проявляється хвороба дерматитами, насамперед на кінцівках, пізніше – навколо дзьоба і очей, та паралічами (рис. 21). У хутрових звірів нестача вітаміну В₃ характеризується затриманням росту і посивінням волосся.

Лабораторна діагностика порушень обміну вітаміну В₃ ґрунтуюється на визначенні його кількості в крові та молоці. У крові корів знайдено 55 мкг вітаміну в 100 мл, кіз – 65–78, овець – 42; свиней – 77–106; кролів – 70 мкг/100 мл; у плазмі крові курей його повинно



Рис. 21. Дерматит у ділянці голови при В₃-гіповітамінозі

бути не менше 50 мкг/100 мл. У молоці пантотенової кислоти міститься (мг/л): у корів – 3,7–4,8; овець – 3,7–5,9; кіз – 2,9–3,2, свиней – 5–6, кролиць – 7–14. Уміст пантотенової кислоти в яйці має становити не менше 9 мкг/г.

Нікотинова кислота

Нікотинова кислота (нікотинамід, ніацин, вітамін В₅, РР) була одержана в хімічно чистому вигляді ще в 1867 р., проте лише в 1937–1938 роках вона була успішно використана для лікування людей, хворих на пелагру (від італ. – *pellagra* – шершава шкіра). Назву “фактор РР” нікотинова кислота одержала в 1926 р., оскільки пелагроподібне захворювання у тварин виліковувалося термоустабільною сполучкою дріжджів (РР – *Pellagra preventive* – попереджуючий пелагру), хоча в ті роки таку дію “фактора РР” ніхто не пов’язував із нікотиновою кислотою. У 1936 р. протипелагричний фактор був виділений із печінки, а в 1937 р. з нього була одержана нікотинова кислота.

Нікотинова кислота всмоктується в тонкому кишечнику, надходить у печінку, де перетворюється в активну форму – нікотинамід. Сполучаючись із нуклеотидами, нікотинамід утворює два коферменти – нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД) і нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ). У сполучі зі специфічним протеїном (апоферментом) обидва коферменти беруть участь більш як у 150 реакціях розщеплення вуглеводів, жирів, окисненні спиртів, амінокислот. НАД і НАДФ є першою ланкою в ланцюзі тканинних дихальних ферментів. При перенесенні водню від субстрату до флавопротеїнів НАД відновлюється у НАДН₂, а НАДФ – у НАДФН₂. Нікотинамідним коферментам належить провідна роль в обміні вуглеводів, у реакціях зворотного перетворення ізолимонної кислоти в кетоглутарову, малонової кислоти – у щавлевооцтову, молочної – у піровиноградну, перетворені глюкозо-6-фосфату в 6-фосфоглюконову кислоту.

НАД і НАДФ входять до складу ферментів клітинного ядра, мітохондрій, ендоплазматичної сітки, беручи участь у різноманітних реакціях.

Вільні форми нікотинової кислоти всмоктуються в шлунку і тонких кишках. Коферментні форми всмоктуються після попереднього гідролізу, який проходить на мембрані посмугованої кайми. Абсорбована нікотинова кислота у тканинах (в основному в печінці) використовується для синтезу коферментів.

Достатня кількість вітаміну В₅ у дорослих жуйних синтезується мікроорганізмами в передшлунках, у телят – ендогенно із амінокис-

лоти триптофану, тому вони потребують екзогенної нікотинової кислоти лише в ранньому віці. У свиней вітамін В₅ синтезується ендогенно у тканинах із триптофану і мікроорганізмами в товстому кишечнику, проте з товстих кишок він майже не всмоктується. Причиною розвитку В₅-вітамінної недостатності у свиней є порушення структури комбікормів, коли в раціоні обмаль висівок, трав'яного борошна, шроту, дріжджів, багатих на нікотинову кислоту, а на кукурудзу припадає більше 75 % поживності раціону, оскільки в ній мало нікотинової кислоти і триптофану. Окрім того, нікотинова кислота погано за своюється із зерна кукурудзи (30 %), де вона міститься у зв'язаній формі, яка досить важко гідролізується травними ферментами (на приклад, засвоюваність її з борошна сої становить 100 %). Нині висловлюється твердження, що перетворення триптофану в нікотинову кислоту інгібується лейцином, якого багато міститься в зерні кукурудзи, сорго та ін.

У собак, кішок і хутрових звірів (норок, лисиць і песців) хвороба виникає при утриманні на раціонах, до складу яких не вводять сире м'ясо, печінку, молочні продукти, оскільки синтез нікотинової кислоти із триптофану в них досить обмежений. У кішок розпад триптофану може проходити за двома механізмами. Фермент, який відповідає за альтернативний “неніациновий” шлях, досить високоактивний і ефективно “вилучає” метаболіти триптофану із синтезу ніацину. Тому в кішок і собак зустрічається дефіцит ніацину, який характеризується запаленням і виразками слизової оболонки ротової порожнини, виділенням слини кров'янистого кольору, неприємним запахом з рота. Синдром нестачі ніацину проявляється в собак у вигляді “чорного язика”.

Синтез нікотинової кислоти із триптофану інтенсивно проходить у яйцях під час інкубації. У курчат нікотинової кислоти у 10–20, а в індиченят – навіть у 60 разів більше, ніж її було в яйцах перед інкубацією.

Контролюють обмін нікотинової кислоти за її вмістом у печінці, молоці, крові, яйцах. У здорових тварин її вміст становить (мг/100 г сирої печінки): у телят – 12,0–25,0; поросят – 10–27,5; овець – 39–46; птиці – 10–20.

У крові свиней міститься 3,2–7,5 мкг/мл нікотинової кислоти; овець – 3,6–13,0; коней – 3,7–10,5; собак – 3,6–6,7 мкг/мл. У собак із дефіцитним раціоном, при якому розвивається захворювання (“чорний язик”), уміст нікотинової кислоти в крові може знижуватися до 1,5 мкг/мл.

В 1 л молока корів міститься 0,7–1,9 мг нікотинової кислоти; овець – 3,9–4,8; кіз – більше 0,6; кобил – 0,5–0,7; свиней – 4–8; кролиць – 7–8; норки – 160 мг. Високий уміст вітаміну B_5 у молоці свиноматок і самок хутрових звірів свідчить про підвищену потребу в ньому приплоду.

Свіжознесені яйця курей містять 0,66 мкг вітаміну B_5 в 1 г.

Вітамін B_6 (піридоксин)

Вітамін B_6 існує у формі піридоксину, піридоксалю і піридоксаміну. У літературі назву “піридоксин” (за новою номенклатурою – “піридоксол”) часто застосовують щодо всієї групи вітаміну B_6 . У тканинах тварин вітамін B_6 знаходиться переважно у формі піридоксальфосфату і піридоксальамінофосфату. Вони входять як простетична група до складу більше 20 ферментів – трансаміназ, декарбоксилаз, дезаміназ та інших, під впливом яких у тканинах і клітинах відбуваються безперервні процеси синтезу і розпаду амінокислот. АЛТ і АСТ, наприклад, сприяють синтезу аспарагінової і глутамінової амінокислот та аланіну. Піридоксальфосфат бере участь у перенесенні амінокислот через клітинні мембрани та в синтезі жиру, утворенні адреналіну і норадреналіну, серотоніну і гістаміну, перетворенні триптофана в серотонін, який діє протисудомно, і нікотинову кислоту. За участі піридоксальфосфату відбувається синтез пуринових і піримідинових основ, які входять до складу нуклеїнових кислот, та перетворення глутамінової кислоти (фактора збудження в ЦНС) в γ -аміномасляну (фактор гальмування в ЦНС).

В організм сільськогосподарських тварин вітамін B_6 надходить із кормом. Найбільш багаті на нього (мг/кг) сухі дріжджі (20–40), пшеничні і рисові висівки (10–20), зерно (1,5–4,0). Окрім того, піридоксин може синтезуватись ендогенно: у жуйних – мікрофлорою передшлунків та товстих кишок, у коней, свиней, менше у птиці – мікрофлорою кишечнику. Дорослі кролі забезпечують потребу у вітаміні B_6 за рахунок мікробіального синтезу в кишечнику і копрофагією. Проте у деяких кормах – льняній макусі, насінні окремих бобових – є антагоністи піридоксину. Із синтетичних сполук антивітаміном є ізоніазид, який застосовують при лікуванні туберкульозу.

Піридоксин добре всмоктується в кишечнику, проте механізм абсорбції зв'язаних форм піридоксину поки що вивчений недостатньо. Очевидно, спершу проходить звільнення коферменту від апоферменту з наступним дефосфорилуванням піридоксальфосфату і піридоксамінофосфату на мембранах мікроворсинок. Звільнені піридоксаль та

піридоксамін, а також вільні форми вітаміну В₆ кормів шляхом пасивного трансембранного перенесення потрапляють в ентероцити слизової оболонки. Абсорбований піридоксин окиснюється в піридоксаль з наступним його фосфорилуванням. Із сечею переважно виділяється 4-піридоксалова кислота, а за нестачі вітаміну В₆ різко збільшується виділення ксантуреноної кислоти, визначення якої є важливим для діагностики патології.

При нестачі піридоксину в раціоні та зменшенні ендогенного синтезу порушується обмін амінокислот, синтез білків і ліпідів. Продукти порушеного обміну негативно впливають на всі органи і тканини, спричинюючи дистрофічні і атрофічні процеси в шкірі, нервових клітинах та паренхіматозних органах. У головному мозку внаслідок зниження активності декарбоксилази – піридоксальзалежного ферменту, який каталізує утворення γ-аміномасляної кислоти – гальмівного медіатора, нагромаджується глутамінова кислота, внаслідок чого підвищується збудливість кори і розвиваються епілептичні судоми. Нестача піридоксину спричинює зменшення синтезу попередника молекули гему, зниження вмісту гемоглобіну в крові, порушення клітинного дихання. У крові виявляють мікроцитоз (більше 90 % еритроцитів малого діаметра), олігохромемію і гіпохромію, рідше – олігоцитемію. У кішок може також руйнуватися паренхіма нирок із відкладанням кристалів кальцію оксалату в ниркових канальцях (піридоксин необхідний для перетворення оксалату в гліцин). У собак нестача піридоксину спричинює алопеції і дерматит.

Діагностують недостатність піридоксину за лікувальним ефектом (В₆-гіповітамінозний дерматит легко лікується при застосуванні піридоксину), результатами визначення ксантуреноної кислоти в сечі та вмістом піридоксину в крові і молоці. Молоко корів містить 0,25–0,75 мг піридоксину в 1 л; овець – 0,3–0,5; кіз – 0,2–0,4; кролиць – 2,5–3,6; кобил – 0,3 мг/л.

Фолієва кислота

Фолієва кислота (від *folium* – листя), або вітамін В_c, була виділена в 1941 р. із листя шпинату, у 1943 р. – із печінки; синтезована – в 1945 р. У природі вона найчастіше зустрічається у зв'язаній формі і складається з кількох залишків глутамінової кислоти. Фолієвою кислотою багаті дріжджі (10–35 мг/кг) і люцернове борошно (1,5–3,0 мг/кг).

В організмі (переважно в печінці, нирках, кістковому мозку) фолієва кислота відновлюється в активну форму – *тетрагідрофолієву*

(ТГФК), яка в якості простетичної групи входить до складу багатьох ферментів – *птеропротеїнів*. Вони забезпечують зворотне перетворення серину в гліцин, гомоцистеїну – у метіонін, а також беруть участь у гемопоезі, біосинтезі пуринового і піримідинового ядра нуклеїнових кислот. Однією з цих реакцій є синтез тимідину – важливого компонента ДНК. ТГФК стимулює гемопоез, посилюючи синтез гемоглобіну і дозрівання еритроцитів у кістковому мозку та продукування лейкоцитів; у птиці збільшується розмір еритроцитів ядер. Злоякісне недокрів'я, що спричиняється нестачею вітаміну B_{12} , виліковується лише при комплексному застосуванні його з фолієвою кислотою.

Важливу біологічну роль виконує ТГФК в обміні амінокислот та нейтралізації їхніх токсичних продуктів. Зокрема, у процесі обміну речовин у тканинах постійно утворюються гліцин і глутамінова кислота. Звільнюється організм від гліцину перетворенням його в серин або шляхом катаболізму. Таким чином, фолієва кислота виконує важливу роль у реакціях анаболізму і катаболізму амінокислот.

Потреба тварин у фолієвій кислоті в молочний період забезпечується за рахунок вітаміну молозива і молока. У подальшому велике значення має ендогенний синтез її в рубці та кишечнику і екзогенне надходження вітаміну.

У рослинних кормах фолієва кислота зустрічається у формі полі-глутаматів, які містять від 3 до 7 залишків глутамінової кислоти. У кишечнику вони розщеплюються, всмоктуються у кров і депонуються в органах. Механізми всмоктування фолієвої кислоти вивчені недостатньо. У печінці тварин 80–90 % фолієвої кислоти перебуває в основному в метаболічно активній формі – тетрагідрофолієвій кислоті (ТГФК) та її похідних.

За нестачі фолієвої кислоти в норок і лисиць, індиченят і каченят розвивається макроцитарна гіпохромна анемія, у звірів погіршується якість хутра. Молодняк птиці погано вкривається пір'ям, перо в індиченят і дорослої птиці депігментується, спостерігаються паралічі жуйних м'язів, слабкість кінцівок і ознаки перозу. У собак і кішок дефіцит фолієвої кислоти малойmovірний.

Біохімічна діагностика порушень обміну фолієвої кислоти ґрунтуються на визначенні її вмісту у *плазмі крові* (у курчат її має бути більше 3, індиченят – 6, свиней – 6, коней – 3,5 мкг/л) та в *печінці* (у качок – близько 3 мкг/г, телят і овець – 7–10, свиней і дорослої великої рогатої худоби – близько 15 мкг/г).

Молоко корів містить 37–72 мкг фолієвої кислоти в 1 л, кіз – 9,5, свиней – 3,4, кобил – 1,3, кролів – 250–300 мкг/л. Уміст вітаміну в

малозиві значно вищий (наприклад, у кіз – 130–300 мкг/л). У цілому яйці міститься близько 4,5 мкг фолієвої кислоти, яка в основному знаходиться в жовтках (0,1–0,3 мкг/г).

Ціанокобаламін

У 1855 р. Аддісоном вперше була описана особлива форма анемії у людей, яка одержала назву перніцозної, або хвороби Аддісона-Бірмера. Тривалий час вона вважалася невиліковною, і лише в 1925 р. було встановлено, що використання в їжі сирої печінки великої рогатої худоби профілактує хворобу. У 1948 р. із печінки була виділена кристалічна речовина червоного кольору, яка виявилась високоекстрактивною при лікуванні перніцозної анемії. Нова речовина була названа вітаміном B_{12} , а оскільки до її складу входять кобальт (єдиний вітамін, що містить метал), амідні і ціанисті групи, то вона одержала назву *цианокобаламін*.

Продуцентами вітаміну B_{12} у природі є мікроорганізми. Рослини і тварини його не синтезують. Проте дорослі жуйні за наявності в раціонах достатньої кількості кобальту і білка при нормальній функції шлунково-кишкового каналу повністю забезпечують себе ціанокобаламіном за рахунок мікробного синтезу в передшлунках і товстому кишечнику. У тварин з однокамерним шлунком мікробний синтез не задовольняє повністю їх потреб, і тому свині, птиця, собаки і хутрові звірі потребують додаткового надходження вітаміну з кормом. У птиці більшість мікроорганізмів кишечнику можуть синтезувати ціанокобаламін, найбільш інтенсивно – у товстих кишках, особливо сліпій. Проте синтезований вітамін не встигає абсорбуватися і тому потрапляє в послід, із якого внаслідок копрофагії повертається в організм. Норки, лисиці і песці споживають м'ясні та рибні продукти, багаті на вітамін B_{12} , тому в них ендогенна недостатність ціанокобаламіну зустрічається частіше. Кролики, корм яких не містить вітаміну B_{12} , свою потребу в ньому задовольняють за рахунок мікробного синтезу в кишечнику і копрофагії. Багаті на ціанокобаламін рибне, м'ясне і печінкове борошно, молоко свіже і збиране, де він міститься у вигляді ціанокобаламіну (власне, самого вітаміну B_{12}), окси-, метил- та аденоцианокобаламінів.

У біологічних реакціях бере участь не вільний кобаламін, а так звані B_{12} -коферменти (кобамідні ферменти) – метилкобаламін і дезоксіаденоцианокобаламін. За їх участю синтезуються метіонін, холін, креатинін, нуклеїнові кислоти, сульфогідрильні групи. Завдяки стимуляції утворення метіоніну і холіну вітамін B_{12} має ліпотропну дію і

поліпшує білоксинтезувальну функцію печінки. За його нестачі в печінці порушується біосинтез метіоніну із гомоцистеїну.

Вітамін В₁₂ стимулює перетворення пропіонової кислоти, що утворюється в рубці жуйних, у глюкозу. При нестачі кобальту і вітаміну В₁₂ метаболізм пропіонової кислоти гальмується, уміст глюкози в крові знижується, з чим, очевидно, частково пов'язаний розвиток кетозу у високопродуктивних корів. Вітамін В₁₂ активує синтез білків, що поліпшує ріст і розвиток тварин.

Ціанокобаламін стимулює еритроцитопоез, впливаючи на перетворення фолієвої кислоти в тетрагідрофоліеву, яка прискорює дозрівання еритроцитів. Дефіцит вітаміну В₁₂ порушує цю реакцію, в еритро- і нормобластах знижується синтез ДНК, тому затримується їх ділення і дозрівання. У крові з'являються мегалоцити і мегалобласти, що свідчить про розвиток макроцитарної мегалобластичної анемії. Цим, очевидно, пояснюється ефект синергізму, який одержують від згодовування фолієвої кислоти або вітаміну В₁₂ на дефіцитній за вмістом ціанокобаламіну дієті.

Вітамін В₁₂ стимулює засвоєння каротину і синтез ретинолу, поглинальну і перетравну функції нейтрофілів, активність цитохромоксидаз і пероксидаз нейтрофілів.

Механізм абсорбції вітаміну В₁₂ ще не повністю вивчений. Абсорбція залежить від "внутрішнього фактора Касла", який секретується слизовою оболонкою шлунка. З вітаміном В₁₂ внутрішній фактор – гастромукопротеїн – утворює стійку сполуку, яка не руйнується мікрофлорою і ферментами кишечнику. У кормах тваринного походження синтезований бактеріями ціанокобаламін знаходиться у зв'язаній з білком формі, а отже – не може абсорбуватися. Тому, щоб вступити у сполуку з гастромукопротеїном, він повинен звільнитися від білка. Цей процес починається у шлунку і закінчується в кишечнику під впливом протеолітичних ферментів. Внутрішній фактор (ВФ) транспортує вітамін В₁₂ по кишечнику. До цього комплексу приєднуються іони кальцію і магнію. На слизовій кишечнику вітамін В₁₂ звільняється від зв'язку з ВФ за допомогою ферментів кишечнику. Найбільш складним і маловивченим є останній етап абсорбції вітаміну В₁₂ – його транспорт через мембрани ентероцитів. Цей процес є активним і вимагає переносника.

Із ентероцита вільний вітамін В₁₂, очевидно шляхом дифузії, проходить у кровотік, де він зв'язується з α-глобуліном (транскобаламіном I), який зв'язує основну кількість вітаміну плазми, і β-глобуліном (транскобаламіном II), що транспортує вітамін В₁₂ в усі тканини. Нині

виявлений ще транскобаламін III, який забезпечує транспорт вітаміну В₁₂ у гепатоцити. Найбільшу кількість кобамідних ферментів виявлено в печінці та нирках. Негативний вплив на синтез вітаміну В₁₂ у передшлунках спричинює надлишок молібдену в кормах, а на його абсорбцію в кишечнику – термолабільний фактор у бобах сої, аналоги вітаміну В₁₂, які комбінуються із внутрішнім фактором Касла.

Недостатність ціанокобаламіну характеризується анемією видимих слизових оболонок, поступовим зниженням апетиту, спотворенням смаку, зниженням вгодованості і продуктивності.

Контроль за станом обміну ціанокобаламіну проводиться за вмістом його в молозиві, молоці, крові та у жовтках яєць.

Молозиво здорових корів містить 17–50 мкг вітаміну В₁₂ в 1 л, свиней – 0,5–3,2; молоко – відповідно 5–9 і 1,2–3,3 мкг/л; молоко овець – 5–9, кіз – 0,18–0,8, кобил – 0,5–2,3, кролиць – 50–60 мкг/л. За дефіциту кобалту в молоці корів і овець вітаміну міститься менше 3 мкг/л.

Забезпеченість птиці вітаміном В₁₂ визначають за його вмістом у жовтках яєць, печінці та крові. Уміст ціанокобаламіну в жовтках яєць має становити не менше 8 мкг/кг. При В₁₂-гіповітамінозі його рівень знижується до 1,8 мкг/кг. Оптимальний вміст кобаламіну в печінці курей і качок – 230–600 мкг/кг, чотиритижневих курчат – 450–500, каченят – 290–620 мкг/кг. У плазмі крові лошат вітаміну В₁₂ міститься 1,5–6,5 мкг/л, телят – 0,5, кролів – 30 мкг/л (Вальдман А.Р. зі співавт., 1993).

БІОТИН

Біотин (вітамін Н) був отриманий у 30-х роках минулого століття й одержав назву “біос” (від грец. *bios* – життя), оскільки він стимулював ріст дріжджів і бактерій. Проте його роль як необхідного фактора живлення була доведена пізніше в експерименті на щурятах і курчатах, яким згодовували синтетичний раціон, що містив білок курячих яєць. У них зникав апетит і розвивався дерматит. Причиною захворювання вважали білковий токсикоз, а речовину, яка попереджувала токсичну дію білка, назвали вітаміном Н (за першою буквою слова *hout* – шкіра). Лише в 1940 р. в експериментах було доведено, що вітамін Н і біотин є ідентичними речовинами.

В організмі тварин біотин, з'єднуючись з апоферментом, утворює різні ферментні системи, які беруть участь у реакціях карбоксилювання (перенесенні СО₂ від вугільної кислоти в органічні кислоти) і

транскарбоксилюванні (перенесенні CO_2 від органічної кислоти на інші сполуки). При карбоксилюванні насамперед утворюється макро-ергічна сполука – CO_2 -біотин-фермент (активована вуглекислота), з якої CO_2 переноситься на відповідні субстрати. При дефіциті біотину гальмується включення ацетату в жирні кислоти печінки, амінокислоти і тканинні білки, знижується синтез дикарбонових кислот, а внаслідок цього – й білка. У птиці гальмується ріст хрящової тканини, укорочуються і викривляються кінцівки (пероз).

Потреба молодняку раннього віку в біотині задовольняється за рахунок молозива і молока. У подальшому він синтезується мікрофлорою в передшлунках і кишечнику. Інтенсивний синтез його проходить у кишечнику свиней, собак, кішок та птиці.

У рослинах міститься вільний і зв'язаний біотин, у дріжджах і кормах тваринного походження він зв'язаний із білком. Абсорбція біотину кормів інтенсивно проходить у першій третині тонких кишок.

Недостатність біотину в хутрових звірів виникає при тривалому згодовуванні їм кормів, що містять продукти окиснення жирів, які руйнують біотин, та рибних відходів, а також при використанні протягом тривалого часу у складі кормової суміші антибактеріальних препаратів, котрі пригнічують синтез вітаміну мікрофлорою, та при згодовуванні біотинзв'язувального білка – авідину, що міститься в яйцях курей, качок, гусей та індиків. Він блокує біотин і перетворює його в неактивну сполуку (1 мг авідину зв'язує 13,8 мкг біотину). Утворений комплекс досить стабільний і не руйнується ферментами. Окрім того, авідин “нейтралізує” біотин, який синтезується мікрофлорою кишечнику.

У собак і кішок в умовах нормального раціону дефіцит біотину малоймовірний, оскільки майже вся добова потреба в ньому задовольняється за рахунок мікробного синтезу в кишечнику. Симптоми дефіциту виявлені лише при застосуванні антибіотиків, які пригнічують бактеріальну активність. Розвивається дерматит, який супроводжується виділенням жиру залозами шкіри, тобто розвивається себорея (тому вітамін Н називають антисеборейним). У курчат та інциченят розвивається дерматит підошевної частини кінцівок, при тяжкому перебігу – в кутках дзьоба та повік. Шкіра підошви кінцівок стас шершавою, мозолистою, а в подальшому тріскає, кровоточить, некротизується (рис. 22). У норок і песців спостерігають депігментацію волосся навколо очей, зовнішніх статевих органів та самостриження волосся (рис. 23).

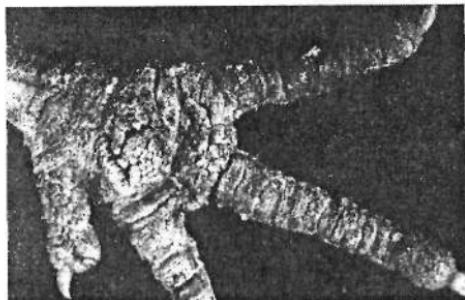


Рис. 22. Нестача біотину в курчат

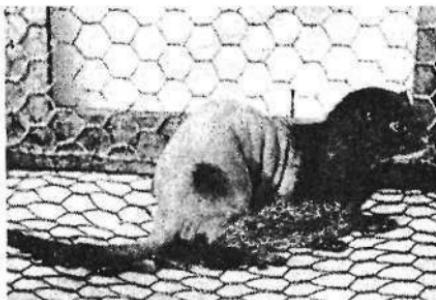


Рис. 23. Дефіцит біотину в норки

Біохімічні методи контролю недостатності біотину включають визначення його вмісту в яйцях (в 1 г жовтка міститься 0,5 мкг біотину) та молоці. В 1 л молока корів міститься 25–40 мкг біотину, овець – 45–90; кіз – 30–82; кролів – 230–450 мкг (Вальдман А.Р. с соавт., 1993). Печінка курчат у нормі містить 0,875 мкг/г біотину, при недостатності – 0,29 мкг/г.

АСКОРБІНОВА КИСЛОТА

На шляху першопрохідців Арктики і Антарктиди були не лише суворі природні перепони, а й різні хвороби. Одна із них – цинга – була причиною смерті багатьох сміливців. Вивчення причин цього захворювання почалося лише після того, коли вдалося змоделювати експериментальну цингу в морських свинок (1907–1912 рр.), у яких спостерігали недокрів'я, порушення цілісності судин, геморагії, незагоювані виразки, випадіння зубів. Проведені численні дослідження привели до висновку про вітамінну природу протицинготного фактора, який отримав назву “*вітамін С*”. Перші очищенні препарати вітаміну були одержані в 1922–1924 рр. із соку лимонів і капусти. У 1933 р. вітамін одержав нову назву – *аскорбінова кислота*, яка збереглася й донині.

Аскорбінова кислота бере участь в окиснюально-відновних процесах (під час окиснення вона перетворюється в дегідроаскорбінову кислоту) та в утворенні *колагену* – важливого компонента сполучної тканини, який становить 1/3 усіх білків тіла тварини. На відміну від білків інших тканин, колаген і еластин містять багато оксипроліну та оксилізину. Включення проліну і лізину в білки і наступне їх гідроксилювання відбувається за участі аскорбінової кислоти, яка стимулює перетворення проліну в оксипролін, дозрівання фібробластів та

синтез колагену і таким чином забезпечує цілісність стінок судин. За нестачі вітаміну С затримується перетворення проліну в оксипролін, синтез глікопротеїнгліканів, унаслідок чого порушується колоїдний стан міжклітинної речовини, що призводить до підвищення проникності і крихкості кровоносних судин, крововиливів у шкіру, видимі слизові оболонки, тканини і органи. У новонароджених телят найбільш типові зміни виявляють на слизовій оболонці ясен нижньої щелепи: "скорботну облямівку" – смужку темно-фіолетового кольору; слизова ясен пухка і набрякла, ясна кровоточать. На слизовій щік і рота знаходять виразки і некрози. Різці майже повністю покриті яснами, зуби ростуть у різні боки у вигляді букв "V" і хитаються.

У щенят хутрових звірів, особливо лисиць, характерними ознаками є набряк лапок, почервоніння підошви ("червонолапість"), між пальцями і на підошві виявляють виразки, що кровоточать.

Вітамін С бере участь у гемопоезі. Він стимулює всмоктування заліза в кишечнику, включення його в молекулу гему, активує редуктазу, яка сприяє перетворенню фолієвої кислоти в тетрагідрофоліеву, а остання впливає на дозрівання еритроцитів. Окрім того, аскорбінова кислота бере участь у фіксації заліза в процесі синтезу гемоглобіну та у відновленні меттегемоглобіну в еритроцитах. Аскорбінові кислоті належить регулювальна роль у синтезі кортикостероїдів у надниркових залозах, гормонів щитоподібної, підшлункової і статевих залоз. Високим є вміст аскорбінової кислоти у тканинах ока – передній камері, рогівці, кришталіку.

Аскорбінова кислота інтенсивно синтезується в передшлунках жуйних. Про інтенсивність біосинтезу її в організмі корів свідчать результати балансових дослідів: при добавому надходженні з кормом 12,7 мг корови виділяли 1373 мг (у 100 разів більше), у тому числі з молоком – 575, калом – 779, сечею – 19 мг. У жуйних, коней і свиней інтенсивний синтез аскорбінової кислоти проходить у печінці, у птиці – в нирках. Не була доведена потреба кролів в екзогенній аскорбіновій кислоті. Біосинтез вітаміну С у тканинах більшості тварин залежить від функціонування багатьох ферментних систем, тому елементи живлення, зокрема вміст білка в раціоні, значно впливають на інтенсивність біосинтезу. Негативно впливає на синтез вітаміну С в організмі дефіцит вітамінів A, B₁, K (у курей-несучок).

Головним джерелом аскорбінової кислоти є зелені корми, трава і сіно бобових культур, овочі й фрукти, капуста, картопля, молозиво і молоко. Усмоктується вона переважно в тонких кишках, надходить у печінку, а потім в інші органи й тканини. Засвоєння аскорбінової кислоти знижується при хронічних гастроентеритах.

С-гіповітаміноз розвивається при недостатньому надходженні вітаміну в організм, що частіше спостерігається в поросят, хутрових звірів і новонароджених телят, при порушенні всмоктування в тонкому кишечнику при хронічних шлунково-кишкових хворобах та зниженні синтезу його в печінці (гепатит, гепатоз), нирках і передшлунках. Якщо в природних умовах ендогенний біосинтез задовільняє потребу тварин в аскорбіновій кислоті, то в умовах, які вимагають підвищеної кількості вітаміну, він може бути недостатнім. Так, зменшення вмісту аскорбінової кислоти було встановлене у ягнят і телят при А-гіповітамінозі, у телят, хворих на катаральну бронхопневмонію і білом'язову хворобу, у курчат – за дефіциту вітамінів А, В₁, В₂, К та фолієвої кислоти. У дослідах виявляли зменшення вмісту вітаміну С при неповноцінному білковому живленні, температурному стресі, інфекційних та гельмінтозних хворобах.

У сироватці крові телят міститься 0,7–1,5 мг/100 мл аскорбінової кислоти, дорослої великої рогатої худоби – 0,48–0,6; овець – 0,5–0,8; поросят – 0,6–1,0; коней – 0,3–1,5; хутрових звірів – 1 мг/100 мл; курей-несучок – 1,6–2,0 мг/100 мл (у плазмі – 0,8–1,0).

Уміст аскорбінової кислоти в молозиві корів становить 26–30 мг/л, молоці – 11–25 мг/л, в овець – відповідно 50–100 і 10–30 мг/л. У кіз у молозиві міститься 33–55 мг/л вітаміну С, у молоці – 1,5–1,6 мг/л; у молозиві кобил – 33–47, молоці – 68–140 мг/л; у свиноматок – відповідно 120–360 і 120–130 мг/л.

ВІТАМІН Р (РУТИН)

У 1936 р. з лимонного соку та екстракту угорського перцю була виділена речовина, що попереджала кровоточчу і зміцнювала стінки капілярних судин. Після цього вчені дійшли висновку, що цинга не є моногіповітамінозом і що для усунення патологічного процесу необхідне одночасне введення вітаміну С і фактора “проникання”. Цей фактор належить до групи “біофлавоноїдів”. Речовини з подібними властивостями одержали назву “вітамін Р” (від *permeabiliti* – проникність). У цю групу об’єднують флавіни, флавони, ізофлавони, флавоноли, катехіни та інші сполуки. Препарати вітаміну Р випускаються під назвою *рутин*, або *кварцетин*.

Вітамін Р посилює згортання крові і зміцнює стінки капілярів. Механізм дії вітаміну на судинну стінку достатньою мірою ще не з’ясований. Одні вважають, що цей механізм опосередковується дією залоз внутрішньої секреції, інші вважають, що вітамін Р стабілізує

основну речовину сполучної тканини, інгібуючи гіалуронідазу, тому стінки капілярів мають достатню кількість гіалуронової кислоти. За його нестачі активність гіалуронідази підвищується, міцність капілярів порушується, у тварин з'являються крововиливи в шкірі, м'язах, суглобах і внутрішніх органах.

На вітамін Р багаті плоди цитрусових, листя гречки, чорна смородина та шипшина. Розщеплення і всмоктування кормового вітаміну відбувається переважно в тонкому кишечнику.

ВІТАМИНОПОДІБНІ РЕЧОВИНИ

Вітамін В₄ (холін)

Уперше холін (від грец. *chole* – жовч) був виділений із жовчі в 1849 р. Холін синтезується в організмі із етаноламіну (утворюється із амінокислоти серину). Синтез холіну залежить від забезпечення організму тварин метіоніном, фолієвою кислотою і ціанокобаламіном (вітаміном В₁₂). У птиці біосинтез холіну проходить на низькому рівні, тому необхідним є його постійне екзогенне надходження з кормом.

Поступово накопичувалися факти щодо холіну як складової частини біологічно активних речовин. Холін був виявлений у складі фосфоліпідів (лецитину, сфінгомієлінів, ацетилфосфатидів), які беруть участь в утворенні біологічних мембрани на клітинному і субклітинному рівнях, в активації багатьох ферментних систем.

З жиру і холіну в печінці утворюються холінфосфатиди (лецитини), які забезпечують постійний відлив жирових речовин із печінки у кров'яне русло і попереджують розвиток жирової дистрофії гепатоцитів. Таким чином холін проявляє ліпотропну дію. Нестача холіну гальмує синтез фосфоліпідів у печінці, внаслідок чого жири інтенсивно відкладаються в гепатоцитах та клітинах інших органів, особливо нирок.

Важливу роль відіграє холін у синтезі ацетилхоліну, який є медіатором нервового збудження. Ацетилхолін синтезується в цитоплазмі багатьох нейронів центральної і периферичної нервової системи із холіну та оцтової кислоти в присутності КоA.

У молекулі холіну містяться "лабільні" метильні групи, необхідні для багатьох реакцій тканинного синтезу, проте вони починають використовуватися лише за недостатньої кількості метіоніну в кормах. Тому нестача метіоніну в раціонах птиці, свиней, високопродуктивних корів та інтенсивно ростучого молодняку спричинює більш інтенсивне використання холіну. У той же час для синте-

зу холіну у тварин джерелом метильних груп може бути лише метіонін.

Нестача холіну в поєднанні з дефіцитом марганцю в раціонах птиці призводить до порушення формування кісток і розвитку захворювання, яке одержало назву пероз (*perosis* – “ковзний” суглоб, “ковзне” сухожилля). У хворого молодняку птиці при цьому захворюванні спостерігаються потовщення і вкорочення трубчастих кісток, деформація суглобів, порушується робота зв’язкового апарату (ахілове сухожилля вискачує із свого виростка), стопа повертається під прямим кутом, подібно до вивику кінцівок. Тому холін у птахівництві отримав назву “антiperозного” фактора.

Холін із кормом надходить як у вільному стані, так і у складі фосфатидів, які у травному каналі гідролізуються ферментами підшлункової залози. Завершальні етапи гідролізу проходять на апікальній мембрані ентероцитів, і в кров усмоктується вільний холін. У печінці холін використовується для синтезу холінфосфатидів, головним чином – лецитину. Невелика кількість холіну циркулює в крові у вільному стані.

Біохімічний контроль обміну холіну передбачає визначення його концентрації в різних субстратах, проте літературні дані щодо цього досить обмежені. У крові телят першого місяця життя вміст холіну становить 21–35 мг/100 мл. Молозиво корів першого надою містить 0,48–0,72 г/л холіну, молоко – 0,1–0,4; молозиво овець – 0,77–1,0, молоко – 0,05 г/л; кіз – відповідно 0,38–1,4 і 0,05–1,15 г/л; молозиво свиноматок – 0,5–0,9, молоко – 0,06–0,1 г/л.

У 1 г печінки птиці міститься 4,4–7,9 мкг холіну. Багато його виявлено в яйцах птиці. Так, жовток курячих яєць містить 175–308 мг холіну, а в 1 г сухої речовини цілого яйця його міститься 1,6 мг. У білку яєць холін практично відсутній.

Вітамін F

Вітамін F є комплексом ненасичених жирних кислот, які не можуть синтезуватися в організмі тварини. Це лінолева, ліноленова та арахідоноva кислоти. Лінолева кислота входить до складу тригліцеридів рослинних олій і тваринних жирів. До 30 % залишків ліноленової кислоти міститься в тригліцерідах льняної олії, до 55 % – перилової. Арахідоноva кислота є складовою частиною олій та бобових рослин.

Вітамін F надходить в організм у складі жирів корму. Перетравлювання і всмоктування його таке ж, як і інших жирів. Відкладається він у печінці, а потім із кров’ю надходить у різні тканини і клітини.

Біологічна активність вітаміну F пов'язана з наявністю в його молекулі подвійних зв'язків. Він бере участь в обміні ліпідів, посилює ліпотропний вплив холіну, сприяє виділенню надлишку холестеролу з організму, утворюючи з ним розчинні стериди. Стінки кровоносних і лімфатичних судин після видалення холестеролу набувають еластичності і стійкості.

За нестачі вітаміну F у коней, кіз і собак розвивається атеросклероз – захворювання, що характеризується дифузним ущільненням стінок артерій (гіаліноз). Гіаліноз інтіми судин переходить у фіброз, який розвивається внаслідок вікового або патологічного відкладання в інтімі артерій ліпідів, зокрема холестеролу і його естерів, з наступним розростанням сполучної тканини, утворенням атероматозних бляшок, які складаються із фіброзно-ліпідного і білкового матеріалу, глибок вапна, крапель нейтрального жиру та клітинних інфільтратів. Ліпіди в стінках артерій знаходяться як у нерозчинній (кристиали холестеролу, ліпопротеїни), так і у розчинній (ефіри холестеролу, фосфоліпіди) формах. Жирова дистрофія (атероматоз) у подальшому переходить у гіалінову (гіаліноз). Наслідком атеросклерозу можуть бути зватнування атероматозної маси, утворення атероматозних виразок, аневризм артерій на місці виразки та її розрив. Найбільш виражені зміни в гемодинаміці настають при склерозі аорти, артерій серця і головного мозку. Внаслідок розриву стінок судин можлива раптова загибель тварин, а при розриві дрібних судин виникають крововиливи в мозок із розвитком парезів і паралічів.

Коензим Q (убіхінон)

Коензим Q (кофермент Q, KoQ) належить до досить поширених коферментів. Саме цим і пояснюється його інша назва – “убіхінон”, тобто “всюдисуший хіон”. Він виявлений у клітинах рослин, тварин і в мікроорганізмах. Усередині клітин убіхінон локалізується, очевидно, виключно в мітохондріях. На сьогодні доведена основна – коферментна роль KoQ. Він є обов'язковим компонентом дихального ланцюга, оскільки забезпечує в мітохондріях перенесення електронів від мембраних дегідрогеназ, зокрема НАДН-дегідрогенази дихального ланцюга, СДГ і т.д., на цитохроми.

Таким чином, якщо нікотинамідні коферменти беруть участь у транспорті електронів і водню між водорозчинними ферментами, то KoQ, який розчиняється в жирах, виконує таке перенесення в гідрофобній мітохондріальній мембрani.

KoQ може синтезуватися в організмі людей, тому його не відносять до класичних вітамінів. Проте при деяких патологічних процесах

він стає незамінним фактором. Так, при анемії, спричиненій дефіцитом білка в раціоні, лікувальний ефект вітамінів В₁₂, В_с та інших засобів значно нижчий, порівняно з препаратами КоQ. Убіхіон є ефективним також при м'язовій дистрофії і серцевій недостатності.

Інозит (інозитол)

Інозит, або ж інозитол – це кристалічна речовина, що міститься в зародках пшеници, печінці, м'ясі, яйцях, рибі, молоці, овочах і фруктах. Фізіологічна дія його вивчена недостатньо. Вона, очевидно, зв'язана з обміном фосфогліцеролів. Доведена також чітко виражена ліпотропна дія інозитолу: він гальмує розвиток жирової гепатодистрофії. При нестачі токоферолу інозит, імовірно, певною мірою попереджує розвиток енцефаломалії та ексудативного діатезу в птиці. При нестачі інозиту зупиняється ріст, розвиваються дерматити, облісіння, припиняється ріст шерсті, а у птиці – пір'я.

Вітамін В₁₃

Вітамін В₁₃ (оротова кислота) був виділений із молозива. Цим вітаміном багаті дріжджі, печінка, молоко. В організм тварин він надходить із кормами і синтезується мікрофлорою, всмоктується у тонкій кишці і використовується тканинами для синтезу піримідинових нуклеотидів (зокрема, уридин-5-фосфату), а вони – для синтезу нуклеїнових кислот.

Вітамін В₁₅

Вітамін В₁₅ (пангамова кислота) уперше був виявлений у 1950 р. в тканинах печінки бика, а пізніше виділений із насіння багатьох рослин, звідки й пішла його назва (від грец. *pan* – весь, все, *gami* – насіння).

Біологічна роль цього вітаміну вивчена недостатньо. Вітамін В₁₅ є джерелом метильних груп, які використовуються в синтезі холіну, метіоніну, катехоламінів, стероїдних гормонів і креатину, сприяє утворенню АТФ і креатинфосфату, поліпшує перебіг процесів біосинтезу білків, нуклеїнових кислот та глікогену. Крім того, пангамова кислота активує дихальні ферменти тканин, зокрема сукцинатдегідрогеназу, і цим сприяє збереженню функцій тканин в умовах гіпоксії.

Парааміnobензойна кислота (ПАБК)

Вітамінні властивості парааміnobензойної кислоти зв'язані, очевидно, з тим, що вона входить до складу молекули фолієвої кислоти. Парааміnobензойна кислота необхідна для нормального процесу пігментації волосся, шерсті, пір'я і шкіри. Вона активує дію тиро-

зинази – основного ферменту в біосинтезі меланіну шкіри, який визначає її забарвлення.

ПАБК бере участь у біосинтезі ДНК та РНК і впливає на обмін біогенних амінів, оскільки вона входить до складу фолієвої та фолінової кислот. Крім того, ПАБК необхідна для різних бактерій як фактор росту, тому в медицині і ветеринарії широко використовуються її структурні аналоги, зокрема сульфаніламіди, які конкурентно заміщають ПАБК у ферментних системах мікроорганізмів з наступним призупиненням їх росту і розмноження.

S-метилметіонін (вітамін U)

Вітамін U вперше був виявлений у 1950 р. в сиріх овочах, молоці та печінці. За своєю хімічною природою він є S-метилметіоніном. Метіонін є донором метильної групи, яка використовується в синтезі різноманітних біологічно активних сполук – креатину, адреналіну, холіну, полінуклеїнових кислот. У зв'язку з цим метіонін повинен синтезуватися відповідними ферментними системами. Однією з таких активних форм є S-аденозилметіонін, який утворюється в організмі ендогенно. У рослинах виявлена інша активна форма метіоніну – метилметіонін (S-MM).

Відкриття в рослинах активної форми метіоніну – метилметіоніну (S-MM) – пов'язане із спостереженнями над лікувальною дією соку капусти та інших овочів при виразковій хворобі шлунка і дванадцятирічної кишки. Звідси походить і назва вітаміну U (*ulcer* – виразка). Експериментально доведено, що вітамін U затримує відкладання холестеролу на стінках кровоносних судин і сприяє видаленню його надлишку з організму, чим попереджує розвиток склерозу, сприятливо впливає на перебіг хвороб печінки, має ліпотропний ефект. У 1972 р. метилметіонін був синтезований у вигляді хлоридної солі – S-метилметіонін-сульфонію хлориду. Пізніше були синтезовані й інші похідні метилметіоніну – вітамін U-оротат, вітамін U-фолат і вітамін U-оротат калію.

Препарати метилметіоніну успішно застосовуються для профілактики і лікування виразкової хвороби шлунка в поросят (Телепнєв В.А., 1985), оскільки вони позитивно впливають на регенерацію епітелію слизової оболонки.

Розділ 9

КЛІНІЧНА ФЕРМЕНТОЛОГІЯ

Ферменти (ензими) (від лат. *fermentum* – закваска) – це високомолекулярні органічні сполуки білкової природи, які виконують в організмі роль біологічних каталізаторів. Ферменти беруть участь у травленні та засвоєнні поживних речовин, побудові структурних та функціональних компонентів тканин і рідин організму, рості та відтворенні, згортанні крові й багатьох інших біологічних процесах. Ензими розташовані переважно всередині клітин, за винятком травних і тих, які виконують специфічні функції у крові та інших біологічних рідинах.

Клінічна ферментологія – це розділ клінічної біохімії, що вивчає патогенез різних хвороб на молекулярному рівні (*ферментопатії*), ранню діагностику захворювань (*ферментодіагностика*), використання ферментів з лікувальною метою (*ферментотерапія*).

ФЕРМЕНТОПАТИЯ

Ферментопатія – це дезорганізація ферментної системи, що виникає при різних патологіях організму. Ферментопатія поділяється на первинну і вторинну. Первинна (спадкова) є наслідком спадкової відсутності, дефіциту чи аномалії ферментів і проявляється різними хворобами обміну речовин. Спадкова ферментопатія виникає в результаті змін у генетичному коді при синтезі ферментів і є наслідком мутацій. При ферментопатії активність ензимів може бути відсутня, знижена або підвищена. Інколи виявляються патологічні ферменти, активність яких у здоровому організмі не спостерігається.

Залежно від величини порушень, первинна ферментопатія може проявлятися клінічними симптомами або бути безсимптомною. Безсимптомна не виявляється клінічно, а лише за допомогою лабораторних досліджень. Прикладом безсимптомної ферментопатії може бути доброкісна фруктозурія, ниркова глюкозурія, пентозурія, аміноацидурія, капропорфірія. Клінічна ферментопатія протікає із типовими симптомами (порфірія, глікогенова хвороба, галактоземія, доброкісна гіперблірубінемія).

Вторинна (набута) ферментопатія розвивається внаслідок дії на організм різних патологічних факторів (бактерій, вірусів, грибів, отрут та ін.), які викликають розлад ферментативних систем, змінюють обмінні процеси і спричиняють захворювання. Отрути, що надходять в організм, або ендотоксини, що утворюються в ньому при різних патологічних станах, спричиняють ферментативну дезорганізацію. Так, аміак, який накопичується в організмі тварин при патології печінки, гальмує активність ферментів, що беруть участь у циклі трикарбонових кислот, разом з іншими ендотоксинами викликає деструкцію клітин життєво важливих систем і розвиток вторинної ферментопатії. Ціаніди блокують ферменти тканинного дихання, фосфорноорганічні сполуки пригнічують дію холінестераз та інших ферментів, які беруть участь в обмінних процесах. Набута ферментопатія виникає при ендокринних і алергічних хворобах, гіповітамінозах, дефіциті мінеральних речовин та незамінних амінокислот, порушенні кислотно-основного співвідношення в організмі. При цукровому діабеті виникає цілий ряд різновидів ферментопатії, що характеризуються блокуванням ферментів, які стимулюють окиснення глукози, проте активуються ферменти, які беруть участь у глюконеогенезі, ліполізі, розпаді структурних білків.

Розвиток алергічної реакції в організмі спричиняє ферментопатію, що призводить до порушення обміну речовин та руйнування клітин.

Вітаміни, мінеральні речовини та амінокислоти беруть участь у синтезі і є структурною частиною ферментів, тому їх дефіцит часто призводить до розвитку набутої ферментопатії. Так, недостатнє надходження в організм вітамінів А, Е та селену веде до накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів, які інактивують ферменти, у тому числі дихальні. Виникає гіпоксія, порушується обмін речовин, а це сприяє відкладенню жирів у цитоплазмі та деструкції клітин. Вітаміни групи В є структурною одиницею багатьох ферментних систем. Наприклад, дефіцит вітаміну В₂ негативно впливає на трофічні функції флавінових ферментів, що спричиняє порушення обміну вуглеводів, амінокислот, жирних кислот, призводить до розвитку шкірної патології, затримки росту і загибелі.

Магній входить до складу фосфотрансфераз. Він є незамінним для функціонування дихальних ферментів, а також ферментних систем, що забезпечують обмін нуклеїнових кислот. Дефіцит Mg⁺⁺ зумовлює порушення функції ферментів пентозного циклу, коферменту А і ряду ензимів циклу трикарбонових кислот.

Мідь виступає в якості активатора та складової частини активного центру ферментів (галактозоксидази, оксигеназ, гідроксилаз, оксидаз). При дефіциті мідевмісного ферменту тирозинази блокується утворення пігменту меланіну і розвивається альбінізм.

Цинк необхідний для функціонування більш ніж 70 ферментів, зокрема дипептидази, лужної фосфатази, карбоангідрази, лактатдегідрогенази, глутаматдегідрогенази. Кобальт виступає в ролі як активатора, так і інгібітора ряду ферментів. Марганець бере участь у ферментативних процесах, входить до складу металозалежних ферментів, регулює деякі реакції у циклі трикарбонових кислот.

Різного характеру патологічні ураження життєво важливих органів та систем є основною причиною набутої ферментопатії. У печінці, серці, мозку та інших органах утворюються та беруть участь у різних обмінних процесах багато ферментів, тому їх ураження завжди спричиняє ферментопатію. Синтез і функціонування ферментів відбувається лише при достатньому надходженні їх складових (амінокислоти, мінеральні речовини, вітаміни), у збалансованому кислотно-лужному середовищі та нормальній температурі тіла.

ФЕРМЕНТОДІАГНОСТИКА

Ферментодіагностика – це дослідження активності ферментів у біологічних субстратах (сироватка та плазма крові, сеча, слина, ліквор, шлунковий та кишковий сік, кал, тканини органів і систем та інші) з метою постановки діагнозу. Ензимодіагностика є одним із найважливіших і об'ємних розділів клінічної ферментології. Основні завдання ферментодіагностики – це дослідження активності ферментів для ранньої постановки діагнозу, контролю за перебігом лікувального процесу, визначення прогнозу хвороби. Найчастіше активність ферментів досліджують у сироватці або плазмі крові. У них виділяють три групи ферментів: *клітинні, секреторні, екскреторні*. Клітинні ензими потрапляють у кров внаслідок відмирання клітин, підвищення проникності клітинних мембрани. Залежно від локалізації в органах і тканинах, клітинні ферменти діляться на дві групи: *органоспецифічні* та *неспецифічні*. Органоспецифічні (індикаторні) містяться лише в одному органі, а неспецифічні – у багатьох органах і системах. До індикаторних ензимів належать, зокрема, аргіназа, сорбітолдегідрогеназа (СДГ), які локалізуються у печінці, а до неспецифічних – лактатдегідрогеназа (ЛДГ), яка міститься у клітинах різних органів і систем організму. Інколи ферменти складаються із кількох ізоферментів. Це є різновиди ферменту, які

мають одну й ту саму субстратну специфічність, але різняться між собою деякими фізичними, хімічними, каталітичними та імунологічними властивостями. Ізоферменти локалізуються в різних органах. Так, ЛДГ має п'ять ізоферментів, кожний з яких розміщений у клітинах лише одного органа чи системи і при їх ураженні збільшує свою активність у сироватці крові.

Екскреторні ферменти виділяються залозами (слизова оболонка кишок, підшлункова залоза, ендотелій жовчовивідних шляхів та ін.) для участі у травленні або засвоєнні поживних речовин із шлунково-кишкового каналу. Зростання їх активності в крові пояснюється фізіологічним (відмиряння) або патологічним (руйнування) розпадом клітин, у яких синтезуються екскреторні ензими. Так, із підшлункової залози надходять амілаза, ліпаза та трипсин, із кишечнику – ентеро-кіназа, із жовчних протоків – лужна фосфатаза (ЛФ), гамма-глутамілтрансфераза (ГГТ).

Секреторні ферменти виділяються із клітин у кров для виконання специфічних функцій. До них належать ферменти згортання системи крові та фібринолізу, церулоплазмін, ліпопротеїнліпаза, холінестераза, які синтезуються клітинами печінки і надходять у кров для участі у відповідних обмінних процесах. При ураженні клітин секреція ензимів зменшується і активність їх у крові знижується.

Зміни активності ферментів у біологічних субстратах, які виходять за межі фізіологічних коливань, є показовими для діагностики захворювань різних органів і систем організму. При патології спостерігають три види змін активності ензимів у крові: підвищення (гіперферментемія), зниження (гіпоферментемія) та дисферментемія.

Гіперферментемія – це зростання активності ензимів у сироватці (плазмі) крові. Вона характерна для ферментів клітинного та екскреторного походження. Механізм зростання активності ферментів у сироватці (плазмі) крові чи іншій біологічній рідині пояснюється виходом (елімінацією) ензиму із пошкоджених клітин, збільшенням проникності клітинних мембрани, порушенням метаболічних процесів і посиленим синтезом ферментів у клітинах, підвищенням каталітичної активності ферментів. Ступінь та тривалість гіперферментемії залежать від активності ензиму в клітинах, його молекулярної маси, розташування (цитоплазма, ядро, органели), швидкості інактивації та виведення, характеру, ступеня та глибини пошкодження, величини (маси) органа.

Дисферментемія характеризується появою в сироватці (плазмі) крові ензимів, активність яких не виявляється у здоровому організмі.

Механізм розвитку дисферментемії такий, як і гіперферментемії. Прикладом дисферментемії є гепатоспецифічні ензими – сорбітолдегідрогеназа та фруктозомонофосфатальдолаза (ФМФА), які відсутні у сироватці (плазмі) крові більшості тварин, але зростають (виявляються) при захворюваннях печінки.

Гіпоферментемія – це зниження активності ензимів у сироватці (плазмі) крові. Вона характерна для секреторних ферментів, коли їх синтез у клітинах порушений і активність у крові знижується. Наприклад, зниження у крові ферментів згортуючої системи крові, фібринолізу, холінестерази спостерігається при ураженні клітин печінки, де вони утворюються.

Індикаторні ферменти та їх роль при діагностиці захворювань окремих органів

Печінка – один із основних органів обміну речовин і травлення, тому найбільш насичена ферментами. У цитоплазмі та органелах печінкових клітин знаходиться більше тисячі різних ферментів. Розміщення їх у субклітинних утвореннях допомагає визначити ступінь деструкції органа без застосування морфологічних досліджень тканин. Так, у цитоплазмі паренхіматозних клітин (гепатоцитів) локалізуються АЛТ, СДГ, ізофермент АСТ, у рибосомах – холінестераза, церулоплазмін, у стінках жовчних протоків – ГТГ, ЛФ, лейцинамінопептидаза (ЛАП). Дослідження активності ферментів у сироватці (плазмі) крові набуває дедалі більшого значення при патології печінки ще й тому, що зміна їх активності настає швидше, ніж інших лабораторних показників. Тому передумовою своєчасного та успішного лікування і профілактики хвороб печінки є рання ензимодіагностика. Вихід (елімінація) ферментів із печінки у кров є ознакою цитолізу – руйнування клітин або порушення проникності їхніх мембрани. При аналізі змін активності ензимів важливо визначити місце елімінації. Для цього необхідно знати їхню активність у сироватці крові та клітинах здорових тварин, внутрішньоклітинну локалізацію і метаболізм.

Із гепатоспецифічних (органоспецифічних) ферментів для діагностики хвороб печінки у сироватці крові тварин визначають активність СДГ, аргінази, орнітінкарбамоїлтрансферази (ОКТ), ФМФА, печінковий ізофермент ЛДГ (ЛДГ₅). Зростання активності органоспецифічних ензимів у сироватці крові є патогномонічним показником цитолітичного синдрому ураження печінки, оскільки вони розміщуються лише в гепатоцитах і при їхній деструкції елімінують у кров.

До відносно специфічних (для печінки) ферментів відносять ГЛДГ, ГГТ, малатдегідрогеназу (МДГ), ізоцитратдегідрогеназу (ІЦДГ), лейцинамінопептидазу (ЛАП), 5-нуклеотидазу, урокайназу та ін. Крім клітин печінки, вони можуть локалізуватися і в іншому органі.

У печінці знаходиться велика кількість неспецифічних ферментів (АСТ, АЛТ, альдолаза, ЛДГ, холінестераза, ЛФ та ін.), які розміщуються також у клітинах інших тканин організму. Тому використовувати їх у діагностиці хвороб печінки слід одночасно із гепатоспецифічними або відносно специфічними ферментами чи іншими показниками й обов'язково враховувати симптоми, які отримані при клінічному дослідженні хворої тварини.

Із неспецифічних ензимів найбільш важливе значення для лабораторної діагностики хвороб печінки відіграють АСТ і АЛТ, тому їх часто, як і специфічні та відносно специфічні, називають *індикаторними* (Влізло В.В., 1998; Левченко В.І., Сахнюк В.В., 2000). Наприклад, для діагностики дистрофії печінки у великої та дрібної рогатої худоби, коней та свиней у сироватці крові визначають активність АСТ, а у собак і котів – АСТ і АЛТ. Інші неспецифічні ферменти є малоочутливими і не несуть додаткової інформації про стан патології, тому визначення їх активності одночасно з АСТ чи АЛТ не є показовим.

Для з'ясування характеру патологічного процесу в печінці та ступеня її ураження визначають кілька ферментів, які локалізуються в різних функціональних клітинах і органелах, а тому дають більш повну інформацію про хворобу. При аналізі цитолізу враховують біологічні та хімічні особливості самих ензимів, ступінь їх активності у клітинах печінки. СДГ має відносно невелику активність у гепатоцитах. Тому в крові здорових тварин активність ферменту є низькою або відсутньою. Збільшення активності СДГ у крові реєструється лише при значному ураженні паренхіми. Активність АСТ, АЛТ, ЛДГ є досить високою у клітинах печінки, тому навіть незначне їх пошкодження спричиняє зростання активності згаданих ензимів у крові. Ферменти, які локалізуються у цитоплазмі, легко проникають через клітинну мембрани, а ті, що містяться в органелах, елімінуються у кров повільніше. При жировій дистрофії печінки в корів уже на ранній стадії хвороби зростає активність АСТ і ГЛДГ. Гіперферментемія настає швидше, ніж зміна інших біохімічних показників (білірубіну, альбуміну, колоїдно-осадових проб), хоча АСТ локалізована частково, а ГЛДГ – повністю в мітохондріях. Висока чутливість мітохондріального ферменту ГЛДГ при жировій дистрофії печінки пояснюється

тим, що мітохондрії гепатоцитів беруть основну участь в утилізації вільних жирних кислот, які накопичуються при даній патології. Таким чином виникає функціональне перевантаження та кількісне перевопнення мітохондрій нейтральними жирами, які утворюються із жирних кислот і гліцеролу, порушується структура органів і настає елімінація ензиму в крові.

При гострих запальних процесах у печінці активність ферментів швидко і значно зростає, а при переході у хронічну стадію вона дещо зменшується, але не повертається до фізіологічних меж. Найбільш показовим при гепатитах є зростання активності АСТ, АЛТ, ізоферменту ЛДГ₅, МДГ.

При розвитку холестазу, закупорці та ураженні жовчних протоків у сироватці крові тварин зростає активність ЛФ, 5-нуклеотидази, ГГТ, ЛАП. Якщо зростає активність ЛФ, то це свідчить про патологію позапечінкових (екстрагепатичних) жовчних протоків, а коли зростає ГГТ – внутрішньопечінкових (інтрагепатичних). Отже, якщо розвивається механічна жовтяниця, то згадані ензими можуть давати більшу інформацію про патологічний процес, ніж кон'югований білірубін, оскільки вказують на локалізацію ураження.

Незначне зростання активності індикаторних (для печінки) цитолітичних ензимів, і навіть відсутність гіперферментемії одночасно з глибокими порушеннями функцій печінки, є наслідком заміни паренхіматозних клітин сполучною тканиною, що є ознакою цирозу і несприятливого прогнозу. Такі зміни показників встановлені при стахіоботріотоксикозі та амілоїдозі печінки у коней (Головаха В.І., 2001) і можуть спостерігатися при значному некрозі печінки. Це пояснюється тим, що відмерлі клітини не продукують ферментів.

У клітинах серцевого та скелетних м'язів містяться креатиніназа (КК), АСТ, АЛТ, ЛДГ, МДГ, ІЦДГ, альдолаза. Особливо чутливими при ураженні м'язових волокон серця та скелетних м'язів є КК, АСТ та ЛДГ₁. Про тяжкі структурні зміни у серцевому м'язі свідчить висока та тривала активність у сироватці крові серцевих ізоферментів: АСТ, ЛДГ₁, КК (Левченко В.І., Сахнюк В.В., 2000). Найбільш інформативним і специфічним є ЛДГ₁. Її можна використовувати для диференційної діагностики органічних та функціональних порушень серця. Збільшення активності ЛДГ₁ у сироватці крові спостерігається при інфаркті міокарда, дистрофічних процесах у серцевому м'язі, але гіперферментемія відсутня при стенокардії, перикардиті, застійних явищах. Для ранньої діагностики інфаркту міокарда показовою є висока активність у сироватці крові КК та АСТ.

Із органів виділення в сироватку крові надходять такі ферменти, як урокіназа, АСТ, АЛТ, альдолаза, ЛАП, ЛДГ, МДГ, ГГТ, ЛФ, КФ та ін. Дослідження активності цих ензимів у сироватці крові не має діагностичного значення при патології нирок, сечовивідних протоків та сечового міхура. Інформативним є визначення активності ферментів у сечі. При хворобах нирок і сечових шляхів у сечі зростає активність ГГТ, ЛАП, бета-глюкуронідази, гліцинамінотрансферази. Досліджуючи ферменти в сечі, слід пам'ятати, що їх активність відрізняється від визначеної у сироватці крові. Так, якщо активність ГГТ у сироватці крові складає від 7 до 15 од/л, то у сечі – від 0 до 5 од/л. Необхідно також враховувати і деякі особливості при проведенні аналізів сечі.

Центральна нервова система багата на ферменти. Із її клітин у кров надходять церулоплазмін, карбоангідраза, холінестераза, ацетилхолінестераза, КК, ЛДГ, МДГ, АСТ, АЛТ, альдолаза та ін. Однак дослідження їх активності у сироватці крові не є показовим для хвороб центральної нервової системи. Найбільш інформативним є визначення активності ферментів у лікворі. Є три джерела надходження ензимів у спинномозкову рідину: кров, клітини ліквору та мозкова тканина. Але основним джерелом є мозкова тканина, оскільки активність ферментів у її клітинах у 100 разів вища, ніж у лікворі. У нормальному стані ензими розміщені всередині нейронів і залишають їх лише у мінімальній кількості. У спинномозковій рідині здорових корів активність КК та ЛФ становить лише 1–4 од/л і 1–6 од/л відповідно. Деструкція клітин мозку спричиняє швидку елімінацію у спинномозкову рідину КК, ЛФ, ЛДГ, АСТ, церулоплазміну. У клітинах паренхіми мозку КК має дуже високу активність у цитоплазмі нейронів. Тому вже при незначному ураженні клітин мозку відбувається елімінація ензиму в ліквор. ЛФ міститься у клітинних мембранах нейронів, і підвищення її активності є наслідком значних пошкоджень мозку.

При діагностиці захворювань опорно-рухового апарату в сироватці крові досліджують лужну (ЛФ) і кислу (КФ) фосфатази, гіалуронідазу, арилсульфатазу, альфа- і бета-глюкозидазу, бета-глюкуронідазу. Інформативним тестом ураження кісткової тканини є дослідження в сироватці крові та синовіальний рідині кісткового ізоферменту (термолабільного) ЛФ. Визначення активності ЛФ у синовіальній рідині дає можливість виявляти розвиток рапіту в промальний період (Левченко В.И., Тихонюк Л.А., 1982). При асептичних ураженнях суглобів активність ЛФ у синовії може зростати у 3–10 разів. У великої рогатої худоби, крім ЛФ, дослідження інших ферментів у синовіальній рідині не має діагностичного значення.

Клінічна інтерпретація змін активності індикаторних ферментів

Аспарагінова трансфераза (аспартатамінотрансфераза, АСТ) та аланінова трансфераза (аланінамінотрансфераза, АЛТ) локалізуються у клітинах більшості органів і систем. Вони переносять аміногрупи від аспарагінової кислоти (АСТ) та аланіну (АЛТ) на альфа-кетоглутарову кислоту. Трансамінази не є специфічними для окремих органів, тому необхідно визначити точне місце елімінації ферменту в крові. При цьому враховують симптоми хвороби, а також визначають хоч би один органоспецифічний чи відносно специфічний ензим і типові показники, які застосовуються при діагностиці окремого органа або системи. Активність трансаміназ у сироватці крові здорових тварин показана у додатку В. Обидва ферменти локалізуються в цитоплазмі клітин (АСТ також у мітохондріях), тому навіть при незначному пошкодженні тканин збільшують свою активність у сироватці (плазмі) крові.

Отже, вони є досить чутливими при різних патологіях в організмі. Дослідження активності АСТ та АЛТ у сироватці крові використовують для діагностики хвороб печінки (гепатиту, гепатозу та ін.). Для великої та дрібної рогатої худоби і коней показовими є дослідження активності АСТ у сироватці крові, а для свиней, собак і котів – АЛТ і АСТ. Це пояснюється ступенем активності вказаних ензимів у гепатоцитах тварин різних видів. АСТ має високу активність у клітинах великих тварин, а АЛТ – дрібних. Трансамінази є досить чутливими та інформативними показниками ураження печінки. Найвища активність трансаміназ у крові спостерігається при розвитку некрозу печінки і гострому паренхіматозному гепатиті, дещо нижча – при хронічному гепатиті та дистрофії. Зростання активності АСТ і АЛТ у сироватці крові починається за 3–8 днів до появи клінічних ознак захворювання і досягає максимуму в перші дні розвитку патологічного процесу. При розвитку жирової дистрофії печінки у корів зростання активності АСТ виникає вже при ультрамікроскопічних змінах органа, коли активність інших ферментів ще мало змінюється. Гіперферментемія залежить від кількості відкладеного жиру в паренхімі. Активність АСТ у крові корів, хворих на жировий гепатоз, збільшується у 5–10 разів. На високу діагностичну цінність ензimu при гепатодистрофі вказує високий корелятивний зв'язок й з ГЛДГ (Влізло В.В., 1997). Активність АСТ і АЛТ зростає у свиней, хворих на токсичну гепатодистрофію (Сенько А.В., 2000), та у собак при аліментарній і токсичній гепатодистрофії (Дикий О.А., 2000; Соловйова Л.М., 2002).

Причому, в усіх випадках більш інтенсивно зростає активність АЛТ, тому співвідношення АСТ до АЛТ зменшується. Для виключення або підтвердження наявності патології у м'язах скелета та серця, де трансамінази мають високу активність, одночасно досліджують КК, яка є специфічним показником ураження м'язових волокон. Зростання активності трансаміназ і КК вказує на ураження серця або м'язів скелета.

При діагностиці захворювань печінки в людей запропоновано визначати коефіцієнт Де Рітіса, що показує співвідношення активності АСТ до АЛТ (у нормі коефіцієнт Де Рітіса складає 1,33). У тварин із високою активністю АСТ він малоінформативний, а у собак і котів, подібно до людей, зростання коефіцієнта де Рітіса свідчить про тяжкі ураження гепатоцитів, оскільки це є ознакою збільшення активності мітохондріальної фракції АСТ.

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) каталізує реакцію перетворення піровиноградної кислоти у молочну за участі NAD⁺. ЛДГ розміщується в основному в цитоплазмі клітин різних тканей організму. Фермент складається з п'яти ізоформ (ЛДГ₁–ЛДГ₅). окремі ізоферменти локалізуються у відповідних органах, що й визначає їхню специфічність. Аналіз активності загальної ЛДГ не має діагностичного значення, адже не відомо, за рахунок якої ізоформи вона зростає і де знаходиться патологічний процес. У сироватці крові тварин різних видів активність загальної ЛДГ є дуже високою (додаток В).

Визначення окремих ізоферментів ЛДГ є показовим для діагностики. ЛДГ₁ та ЛДГ₂ локалізуються в серцевому м'язі. Зростання активності цих ізоферментів у сироватці крові вказує на пошкодження колітин, де вони розміщаються. Висока активність ЛДГ₄ та ЛДГ₅ є ознакою ураження скелетних м'язів і печінки. У легенях і селезінці в однаковій кількості містяться всі ізоферменти, тому при їх захворюванні (пневмонії, лейкозі) зростає активність загальної ЛДГ у крові.

Для лабораторної діагностики виготовляються набори тестів для визначення двох окремих ізоферментів: термостабільної ЛДГ, яка є міокардіоспецифічною, і термолабільної ЛДГ – гепатоспецифічної. Це спрощує та прискорює дослідження, оскільки визначення окремих фракцій проводять шляхом електрофорезу на гельових пластинках.

Лужна фосфатаза (ЛФ) активує розщеплення фосфорно-органічних сполук. Фермент розміщується в клітинах у зв'язаному з плазматичними мембраними стані, тому разом із ГГТ, ЛАП, 5-нуклеатидазою належить до мембранозв'язаних. ЛФ складається із різних ізоферментів, які локалізуються переважно в епітелії жовчови-

відніх шляхів, плазматичних мембраних гепатоцитів і нейронів, кістках, кишечнику, плаценті, нирках. Визначення активності різних фракцій можливе шляхом електрофорезу досліджуваного субстрату. Проте, ізоферменти ЛФ не мають чіткої органної специфічності, а електрофоретична методика є складною. Тому для спрощення досліджень використовують методику, яка ґрунтується на різній чутливості ізоферментів до тепла. Кишкова ЛФ складає термостабільну фракцію, а ізоферменти із печінки та кісткової тканини – термолабільну. Найбільш чутлива до нагрівання кісткова фосфатаза.

Надходження ферменту з різних тканин у кров залежить від віку та фізіологічного стану (тільність, роди, інтенсивність лактації). Висока активність ЛФ у крові молодняку пояснюється інтенсивним функціонуванням остеобластів у кістковій тканині, що зумовлене процесами активного росту організму. У цей період активність ферменту в крові зростає за рахунок кісткового ізоферменту. У другій половині вагітності та під час родів активне зростання та руйнування плаценти спричиняють збільшення плацентарного ізоферменту.

Підвищення активності ЛФ у сироватці крові найчастіше реєструється при патології печінки та кісткової тканини. Ураження паренхіми печінки викликає незначне зростання активності ферменту в сироватці крові, оскільки ЛФ міцно зв'язана з клітинними мембраними. У клінічній гепатології печінковий ізофермент є показовим для діагностики холестазу. Це пов'язано з підвищеним синтезом ЛФ клітинами жовчних протоків і порушенням виділення ензиму в жовч. Особливо високою є гіперферментемія при розвитку патологічного процесу та стазу жовчі в позапечінкових жовчних протоках. Тоді активність ензиму в сироватці крові зростає у десятки разів. При пошкодженні внутрішньопечінкових жовчних шляхів та інтрагепатитному холестазі активність ЛФ у крові збільшується лише у 2–3 рази.

При патології кісткової тканини, коли має місце підвищена діяльність остеокластів, під час розвитку рапіту, остеодистрофії, гіперпатиреоїдизму у крові зростає активність кісткового ізоферменту ЛФ. У цих випадках активність загальної ЛФ у сироватці крові збільшується у 3–10 разів. Для ранньої діагностики рапіту та остеодистрофії специфічним є зростання активності фосфатази у синовіальній рідині. Збільшення активності ЛФ у лікворі є ознакою ураження мембрани нейронів, де вона локалізується.

Гаммаглутамілтрансфераза (ГГТ, ГГТФ, γ -ГФ, гамма-глутамілтранспептидаза – ГГТП) каталізує перенесення глутамілового залишку та гаммаглутамілпептиду на акцепторний пептид чи на альфа-

амінокислоту. Фермент має найвищу активність у нирках, печінці, особливо в клітинах, які формують ниркові канальці та жовчні протоки, а також у підшлунковій залозі. Зростання активності ГГТ у сироватці крові свідчить про патологічні процеси в гепатобіліарній системі, а підвищення його активності в сечі – про ураження нирок. При панкреатитах активність ферменту в крові зростає незначно. Гіперферментемія є раннім і надійним тестом інтрахепатитного стазу жовчі, пошкодження канікулярних мембрани гепатоцитів біля біліарного полюса та епітеліальних клітин, які вистилають просвіт жовчних протоків. Мікроскопічні дослідження біоптатів печінки показують, що локалізація патологічного процесу впливає на рівень активності ГГТ. Якщо ураження виявляють у клітинах паренхіми, то активність ензиму зростає незначною мірою (13,0–40,0 од/л). При холестазі та пошкодженні внутрішньопечінкових жовчних протоків спостерігається яскраво виражена гіперферментемія (50,0–110,0 од/л), а при значних патологічних процесах у біліарній системі (холангіт, перихолангіт, холестаз, фасціольоз, дикроцеліоз) активність ферменту досягає понад 500,0 од/л. Отже, ГГТ є найчутливішим тестом порушення жовчовиділення в печінці, який не лише діагностує, а й попереджає про початок ураження та прогнозує його глибину.

У новонароджених телят після двох–трьох напувань молозивом активність ГГТ у сироватці крові підвищувалася у 15–30 разів. Очевидно, у телят зменшується виділення жовчі, розвивається холестаз, який є фізіологічним. У лошат активність ферменту у 1,5–3 рази вища, ніж у дорослих коней, проте гіперферментемії після споживання молозива у них не спостерігається (Головаха В.І., 2002).

Підвищення активності ГГТ у крові настає при токсичному впливі лікарських препаратів (барбітурати, антикоагулянти, протиревматичні, глюкокортикоїди, анаболічні стероїди, наркотики, антибіотики та ін.). У коней збільшення активності ГГТ у сироватці крові встановлено при асоційованому перебігу інфекційного енцефаломіеліту і лептоспірозу, алкалоїдомікотоксикозі та стахіботріотоксикозі (Головаха В.І., 2001).

Структурні зміни в нирковій тканині, особливо в ниркових канальцях, спричиняють елімінацію ГГТ у сечу. Активність ферменту в сечі здорових корів коливається від 0 до 5 од/л, при ураженні нирок вона зростає у кілька разів, а коли пошкоджується ниркові канальці, – у десятки разів.

Глутаматдегідрогеназа (ГЛДГ, ГДГ) перетворює альфа-кетоглутарову кислоту в глутамінову. ГЛДГ локалізована в основному в мі-

тохондріях клітин печінки. Активність ферменту в сироватці крові є незначною. Зростання активності ГЛДГ у крові тварин свідчить про порушення структури і лізис мітохондрій гепатоцитів.

Ензим є досить чутливим тестом діагностики жирової дистрофії печінки у корів. Вже при слабкому ступені жирового гепатозу активність ГЛДГ у сироватці крові зростає у 5 разів, при середньому у 5–10, при важкому – у 10–20. Можливо, це пов’язано з тим, що мітохондрії беруть основну участь у метаболізмі вільних жирних кислот і швидко уражуються при функціональному перевантаженні та переволненні ліпідами.

У зоні, яка прилягає до центральної вени печінкової частки, під дією різних гідростатичних коливань чи гострої аноксії (гідростатичний та гіпоксичний цитоліз) настає швидке ураження мітохондрій гепатоцитів і активність ГЛДГ зростає. Гіперферментемія може спостерігатися також при гострому закупоренні загального жовчного протоку, коли виникає жовчна гіпертензія.

Креатиніназа (КК) каталізує зворотну реакцію фосфорилування креатину. КК розміщується в м’язах скелета (90%) та серця (2%) і мозковій тканині (8%). Фермент є високоспецифічним тестом пошкодження м’язових волокон скелета та серця, коли його досліджувати у крові (сироватка, плазма), і мозку – при дослідженні у спинномозковій рідині (лікворі). Значна гіперферментемія (500–5500 од/л) спостерігається у хворих на м’язову дистрофію, при міозіті, ішемії, травматичному пошкодженні та метаболічному порушення в м’язах, залежуванні, фізичному перевантаженні. При ураженні серцевого м’яза (інфаркт, міокардит, міокардіодистрофія, серцева недостатність) активність КК у сироватці крові зростає до 10 і більше разів. При виникненні інфаркту міокарда активність ензimu зростає через декілька годин і є високою протягом тижня.

Захворювання, які перебігають з ураженням головного та спинного мозку (крововилив, менінгоенцефаліт, менінгіт, енцефаліт, міеліт, некроз та ін.), спричиняють зростання КК у лікворі хворих органів. Локалізуючись у цитоплазмі нейронів, фермент елімінується у спинномозкову рідину навіть при незначному пошкодженні і різко зростає при деструкції клітин мозку. Наприклад, при печінковій енцефалопатії активність КК у лікворі збільшується удвічі, а при печінковій комі – у 14 разів.

Холінестераза та псевдохолінестераза. Холінестераза (правдива холінестераза, ацетилхолінестераза, АХЕ) та псевдохолінестераза (холінестераза, бутирилхолінестераза, ХЕ) – секреторні ферменти, які

активують реакцію розщеплення ефірів холіну (ацетилхолін та бутирилхолін) до холіну та оцтової чи масляної кислот. В останні роки псевдохолінестеразу називають холінестеразою, а правдиву холінестеразу – ацетилхолінестеразою. Псевдохолінестераза синтезується в рибосомах ендоплазматичної сітки гепатоцитів і виділяється із печінки в плазму крові для участі в метаболічних реакціях. Вона зустрічається майже у всіх тканинах, але особливо висока її активність виявляється у плазмі крові, печінці та підшлунковій залозі.

Зниження активності псевдохолінестерази у сироватці крові відбувається при тяжких і запущених захворюваннях печінки (зокрема цирозі та некрозі), голодуванні, хронічній нирковій недостатності, отруєнні фосфороорганічними сполуками (інсектицидами). Гіперхолінестераземія може спостерігатися при патологічних станах, що характеризуються посиленням синтезом дрібнодисперсних глобулінів, при подразненні клітин печінки ендо- чи екзотоксинами.

Амілаза і ліпаза. Альфа-амілаза (α -амілаза) каталізує ендогідроліз 1,4-глюкозидних зв'язків крохмалю, глікогену та інших споріднених з ними полісахаридів до мальтози, декстринів чи інших полімерів. Альфа-амілаза секретується підшлунковою та слинними залозами; невисока її активність спостерігається в печінці та скелетних м'язах. Низька молекулярна маса амілази (≈ 48000) сприяє фільтрації ферменту через ниркові клубочки і виділенню із сечею. Ензим складається із двох фракцій – панкреатичної та слинної. У сироватці крові вищою є активність слинного ізоферменту, а в сечі – панкреатичного. Підвищення активності амілази в сироватці крові та сечі спостерігається при пошкодженні слинних та підшлункової залоз. Значна та швидка гіперамілаземія і гіперамілазурія розвиваються при гострому паротиті та гострому панкреатиті. Меншою мірою зростання активності альфа-амілази реєструється при виразках шлунка, хімостазі, дистрофії печінки, гепатиті, жовчникам'яній хворобі. При патології нирок активність ферменту може зростати у крові, а в сечі – знижуватися. Гіперамілаземію викликають ряд лікарських препаратів (кортикостероїди, саліцилати, тетрациклін, фуросемід, гістамін).

Ліпаза (панкреатична ліпаза) гідролізує в жирах зовнішні ефірні зв'язки, звільнюючи жирні кислоти. Фермент секретується підшлунковою залозою і у великій кількості виявляється в дуоденальному вмісті. У сироватці крові активність ферменту низька. При гострому панкреатиті активність ліпази зростає в сотні разів і тримається на цьому рівні довше, ніж амілаза. У сечі активність ліпази відсутня.

ФЕРМЕНТОТЕРАПІЯ

Ферментотерапія – це використання ферментних препаратів з метою лікування ферментопатії або прискорення хімічних реакцій у клітинах і тканинній рідині організму. Виступаючи в ролі біологічних катализаторів, ферменти утворюють тимчасові комплекси із своїм субстратом, завдяки чому стає можливим перетворення поживних речовин без суттєвих енергетичних затрат. Так, білки розщеплюються до амінокислот, вуглеводи – до моносахаридів, жири – до гліцеролу і жирних кислот. Кожний фермент має активний центр, що забезпечує його специфічну дію на субстрат. Таким чином, ензим катализує розщеплення лише відповідного субстрату і не впливає на інші речовини, навіть близькі за хімічним складом. Наприклад, уреаза катализує реакцію гідролітичного розщеплення сечовини і зовсім не діє на метилсечовину.

З лікувальною метою найчастіше застосовують екскреторні ферменти, які виділяються залозами травного каналу. Природні ферменти отримують від тварин-донорів шляхом накладання фістул та зондування або після забою тварин роблять екстракцію із слизової шлунка, кишечнику та підшлункової залози. Так виготовляють широковідомі препарати пепсин, ацидин-пепсин, абомін, натуральний шлунковий сік, екстракт дванадцятипалої кишki, панкреатин, трипсин, хімотрипсин, хімопсин, ентерофарм.

Пепсин і ацидин-пепсин (із слизової оболонки шлунка свиней), абомін (із сичуга молочних телят і ягнят) та натуральний шлунковий сік застосовують для лікування тварин із розладами травлення та недостатньою секрецією залоз шлунка, хворих на анацидні та гіпоацидні гастрити, ферментодефіцитну диспепсію, гострі та хронічні гастроентерити, ентероколіти. Екстракт дванадцятипалої кишki та ентерофарм застосовують хворим із шлунково-кишковими розладами, для відновлення травлення в кишечнику. Панкреатин, трипсин, хімотрипсин і хімопсин виготовляють із підшлункової залози. Вони є ефективними при лікуванні шлунково-кишкових захворювань, анацидного та гіпоацидного гастриту, панкреатиту, ентериту, коліту та хвороб печінки. Як засіб патогенетичної терапії, протеолітичні ферменти є ефективними при хворобах органів дихання, запальних процесах гнійно-фібринозного характеру. Введення в дихальні шляхи чи рани пепсіну, трипсіну, хімотрипсіну, хімопсіну та інших ферментів сприяє розрідженню ексудату та видаленню некротичних тканин.

Для лікування синтезовано цілий ряд ферментів, які є стійкішими та ефективнішими за природні і не викликають алергічних реакцій в

організмі хворих тварин. Виготовляються лікарські препарати (таблетки, капсули), які в зовнішньому шарі містять ферменти шлунка, після якого розташована кислотостійка оболонка, що захищає внутрішній прошарок, де є ферменти підшлункової залози чи кишечнику. Таким чином, ферменти, які необхідні для травлення в тонкому кишечнику, надходять сюди у незміненому вигляді. Із комплексних ферментних препаратів найбільш відомими є пензинорм, трифермент, фестал, дигестал. Вони є ефективними при шлунково-кишкових захворюваннях, що характеризуються порушенням ферментної активності у шлунку, кишечнику, при ураженні підшлункової залози.

Ферменти бактеріального та грибкового походження одержують шляхом культивування мікроорганізмів і грибів. Вони є комплексними, оскільки, крім основного ферменту, містять також інші, проявляючи аміло-, целюлозо-, пектино-, протео-, ліполітичну та іншу дії. Їх застосовують з метою поліпшення перетравлювання корму, підвищення продуктивності, лікування хвороб, що супроводжуються ферментопатією. Із ферментів, які сприяють розщепленню вуглеводів, найбільш відомими є глюкозидаза Г3_x, амілосубтилін Г3_x та Г10_x, амілоризин П_x та П10_x, глюкаваморин П10_x, пектаваморин Г3_x, Г10_x, П10_x та П_x, пектафоетидин П10_x та Г10_x; білки – протосубтилін Г3_x, реніномукорин Г10_x, ренін, кисла протеаза Г10_x.

При лікуванні інфекційних захворювань для знешкодження патогенної мікрофлори застосовують літичні ферменти, які розщеплюють клітинні оболонки бактерій. Ферментний лізис бактеріальної оболонки здійснюють три групи ензимів: літичні глікозидази (гідролізують полісахаридні ланцюги пентоглікану), амідази (каталізують розщеплення пептидних субодиниць від білка), літичні протеази (гідролізують пептидні містки між субодиницями білка). Як літичний фермент проти бактерій широко використовують відомий лізоцим, проти стафілококів – лізостатин, проти мікозних уражень – коприн, фізар, болбіт.

ВИКОРИСТАННЯ ФЕРМЕНТІВ У ЛАБОРАТОРНІЙ ДІАГНОСТИЦІ

Одним із основних завдань клінічної лабораторної діагностики є уніфікація методик досліджень, з метою покращення точності та об'ективності одержаних результатів. Сьогодні до складу високоспецифічних аналітичних тестів входять ферменти. Ферментативні методи є найбільш точними, специфічними, технічно простими та нешкідливими для дослідника при кількісному визначенні багатьох ме-

таболітів у біологічних рідинах організму. Наприклад, глюкозооксидазний метод дослідження глюкози не потребує ні нагрівання до високих температур, ні роботи з концентрованими кислотами.

За допомогою біохімічних методів не завжди вдається виявити досліджуваний матеріал у чистому вигляді. Часто він фіксується одночасно з іншими подібними субстратами. Так, редуктометричне визначення глюкози методом Хагедорна-Єнсена не є точним, оскільки він, крім глюкози, реагує на вміст глутатіону, сечової кислоти та інших метаболітів. Використання глюкозооксидазного ферментативного методу дає можливість виявити в крові лише глюкозу. Подібні приклади в лабораторній діагностиці можна застосувати й до таких ферментативних методів, як використання уреази при визначенні сечовини (уреазний метод), лактатдегідрогенази – молочної кислоти, аланінової трансферази – аланіну, креатинкінази – креатинфосфату та ін.

Імуноферментні методи досліджень – це новий напрямок у клінічній лабораторній діагностиці. Вони вважаються найбільш чутливими та високоспецифічними. Діагностика здійснюється за допомогою ензиму, зв'язаного з імуносорбентом. Одним із поширених варіантів імуноферментного аналізу є метод ЕЛІСА (ELISA) – великі літери від англійських слів Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Для імуноферментних досліджень часто використовується пероксидаза, оскільки цей фермент має незначну молекулярну масу і легко виявляється.

Розділ 10

КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН

БІОХІМІЯ ЗЛОЯКІСНОГО РОСТУ. КАНЦЕРОГЕНЕЗ. КАНЦЕРОГЕНИ І ОНКОГЕНИ

У тварин і людини ріст зумовлений поділом клітин, збільшенням їхніх розмірів і маси міжклітінної речовини. Сукупність процесів у клітині, що відбуваються при її підготовці до поділу та протягом мітозу, називається *клітинним циклом*. Він складається з інтерфази, яка включає три періоди: пресинтетичний, синтетичний і постсинтетичний, та, власне, мітозу. У нормі в більшості клітин тваринного організму клітинний цикл завершується приблизно через 20 годин.

Злоякісний ріст визначають як місцевий, автономний і нерегульований ріст тканин. Це означає, що ріст пухлин нічим не обмежений, не регулюється відповідними механізмами організму. Отже, вирішальною властивістю, що визначає пухлинний характер клітини, є автономність. Із функцій нормальних клітин формуються функції органів і тканин усього організму. На противагу цьому пухлинні клітини морфологічно і функціонально є чужорідними (сторонніми) тілами, тому що вони не беруть участі в утворенні органів і тканин організму. Саме морфологічне і функціональне виключення їх з організму, як цілісної інтегральної системи, є суттю пухлинної автономності і основним компонентом пухлинного фенотипу. Автономні ракові клітини зв'язані із життєдіяльністю організму, очевидно, тільки через кров'яне русло. У свою чергу проліферуючі пухлинні клітини впливають на тканини організму-пухлиноносія, спричиняють їх загибел, а продукти руйнування використовують як поживні речовини.

Злоякісний ріст розвивається в часі: спочатку він уражує невелику ділянку тканини, а пізніше розповсюджується на весь організм (найчастіше шляхом метастазів). Клітини пухлин мають значно менший клітинний цикл, порівняно зі здоровими.

Канцерогенез. Канцерогени. Процес надмірного патологічного розростання тканин з утворенням злоякісних ракових пухлин називається **канцерогенезом**. Злоякісний ріст спричиняють **канцерогени** – речовини, які за певних умов можуть викликати розвиток ракових пухлин. Канцерогенним впливом відзначаються віруси, деякі хімічні речовини та опромінення.

Доведено, що фрагменти вірусів, окрім віруса саркоми Рауса, можуть стати причиною виникнення злоякісного росту (**вірусний канцерогенез**). Існують і онкогенні (пухлиновтворні) віруси. Це група різномірідних за будовою вірусів, що спричиняють появу доброкачесніх і злоякісних пухлин та лейкозів у тварин. Вони належать до ДНК- або РНК-вмісних вірусів. На відміну від інфекційних вірусів, онковіруси не руйнують клітин організму посиленим розмноженням, а спричиняють перетворення клітин у пухлини. При цьому можлива інтеграція вірусного геному з клітинним для передачі клітинам генетичної інформації. РНК-вмісні пухлини віруси за допомогою ферменту revertази (зворотної транскриптази) синтезують ДНК, здатну вбудовуватися у клітинний геном.

Виявлено вірусні гени (**онкогени**) та їхні білкові продукти (**онкобілки**), які відповідають за злоякісну трансформацію клітин. Пухлини віруси, як правило, передаються макроорганізму в період ембріонального розвитку і залишаються надовго в латентному стані. Онкогени відкриті в геномах ретровірусів, тобто вірусів із РНК-овим геномом, як певні ділянки нуклеїнових кислот, які здатні індукувати різні злоякісні пухлини у тварин і птиці. Ці блоки нуклеотидів дістали назву **онкогенів**. Класичним представником онкогенного провірусу є вірус саркоми Рауса, що викликає саркому в курей. Геном його простий і складається із трьох структурних генів, необхідних для репродукції віrusу, та одного онкогена, – гена сарк, специфічною функцією якого є індукція пухлин – сарком. На сьогодні відомо, що онкогени консервативні. Час їхньої фізіологічної активності припадає на ранній ембріогенез. Тому вважають, що онкогени відіграють роль у певних важливих життєвих функціях, а онкогенний ефект є побічною дією цих генів. Таким чином, функціонування онкогенів у нормі є частиною програми ембріонального розвитку. Злоякісне перетворення клітини пов'язане з реактивацією цієї програми. Під дією інфекційних вірусів, радіації, хімічних канцерогенів, гормонів пухлини віруси можуть активізуватися і сприяти розвитку пухлин.

Хімічними канцерогенами є сполуки, які після проникнення в організм зумовлюють злоякісний ріст. На сьогодні відомо більше 500

хімічних канцерогенів. Найкраще вивчені з них належать до полікліческих ароматичних вуглеводнів, ароматичних амінів, нітрозосполук, алкалоїдів, токсинів, солей. Різні за своєю хімічною природою канцерогени в організмі тварин і людини зазнають метаболічної активації, тобто переходятуть із проканцерогенів у канцерогени. Унаслідок такого перетворення утворюються продукти, які зв'язуються зі структурою ДНК.

В активації канцерогенів беруть участь цитохром Р-450, оксидази, епоксигідролаза, ферменти кон'югації (глюкуроніл-, сульфо- і глутатіонтрансферази) з утворенням однакових метаболітів. Майже всі відомі канцерогени ковалентно взаємодіють із нуклеофільними (тобто такими, що віддають субстрату свою електронну пару, за допомогою якої утворюється новий зв'язок) групами (-SH, -OH, =NH) білків і нуклеїнових кислот. Комплекси, які виникають, несприятливо впливають на різні функції клітини. Пошкоджена клітина може загинути, виправити дефект, що утворився, або перетворитися в мутантну, яка трансформується в пухлину.

Фізичний канцерогенез виникає під впливом різних видів опромінення (ультрафіолетового, рентгенівського, α -частинками, протонами чи нейtronами). Молекулярні механізми фізичного канцерогенезу ще не до кінця з'ясовані. Вважається, що радіація уражує молекули ДНК, унаслідок чого виникає соматична мутація. Інтенсивність ураження залежить від дози.

Згубну дію на організм тварин мають радіонукліди. Радіоактивні елементи (йод, цезій, стронцій та ін.) поглинаються тканинами і руйнують їх. Бластомогенна (новоутворювальна) дія радіації є найбільш небезпечним наслідком опромінення. Дози, які в початковий період не спричиняють видимих змін, можуть становити загрозу у відносенні індукції пухлин. Пухлиноутворююча дія радіоактивного цезію (^{137}Cs) характеризується широким спектром злюкісних новоутворень. У дослідних тварин реєстрували лейкози, пухлини кишечнику, легень, нирок, печінки, скелета, залоз внутрішньої секреції, молочних, підщіркої клітковини та інших органів. Пухлини найчастіше виникають у тканинах безпосередньо в місцях депонування радіонуклідів.

Клінічні спостереження показують, що для переродження нормальної клітини в пухлину дії однієї причини недостатньо. Найчастіше трансформовані клітини виникають унаслідок впливу багатьох зовнішніх факторів, які взаємодіють з їхніми структурними компонентами. Злюкісні процеси, які виникають на генетичному ґрунті, займають незначну кількість від загальної кількості випадків злюкісного

росту, хоча спадкова склонність до розвитку пухлин у тварин може відігравати певну роль у виникненні ракових новоутворень. Так, описано чотири випадки остеосарком у собак породи ньюфаунленд і кілька випадків захворювання на цю пухлину однієї лінії собак породи сенбернар. Усі тварини були близькими родичами.

Вважають, що канцерогенез є, принаймні, двостадійним. Протягом першої фази канцерогенезу канцероген (хімічний, променевий, вірусний) взаємодіє з нуклеїновими кислотами, зумовлюючи пошкодження, насамперед, генетичного характеру. Порушення геному клітин, що лежать в основі канцерогенезу, відбувається як на рівні мутацій, так і на рівні хромосомних перебудов. Канцерогени утворюють ковалентні зв'язки з певними групами пуринових і піримідинових основ молекул ДНК. Крім ковалентних, можуть виникати зв'язки з вільними радикалами, здатними реагувати з усіма макромолекулами клітин. Відбуваються також реакції алкілювання атомів відповідних основ нуклеотидів, тобто включення алкілу в молекулу органічної сполуки. Після цього настає гідроліз N-глікозидних зв'язків. Потім розщеплюється й уражений ланцюг ДНК.

МЕТАБОЛІЗМ РЕЧОВИН В ОРГАНІЗМІ ПРИ ЗЛОЯКІСНОМУ РОСТІ

Проблема злоякісних пухлин є передусім проблемою росту. Як відомо, усі хімічні процеси в тканинах проходять в умовах динамічної рівноваги. Стан такої рівноваги залежить від багатьох факторів: типу реакції та природи реагуючих речовин, періоду розвитку тканини, фізичних властивостей середовища та ін. Для нормальної життєдіяльності тканин організму необхідне безперервне постачання його енергією. Основними складовими компонентами тканин, які забезпечують їхнє функціонування, є білки, полісахариди, ліпіди й нуклеїнові кислоти. Вони разом із низькомолекулярними речовинами визначають будову і властивості клітин. Стан рівноваги в перетвореннях цих сполук у різні фази розвитку організму може зсуватися в бік синтезу або розпаду. Так, у період ембріонального розвитку, на ранніх фазах постембріонального життя, при звичайних регенераційних процесах швидкість синтезу перевищує швидкість розпаду органічних сполук. За нормальніх умов цей стан на певному етапі припиняється і створюються постійні умови, при яких величини швидкості синтезу й розпаду стають приблизно одинаковими. У процесі злоякісного росту цей врівноважений стан змінюється, і швидкість синтезу

сполук постійно перевищує швидкість їхнього розпаду. Чим викликаний такий стан – відсутністю механізмів, що контролюють ріст, чи їхньою неефективністю в пухлинних клітинах, ще не з'ясовано.

Зміни метаболізму в пухлинах відбуваються в кількох напрямах і проявляються як окиснення глюкози, збільшення біосинтезу нуклеотидів, порушення циклу утворення сечовини та ін.

Обмін вуглеводів. Класичними дослідженнями Варбурга (1930) показано, що для пухлин характерний аеробний гліколіз, тобто ракові клітини в присутності кисню здатні продукувати молочну кислоту. Аеробний гліколіз властивий також ембріональній тканині. Однак після її дозрівання процес гліколізу затухає, а в ракових клітинах він прогресивно наростає, що супроводжується надмірним гліколітичним утворенням АТФ і можливістю необмеженої проліферації. Рівень аеробного гліколізу в більшості пухлин є високим, проте він завжди менш інтенсивний, ніж анаеробний гліколіз. Вважають, що гліколіз є основним джерелом енергії пухлинних клітин. У пухлинах виявлено високу концентрацію АТФ і дуже низьку кількість АДФ. У них на-громаджується велика кількість молочної кислоти (у 30 разів більше норми), що призводить до швидкого зниження величини рН. Наприклад, рН у клітинах печінки дорівнює 7,4, а в гепатомі – 7,0. У пухлинних клітинах інтенсивність утворення гексозофосфатів підвищена й одночасно виключена можливість їхнього розщеплення, оскільки фосфатази є неактивними. Це дозволяє пухлинній клітині більш повно використовувати гексозофосфати, порівняно з нормальнюю. Отже, гліколіз, крім енергетичного забезпечення, може відігравати значну роль у постачанні клітині метаболітів – попередників нуклеотидів. У ракових клітинах окиснення глюкози активується пентозофосфатним шляхом і спостерігається підвищено продукування рибозо-5-фосфату, який є основним продуктом для синтезу нуклеїнових кислот.

Обмін білків. Дослідження нормальних і пухлинних тканин показали, що їхні білки дуже схожі. Проте синтез білків у пухлинній клітині дещо відрізняється від синтезу білка нормальної клітини. Так, у пухлинах посилюється утворення ядерних білків (гістонів), необхідних для функціонування нуклеїнових кислот. У крові тварин-пухлиноносіїв різко порушується співвідношення альбумінів і глобулінів. Численними дослідженнями доведене зменшення вмісту альбумінів і збільшення фракції глобулінів. При зворотному розвитку пухлин уміст альбумінів і глобулінів повертається до норми. Для пухлинних клітин характерний синтез модифікованих та неспецифічних

білків. Так, в альбуміні онкологічно хворих виявлено постсинтетичні модифікації на багатьох амінокислотних залишках (цистеїну, тирозину, лізину, аспарагінової кислоти). Ці зміни пов'язані як із глікозилюванням, так і з фруктозилиюванням амінокислот альбумінів.

Пухлинні клітини секретують парапротеїни – білки типу імуноглобулінів (Ig), які виявляються у значній кількості на електрофорограмі в ділянці γ -, β - або α_2 -глобулінів. Із крові хворих на злокісні пухлини тварин і людей виділена субфракція імуноглобулінів G, яка має притаманні їй особливості складу, структури, конформації, фізико-хімічні властивості, а також антигенну специфіку. Ця субфракція Ig G названа маркером росту.

У процесі злокісного росту спостерігається порушення функцій протеолітичних ферментів та їхніх інгібіторів. Причому, зміни протеолітичної активності мають неоднакову спрямованість на різних стадіях розвитку пухлинного процесу. На ранніх етапах росту пухлин виявляється, як правило, активація протеолізу, а в період метастазування пухлин внаслідок підвищення рівня плазмових інгібіторів (α_2 -макроглобуліну, інгібітора трипсину) протеолітична активність зменшується.

Клітини злокісного росту безконтрольно й інтенсивно поглинають із крові амінокислоти, через що пухлинну клітину називають “пащею для амінокислот”. Наслідком цього є швидкий ріст пухлинних клітин і негативний вплив на амінокислотне забезпечення нормальних клітин. В організмі тварин-пухлиноносіїв виникає від'ємний азотистий баланс, зменшується маса тіла і, нарешті, розвивається кахексія. У пухлинній клітині порушується обмін окремих амінокислот (триптофану, лізину та ін.) і змінюється швидкість їхнього включення в білки; підвищується активність амінотрансфераз. У хворих тварин знижується біосинтез сечовини. Механізм синтезу сечовини, типовий для нормальній клітини печінки, у гепатомі відсутній. Проте вміст сечовини в гепатомах, як і в ембріональній тканині, приблизно у два рази вищий, ніж у нормальній печінці. Сечовина в цих патологічних клітинах утворюється, можливо, у результаті дії аргінази на аргінін, який з'являється внаслідок розпаду тканинних білків або надходить із кров'ю. Активність аргінази в гепатомах, порівняно з нормальнюю печінкою, знижується. У пухлинах виявлені порушення обміну хромопротеїнів, які пов'язані з тим, що пухлини поглинають значну кількість заліза, зумовлюючи зниження концентрації гемоглобіну та порушення синтезу інших залізовмісних білків (каталаза, цитохроми та ін.).

Обмін нуклеїнових кислот. У пухлинних клітинах виявлено високий уміст нуклеїнових кислот. Причому, кількість ДНК переважає РНК і є вищою, ніж у нормальній тканині. У ракових клітинах знижений біосинтез пуринових і піримідинових основ, що створює умови для появи нуклеїнових кислот, які якісно відрізняються від нуклеїнових кислот нормальних тканін. Однак суттєвої різниці в будові нуклеїнових кислот пухлинних і нормальніх тканін не виявлено. Проте є дані, що нуклеїнові кислоти пухлин та інших тканин-пухлиноносіїв мають підвищений уміст гуаніну. Гуанін у хворому на ракові пухлини організмі є основним джерелом пуринів нуклеїнових кислот. Відомо також, що гуанін стимулює ріст експериментальних пухлин. Аденін використовується пухлиною значно меншою мірою.

У пухлинах активність нуклеотидаз і нуклеозидаз, а також ферментів, що дезамінують пурини у складі нуклеотидів, є значно вищою, порівняно з нормою. Нуклеїнові кислоти пухлин більш інтенсивно розпадаються, ніж у здорових тканінах. Пухлини, подібно до нормальних тканін, перетворюють амінопурини в оксипурини, які далі окиснюються до кінцевих продуктів пуринового обміну.

Обмін ліпідів. Одним із важливих факторів, що змінюють гомеостаз в онкологічно хворих, є порушення ліпідного обміну. Зокрема, у крові хворих на рак легень і шлунка виявили значно нижчу активність ліпопротеїнліпази, яка гідролізує ліпопротеїни.

До сьогодні не знайдено якихось специфічних ліпідів, які були б характерними лише для пухлинних клітин. Але у тканинах пухлин різної локалізації виявлено зміни вмісту фосфоліпідів, холестеролу, жирних кислот, а також фракційного складу ліпідів як у цілих клітинах, так і в субклітинних фракціях. Таким чином, структурні ліпіди, що утворюють цитоплазматичну мембрани в пухлинних клітинах, відрізняються від нормальних кількісними змінами. За своїм якісним складом ліпіди пухлин суттєво не відрізняються від таких же ліпідів нормальних тканін.

В організмі, ураженому зложісним ростом, метаболізм нейтральних жирів не зазнає значних змін. Жири, які є резервними ліпідами, виконують функції джерела енергії. Їх розщеплення відбувається звичайним шляхом і регулюється гормонами. При підвищенні енергетичних потреб організму-пухлиносоїя виснажуються запаси нейтральних жирів. Але при цьому концентрація кетонових тіл не підвищується, що вказує на аеробне окиснення продуктів гідролізу жирів до CO_2 і H_2O .

Обмін мінеральних речовин. Пухлинний ріст супроводжується суттєвим порушенням обміну металів. Так, при карциномі Герена та

blastomogenезі відбувається різке збіднення печінки і м'язової тканини на залізо, а також крові на цинк. Злоякісний ріст викликає загальний дефіцит та перерозподіл між тканинами і пухлиною міді, кадмію, магнію, марганцю та заліза.

У пухлинах, як і в нормальній тканині, катіони K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} та відповідні їм аніони (Cl^- , HCO_3^- , фосфати) відзначаються найвищою осмотичною активністю. Вони беруть участь також у ферментативних реакціях (K^+ і Mg^{2+}) та регулюють метаболічні процеси (Ca^{2+}). У цих випадках вони виконують вказані функції в більш низькій концентрації, ніж у нормальніх тканинах. У пухлинній тканині підвищується вміст Na^+ , Ca^{2+} і частково – K^+ та значно знижується концентрація Mg^{2+} . У некротично зміненій пухлинній тканині звільняються жирні кислоти, які утворюють з Ca^{2+} нерозчинні солі (мила) і в такий спосіб неспецифічно збільшують концентрацію кальцію. Часто спостерігається дефіцит заліза, що спричиняє виникнення анемії.

У пухлинах, особливо в їхній сполучній тканині, завжди виявляється підвищена кількість води. Однак це не є типовим лише для пухлин, оскільки таке явище спостерігається в молодих і швидкорослих тканинах.

Незважаючи на численні біохімічні дослідження, до сьогодні не вдалося виявити якісні відмінності метаболізму пухлинних клітин, які їх би відрізняли від нормальних. Усі виявлені зміни мають кількісний характер і стосуються змін концентрації сполук, активності ферментів, розмірів транспорту та інших величин, які виявляються в клітинах обох типів. З цього можна зробити висновок, що зазначені зміни зумовлюються порушенням регуляції метаболізму в пухлинних клітинах унаслідок їх виходу з-під генетичного контролю. Розмноження пухлинних клітин відбувається за законами саморегуляції.

БІОХІМІЧНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН

Пошкодження пухлиною різних органів і його вплив на загальний стан організму можуть викликати зміни багатьох лабораторних показників, які є характерними не лише для онкологічних хвороб (наприклад, білірубінемія при раку жовчовивідних шляхів чи підшлункової залози). Часто загальні і неспецифічні прояви, наприклад лихоманка, анемія, гіпопротеїнемія і зростання швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ), можуть бути першими виявленими показниками пухлинного процесу. Частота появи цих змін є дуже низькою на початкових ста-

діях онкологічної хвороби і зростає до 100 % на пізніх стадіях. У таблиці 13 показано частоту виникнення змін деяких лабораторних показників при різних пухлинах у момент виявлення, що має місце на різних стадіях їх розвитку.

Таблиця 13 – Частота виникнення змін у лабораторних показниках при онкологічних хворобах (у процентах від загальної кількості випадків)

Лабораторні показники	Анемія	Висока ШОЕ	Олігоцитемія	Інші зміни
Рак бронхів	12	–	45	Гіпокаліємія, алкалоз
Рак ободової і прямої кишок	37	50	88	–
Рак шлунка	70	65	92	Ахлоргідрія – 76
Множинна міелома	84	93	–	Гіпопротеїнемія – 72 Гіперкальціємія – 50
Рак підшлункової залози	38	86	59	Зростання активності лужної фосфатази – 62, білірубіну – 62
Рак нирки	40	53	51	Зростання активності лужної фосфатази – 15

Рівень загального білка та альбуміну в плазмі, як правило, є зниженим на пізніх стадіях пухлинного процесу. Причина цього явища полягає у комплексній дії ряду чинників, таких, як втрата апетиту, порушення всмоктування, пошкодження білкового синтезу через метастази в печінку, посилення катаболізму білків. Наведені в таблиці 13 зміни лабораторних показників не є специфічними для пухлин: вони зустрічаються також при багатьох хворобах непухлинного характеру. Проте в поєднанні з клінічною картиною у хворого ці показники дуже часто є сигналом для проведення діагностичного пошуку та оцінки перебігу хвороби.

У 10 % хворих на рак виникає гіперкальціємія, яка в більшості випадків пов'язана з метастазами у кістки, що веде до вимивання кальцію в позаклітинну рідину. Гіперкальціємія в поєднанні із гіпофосфатемією без метастазів у кістки найчастіше свідчить про наявність пухлини прищітоподібних залоз. Висока концентрація Ca^{2+} у крові може гальмувати реабсорбцію K^+ у ниркових канальцях, що веде до частого поєднання гіперкальціємії та гіпокаліємії.

Пухлина гіпоглікемія пов'язана з доброкісними β -клітинами підшлункової залози чи мезенхімальними пухлинами (фібросаркома, нейрофіброма). У першому випадку гіпоглікемія виникає через над-

мірну продукцію та неконтрольоване виділення інсуліну. У другому випадку вона спричинюється поліпептидами з гіпоглікемічною дією, що продукуються мезенхімальними пухлинами. Ці поліпептиди мають зовсім іншу будову, ніж інсулін, і не взаємодіють з антитілами проти інсуліну.

Захворювання шлунка і кишечнику, у тому числі пухлині, можуть зумовлювати кровотечу у травному каналі. Гемоглобін, який вивільняється з еритроцитів, має активність пероксидази, що виявляється в калі за допомогою бензидинового чи гваякового тесту. Є також імунохімічні тести, які ґрунтуються на використанні антитіл проти гемоглобіну. Вони є зручними у використанні і дають високо-вірогідні показники. Найбільший відсоток позитивних результатів дає кровотеча з кінцевих відділів травного каналу. Маркером пухлини шлунка є велика кількість молочної кислоти у його вмісті.

Вищеописані показники лабораторних досліджень є опосередкованими маркерами при злокісному рості, оскільки зміни вмісту їх зумовлені реакцією нормальної тканини на розвиток новоутворень.

Біохімічними дослідженнями виявлено, що в процесі злокісного росту змінюється концентрація або біологічна дія більше ніж 120 різних сполук, які дістали назву пухлинних маркерів. Дослідження справжніх пухлинних маркерів (речовини, підвищений уміст яких можна пов'язати з наявністю і розвитком пухлинних клітин) дозволяє виявити пухлину ще до появи клінічних ознак захворювання. При цьому слід зазначити, що чутливість тесту залежить від стадії пухлинного процесу. На ранніх стадіях хвороби рівень більшості маркерів зростає лише в незначній частині випадків. До "пухлинних маркерів" належать ферменти, пухлино-ембріональні антигени, плацентарні та сироваткові білки, поліаміни та ін. Однак виявилося, що більшість із них властиві не тільки пухлинній прогресії, а й з'являються також у процесі ембріогенезу, регенерації тканин, гіпертрофії та дії гормонів росту. Тому лише частина пухлинних маркерів знайшла широке практичне клінічне застосування. До таких біохімічних тестів належить визначення активності ферментів та їхніх ізоформ, поліамінів і білків.

Щодо дослідження ферментів, то на сьогодні досить висока інформативність збереглася для загальної активності кислої фосфатази. Тест застосовується при діагностиці раку простати.

При злокісних пухлинах цінним виявилося визначення ізоферментного спектра окремих ферментів. Як відомо, молекули ізоферментів неоднорідні й містять поліпептидні ланцюги, що кодуються різ-

ними структурними генами. У процесі нормального онтогенезу склад ізоферментів постійно змінюється. У період клітинної диференціації відбувається заміна ембріональних ферментів на форми, що відповідають тканинам дорослого організму. Канцерогенез супроводжується порушенням синтезу білка, унаслідок чого в дозрілих тканинах знову з'являються ембріональні форми ізоферментів, які, таким чином, можуть слугувати показником виникнення злокісного росту. Клінічне значення мають ізоферменти гексокінази та лактатдегідрогенази.

У тканинах тварин виявлено чотири основні ізоформи гексокінази (ГК_1 , ГК_2 , ГК_3 , ГК_4). Ізоферменти ГК_1 , ГК_2 і ГК_3 близькі за своїми властивостями, тому їх об'єднують під загальною назвою "гексокіназа", тоді як ГК_4 відома як глюкокіназа. Результати дослідження ізоферментів гексокінази показали, що в злокісних пухлинах мозку, печінки, матки, шлунка, у лімфоцитах при лімфолейкозі переважаючою стає ембріональна форма ферменту – ГК_2 . Тому ізофермент ГК_2 використовується як маркер малігнізованих тканин.

Виділено п'ять ізоферментів лактатдегідрогенази: ЛДГ_1 , ЛДГ_2 , ЛДГ_3 , ЛДГ_4 , ЛДГ_5 . Два з них є справжніми, тому що кодуються різними генами, а три – їхніми гібридними формами. Справжні ізоферменти ЛДГ_1 і ЛДГ_5 локалізуються в різних тканинах. ЛДГ_1 переважно знаходитьться в м'язах серця, а ЛДГ_5 – у скелетних м'язах. Ознакою злокісного росту є зрушення спектра ЛДГ в бік збільшення малорухливих форм, які характеризуються найвищим умістом субодиниць – ЛДГ_5 і ЛДГ_4 .

Біологічним рідинам хворих на злокісні пухлини властива підвищена активність процесів біосинтезу поліамінів. Поліаміни (спермін, спермідин, путресцин) є регуляторами внутрішньоклітинного метаболізму. Подібно доmonoамінів поліаміни утворюються шляхом декарбоксилювання амінокислот, і їхній метаболізм пов'язаний із багатьма важливими перетвореннями амінокислот.

Поліаміни необхідні для росту всіх клітин. При фізіологічній концентрації вони є стимуляторами росту, а при підвищенні кількості – інгібіторами. Роль поліамінів як стимуляторів росту особливо яскраво проявляється у процесі ембріогенезу та регенерації тканин. Експериментальний і клінічний матеріал свідчить, що розвиток пухлин супроводжується підвищенням кількості поліамінів в організмі-пухлиноносії. Тому накопичення поліамінів є характерною, хоча і неспецифічною рисою пухлинного росту. Виявилось, що збільшення вмісту одного або кількох поліамінів може відбуватися при деяких захворюваннях непухлинної природи, при яких має місце посилене

клітинна проліферація (анемії, ревматоїдні артрити, гепатити, уремії та ін.). Це, безумовно, знижує діагностичну цінність визначення концентрації поліамінів. Однак, незважаючи на свою неспецифічність, поліамідний тест є одним із важливих біохімічних маркерів злоякісного росту.

Пухлинні процеси супроводжуються значним збільшенням синтезу деяких білків, а також появою нових антигенів у крові тварин і людини. Прикладом різкого підвищення рівня сироваткового вмісту антигенів при пухлинах є зализовмісний білок ферітин, що дозволило його використовувати як маркер пухлинного процесу при злоякісних захворюваннях крові, печінки, нирок і молочної залози.

У крові хворих на злоякісні пухлини виділено імуноглобулін G, названий маркером росту. Хоча білок-маркер росту з'являється у крові тварин і людини за різних форм, локалізації й етіології пухлин, при тільності та лейкозах великої рогатої худоби він має багато однакових параметрів. У той же час виявлено й певні відмінності між білком-маркером росту злоякісних і нормальнích тканин.

Метод ранньої діагностики з використанням білка-маркера росту базується на здатності IgG злоякісного росту утворювати в кислому середовищі нерозчинні комплекси із сироватковими α -глобулінами, присутніми в крові як здорових, так і хворих тварин-пухлиноносіїв. Достовірність діагностики ранніх форм злоякісних пухлин за допомогою визначення імуноглобуліну G, характерного для злоякісного росту, досягає 95 % випадків.

Як пухлинні маркери використовується ще ціла низка білків, які з'являються при злоякісному рості (β -фетопротеїн, β -хоріогонадотропін, β_2 -мікроглобулін, β -онкофетальний антиген, епітеліальний кишковий антиген, нейроспецифічна енолаза). Визначення рівня хоріонічного гонадотропіну в сечі чи сироватці крові використовується як тест на вагітність (чутливість – 100 %). У невагітних самок зростання рівня хоріонічного гонадотропіну вказує на наявність пухлини. Рівень гормону в сироватці крові зростає при первинних пухлинах сечового міхура, легенів, підшлункової залози.

Підсумовуючи сказане, слід зазначити, що дослідження в галузі біохімії раку до сьогодні не виявили істотних відмінностей у хімізмі пухлинних і нормальніх клітин. Більшість виявлених змін мають кількісний характер або стосуються порушень співвідношення між окремими метаболітами чи структурними компонентами клітин. Однак біохімічні тести злоякісного росту в поєднанні з іншими методами діагностики дозволяють виявляти ранні етапи виникнення пухлино-

го процесу, а також контролювати ефективність його ліквідації. Це має практичне значення і для ветеринарної медицини, оскільки пухлини широко розповсюджені у тварин усіх видів, у тому числі домашніх. І хоча значення пухлинної патології у тварин і людини є неадекватним, проблема злойкісних утворень у ветеринарній медицині також є досить актуальною. Клінічна ветеринарна онкологія набуває все більшого значення у зв'язку із широким розповсюдженням пухлин серед сільськогосподарських тварин, які завдають значних економічних збитків, оскільки знижують м'ясну й молочну продуктивність, порушують процеси відтворення, спричиняють вимушений забій тварин-пухлиноносіїв або їхню загибель.

Доречно також зазначити, що багато методів діагностики й лікування пухлин, що успішно застосовуються в медичній практиці, експериментально розроблені на тваринах. Однак лікарі ветеринарної медицини або зовсім не використовують їх, або мало про них поінформовані. Але, враховуючи те, що при ранньому виявленні пухлин у тварин у багатьох випадках можна досягнути позитивного лікувального ефекту, можемо стверджувати, що такі знання для лікарів ветеринарної медицини є вкрай необхідними. Це допоможе їм брати участь у вирішенні практичних завдань ветеринарії.

КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ПРИ ПАТОЛОГІЇ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ

Розділ 11

КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ПРИ ХВОРОБАХ СЕРЦЯ

Серце є рушійною силою току крові по судинах, що забезпечує постачання поживних та біологічно активних речовин, кисню, енергетичного матеріалу, видалення кінцевих продуктів обміну речовин (CO_2 , сечовини, сечової кислоти і т. д.). Міокард дорослої людини за одне скорочення направляє в аорту 60 мл крові, за одну хв – 5 л, за 1 год – 300 л, протягом доби – 7200 л, тобто виконує величезну механічну роботу. У зв'язку з цим головним завданням метаболізму серця є постійне забезпечення міокарда необхідною кількістю хімічної енергії у вигляді АТФ, яка потрібна для відновлення енергетичних витрат. Енергія АТФ постійно використовується у процесах скорочення міокарда (60–70 % загальної кількості АТФ), іонного обміну в ньому (10–25 %) та інших енергозалежніх явищ. Це вимагає великої інтенсивності утворення високoenергетичних сполук у мітохондріях, тому вони займають близько 30–35 % об'єму кардіоміоцитів лівого шлуночка, що свідчить про їх важливу роль у нормальному функціонуванні міокарда, оскільки в процесі окиснюваного фосфорилування тут синтезується більша частина АТФ.

Чинниками, які визначають ефективність системи синтезу АТФ, є вільний доступ кисню до субстратів. Серце поглинає близько 70 % кисню з крові коронарних артерій. Зростаюче постачання кисню може відбуватися лише шляхом збільшення коронарного кровообігу.

БІОХІМІЯ М'ЯЗОВОГО СКОРОЧЕННЯ

Робота м'язів в організмі пов'язана з їх скорочувальною функцією, в основі якої є перетворення хімічної енергії в механічну. Всі процеси, що лежать в основі м'язового скорочення і розслаблення, залежать від надходження енергії, джерелом якої є АТФ. Для збереження працездатності м'язів синтез АТФ повинен відбуватися постійно.

Джерел утворення АТФ у м'язах є кілька. Найбільш екстреним є креатинкіназний механізм. У стані спокою у м'язах запаси креатинфосфату накопичуються за рахунок перефосфорилування між АТФ і креатином: *креатин + АТФ → креатинфосфат + АДФ*. Цей процес відбувається за участі ферменту креатинкінази. Концентрація креатинфосфату до скорочення м'язів у 4–5 разів більша, ніж запасів АТФ.

На початку роботи м'язів енергія, що кумулюється в креатинфосфаті, використовується для ресинтезу АТФ:



Цей шлях надзвичайно швидкий і ефективний (з 1 молекули креатинфосфату утворюється 1 молекула АТФ). Проте запаси креатинфосфату в м'язах невеликі, і вони швидко вичерпуються. Тому для м'язів важливі два шляхи, під час яких поновлюються багаті енергією фосфорні сполуки: а) гліколіз (глікогеноліз); б) окиснювальне фосфорилування. Останній є найбільш важливим і ефективним. За достатнього надходження кисню м'язи працюють за рахунок енергії, яка утворюється при окисненні в циклі Кребса продуктів розпаду вуглеводів, жирних кислот, ацетату і ацетоацетату.

Потреба організму в енергії при нетривалому навантаженні забезпечується використанням глікогену і глукози. У саркоплазмі м'язових волокон постійно міститься запасний вуглевод – глікоген, концентрація якого в м'язах корів становить 0,3–0,7 %, собак – 3–4, кішок – 1 %. Цей полісахарид є одним з найбільш важливих субстратів глукози і тканинного дихання.

Під час гліколізу з однієї молекули глукози утворюються лише 2 молекули АТФ, а якщо джерелом глукози є глікоген, то під час глікогенолізу з однієї молекули глукози утворюються три молекули АТФ. Проте при інтенсивній м'язовій роботі, особливо за умов кисневої недостатності, глікоген дуже швидко використовується, оскільки швидкість розщеплення глукози і глікогену збільшується в сотні разів. Унаслідок глікогенолізу і гліколізу в м'язах утворюється велика кількість молочної кислоти (1,0–1,2 г на 1 кг маси тіла), яка з током крові надходить у печінку, де з неї ресинтезується глукоза. Оскільки під час інтенсивної роботи витрати АТФ зростають у сотні разів,

то можливість її ресинтезу за рахунок гліколізу не може бути реалізована. Тому на зміну гліколізу підключається аеробне окиснення вуглеводів (тканинне дихання), завдяки якому м'язи надійно забезпечуються енергією АТФ.

ОСОБЛИВОСТІ ОБМІНУ РЕЧОВИН У МІОКАРДІ

Уміст глікогену в міокарді не перевищує 0,5 %, кількість АТФ і креатинфосфату також менша, порівняно зі скелетними м'язами, а витрати АТФ великі. У зв'язку з цим ресинтез АТФ у міокарді повинен проходити значно інтенсивніше, ніж у скелетних м'язах. Для міокарда ссавців основним шляхом утворення багатьох енергією фосфорних сполук є шлях окиснюваного фосфорилування, зв'язаний із поглинанням кисню. Очевидно, саме тому міокард багатий на міоглобін, що забезпечує запаси кисню. Регенерація АТФ у процесі анаеробного розщеплення вуглеводів (гліколізу і глікогенолізу) у серці тварин практичного значення не має, тому міокард особливо чутливий до нестачі кисню.

Характерною особливістю обміну речовин у міокарді, порівняно зі скелетними м'язами, є те, що аеробне окиснення речовин невуглеводної природи при роботі міокарда має значно більше значення, ніж при скороченні скелетних м'язів. Лише 25–30 % кисню, що поглинається серцем у нормі, використовується на окиснення вуглеводів і продуктів їх перетворення. Головним субстратом дихання в міокарді є вільні жирні кислоти (ВЖК). Їх окиснення забезпечує 65–80 % потреби міокарда в енергії, у той час як потреба скелетних м'язів в енергії забезпечується ліпідами лише на 50 %. Клітини серця також добре поглинають і окиснюють молочну кислоту, коли її рівень у крові є високим (наприклад, після фізичного навантаження).

Комплексні внутрішньоклітинні контрольні механізми регулюють швидкість метаболічних перетворень енергетичних матеріалів (глюкози, лактату, вільних жирних кислот) до ацетил-коензиму А, який поєднує шляхи метаболізму вуглеводів і ліпідів у циклі Кребса з метою їх подальшого метаболізму та синтезу АТФ (рис. 24).

Окиснення ВЖК відбувається в мітохондріях, проте проникнути через їх внутрішню мембрани жирні кислоти можуть лише у зв'язаному з L-карнітином стані. Цим зумовлена важлива роль L-карнітину в процесах енергетичного метаболізму міокарда. Численні клінічні дослідження дають підстави стверджувати про наявність зв'язку між нестачею в організмі людей і тварин карнітину і захворюваннями серця.

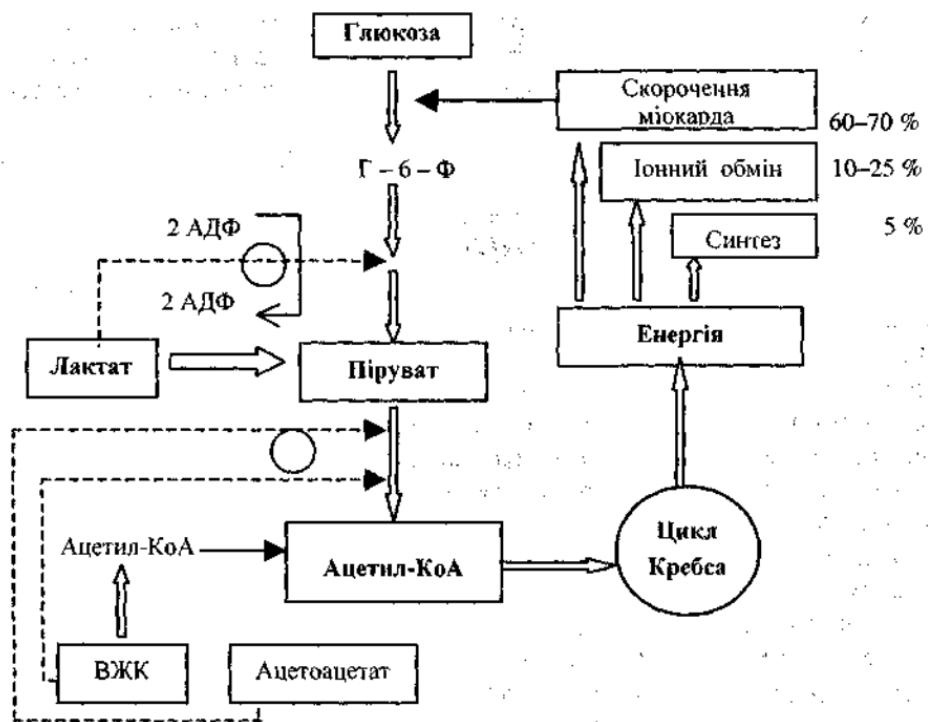


Рис. 24. Утворення та використання енергії у серцевому м'язі
(за Ангельські С. зі співавт., 1998)

L-карнітин надходить із кормом і синтезується в печінці із амінокислот L-лізину та L-метіоніну (у кішок і кролів синтез можливий у нирках). Метіонін є донатором метильних груп. Для успішного синтезу карнітину необхідна достатня кількість аскорбінової та нікотинової кислот, піридоксину та двовалентного заліза. В організмі собак за добу синтезується 2,9 мкмоль L-карнітину на 1 кг маси тіла.

Синтезований або адсорбований у кишечнику L-карнітин транспортується кров'ю до м'язів, де активно засвоюється. Розподіл карнітину залежить від рівня енергетичного обміну речовин у тканинах та джерел утворення енергії. Максимальна концентрація його виявлена в серці та у м'язах скелета. У собак ці дві групи м'язів використовують 95–98 % карнітину від загальної потреби організму. У міокарді карнітину міститься в 300 разів більше, ніж у плазмі.

Особливістю обміну речовин у міокарді є також підвищений, порівняно зі скелетними м'язами, рівень глутамінової кислоти і глутаміну, що пов'язано з локальною прискореною дезінтоксикацією аміаку.

ПОРУШЕННЯ МЕТАБОЛІЗМУ В МІОКАРДІ

До хвороб міокарда належать міокардит, міокардоз (міокардіодистрофія), міокардіофіброз, міокардіосклероз, інфаркт міокарда та розширення серця (дилатаційна кардіоміопатія). Зниження скоротливої функції міокарда спостерігається при хворобах дихальної, сечової, ендокринної і травної систем, системи крові та спричинених розладами метаболізму. У свою чергу при хворобах ендо-, міо- і перикарда розвивається синдром хронічної серцевої недостатності, який характеризується порушенням кровообігу, зумовленим недостатньою силою серцевих скroочень, що утруднює надходження у тканини та органи кисню і поживних речовин, а також видалення з них продуктів обміну речовин. Спостерігається також зниження скоротливої функції м'язів лівого шлуночка (лівошлуночкова недостатність) або правого (правошлуночкова недостатність), або, що трапляється частіше, м'язів обох шлуночків (загальна, або комбінована серцева недостатність). При хронічній серцевій недостатності, пневмоніях, анеміях різної етіології, емфіземі легень порушується кровопостачання міокарда.

Порушення метаболізму в міокарді при хронічній серцевій недостатності, ішемічній хворобі міокарда, пневмонії, анеміях різної етіології характеризується зниженням окиснюванального фосфорилювання і посиленням анаеробного обміну. Раннє посилення глікогенолізу і гліколізу за рахунок глікогену і глюкози в міокарді відбувається внаслідок підвищеної внутрішньоклітинної концентрації катехоламінів і цАМФ, що, у свою чергу, стимулює утворення активної форми фосфорилази і активацію фосфофруктозокінази – основного ферменту гліколізу. Проте навіть максимально посиленний анаеробний метаболізм не може упродовж тривалого часу захищати уже пошкоджений “гіпоксичний” міокард. Запаси глікогену при цьому виснажуються, у міокарді розвивається внутрішньоклітинний ацидоз, який уповільнює гліколіз, інгібуючи фосфофруктозокіназу.

У пошкодженному міокарді (міокардіодистрофія, інфаркт, дилатаційна кардіоміопатія) порушується не лише гліколіз, а й окиснюванне фосфорилювання. Причиною порушення тканинного дихання і зменшення споживання кисню є зниження активності дихальних ферментів. Унаслідок гіпоксемії синтез L-карнітину зменшується, тому його загальний рівень у міокарді людей із серцевою недостатністю знижується до 40–50 %. Нестача карнітину спричинює знижене вико-

ристання ВЖК для синтезу АТФ, кількість її зменшується, що, у свою чергу, погіршує роботу міокарда. У результаті недостатнього окиснення жирні кислоти включаються переважно у триацилгліцероли, що супроводжується жировою інфільтрацією міокарда. У міокарді накопичуються деякі потенційно шкідливі метаболіти (H^+ , Ca^{2+} , вільні жирні кислоти, лактат, вільні радикали), які порушують клітинний гомеостаз і руйнують внутрішньоклітинні структури. Внаслідок енергетичного дефіциту порушується іонний обмін, оскільки збільшується проникність мембрани. Це спричинює вихід із клітин у позаклітинну рідину іонів K^+ , Mg^{2+} , неорганічного фосфору, ферментів і підвищення в них умісту кальцію.

Дефіцит енергетичних ресурсів і порушення іонного складу, перевантаження клітин кальцієм зумовлюють гальмування функціональної активності кардіоміоцитів і їх поступову загибель. У результаті дезінтеграції мембрани проходить втрата, а отже й зменшення кількості міофібрилярних білків (міозину, актину, актоміозину, тропоміозину) і накопичення білків строми (колагену, еластину, нейрокератину).

Наслідком метаболічних та електролітичних порушень є нейро- та електрофізіологічні зміни і зниження скоротливості серця.

Причини, які зумовлюють зменшення синтезу АТФ в міокарді, можуть бути різними і залежать від характеру і перебігу хвороби. Наприклад, при першій стадії міокардиту поглинання кисню серцевим м'язом не порушене, процеси окиснюваньного фосфорилування перебігають нормально. Але при цьому захворюванні в серці досить інтенсивно проходять процеси синтезу (гіпертрофований міокард вимагає більших витрат АТФ). У зв'язку з цим швидкість утворення макроергів відстає від швидкості їх витрачання, і вміст АТФ у міокарді зменшується.

Окрім зменшення синтезу АТФ, зниження скоротливої функції міокарда при хронічній серцевій недостатності розвивається також внаслідок зменшення вмісту актоміозину в тканині шлуночків, зниження його чутливості до АТФ, зменшення стабільності комплексу актину та міозину і його скоротливості. Проте міокард відзначається значними компенсаторними можливостями, і тривалий час порушення коронарного кровообігу та постачання міокарда киснем не виявляється, а рівень АТФ і креатинфосфату може залишатися в межах норми. У зв'язку з цим багато механізмів порушення обміну речовин у міокарді залишаються недостатньо вивченими.

БІОХІМІЧНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ ХВОРОБ МІОКАРДА

Лабораторні методи широко використовуються з метою діагностики, оцінки перебігу, прогнозу та ефективного лікування захворювань серця. Серед них велику роль відіграє визначення активності ферментів та їх окремих ізоферментів, а також умісту міоглобіну, міозину і кардіотропонінів Т та I.

В основі ензимодіагностики хвороб серця лежить принцип гіперферментемії, тобто підвищення в сироватці (плазмі) крові активності креатинфосфокінази (КК), лактатдегідрогенази (ЛДГ), аспарагінової трансамінази (АСТ) і глікогенфосфорилази (ГФ). У нормі в клінічно здорових людей і тварин мембрани серцевих міоцитів непроникні для високомолекулярних білкових молекул цих ензимів. При порушенні цілісності клітин внаслідок некрозу та руйнування тканин відбувається елімінація ензимів у сироватку крові і зниження їх умісту в ураженні ділянці міокарда. Виходячи за межі мембрани міоцита, білкові молекули потрапляють у міжклітинну рідину і відтікають від серця тільки по лімфатичних шляхах. Цим пояснюється відносно довгий проміжок часу (3–6 год) від моменту загибелі міоцитів до появи кардіоспецифічних маркерів, зокрема ензимів у крові. Насамперед підвищується вміст міоглобіну, глікогенфосфорилази-ВВ і тропоніну, потім – креатинфосфокінази, зокрема її кардіоспецифічного ізоферменту – МВ-фракції, аспарагінової трансамінази, а вже потім підвищується активність загальної ЛДГ та її кардіоспецифічного ізоферменту – ЛДГ_I. Причому, активність в крові КК і КК-МВ підвищується вже при некрозі 1 г тканини міокарда.

Дослідження активності ферментів є особливо важливим при диференціальній діагностиці хвороб серця, коли перебіг хвороби та дані ЕКГ не є типовими, зокрема при дрібносередковому інфаркті міокарда і нестабільній стенокардії. Специфічним при ураженні тільки кардіоміоцитів є визначення в крові активності ізоферментів КК-МВ та ЛДГ-ЛДГ_I.

В основі органоспецифічності ізоферментної діагностики хвороб серця лежить різниця співвідношення ізоферментів в окремих органах і тканинах, а значить і в сироватці (плазмі) крові при їхньому ураженні. Наприклад, ізофермент КК-МВ є специфічним для міокарда тому, що в кардіоміоцитах його активність складає 15–42 % від загальної активності креатинфосфокінази, тоді як у тканинах скелетних м'язів його уміст не перевищує 4 %. При ураженні міокарда і скелетних м'язів активність КК може бути однаково підвищеною, проте у процентному відношенні

активність КК-МВ буде суттєво відрізнятися. Це особливо важливо для диференціальної діагностики захворювань. Так, наприклад, при інфаркті міокарда вміст КК-МВ у сироватці (плазмі) крові перевищує 6 % (до 12–20 %) загальної активності КК.

Активність ізоферменту ЛДГ₁ характерна для міокарда як для тканини з анаеробним типом обміну. При гіпертрофії міокарда і хронічній гіпоксії синтез ЛДГ₁ в кардіоміоцитах починає підвищуватися. Оскільки ЛДГ₁ є цитозольним ферментом, тому вірогідне зростання її активності в сироватці крові при інфаркті міокарда настає пізніше, ніж КК і АСТ – протягом 24 год після початку захворювання й утримується на високому рівні 12–14 днів.

Глікогенфосфорилаза (ГФ) та її ізофермент ГФ-ВВ є цитозольним ензимом, який регулює процес глікогенолізу з метою забезпечення енергією кардіоміоцитів при ураженні серця, коли в серцевому м'язі порушується утворення АТФ при β-окисненні вільних жирних кислот. Активність ГФ в крові при патології підвищується раніше, ніж активність КК.

Отже, ензимодіагностика інфаркту міокарда в клініко-діагностичних лабораторіях повинна бути комплексною. Такий діагностичний підхід зумовлений тим, що: по-перше, при дослідженні активності одного ферменту можна допустити неточність; по-друге, кожен із ферментів відрізняється за діагностичною значимістю і динамікою (час появи у крові, швидкість елімінації із судин). Крім того, існують інші фактори, які впливають на об'ективність ензимодіагностики, зокрема ниркова недостатність, глибокі ураження печінки, септицемія, респіраторний ацидоз та ін.

Таким чином, дослідження ферментативної активності сироватки крові є важливим допоміжним методом розпізнавання хвороб серця, зокрема інфаркту міокарда. Проте для уточнення діагнозу необхідно поєднувати результати дослідження активності ферментів у сироватці крові з даними клінічного дослідження пацієнта і результатами інших спеціальних методів, зокрема електрокардіографії.

Серед біохімічних тестів, за якими діагностують ураження кардіоміоцитів, важливим є визначення у крові вмісту білка міоглобіну. Це хромопротеїн, який транспортує кисень до мітохондрій та інших органел клітин у м'язовій тканині. При інфаркті міокарда рівень міоглобіну підвищується в крові у 10–20 разів уже через 3–4 год від початку хвороби, оскільки через малі розміри (18 кДа) молекули міоглобіну при виході за мембрани пошкоджених кардіоміоцитів потрапляють безпосередньо у кров, минаючи лімфатичне русло.

Тропоніновий регуляційний комплекс (Тн) складається із трьох поліпептидів: Тн Т, Тн I і Тн С. Для діагностики захворювань серця, зокрема інфаркту міокарда, у крові визначають тропонін Т та I, проте більше діагностичне значення має визначення останнього через високий його вміст і чутливість у міокарді, порівняно з Тн Т. Так, у серцевому м'язі людини концентрація Тн I у 13 разів перевищує вміст КК-МВ.

Біохімічні дослідження при міокардиті інформативні в період вираженого пошкодження міокарда. У гострий період хвороби має місце підвищення активності МВ-фракції креатинфосфокінази, аспартатамінотрансферази, ізоферментів лактатдегідрогенази ЛДГ₁ та ЛДГ₂ і порушення їхнього співвідношення. Якщо підвищення активності АСТ при міокардиті вказує на ступінь ураження кардіоміоцитів і є специфічною ознакою активності міокарда, то підвищення активності ЛДГ₁ і КК-МВ є менш вираженим, порівняно з інфарктом міокарда, проте довго утримується на високому рівні, що важливо при диференціальній діагностиці цих захворювань.

При міокардозі не спостерігається підвищення активності кардіоспецифічних ензимів та їх ізоферментів (КК-МВ, ЛДГ₁, ГФ-ВВ), інколи виявляється лише незначне зростання кількості α_2 - і γ -глобулінів, а також зниження або підвищення калію і кальцію в сироватці крові.

Отже, методи біохімічної діагностики хвороб міокарда найбільш вивчені при інфаркті міокарда, а при міокардіодистрофії визначення активності ферментів не має діагностичного значення. У ветеринарній медицині біохімічні методи діагностики хвороб міокарда знаходяться поки що в стадії опрацювання. Вивчена активність КК, ЛДГ та їх ізоферментів ЛДГ₁ і КК-МВ у корів-голштинів у різні фізіологічні періоди і при міокардіодистрофії (Левченко В.І., Сахнюк В.В., 2000) та ЛДГ₁ – при експериментально спричиненому перикардиті (Скрипник В.І., 2001).

Розділ 12

КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ПРИ ХВОРОБАХ ОРГАНІВ ДИХАННЯ

Хвороби органів дихання за локалізацією патологічного процесу поділяють на: а) хвороби верхніх дихальних шляхів (риніт, ларингіт, трахеїт, бронхіт та ін.); б) хвороби легень (пневмонія, набряк і гіперемія, альвеолярна емфізема легень); в) хвороби плеври (плеврит, пневмо- і гідроторакс). Найбільш тяжкий перебіг характерний для пневмоній різної етіології. Відповідно до етіологічно-епізоотологічного принципу, виділяють три групи пневмоній: незаразні, симптоматичні та інфекційні (специфічні).

В етіології незаразних пневмоній пусковим механізмом є різні фактори, які знижують загальну неспецифічну резистентність молодняку: неповоноцінна годівля, порушення гігієни утримання (низька або висока температура та різкі коливання її, підвищена вологість повітря у приміщеннях, висока концентрація аміаку, сірководню та інших газів), транспортування, перегрупування, зміна приміщень, у яких утримуються тварини. На цьому фоні етіологічного значення набуває умовно-патогенна мікрофлора дихальних шляхів: пневмо-, стрепто- і стафілококи, пастерели, сальмонели, гемофіли, бордетели та інші (в цілому від 12 до 60 видів бактерій). На фоні зниженої резистентності вони стають патогенними і діють як інфекційний фактор, але оскільки відсутній специфічний збудник, а є асоціації мікроорганізмів, які діють у симбіозі, доповнюючи один одного, то такі пневмонії вважаються *неспецифічними*.

Симптоматичні пневмонії – це хвороби, при яких пневмонія є лише одним із симптомів захворювання, що має місце при сальмонельозі, стрептококозі, інфлюензі, туберкульозі, пастерельозі, чумі, хворобі Ауссікі, деяких гельмінтозах. До *інфекційних пневмоній* належать мікоплазмоз, хламідіоз, гемофільозна плевропневмонія, бордетьльозна та аденовірусна пневмонія. Нині вчені не виділяють симптоматичні пневмонії в окрему групу, а об'єднують їх з інфекційними.

Накопичення ексудату в бронхах і альвеолах при пневмоніях будь-якої етіології зменшує дихальну поверхню легень, утруднює дифузію газів між альвеолярним повітрям і кров'ю, що спричинює порушення зовнішнього газообміну і розвиток гіпоксії. Організм компенсує порушення газообміну збільшенням частоти дихання і пульсу, підвищеннем швидкості току крові, артеріального тиску. Водночас із цим зменшується глибина дихання, кількість поглинутого кисню і концентрація його в крові (насиченість артеріальної крові киснем становить 70–80 % проти 97–98 % у здорових тварин), тобто, розвивається гіпоксемія, яка є рушійним чинником патогенезу пневмонії. Ступінь кисневого дефіциту залежить від інтенсивності заального процесу в легенях. Коефіцієнт використання кисню в легенях телят при гострому перебігу бронхопневмонії знижується на 10–25 %, а при хронічному – на 27 %.

У зв'язку із зазначеним вище, статистично вірогідно знижується парціальний тиск кисню в крові. Тиск вуглекислого газу при цьому може бути підвищеним (гіперкарпнія), що є показником недостатніх компенсаторних можливостей легеневої вентиляції і характерне для респіраторного ацидоzu, зниженим (гіпокарпнія) або залишатися без змін (нормокарпнія). У багатьох тварин знижується величина pH крові, зменшується кількість бікарбонатів, спостерігається зрушення буферних основ до від'ємних показників, що має місце при субкомпенсованому і декомпенсованому ацидоzu респіраторно-метаболічного типу. У свою чергу ацидоз утруднює оксигенацію гемоглобіну в легенях, поглилюючи недонасичення артеріальної крові киснем навіть за достатнього його парціального тиску в легенях.

Організм забезпечується киснем завдяки функціональній кооперації дихальної системи з іншими, передусім із серцево-судинною і кровотворною. Тому важливими при хворобах органів дихання є зміни системи еритрону.

Результати досліджень показали, що у тварин, хворих на бронхопневмонію, часто збільшується кількість еритроцитів (поліцитемія). Уміст гемоглобіну утримується на високому рівні лише при легкому перебігу хвороби, а при тяжкому поступово розвивається олігохромемія. Окрім того, у крові хворих телят удвічі зростає частка метгемоглобіну, який, як відомо, не може ефективно приєднувати кисень. Еритроцити хворих телят менші за об'ємом, гіпохромні (ВГЕ в середньому становить 12–13 пг), менш стійкі до впливу гемолітиків. За легкого перебігу бронхопневмонії в крові телят зростає кількість “молодих” еритроцитів, а при тяжкому внаслідок тривалого розвитку

патології проходить виснаження компенсаторних сил організму, тому в кров'яном руслі в 1,5–2 рази зростає кількість “старих” еритроцитів, а популяція молодих зменшується. У хворих телят змінюється біохімічна структура мембрани еритроцитів: вірогідно зменшується кількість загальних ліпідів, а вміст холестеролу та фосфоліпідів збільшується, що є показником перебудови внутрішніх ліпідних зв’язків. В еритроцитах значно зростає кількість 2,3-дифосфогліцерату (2,3-ДФГ), що є компенсаторним явищем при кисневому “голодуванні” організму, оскільки 2,3-ДФГ сприяє більш легкому відщепленню кисню від оксигемоглобіну і трансфузії його в тканини (Розумнюк А.В., 2002). Отже, у тварин з ураженням легеневої тканини настають не лише кількісні, але й якісні зміни в системі еритрону, одні з яких спрямовані на забезпечення тканин киснем, а інші є результатом порушення білково-ліпідного обміну внаслідок розвитку патологічного процесу в легенях.

Іншим компенсаторним механізмом при порушенні зовнішнього газообміну є тахікардія, посилення роботи міокарда, підвищення максимального артеріального тиску і збільшення швидкості току крові. Проте з поглибленим патології, особливо при дифузному ураженні легень, компенсаторні механізми не можуть нормалізувати кисневу недостатність, тому порушується внутрішній газообмін. У результаті цього споживання кисню тканинами зменшується, тобто розвивається гіпоксія, яка у свою чергу призводить до порушення структури і функцій різних органів та всіх видів обміну речовин.

У міокарді при бронхопневмонії розвиваються дистрофічні зміни, тому артеріальний тиск знижується, швидкість току крові зменшується, що поглиблює кисневу недостатність (застійна гіпоксія). Порушення функцій органів травлення характеризується зменшенням загальної кислотності, вільної соляної кислоти і ферментативної функції шлунка та сичуга (Ковбасенко М.Х., 1964), екскреторної і ферментативної функцій підшлункової залози – зменшується об’єм виділеного соку, пригнічується активність ферментів – амілази, ліпази і трипсину (Костина М.О., 1968) та екскреторна функція печінки (зменшується виділення жовчі).

Гіпоксія та розлад функцій різних органів зумовлюють порушення обміну речовин. Порушення вуглеводного обміну характеризується переважанням анаеробного шляху перетворення вуглеводів (гліколізу). Це, передусім, обмежує енергетичні можливості організму, оскільки утворюється значно менше АТФ (розділ 2). У крові зростає концентрація деяких продуктів обміну вуглеводів, зокрема піровино-

градної та молочної кислот, які є показниками гліколітичних процесів у тканинах. Кількість молочної кислоти збільшується в 1,4 рази, а концентрація глюкози в крові зменшується. Піруват при гіпоксії накопичується в клітинах, і його надлишок перетворюється в лактат, який дифундує з клітин у кров'яне русло. Крім того, гліколіз супроводжується продукуванням іонів водню, що провокує розвиток ацидоzu, який порушує перебіг нормальних клітинних реакцій.

Отже, тривалий анаеробний гліколіз при тканинній гіпоксії знижує здатність клітин до нормального функціонування, сприяє розвитку клітинного некрозу і дисфункції органів, зокрема печінки. У зв'язку з цим порушується глікогенсинтезувальна функція печінки. Тому після ін'екції галактози максимальний рівень глюкози в крові досягається через 30–60 хв (у здорових телят – через 15), а період гіперглікемії триває більше двох годин.

Гіпоглікемія є однією з причин розвитку кетонемії: рівень кетонових тіл при цьому збільшується у 2,2 рази.

У крові хворих на пневмонію телят знижується вміст деяких кислот трикарбонового циклу: щавлевооцтової (у 4 рази) і лимонної (у 1,5 рази), що, відповідно, негативно позначається на енергозабезпечені організму (Колесник В.Я. зі співавт., 1989).

Порушення обміну ліпідів характеризується зменшенням кількості загального та ефіroz'язаного холестеролу в крові, зниженням ступеня його етерифікації до 50 % проти 68–70 % у здорових телят. Гіпоксія створює умови для посиленого окиснення ліпідів клітинних мембрани, активізації ендогенних фосфоліпаз, інгібування антиоксидантів, тому в тканинах накопичуються перекиси, гідроперекиси, жирні кислоти, лізоформи фосфоліпідів, які порушують структуру і функції мембрани клітин. Результатом накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів є зростання концентрації в сироватці крові малоносного діальдегіду (Стадник А.М., Терлецький Б.М., 2000).

Кисневе голодування та інтоксикація зумовлюють розвиток дистрофії гепатоцитів, що у свою чергу призводить до порушення білок-синтезувальної функції печінки. У хворого молодняку (телят, поросят, ягнят) зменшується вміст загального білка та альбумінів у сироватці крові, збільшується кількість глобулінів, знижується альбуміно-глобулінове співвідношення. Зростання фракції глобулінів за гострого перебігу відбувається внаслідок збільшення кількості альфа-глобулінів, при затяжному перебігу – бета- і гамма-глобулінів (Данилевський В.М., 1985). Змінюються також уміст складних білків: у сироватці крові втрічі збільшується кількість α_1 -кислого глікопротеїну

та сіалоглікопротеїну – на фоні зростання рівня гліказамінгліканів. Ці зміни свідчать про розростання сполучної тканини в легенях хворих на бронхопневмонію телят, її дезорганізацію та підвищену реактивність (Стадник А.М., Терлецький Б.М., 2000).

Порушення співвідношення білкових фракцій при бронхопневмонії знижує колоїдну стійкість білків сироватки крові. На цій підставі професором І.П. Кондрахіним (1998) був розроблений метод прогнозування перебігу бронхопневмонії за біохімічним тестом. Принцип цього методу полягає в осадженні грубодисперсних білків сироватки крові розчином цинку сульфату. Чим тяжчий перебіг захворювання, тим більший у сироватці крові вміст грубодисперсних білків і тим інтенсивніше вони випадають в осад. Біохімічний тест дозволяє робити об'єктивний висновок про стадію запального процесу в легенях, ступінь тяжкості захворювання та ефективність лікування. У клінічно здорових телят 1–3-місячного віку показник біохімічного тесту становить 1,6–1,8 мл і більше, на початковій стадії хвороби (легкий і середній ступінь тяжкості хвороби) – 1,5–1,3 мл, при тяжкому і затяжному перебігу – 1,2 мл і менше. При показнику легеневого тесту 0,9–0,8 мл і менше прогноз хвороби несприятливий; підвищення його свідчить про видужування тварини, а зниження – про неефективність лікування і поглиблення патологічного процесу.

До складу фракції альфа-глобулінів сироватки крові входять білки, які належать до групи білків гострої фази – гаптоглобін і церулоплазмін (розділ 4). Уміст їх, як і трансферину, у хворих на бронхопневмонію телят збільшується, що має пристосувальний характер. Водночас із цим знижується інгібіторний потенціал плазми крові, оскільки зменшується кількість α_1 -інгібітора протейназ та α_2 -макроглобуліну, який є також інгібітором протейназ (Козій Н.В., 2000). У крові хворих тварин підвищується вміст фібриногену, який бере активну участь у процесі гемокоагуляції, проявляє протизапальну та протинабрякову активність. Причому, чим тяжчим є перебіг хвороби, тим вищий уміст фібриногену. У зв'язку з цим спостерігається пригнічення фібринолізу і посилення гемокоагуляції, що є одним із механізмів, який обмежує зону запалення. У цих змінах інгібіторів протейназ і фібриногену прихований важливий біологічний зміст, оскільки при переважанні фібринолізу та елімінації фібрину відбувається поширення запального інфільтрату.

Важливою ланкою патогенезу пневмонії є також зміни вмісту мікроелементів, які беруть участь у транспорті кисню і тканинному диханні. Виражений дефіцит міді, який має місце при гострій пневмонії,

пояснюється тим, що мідь є каталізатором багатьох біологічних процесів і посилено використовується для синтезу молекул церулоплазміну, кількість якого при патології органів дихання збільшена.

У телят, хворих на катаральну бронхопневмонію з гострим і особливо, хронічним перебігом, зменшується вміст заліза в сироватці крові та еритроцитах, загальна залізовзв'язувальна здатність сироватки і коефіцієнт насиченості залізом трансферину. Частина заліза при цьому, очевидно, депонується в печінці (депо), і в ній синтезуються складні залізовмісні органічні сполуки, що використовуються для нормалізації окиснюально-відновних процесів. У крові збільшується вміст цинку і водночас підвищується активність карбоангідрази, що слід розглядати як одну з компенсаторних реакцій, які сприяють виведенню вуглекислоти з крові і збільшенню її дихальної активності.

Підвищення вмісту кобальту у тварин, хворих на гостру пневмонію, має складний компенсаторний механізм, який спрямований на стимуляцію еритроцитопоезу.

Таким чином, розглянуті в розділі біохімічні зміни при пневмоніях та бронхопневмоніях різної етіології тісно пов'язані з патогенезом хвороб і дозволяють більш глибоко розглянути особливості розвитку патології. Природно, що при інших хворобах легень (альвеолярна емфізема, гіперемія і набряк) більшість з описаних біохімічних змін буде подібною, оскільки в основі патогенезу їх, як і пневмоній, є прогресуюча киснева недостатність.

Розділ 13

БІОХІМІЯ І ПАТОБІОХІМІЯ СИСТЕМИ КРОВІ

Система крові включає периферичну кров, органи кровотворення і кроворуйнування. Кров виконує в організмі функцію транспорту хімічних речовин, у тому числі кисню, завдяки чому відбувається інтеграція біохімічних процесів у різних клітинах і міжклітинному просторі в єдину систему. Okрім того, кров виконує дихальну, захисну, регуляторну, видільну та інші функції. Тісний взаємозв'язок крові з тканинами й органами дозволяє діагностувати патологічні зміни в організмі, стежити за розвитком патологічного процесу й оцінювати ефективність терапевтичних заходів.

БІОХІМІЯ І ПАТОБІОХІМІЯ ГЕМОГЛОБІНУ

Зрілі еритроцити ссавців майже цілком заповнені гемоглобіном. Він є складним за лізомісним білком (хромопротеїном) з молекулярною масою близько 66000. Гемоглобін складається із білкової частини – глобіну, частка якого становить 96 % від маси гемоглобіну, і небілкового компонента – гему (4 %). Видова різниця гемоглобіну зумовлена глобіном, у той час як гем має однакову будову. Глобін складається із 4 поліпептидних ланцюгів, два з яких називаються α -ланцюгами (містять по 141 амінокислотному залишку), а два інших – β -ланцюгами (містять по 146 амінокислот). Зміни в первинній структурі ланцюгів глобіну, тобто заміна окремих амінокислотних залишків іншими, є причиною ряду вроджених анемій, утворення значної кількості аномальних гемоглобінів.

Нині відомі три типи нормальних гемоглобінів: А, F і Р, які відрізняються за будовою поліпептидних ланцюгів. У крові ембріона міститься Hb P (примітивний). Після третього місяця внутрішньоутробного розвитку плода людини утворюється фетальний гемоглобін (Hb F), який містить два α - і два γ -ланцюги. Він поступово замінюється на гемоглобін дорослої людини і тварини (Hb A). Якщо кров ново-

народженого містить до 80 % Hb F, то на кінець першого року життя в крові дитини залишається лише 1–2 % Hb F, решта належить до типу A. Вважають, що існують три різні види молекул гемоглобіну типу A – Hb A₁, Hb A₂ і Hb A₃. У дорослих людей основним є Hb A₁, частка якого в загальній кількості гемоглобіну становить 96–98 %; на Hb A₂ припадає 2–3 %, Hb A₃ – менше 1 %.

До складу молекули гемоглобіну входять чотири геми, кожний із яких містить один атом двовалентного заліза, зв'язаного з двома атомами азоту. Гем у вигляді гем-порфірун є простетичною групою не лише гемоглобіну, а й міоглобіну, каталази, пероксидази та цитохромів *b*, *c* і *c₁*. Кожний із 4-х атомів заліза, що входять у молекулу гемоглобіну, може приєднати лише одну молекулу кисню, у результаті чого утворюється оксигемоглобін (Hb O₂) – сполучка молекулярного кисню з гемоглобіном. Кисень приєднується до кожного гему молекули. Причому, приєднання однієї молекули полегшує приєднання другої молекули і т.д.

Окрім кисню, гемоглобін легко з'єднується з іншими газами, зокрема з CO₂ (карбгемоглобін) і CO (карбоксигемоглобін). Швидкість утворення карбоксигемоглобіну в 160 тис. разів вища, ніж швидкість дисоціації. Для порівняння зазначимо, що швидкість утворення оксигемоглобіну перевищує швидкість дисоціації його лише в 1 тисячу разів. Гемоглобін у складі карбоксигемоглобіну втрачає здатність приєднувати кисень, і настає смерть клітин.

При отруєнні оксидами азоту частина гемоглобіну окиснюється в метгемоглобін (HbOH), який містить тривалентне залізо і тому не приєднує кисень, що спричиняє розвиток гіпоксії. При сполученні гемоглобіну із сульфаниламідами утворюється сульфгемоглобін, який також не може транспортувати кисень.

Вивчення первинної структури субодиниць молекули гемоглобіну стимулювало дослідження структури так званих аномальних гемоглобінів. У крові людини виявлено понад 150 різних типів мутантних гемоглобінів, які виникають внаслідок мутації генів, що викликає зміни амінокислотного складу ланцюгів глобіну. Поява в крові змінених ланцюгів глобіну зумовлює розвиток характерних анемій, які одержали назву гемоглобінозів. Їх поділяють на дві групи: а) гемоглобінопатії, причиною розвитку яких є спадкова зміна структури певного ланцюга нормального гемоглобіну; б) талісемії, які зумовлюються спадковим порушенням синтезу будь-якого нормального ланцюга гемоглобіну. окрім того, вирізняють також зализодефіцитні анемії. Нерідко в крові виявляють кілька патологічних типів гемоглобіну. Такі гемоглобінози називаються змішаними.

Класичним прикладом спадкової гемоглобінопатії є серпоподібноклітинна анемія, досить поширенна в країнах Південної Америки, Африки та Південно-східної Азії. При цій патології еритроцити в умовах низького парціального тиску кисню набувають форми серпа, швидко розвивається їх гемоліз. Біохімічний дефект при такій анемії проявляється заміною лише однієї амінокислоти – глутамінової – на валін у β -ланцюгах молекули гемоглобіну (Hb S). Усі інші амінокислоти розташовуються в такій же послідовності і становлять таку ж кількість, як і в нормальному гемоглобіні (Hb A). Однієї заміни достатньо не тільки для порушення форми еритроцита, але й для розвитку тяжкої спадкової хвороби – серпоподібноклітинної анемії.

Таласемія – це генетично зумовлене порушення синтезу одного з нормальних ланцюгів гемоглобіну. Якщо пригнічується синтез β -ланцюгів, то розвивається β -таласемія; при генетичному дефекті синтезу α -ланцюгів розвивається α -таласемія. При β -таласемії в крові з'являється до 15 % Hb A₂ і різко збільшується кількість Hb F – до 15–60 %. Хвороба характеризується руйнуванням кісткового мозку, ураженням печінки і селезінки, супроводжується гемолізом еритроцитів.

Анемії виникають не лише в результаті порушення синтезу білкової частини гемоглобіну (глобіну) і появи патологічних його форм, але й при порушенні досить складного шляху синтезу гему. У реакціях його синтезу беруть участь ферменти, відсутність яких або пригнічення їх активності призводить до “патологічного” синтезу, у результаті чого замість уропорфіриногену-ІІІ утворюється уропорфірино-ген-І, який не використовується для синтезу гему. У цьому випадку розвивається тяжка патологія – уроджена порфірія із симптомами порфіринурії.

До первинних порфірій належить також гостра порфірія, при якій блокується перетворення порфобіліногену в поліпіроли, тому збільшується виділення із сечою δ -амінолевулинової кислоти і порфібіліногену.

Нестача заліза в організмі викликає порушення останнього етапу синтезу гему – перетворення протопорфірину IX у гем. У результаті цього розвивається анемія, яка супроводжується збільшенням умісту порфіринів, зокрема протопорфірину IX в еритроцитах.

З інших форм анемій необхідно виділити злюкісну, або перніціозну, анемію (хворобу Адісона-Бірмера), для якої характерний мегало-blastичний тип кровотворення. Захворювання виникає внаслідок ендогенного В₁₂-гіповітамінозу (або В₁₂₋ і В_{c-} гіповітамінозів) і пов’язане з порушенням синтезу ДНК та обміну нуклеопротеїнів. Кількість еритроцитів і гемоглобіну при цьому знижується, порівняно з нор-

мою, у кілька разів. Характерною ознакою захворювання є зростання колірного показника і вмісту гемоглобіну в 1 еритроциті (ВГЕ) внаслідок збільшення удвічі об'єму еритроцитів.

Окремі форми анемій, зокрема спадкові, мало дослідженні в сільськогосподарських тварин і вивчені переважно в собак різних порід та частково у котів і коней. Так, спадкову (аутосомну) гемолітичну анемію, зумовлену дефіцитом в еритроцитах ферменту піруваткінази, виявлено в білих тер'єрів та абісинських котів, а дефіцит фосфофорктокінази – в окремих видів англійських та американських спанієлів (Сукманський О.І., Улизько С.І., 2000).

ДИХАЛЬНА ФУНКЦІЯ КРОВІ

Дихальна функція крові пов'язана з перенесенням кисню від легень до тканин і вуглекислоти – від тканин до легень. У стані спокою тканини й органи людини використовують близько 200 мл кисню за хвилину. При тяжкому фізичному навантаженні кількість кисню, яка необхідна тканинам, збільшується до 2–3 л. Доставка такої кількості кисню у вигляді газу, розчиненого в плазмі, неможлива. Таку функцію кров виконує лише завдяки наявності в ній гемоглобіну. У кожному еритроциті міститься близько 300 млн молекул гемоглобіну. У легеневих капілярах проходить насичення гемоглобіну киснем, а в капілярах тканин, де парціальний тиск кисню різко знижений, відбувається віддача кисню тканинам.

Молекула гемоглобіну може зв'язувати при максимальному насиченні киснем 4 молекули O_2 , проте кожен гем приєднує кисень не самостійно і не незалежно один від одного, а разом, кооперативно. Кооперативність цього процесу полягає в тому, що кожну наступну молекулу кисню гемоглобін приєднує і віддає легше, ніж попередню, тобто, якщо перший гем насичується киснем за 0,0072 с, то другий – за 0,0018, третій за – 0,0003 і четвертий – за 0,0007 с. Оксигенация 4-го гему проходить у десятки разів швидше, ніж першого. Така особливість насичення гемів киснем одержала назву гем-гем-взаємодії. Важливим є те, що процес приєднання молекулярного кисню до гемоглобіну не супроводжується зміною валентності заліза гему (воно залишається двовалентним, через що він отримав назву оксигенациї, а не окиснення).

Гемоглобін містить 0,335 % Fe. 1 грам-молекула заліза (атомна маса 55,84) приєднує 22,4 л кисню. Отже, 100 г гемоглобіну повинні зв'язувати ($0,335 \times 22400$) : 55,84 = 134 мл O_2 . Тобто, 1 г гемоглобіну людини зв'язує близько 1,34 мл O_2 , у той час як коня – 1,33, корови –

1,0–1,5, свині – 1,68, собаки – 1,55–1,65 мл. Кількість кисню, який зв'язується гемоглобіном, що міститься в 100 мл крові, називається **кислотною емністю крові**. Для людей вона становить близько 19 мл, а для тварин різних видів – від 10,0 до 19,5 мл.

Ступінь насыщення гемоглобіну киснем залежить від парціального тиску кисню (pO_2) в артеріальній крові: при 80 мм рт. ст. гемоглобін насычується киснем на 96 %. У венозній крові при pO_2 40 мм рт. ст. гемоглобін насычений киснем на 70–72,5 %. Таким чином, у венозній крові міститься близько 14 мл кисню ($15 \times 134 \times 70 : 10000 \approx 14$). Артеріо-венозна різниця становить близько 5 мл.

Збільшення інтенсивності окиснювальних процесів супроводжується більш повним вилученням кисню з крові, яка протікає по тканинних капілярах: насыщення гемоглобіну киснем при цьому зменшується до 30–33 %. Тобто, уміст кисню у венозній крові становить 6–6,5 об %, а артеріо-венозна різниця збільшується до 13,5–14 об %.

В артеріальній крові майже увесь гемоглобін знаходиться у вигляді оксигемоглобіну. Цей стан забезпечується високим парціальним тиском кисню в повітрі, яке потрапляє в легені. Залежність між ступенем насыщення гемоглобіну киснем і парціальним тиском кисню в повітрі можна зобразити на графіку у вигляді кривої, яка має S-подібну форму (рис. 25). Така форма кривої насыщення гемоглобіну киснем (її називають кривою дисоціації оксигемоглобіну) має велике фізіологічне значення. Як видно з рисунка, при такій формі кривої забезпечується можливість насыщення крові киснем при зміні його парціального тиску в широких межах: дихальна функція суттєво не порушується, наприклад, при зниженні pO_2 із 100 до 60–70 мм рт. ст.

У тканинних капілярах в оптимальних умовах pO_2 залишається досить високим (близько 40 мм рт. ст.), завдяки чому забезпечується швидка дифузія кисню із капілярів у тканині. Якщо pO_2 у артеріальних капілярах становить менше 5 мм рт. ст., клітини втрачають здатність поглинати кисень із крові.

У стані гіпоксемії будь-якої етіології організм вимушений частково переключатися на анаеробний тип обміну (гліколіз і глікогеноліз), тому при тяжкому фізичному навантаженні і гіпоксемії вміст молочної кислоти в крові, як правило, збільшується.

Слід зазначити, що в момент скорочення м'язів, особливо міокарда, кров витискується із судин, що ускладнює надходження кисню в клітини. Цей несприятливий фактор забезпечення м'язів киснем значною мірою компенсується наявністю у волокнах скелетних і серцевого м'язів особливого пігменту – міоглобіну, який, як і гемоглобін, зв'язує кисень.

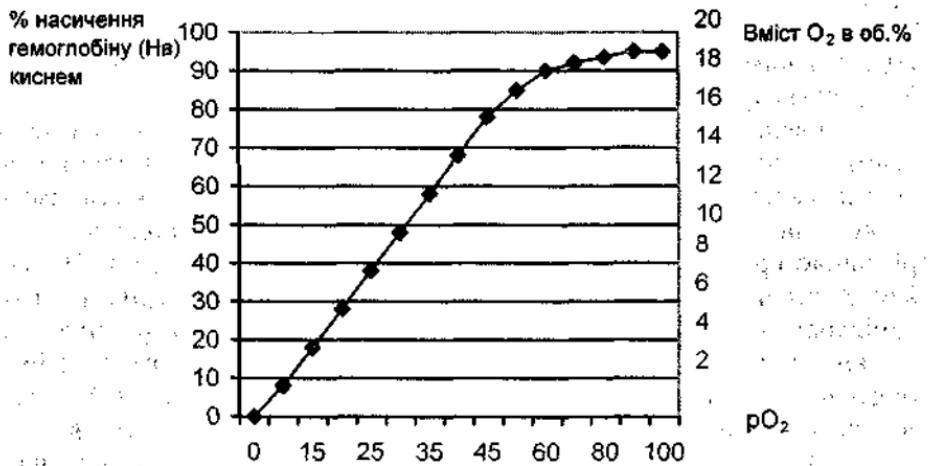


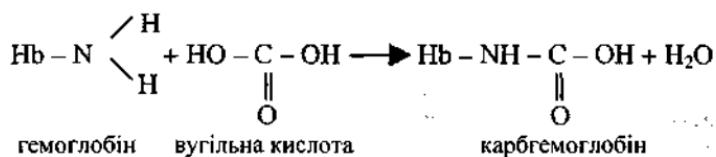
Рис. 25. Крива насилення гемоглобіну киснем

Різниця полягає в тому, що кожна молекула міоглобіну складається з одного гему і тому може зв'язувати лише одну молекулу O₂.

Проте спорідненість міоглобіну до кисню надзвичайно висока, і навіть при pO₂ 20 мм рт. ст. насилення його киснем досягає 85 %, а при 40 мм – 95 %. Тому міоглобін, на відміну від гемоглобіну, не може транспортувати кисень, оскільки він не віддає його тканинам так ефективно, як оксигемоглобін. Таким чином, у м'язах тіла певна кількість кисню завжди міститься у зв'язаній з міоглобіном формі, особливо ж велика вона в м'язах морських тварин (тюлень, кит, дельфін).

В організмі людини, яка не виконує роботу, щохвилини з легень у тканини транспортується близько 200 мл кисню. Приблизно така ж кількість вуглеводні переноситься від тканин до легень.

Організм має кілька механізмів перенесення CO₂. Досить незначна частина його (12–15 мл за 1 хв, або 6–7 % всієї кількості) переноситься плазмою крові у фізично розчиненому стані. Певна кількість CO₂ (3–10 %) приєднується до вільної аміногрупи гемоглобіну з утворенням карбгемоглобіну:



Карбгемоглобін є нестійкою сполукою і в легеневих капілярах надзвичайно швидко дисоціює, від'єднуючи CO_2 , який видаляється з видихуваним повітрям. Вважають, що обидві реакції відбуваються без участі ферментів.

Основна маса вуглекислоти переноситься з кров'ю до легень у формі гідрокарбонату. У механізмі перенесення CO_2 від тканин до легень важливу роль виконує гемоглобін еритроцитів. Суть цього процесу полягає в наступному. Оксигемоглобін, що надходить з артеріальною кров'ю в тканини, є більш сильною кислотою, ніж H_2CO_3 . Він зв'язаний із калієм і позначається як KHbO_2 . У периферичних капілярах великого кола кровообігу оксигемоглобін еритроцитів віддає кисень тканинам ($\text{KHbO}_2 \rightarrow \text{O}_2 + \text{Hb}$). Утворений гемоглобін є надзвичайно слабкою органічною кислотою, калійна сіль якої майже повністю розщеплюється навіть такою слабкою кислотою, як вугільна: $\text{K} - \text{Hb} + \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H} - \text{Hb}$. Одночасно в еритроцит надходить продукт обміну – вуглекислий газ. Під впливом ферменту карбоангідрази CO_2 взаємодіє з водою. При цьому утворюється вугільна кислота. Надлишок іонів водню зв'язується з гемоглобіном, а утворені аніони HCO_3^- зразу ж дифундують із еритроцитів у плазму:



Замість цих іонів в еритроцит надходять іони хлору, тобто в еритроцитах зростає концентрація KCl , у той час як натрій, інша складова частина натрію хлориду, що міститься в крові, залишається в плазмі. Унаслідок цього в плазмі крові збільшується вміст натрію гідрокарбонату – NaHCO_3 .

У легеневих капілярах проходить витіснення вугільної кислоти із NaHCO_3 оксигемоглобіном, який утворюється після приєднання кисню до $\text{H}-\text{Hb}$: а) $\text{H}-\text{Hb} + \text{O}_2 \rightarrow \text{H}-\text{HbO}_2$; б) $\text{H}-\text{HbO}_2 + \text{K}^+ + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{KHbO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3$. Утворена вугільна кислота швидко розщеплюється за участі карбоангідрази на вуглекислий газ і воду. Низький парціальний тиск CO_2 у просвіті альвеол сприяє дифузії його із еритроцитів у легені, звідки він виділяється разом із видихуваним повітрям.

Таким чином, у формі гідрокарбонату за участі гемоглобіну еритроцитів із кров'ю до легень транспортується більше 80 % усієї кількості CO_2 , яка переноситься від тканин до легень.

У процесах дисоціації H_2CO_3 на H_2O і CO_2 в легеневих капілярах і утворення H_2CO_3 із CO_2 і H_2O у капілярах тканин важливу роль виконує фермент карбоангідраза, яка більш ніж у 1000 разів прискорює ці реакції.

РОЗЛАДИ ДИХАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ КРОВІ

При багатьох патологічних процесах розвивається гіпоксія (від грецького *hypo* – під, нижче і лат. *oxigen* – кисень) – патологічний стан, який виникає в результаті погіршення забезпечення тканин організму киснем. За механізмами розвитку розрізняють гіпоксію екзогенну, респіраторну, серцево-судинну (циркуляторну), гемічну (кров'яну), цитотоксичну (або токсичну) і змішану.

Екзогенний тип гіпоксії виникає внаслідок зниження парціального тиску кисню в повітрі, що вдихається. Це спостерігається при падінні загального барометричного тиску (гіпобарична форма) або при зменшенні концентрації кисню при нормальному загальному тиску газів. Проте тварини, які живуть високо в горах, пристосувалися до існування в атмосфері зі зниженою кількістю кисню. Одним із таких пристосувань є зниження парціального тиску кисню, яке необхідне для насилення ним крові. Наприклад, для лами, щоб 50 % гемоглобіну було насищено киснем, необхідним тиском є лише 22–24 мм рт. ст., у той час як для людини і коня таким тиском є 26 мм рт. ст. Іншим пристосуванням є особливості кривої дисоціації оксигемоглобіну. Завдяки кругому підйому середньої частини цієї кривої (рис. 25) артеріо-венозна різниця може залишатися в межах норми, незважаючи на досить значне зниження парціального тиску кисню у вдихуваному повітрі. Так, при pO_2 у повітрі 65 мм рт. ст. і зниженні pO_2 у тканинних капілярах до 28–30 мм рт. ст. артеріо-венозна різниця перебуває в межах норми (5 об. % O_2). Однак при більш вираженій гіпоксемії умови постачання тканин киснем через значне зниження парціального тиску в тканинних капілярах і порушення процесу дифузії O_2 у тканині різко погіршуються.

Серцево-судинний (циркуляторний) тип гіпоксії виникає внаслідок недостатності серцево-судинної системи, що погіршує забезпечення тканин киснем на фоні нормального насилення ним артеріальної крові. Циркуляторна гіпоксія розвивається в результаті зменшення швидкості течії крові або при зменшенні загальної маси крові в організмі. В умовах спокою необхідна кількість кисню може надходити у тканини за рахунок зниження pO_2 у тканинних капілярах до 17 мм рт. ст., але при цьому порушується обмін речовин у тканинах. Однак при фізичному навантаженні досить швидко розвивається гіпоксія.

Гемічний тип гіпоксії виникає при зменшенні кількості гемоглобіну в крові або при втраті гемоглобіном властивості приєднувати

кисень чи віддавати його в обмін на вуглекислий газ. Таке явище найчастіше розвивається при перетворенні оксигемоглобіну в метгемоглобін та карбоксигемоглобін. Метгемоглобін утворюється внаслідок впливу великої групи речовин, що окиснюють гемоглобін: залізо переходить із закисної (дновалентної) в окисну (тривалентну) форму. До таких речовин належать нітрати і нітрити, ряд лікарських речовин (антіпірин, фенацетин, амідолірин, сульфаниламіди). Метгемоглобін не може приєднувати і транспортувати кисень, через що знижується киснева емність крові.

Слід зазначити, що процеси окиснення дновалентного заліза гемоглобіну до тривалентного з утворенням метгемоглобіну в організмі проходять постійно. У людини щодня утворюється від 4 до 10 % метгемоглобіну, проте концентрація його в крові не перевищує 1–1,5 % (у телят 1–3-місячного віку – 2–3 %). Це пояснюється тим, що водночас з утворенням метгемоглобіну проходять процеси його відновлення. Важлива роль у цьому належить гліцеральдегідфосфатдегідрогеназі, каферментом якого є нікотинамідаденіндинуклеотид. Реакція окиснення супроводжується відновленням НАД, а водень, що приєднується до нього, використовується для редукції метгемоглобіну.

Суттєву роль у відновленні метгемоглобіну в еритроцитах виконує відновлений глутатіон. При досить високому його вмісті в еритроцитах метгемоглобіноутворення за рахунок дії ендогенного пероксиду водню не проходить, оскільки H_2O_2 розкладається в системі глутатіонпероксидази.

Гемічна форма гіпоксії розвивається також внаслідок утворення сполуки гемоглобіну з оксидом вуглецю – карбоксигемоглобіну ($HbCO$). Оксид вуглецю має спорідненість з гемоглобіном у 300 разів більшу, ніж кисень. При взаємодії з гемом його молекули витісняють кисень і утворюють карбоксигемоглобін, який не може переносити кисень.

Гістотоксична гіпоксія зумовлюється різким зменшенням забезпечення тканин киснем при отруєнні організму ціанідами (солями синильної кислоти). Потрапляючи в організм, ціаніди порушують окиснення цитохрому, що перешкоджає відновленню заліза у дновалентну форму і перенесенню кисню на цитохром. За цієї патології тканини не здатні поглинати кисень із крові капілярів, навіть при високому значенні pO_2 (близько 45–50 мм рт. ст.). У результаті цього розвивається тяжка форма гіпоксії, яка може закінчитися загибеллю організму.

БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ КРОВІ ПРИ АНЕМІЯХ

Анемія (*anæmia*) у перекладі з грецької означає “безкрів’я” (*an* – без, *haima* – кров). На сьогодні у ветеринарній медицині цим терміном визначають патологічний стан організму, який виникає внаслідок зниження вмісту гемоглобіну та еритроцитів або одного з них в одиниці об’єму крові, що призводить до гіпоксії і змін в органах кровотворення. Провідною ланкою в патогенезі анемій є кисневе голодування тканин (*гіпоксія*), проте при анеміях виникають патологічні зміни, спровоковані недостатністю трофічної, екскреторної, захисної, терморегуляторної та інших життєво важливих функцій крові.

За етіологією та патогенезом виділяють такі групи анемій: 1) пост-геморагічну (гостру і хронічну); 2) гітопластичну; 3) гемолітичну; 4) апластичну. Існують рекомендації (Сукманський О.І., Улизько С.І., 2000) щодо виокремлення дисгемопоетичної анемії, яка може бути зумовлена порушенням утворення гемоглобіну, синтезу ДНК і РНК (*мегалобластична*), регуляції еритроцитопоезу та пригніченням проліферації клітин кісткового мозку (*гітопластична*). За здатністю кісткового мозку до регенерації анемії слід поділяти на регенераторні, гіпо- і арегенаторні; за насиченістю еритроцитів гемоглобіном – гіпо-, нормо- і гіперхромні; за розмірами еритроцитів – мікро-, нормо- і макроцитарні.

Найбільш поширеною серед сільськогосподарських тварин є дисгемопоетична анемія, яка зумовлюється порушенням утворення гемоглобіну внаслідок нестачі заліза і міді в кормі, погіршення їх усмоктування, нестачі кобальту, вітамінів Е і В₆. Раніше її називали *аліментарною*, або *залізодефіцитною*, зважаючи на основну роль нестачі заліза в етіології хвороби. Частіше хворіють на неї поросята-сисуни. Захворювання починає розвиватися з 5–7-денноого віку і максимального розвитку досягає у тритижневому (Карелін А.І., 1983). Телята хворіють від дня народження до дво-тримісячного віку. Захворювання реєструють у 30–40 % телят (Курбаналиева С.К., 1982; Левченко В.І. зі співавт., 1990). Дуже поширена залізодефіцитна анемія і серед людей у всіх країнах світу. Найбільш часто вона зустрічається у дітей, підлітків і жінок (Вороб'єв А.І. с соавт., 1985).

У хворого молодняку при відносно незначному зменшенні кількості еритроцитів різко знижується вміст гемоглобіну в крові, зменшується насиченість ним еритроцитів. Гіпохромія характеризується наявністю широкого просвітлення в центрі еритроцита, радіус якого удвічі більший (2 : 1) за радіус периферичного затемнення, у той час як у здорових тварин вони однакові (1 : 1).

Найбільш чутливим тестом при анемії є зменшення кількості заліза в сироватці крові, тобто заліза, яке зв'язане з трансферином (розділ 7). Якщо його рівень становить менше 70 мкг/100 мл (12,5 мкмоль/л), то це вказує на початок розвитку анемії (Карелін А.І., 1983).

У 10-дennих поросят інтенсивність включення ^{59}Fe до складу молекул залізопротеїнів в еритроїдних клітинах кісткового мозку знижується. Починаючи з триденного віку, до 30-го дня життя після народження в сироватці крові тварин збільшується концентрація феритину. Такі результати свідчать про зниження інтенсивності використання іонів заліза у процесах еритроцитопоезу. Водночас, починаючи з триденного віку, у поросят знижується спорідненість гемопротеїну до кисню, що є однією з компенсаторних реакцій організму, спрямованих на забезпечення зростаючої потреби тканин у кисні в період інтенсивного росту.

Отже, можна стверджувати, що в механізмах пригнічення синтезу гемоглобіну та розвитку постнатальної анемії в організмі поросят раннього віку важливе значення має не лише зменшення вмісту заліза в організмі тварин після народження у зв'язку з недостатньою функціональною активністю печінки, як залізодепонуючого органа в постнатальному періоді, та низьким умістом іонів заліза в молоці свині, але й зниження проліферативної активності еритроїдних клітин та інтенсивності використання іонів заліза в біосинтетичних процесах, що може зумовлюватися порушенням регуляторних механізмів. Певною мірою такий ефект може бути наслідком зниження функціональної ролі еритропоетину в регуляції еритроцитопоезу в ранньому періоді після народження через зменшення вмісту цього біорегулятора в організмі поросят, а також активацією надходження в кров інгібіторів еритроцитопоезу, зокрема IL-1, синтез якого стимулюють чинники, що містяться в молозиві (Антоняк Г.Л., 2002).

За даними літератури (Вороб'єв А.І. с соавт., 1983; Николадзе М.Г., 2002), концентрація сироваткового феритину при анеміях зменшується, внаслідок чого компенсаторно збільшується вміст транспортного для заліза білка – трансферину, що сприяє інтенсифікації обміну заліза та абсорбції його в кишечнику. Оскільки вміст заліза в сироватці крові знижується, а трансферину підвищується, то коефіцієнт насиченості його залізом зменшується в 3–3,5 рази. Природно, що протилежна спрямованість змін умісту заліза і трансферину зумовлює підвищення загальної залізозв'язувальної здатності сироватки крові. Тобто, кількість заліза, яке може зв'язуватися з трансферином, зростає. У хворих поросят ця кількість становить близько 70 мкмоль/л проти 40 у здорових (Николадзе М.Г., 2002). Оскільки залізозв'язу-

вальна здатність сироватки крові зростає, а вміст заліза в ній зменшується, то збільшується ненасичена, або латентна, залізов'язувальна здатність сироватки крові (у поросят-сисунів – у 4–6 разів).

На розвиток анемії організм реагує зростанням активності 2,3-дифосфогліцерату. На більш пізніх стадіях хвороби змінюється популяційний склад еритроцитів: “старі” еритроцити елімінуються, тому в кров’яне русло надходять “зрілі” і “молоді”. Зростання кількості “молодих” еритроцитів, які є більш стійкими до кислотних гемолітичів, зумовлює збільшення тривалості гемолізу еритроцитів. Ліпідний склад мембрани еритроцитів характеризується зменшенням загальної кількості ліпідів і холестеролу та підвищенням умісту фосфоліпідів (Москаленко В.П., 1999). Різноспрямованість цих змін призводить до порушення структури мембрани еритроцитів.

Унаслідок гіпоксії клітин зменшується надходження кисню в мітохондрії, що викликає пригнічення мітохондріального окиснення, яке супроводжується пригніченням фосфорилування, що зумовлює зменшення утворення АТФ. У результаті цього активується фосфофруктокіназа – один з основних ферментів гліколізу. Активація гліколізу частково компенсує нестачу енергії, але досить швидко спричинює накопичення лактату і розвиток ацидозу. Одночасно проходить розпад фосфоліпідів і порушується їх синтез, що призводить до зростання концентрації ненасичених жирних кислот, пригнічується активність антиоксидантних систем – супероксиддисмутази, каталази, церулоплазміну, системи глутатіону, у результаті чого зростає перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ). Вільні радикали, які утворюються при ПОЛ, пригнічують активність β -клітин підшлункової залози, унаслідок чого порушується синтез інсуліну, який є важливим стимулятором еритроцитопоезу. Okрім того, знижується рівень зв’язування інсуліну рецепторами еритроцитів, оскільки після народження в поросят зменшується кількість рецепторів із високою спорідненістю до інсуліну (Антоняк Г.Л., 2002). Це поглибує розвиток енергетичного дефіциту не лише в еритроцитах, а й в усіх тканинах організму.

Наслідком енергодефіциту і ПОЛ є пошкодження біологічних мембрани і їхніх ферментів, що викликає порушення функцій, які вони виконують: бар’єрної, рецепторної і каталітичної. Енергодефіцит при анемії сприяє накопиченню Ca^{2+} в цитоплазмі клітин, у тому числі і в еритроцитах, оскільки блокуються енергозалежні помпи, які видаляють його із клітини. Унаслідок збільшення концентрації Ca^{2+} активуються кальціевалежні фосфоліпази, які посилюють деструкцію клітинних структур і ферментів.

Дефіцит заліза в організмі призводить до порушення метаболічних процесів у тканинах, що зумовлює трофічні розлади різних органів і систем. Нестача заліза знижує активність каталази, пероксидази, цитохрому c , цитохромоксидази, що спричиняє розлади окиснюванально-відновних процесів, дистрофічні зміни, передусім в епітеліальніх клітинах шлунково-кишкового каналу. При цьому знижується кількість шлункового соку, активність α -амілази, ліпази, трипсину, що веде до недостатнього засвоєння амінокислот, моноцукрів, ліпідів, вітамінів, мінеральних речовин. Таким чином виникає “зачароване коло”: дефіцит заліза \longrightarrow ураження шлунка \longrightarrow посилення дефіциту заліза.

Дефіцит кисню, що виникає при анемії, зумовлює звільнення простагландинів і простаціклінів нирками і меншою мірою – печінкою. Це сприяє активізації аденілатциклази, підвищенню рівня цАМФ в нирках і посиленню біосинтезу еритропоетину (ЕП), унаслідок чого зростає його кількість у плазмі. Еритропоетин стимулює функцію червоного кісткового мозку, у результаті чого збільшується синтез ДНК в еритроїдних клітинах кісткового мозку, стимулюється їх мітотична активність, скорочується період дозрівання та збільшується синтез гемоглобіну.

Водночас еритропоетин гальмує продукування лейкоцитів, що призводить до зменшення кількості лейкоцитів у крові і розвитку імунодефіцитного стану. У крові при цьому зменшується загальна кількість лімфоцитів, популяції Т- і особливо В-лімфоцитів, кількість нейтрофілів і моноцитів, знижуються фагоцитарна активність та індекс фагоцитозу, елімінуюча здатність крові, вміст загального білка та імуноглобуліну G (Николадзе М.Г., 2002).

Перераховані біохімічні зміни зумовлюють розвиток симптомів, типових для анемічного синдрому (блідість шкіри і видимих слизових оболонок, тахікардію, задишку, відставання в рості), і симптомів тканинного дефіциту заліза (сідеропенічний синдром). Сідеропенічний стан проявляється періодичними шлунково-кишковими розладами (діареї), затримкою линьки, спотворенням смаку. Щетина у хворих поросята стає тъмною, з часом набуває жовто-коричневого відтінку, шкіра – сухою, зморшкуватою, брудно-сірого кольору.

БІОХІМІЯ І ПАТОБІОХІМІЯ ЗГОРТАННЯ КРОВІ

Здатність крові до згортання з утворенням тромба, або згустка у просвіті дрібних кровоносних судин при їх пошкодженні була відома людям з давніх часів. Лише при деяких уроджених захворюваннях –

різних формах гемофілії – здатність крові до згортання різко порушується. Перші дані про механізми згортання крові були описані 130 років тому (1872 р.) А.Шмідтом, а в 1905 р. – Моравітцом. Основні положення теорії Шмідта-Моравітца (протромбін – тромбін – фібриноген – фібрин) зберігають своє значення і донині. Схематично вона має такий вигляд (рис. 26):

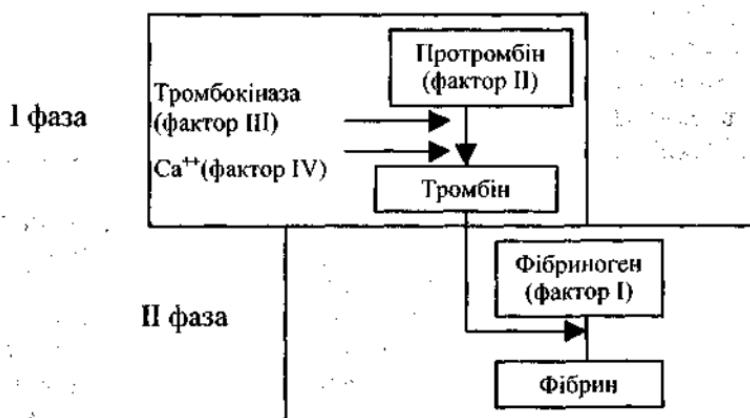


Рис. 26. Схема згортання крові (за Шмідтом–Моравітцом)

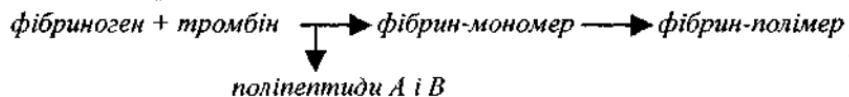
Протромбін переходить в активний тромбін під впливом іонів кальцію і тромбокінази, яка міститься в тромбоцитах і звільняється при їх руйнуванні (І фаза). Потім під впливом утвореного тромбіну фібриноген перетворюється у фібрин (ІІ фаза). Порівняно проста теорія Шмідта-Моравітца в подальшому значно ускладнилась новими даними, які “перетворили” згортання крові у складний ферментативний процес.

Система згортання крові

Згортання крові – це процес переходу крові з рідкого стану в желе-подібний згусток. Цей процес є захисною біологічною реакцією, яка охороняє організм від утрати крові при порушенні цілісності судин. У процесі згортання крові беруть участь компоненти плазми, тромбоцитів і тканин, які називаються факторами згортання крові. Організмом вони виробляються в неактивному стані. Якщо з них утворюються активні фактори, то до їх позначення добавляється буква “а”.

Фібриноген (фактор I) – це білок плазми крові, який синтезується в печінці. Під впливом ферменту тромбіну від фібриногену від'єд-

нуються пептиди А і В, і фібриноген перетворюється в добре розчинний у плазмі крові фібрин-мономер, який швидко полімеризується у фібрин-полімер:



Нитки фібрин-полімеру легко склеюються одна з одною і стінками судин, утворюючи густу сітку, яка заповнюється форменими елементами і рідкою частиною крові. Внаслідок цього рідка частина крові перетворюється в желеподібну масу (згусток крові). Так формується тромб, який закриває просвіт судин на місці їх пошкодження. Для полімеризації ниток фібрину необхідні іони кальцію.

Через 1–4 год після утворення згустка нитки фібрину скорочуються, що зменшує об'єм згустка і відділяє від нього частину рідини. Цей процес називається *ретракцією згустка*.

Кровотечі, зумовлені вродженою недостатністю фібриногену або повною його відсутністю в крові, трапляються досить рідко. Зниження вмісту фібриногену в крові спостерігається при цирозі печінки або при посиленому розщепленні його (фібринолізу) фібринолізином після ускладнених пологів та при деяких пухлинах.

Протромбін (фактор II) є неактивним попередником тромбіну – ферменту, який викликає згортання (полімеризацію) фібриногену. Недостатність протромбіну може бути вродженою або набутою (при хворобах печінки, де він синтезується, та за нестачі вітаміну К, у синтезі якого вітамін бере активну участь).

Тромбін є протеолітичним ферментом, який перетворює фібриноген спершу у фібрин-мономер, а потім у фібрин-полімер. Тромбін утворюється в плазмі із протромбіну під впливом ряду факторів: активного тромбіну, тромбокінази (повного тромбопластину крові), тромбопластину тканин, іонів Са, білків плазми крові – акцептерину і конвертину.

Тромбопластин (фактор III) необхідний для перетворення протромбіну в активний тромбін. Він являє собою систему, яка складається із кількох факторів згортання. окрім фактора 3 тромбоцитів, до них належать не менше 5 інших факторів, які інколи називають тромбопластином плазми: фактори Хагемана (ф. XII), Розенталя (ф. XI), Процера-Стюарта (ф. X), Крістмана, або антигемофільний фактор В (ф. IX), і антигемофільний фактор А (ф. VIII). Усі вони є білками плазми крові. До складу тромбопластину крові входять також іони кальцію (ф. IV).

Таким чином, перша фаза згортання крові – перетворення протромбіну в активний тромбін під впливом тромбокінази (див. схему Шмідта-Моравітца) – на сучасному етапі досліджень доповнена ланкою, яка одержала назву *профази*.

Для перетворення протромбіну в активний тромбін, окрім тромбопластину крові (тромбокінази за Шмідтом), необхідні ще кілька факторів: а) білки плазми крові – проакцелерин і проконвертин, які легко перетворюються у свої активні форми (акцелерин і конвертин); б) тромбопластин тканин.

Іони кальцію (фактор IV). У процесах згортання крові беруть участь лише іони кальцію сироватки крові. Вони необхідні на всіх фазах згортання: для утворення тромбопластину, разом із тромбіном діють на фібриноген, забезпечують стабілізацію тромба.

Тканинний тромбопластин, або *тромбопластин тканин*, утворюється при пошкодженні тканин. У здорових людей і тварин, він, як правило, не надходить у циркулюючу кров у великих кількостях. Він, в основному, бере участь у локальному гемостазі. У його утворенні беруть участь фактор X плазми, конвертин і акцелерин.

Проакцелерин (фактор V). Фактором V називають також його активну форму – акцелерин, або сироватковий А_c-глобулін (*фактор VІ*). Сліди тромбіну можуть перетворювати проакцелерин у його активну форму – акцелерин, а утворений акцелерин у свою чергу бере участь у системі, яка каталізує утворення протромбіну (активного тромбопластину) і перетворення протромбіну в тромбін. Оскільки фактор V синтезується в печінці, то ураження її призводить до зменшення синтезу і вмісту цього фактора в плазмі, що знижує швидкість згортання крові.

Конвертин (фактор VII) входить до складу системи, яка стимулює перетворення протромбіну в тромбін. Цей фактор необхідний для утворення тканинного тромбопластину. Конвертин (проконвертин) синтезується в печінці, тому ураження печінки і нестача вітаміну К різко знижують уміст фактора VII у крові, що впливає на швидкість згортання крові.

Антигемофільний глобулін A (фактор VIII) є одним із найважливіших компонентів системи згортання крові (тромбопластину). Він активує фактор IX. Уроджена нестача фактора VIII є причиною гемофілії А, яка найчастіше реєструється в людей (85–88 % від спадкових порушень згортання крові) і рідко зустрічається серед сільськогосподарських тварин, переважно у коней і свиней (частіше хворіють собаки).

Антигемофільний глобулін B (фактор IX) бере участь в утворенні тромбопластину плазми, активується фактором XI. Уроджена

відсутність його є причиною гемофілії В, частка якої серед загальної кількості хворих на гемофілію людей становить 6–13 %.

Фактор X бере участь в утворенні тромбопластину плазми і синтезується клітинами печінки. Синтез його залежить від умісту в печінці вітаміну К.

Фактор XI бере участь у синтезі тромбопластину плазми. Нестача його призводить до розвитку гемофілії С.

Фактор Хагемана (фактор XII) бере участь у початковій стадії утворення тромбопластину плазми. У хворих із вродженою відсутністю цього фактора спостерігається збільшення тривалості згортання крові при відсутності кровотечі. Фактор Хагемана активує фактор XI. Він бере участь не лише у згортанні крові, а й у фібринолізі.

Фактор Флетчера – прекалікрейн плазми бере участь в реакції коагуляції у фазі контакту. Під впливом фактора XIIa трансформується в калікрейн.

Фактор Фітцгеральда – високомолекулярний кініноген плазми, який активується калікрейном у кініні. Бере участь в активації фактора XI.

Фібриностабілізуючий фактор (фактор XIII) сприяє утворенню міцних міжмолекулярних зв'язків у фібрин-полімері. Активується тромбіном у присутності іонів кальцію.

Окрім факторів плазми і тканин, в утворенні системи згортання крові беруть участь фактори, зв'язані з **тромбоцитами** (кров'яними пластинками). Дозрілі тромбоцити циркулюють як без'ядерні диски, оточені тришаровою ліпопротеїновою оболонкою, мають три типи гранул і систему внутрішніх канальців, які дозволяють умісту гранул звільнитися в напрямку поверхні тромбоцитів. При пошкодженні стінки судин відкриваються субендотеліальні елементи, тобто базальна мембрana, колаген і міофібрили. Циркулюючі тромбоцити взаємодіють з колагеном, їхня форма з дископодібної змінюється на сферичну з псевдоподіями. До одинарного шару тромбоцитів приєднуються наступні, утворюючи агрегати, для чого необхідна також присутність фібриногену і фібронектину. Різні індуктори агрегації (колаген, серотонін, арахідонова кислота і її метаболіти) реагують із тромбоцитарними рецепторами, що посилює агрегацію.

Фактор 1 тромбоцитів – це адсорбований на поверхні тромбоцитів проакцептерин (або Ас-глобулін – фактор V плазми).

Фактор 2 тромбоцитів прискорює перетворення фібриногену під впливом тромбіну, сприяє полімеризації фібрин-мономеру з утворенням фібрин-полімеру.

Фактор 3 тромбоцитів разом із тромбопластичними факторами плазми (V, VIII, IX, X) і Ca^{++} утворює повний кров'яний тромбопластин (тромбокіназу крові) – фермент, який перетворює основну кількість протромбіну в тромбін.

Фактор 4 тромбоцитів є антигепариновим фактором, який гальмує антитромбопластичну і антитромбінову дію гепарину.

Фактор 5 тромбоцитів сприяє склеюванню тромбоцитів у скупчення.

Фактор 6 тромбоцитів – серотонін – звужує кровоносні судини і зменшує проникність капілярів. Звільненню серотоніну із тромбоцитів сприяє тромбін.

Фактор 7 тромбоцитів – антифібринолізин – попереджує дію протеолітичного ферменту фібринолізину, який розщеплює фібрин і фібриноген.

Фактор 8 тромбоцитів викликає ретракцію фібрину.

Механізм згортання крові

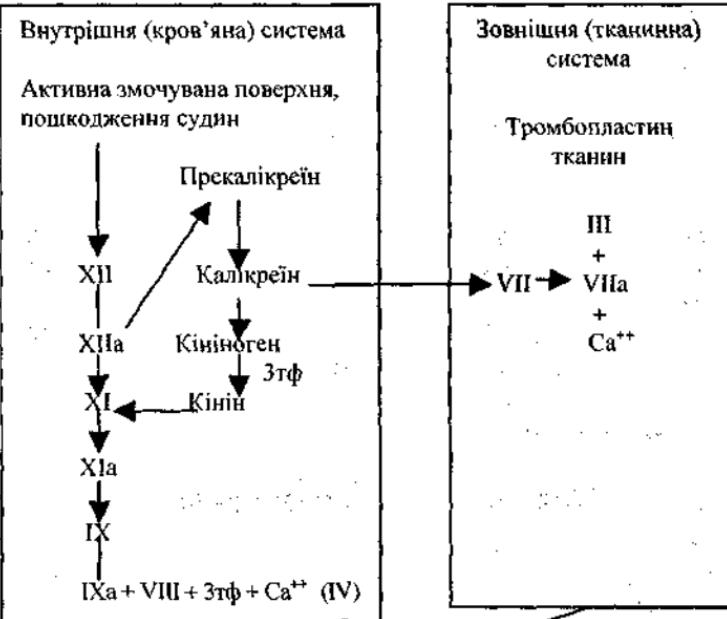
Процес згортання крові включає 4 фази: перша фаза, або профаза – це протромбіназоутворення; друга – тромбіноутворення; третя – фібриноутворення; четверта – ретракція і фібриноліз згустка.

У згортанні крові беруть участь фактори “внутрішні”, або внутрішньосудинні, тобто судин і крові, та “зовнішні” – тканинна система. Внутрішня система згортання починається активацією фактора Хагемана (XII) під впливом пошкодженої або зміненої стінки судин внаслідок васкулітів, атеросклерозу, інтоксикацій, дії калікрейну, насичених жирних кислот, холестеролу, трипсину.

Утворений у результаті контактної активації фактор XIIa збільшує активність прекалікреїну, який перетворюється в калікреїн, і фактора XI – плазменого попередника тромбопластину. Калікреїн трансформує фактор VII у VIIa і перетворює кініноген у кінін (рис. 27). Утворений комплекс: XIIa + фактор 3 + іони кальцію + фактор XI – за участі кініну трансформує фактор XI в XIa, який активує фактор IX. Фактор IXa разом із факторами VIII, IV (Ca^{++}) і 3 перетворює фактор X у Xa.

Комплекс факторів $\text{Xa}+\text{V}+3\text{tf}+\text{IV}$ може перетворити протромбін (II) у тромбін (IIIa), тому він називається *протромбіназою*, або активним тромбопластином. Оскільки в утворенні протромбінази беруть участь фактори плазми і тромбоцити всередині судин, то цей шлях формування ферменту називається внутрішнім (внутрішньосудинним). На відміну від нього, у зовнішньому шляху формування протромбінази основну участь бере тромбопластин тканин (фактор III),

Протромбіоутворення



Протромбіназа

(активний тромбопластин)

Xa+V+3тф+Ca⁺⁺ (IV)

Тромбіоутворення

Протромбін (II)

Va+VIIa+Xa+Ca²⁺

Тромбін (IIa)

XIII → XIIIa

Фібриноутворення

Фібриноген

Фібрин-мономер

Фібрин-полімер

XIIIa

Рис. 27. Схема згортання крові

який надходить у кров при їх травмуванні. Він створює з фактором VIIa та іонами Сa комплекс, який активує фактор X у Xa. Утворення протромбінази обома шляхами, як правило, відбувається одночасно, оскільки травма завжди поєднана з активацією внутрішньосудинної і тканинної систем утворення протромбінази.

Поява протромбінази (активного тромбопластину) є показником завершення першої фази (профази) згортання крові, яку ще називають контактно-калікрейн-кінін-каскадною.

Протромбіназа (активний тромбопластин) трансформує протромбін (фактор ІІ) у тромбін (фактор ІІa). Цим завершується друга фаза згортання крові – фаза тромбоноутворення. Перші порції утвореного тромбіну каталізують утворення самого тромбіну шляхом прискорення всіх попередніх реакцій. Він активує тромбоцити, фактори V і VIII, а останній (VIIIa) у десятки разів прискорює утворення фактора Xa. Тромбін у мінімальній кількості в десятки разів збільшує спорідненість фактора V і фосфоліпідів, на які багатий фактор Зтф, що супроводжується прискоренням утворенням протромбінази і перетворенням протромбіну в тромбін (рис. 27).

Таким чином, поява тромбіну супроводжується циклом каталітичних реакцій, які значно прискорюють утворення протромбінази.

Третя фаза згортання крові – фаза фібриноутворення – полягає в тому, що тромбін діє на молекулу фібриногену, від якої від'єднуються два фібринопептиди – А і В, внаслідок чого вона перетворюється в мономер-фібрин, який з'єднується з іншими молекулами мономер-фібрину. Ці об'єднані мономери фібрину називаються фібринополімером. Вони випадають в осад, утворюючи гель і волокнисто-сітчасту структуру, яка є основою тромба (рис. 27).

Окрім впливу на фібриноген, тромбін активує фактор XIII, перетворюючи профібриназу (XIII) у фібриназу (XIIIa), яка забезпечує стабілізацію тромба і зменшує його чутливість до фібринолізу.

Протизгортуюча система крові

Дослідники і лікарі в різний час задумувались над питанням: чому, незважаючи на наявність досить потужної системи згортання крові, основна маса її перебуває в рідкому стані? Численні дослідження в цьому напрямку дозволили в цілому з'ясувати природу антикоагулянтної (протизгортуючої) системи крові і стало зрозумілим, що в її утворенні, як і у формуванні системи згортання крові, бере участь цілий ряд факторів плазми крові, тромбоцитів і тканин. До цих факторів належать різні антикоагулянти – антитромбопластини,

антитромбіни та фібринолітична система крові. Найбільше значення мають антитромбіни. Вважають, що в організмі існують специфічні інгібітори для кожного фактора згортання крові (антиакцелерин, антиконвертин і т. д.). Зниження активності цих інгібіторів повинно, очевидно, підвищувати згортання крові і сприяти утворенню тромбів. Підвищення активності інгібіторів, навпаки, гальмує згортання крові і може супроводжуватися розвитком геморагій.

Найбільш швидкодіючим компонентом протизгортаної системи крові є *антитромбіни*, які належать до групи прямих антикоагулянтів, оскільки перебувають в активній формі, а не у вигляді активних попередників. Вважають, що в плазмі крові міститься близько 6 різних *антитромбінів*.

Антитромбіном I називають фібрин і фібриноген, які зв'язують (адсорбують) тромбін, який при цьому не руйнується і може звільнитися при фібринолізі.

Антитромбін II – це гепарин зі своїми кофакторами. Він гальмує вплив тромбопластину на протромбін і тромбіну – на фібриноген. Кофактор підвищує спорідненість гепарину до тромбіну і таким чином прискорює його інактивацію. Невелика кількість гепарину знаходиться на стінках судин, що сприяє розчиненню гіпотетичної плівки фібрину на ендотелії капілярів, яка, як вважають, утворюється внаслідок фізіологічного руйнування тромбоцитів у кров'яному руслі. Здатність гепарину уповільнювати згортання крові та інактивувати тромбін й інші фактори гемокоагуляції значною мірою залежить від умісту в крові антитромбіну III: чим менше останнього в плазмі, тим менша й ефективність гепарину. У свою чергу гепарин, з'єднавшись з АТ-ІІІ, значно прискорює його антикоагулянтну дію і фіксує його на поверхні ендотелію.

Антитромбін III інгібує активність тромбіну, факторів IX, X, XI і XII. У людей зі спадковою недостатністю його спостерігається склонність до утворення тромбів.

α₂-Макроглобулін впливає лише на тромбін. Антитромбінова дія його особливо чітко виражена при депресії АТ-ІІІ.

До “непрямих антитромбінів” належать різні антагоністи факторів згортання крові: антиакцелерин, антиконвертин, антагоністи вітаміну К, який необхідний для синтезу в печінці факторів II, VII, IX, X, та інші речовини, які гальмують окремі проміжні ланки утворення тромбіну.

Фібриноліз

В організмі існує могутня *фібринолітична* система, яка забезпечує можливість розчинення уже сформованих згустків фібрину (тромбів). Вона складається з цілого ряду ферментів і проферментів, акти-

ваторів і проактиваторів, які можна об'єднати у дві ланки: плазмінову і неоплазмінову – фібринолітичних компонентів лейкоцитів, еритроцитів і тромбоцитів. До плазмінової ланки належать плазміноген, ендотеліальний активатор плазміногену, проактиватор плазміногену, тканинні і бактеріальні кінази; інгібітори плазміну (антiplазміни), інгібітори активаторів плазміногену.

Згусток фібрину під впливом протеолітичного ферменту плазми крові – плазміну (*фібринолізину*) – поступово розсмоктується, утворюючи кілька розчинних у воді продуктів гідролізу – пептидів. У нормі плазмін перебуває в плазмі крові у формі неактивного попередника – плазміногену (*профібринолізину*). Перетворення плазміногену в плазмін каталізується активаторами крові (рис. 28). У нормі їх активність низька, тобто вони перебувають у формі проактиваторів. Швидке перетворення проактиваторів в активатор плазміногену відбувається під впливом тканинних лізокіназ, а також стрептокінази, яка у крові здорових тварин і людей відсутня. Стрептокіназа виробляється гемолітичним стрептококом і при стрептококовій інфекції утворюється у великий кількості, що інколи викликає посиленій фібриноліз і розвиток геморагічного діатезу.

Крім фібринолітичної системи, у крові людини і тварини існує й антифібринолітична система, яка складається з антикіназ, антиактиваторів і антифібринолізину. Антиплазмінову дію проявляють α_2 -антиплазмін, α_2 -макроглобулін, α_2 -антитрипсин, антитромбін III.

α_2 -антиплазмін утворює комплекс з фібрином, унаслідок чого згустки фібрину стають малоочутливими до фібринолітичної дії плазміну. α_2 -Макроглобулін також інактивує плазмін і калікреїни плазми.

Між системою згортання і протизгортання крові існує тісний зв'язок. Головна роль у розвитку порушень функції згортання крові належить, імовірно, системі тромбіну. Сліди тромбіну в циркулюючій крові спричиняють постійне, повільно протікаюче згортання крові на внутрішній поверхні кровоносних судин. Але швидкість цього процесу дуже низька, оскільки вона контролюється антизгортуючою системою крові. Утворена плівка фібрину безперервно розчиняється під дією фібринолізину, якого у крові також міститься мінімальна кількість.

Таким чином, у здоровому організмі існує стан своєрідної рівноваги між процесами утворення і руйнування фібрину та інших факторів згортання крові в судинній системі.

Повільний перебіг процесів згортання крові і фібринолізу на внутрішній поверхні кровоносних судин певною мірою зумовлений тим, що фібриноген зв'язує (адсорбує) як тромбін, так і фібринолізин.

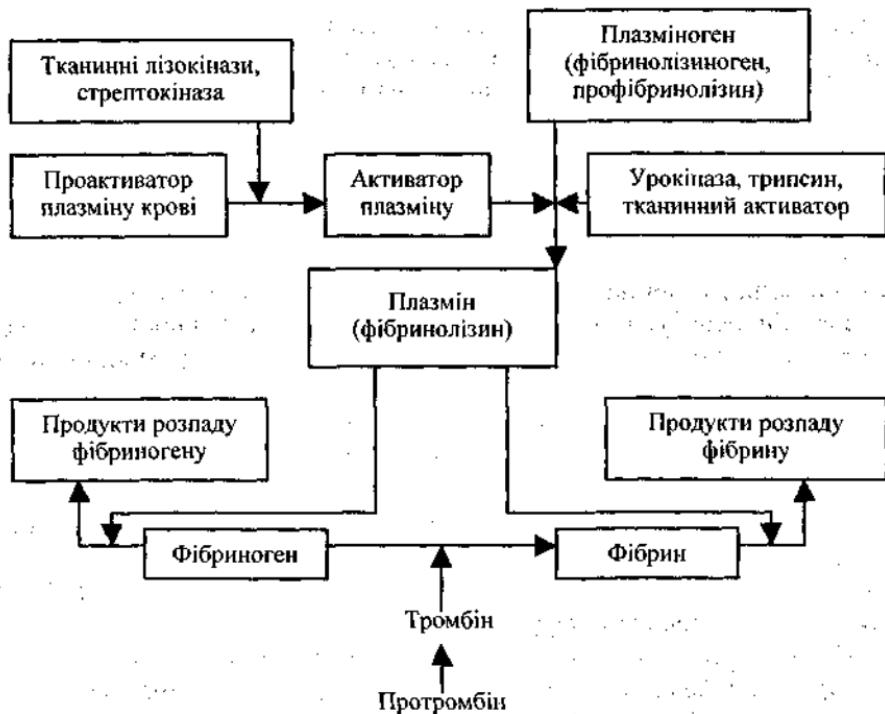


Рис. 28. Схема фібринолізу

Порушення оптимального співвідношення між процесами згортання крові і фібринолізу приводить до утворення тромбів або до посиленої кровотечі (геморагії). Пошкодження внутрішньої стінки судин також може призводити до утворення тромбів. Посилення фібринолітичної активності і збільшення концентрації в крові антикоагулянтів, особливо гепарину, а також відсутність або різке зниження концентрації одного з основних факторів системи згортання крові зумовлюють виникнення кровотечі.

Порушення гемостазу

Система гемостазу – це система організму, функціональною особливістю якої є, з одного боку, попередження і зупинка кровотечі шляхом підтримання структурної цілісності стінок судин і швидкого локального тромбування останніх при пошкодженнях, а з іншого – збереження крові в рідкому стані та її об’єму в кров’яному руслі.

Функціонально-структурними і біохімічними компонентами системи гемостазу є судинна стінка, тромбоцити та система згортання крові, яка включає згортуючу і антитромбічну (протизгортуючу) системи.

Окремі компоненти системи гемостазу входять в інші функціональні системи організму. Тому запалення всіх органів (гепатит, нефрит, артрит, пневмонія, ендометрит і т.д.) впливає на різні елементи і системи гемостазу в цілому, тобто вона включається в компенсаторно-пристосувальні, або захисні реакції організму. Інколи порушення гемостазу, спричинені хворобою, можуть мати вирішальне значення в її прогнозі і закінченні, зокрема, коли основна хвороба супроводжується тяжкими кровотечами або тромбозами.

Розрізняють три основні форми порушення процесу згортання крові – гіпокоагуляцію, гіперкоагуляцію і дискоагуляцію.

Гіпокоагуляція характеризується кровоточивістю (геморагіями), причини якої є дуже різними. За етіологією та патогенезом їх поділяють на первинні (ідіопатичні) і вторинні (симптоматичні). Первінні діатези у свою чергу поділяються на 3 основні групи: а) зумовлені порушенням згортання крові (гемофілія); б) пов'язані з порушенням тромбоцитопоезу і властивостей тромбоцитів (тромбоцитопенія); в) зумовлені порушенням проникності судинної стінки. Симптоматичні геморагічні діатези виникають при гіповітамінозах С, Р і К, багатьох інфекційних, інвазійних та алергічних хворобах і токсикозах.

Коагулопатії також поділяють на вроджені, які виникають за дефіциту або при повній відсутності окремих факторів згортання крові, та набуті, зумовлені здебільшого гіперактивністю протизгортуючої системи крові (насамперед, плазміногену). Плазмін, що утворюється, розщеплює не лише фібрин, а й фібриноген, а їх продукти блокують тромбін.

При вроджених геморагічних гемостазопатіях спостерігають дефект одного з факторів згортання крові, аномальний розвиток стінок судин або порушення функцій тромбоцитів. Набуті геморагічні гемостазопатії характеризуються множинними дефектами гемостазу. При них порушується система згортання крові, стінки судин (вазопатії) і тромбоцити. Вони є симптомами або синдромами захворювань різних органів, патології обміну речовин, інфекційних хвороб, токсикозів тощо.

Гіперкоагуляція, або *тромбофілічна гемостазопатія*, – це порушення гемостазу, яке клінічно проявляється тромбозами і тромбоемболіями. У механізмі розвитку гіперкоагуляції важливе значення ма-

ють коагулопатія, гіперактивація тромбоцитів та ураження стінок судин. В основі утворення тромбів лежать ті ж самі якісні реакції, що і при нормальному гемостазі. Тромбоз інколи може трансформуватися в геморагічний стан, який подібний до геморагічного діатезу. Тобто, у перебігу порушень гемостазу виражені дві фази – гіпер- і гіпокоагуляції. Часто такі порушення гемостазу називають **дискоагуляцією**. До них, зокрема, належить **синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (ДВЗ-синдром)**.

ДВЗ-синдром – це найбільш поширенна і потенційно небезпечна патологія гемостазу, в основі якої лежить згортання крові з утворенням множинних мікрозгустків фібрину і агрегатів клітин крові, які блокують кровообіг в органах, чим викликають у них глибокі дистрофічні зміни. Після інтенсивного згортання крові (період гіперкоагуляції) розвиваються гіпокоагуляція, тромбоцитопенія і геморагії. Цей синдром є неспецифічним і універсальним, оскільки виникає при найрізноманітніших захворюваннях і при впливі ендогенних та екзогенних (бактерії, віруси, рикетсії) факторів.

ДВЗ-синдром можуть спричинювати такі патологічні процеси: генералізовані інфекції та сепсис; усі види шоку (травматичний, анафілактичний, геморагічний, опіковий); травмуючі хірургічні “втручання”; гострий внутрішньосудинний гемоліз; акушерська патологія (мануальне видалення плаценти, емболія навколоплідними водами, внутрішньоутробна смерть плода тощо); пухлини, лейкози; дистрофічні процеси в печінці, нирках, підшлунковій залозі та інших органах.

В основі більшості форм ДВЗ-синдрому є активація системи згортання крові і тромбоцитарного гемостазу тромбопластином тканин, продуктами розпаду тканин і клітин крові, пошкодженим ендотелієм. Активують ланки системи гемостазу екзогенні фактори – мікроорганізми, значні кровотечі, гіпоксія тканин, ацидоз, пригнічення протизгортуючих механізмів (дефіцит плазміногену і його активаторів, значне підвищення антиплазмінової активності).

У патогенезі ДВЗ-синдрому центральне місце належить утворенню в кров'яному руслі тромбіну (тромбінемія) і виснаженню механізмів, які попереджують згортання крові та агрегацію тромбоцитів. Поява тромбіну в циркулюючій крові є необхідною умовою як трансформації фібриногену у фібрин, так і агрегації тромбоцитів і еритроцитів.

При більшості форм ДВЗ-синдрому ініціатором процесу згортання є тканинний тромбопластин (фактор III), який у комплексі з фак-

тором VI активує фактор X як безпосередньо, так і через фактор IX. Тромбоцитин тканин надходить у кров із пошкоджених тканин (при травмах, операціях, некрозах, деструкції бактеріального походження і т.д.) і може продукуватися за участі активованих тромбоцитів пошкодженим ендотелієм судин (пошкодження токсинами, продуктами гемолізу і т.д.). У процесі розвитку ДВЗ-синдрому знижується рівень основного фізіологічного антикоагулянта – антитромбіну III в плазмі, який витрачається на інактивацію ферментних факторів згортання, компонентів фібринолітичної системи (плазміногену) та її активаторів – прекалікрейну, кініногену на розщеплення фібрину.

Слід зауважити, що тромбінемія не відразу викликає внутрішньосудинне згортання крові. Спочатку частина фібрин-мономерів, що виникають під впливом тромбіну, утворюють разом із фібриногеном і фібринектином так звані фібрин-мономерні комплекси, або *роздчинний фібрин*. Це зменшує внутрішньосудинне згортання і забезпечує фібриноліз фібринових комплексів, які перебувають у крові в розчинній формі. Згортання проходить лише після того, як у розчинних комплексах блокується до 20–24 % фібриногену. Таким чином, при ДВЗ-синдромі фібриноген трансформується у два види фібрину – розчинний і коагулюючий.

Кровоточивість при ДВЗ-синдромі зумовлюється порушенням як системи згортання крові, так і токсичним впливом продуктів протеолізу на стінки судин, агрегацією або інтенсивним зміншенням у кровотоці тромбоцитів чи в результаті блокади їх продуктами фібринолізу.

Залежно від змін системи гемостазу, у розвитку ДВЗ-синдрому відділяють такі стадії: I стадія – стадія гіперкоагуляції та внутрішньосудинної агрегації тромбоцитів, активації ферментних систем плазми з розвитком згортання крові та формування блокади мікроциркуляторних шляхів в органах; II стадія – переходна, з нарощуючою коагулопатією і тромбоцитопенією внаслідок агрегації клітин. Це стадія зниження вмісту фібриногену, втрати інших факторів системи регуляції агрегатного стану крові; III стадія – глибокої гіпокоагуляції (майже повного незгортання крові); IV стадія – відновна, а за несприятливого перебігу це фаза ускладнень, яка частіше за все закінчується летально.

У ветеринарній медицині вивчення ДВЗ-синдрому поки що знаходиться на початковій стадії (Фасоля В.П., Дубова О.А., 1999; Дубова О.А., 2001), проте ця сфера досліджень є, без сумніву, одним із перспективних напрямків наукових пошуків.

ЗМІСТ

ВСТУП

КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ: СУТЬ І ЗАВДАННЯ ПРЕДМЕТА.....	3
Історія розвитку клінічної біохімії.....	4

ЗАГАЛЬНА КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ

Розділ 1. ОБ'ЄКТ ДОСЛІДЖЕННЯ КЛІНІЧНОЇ БІОХІМІЇ (Кондрахін І.П.)..	8
Міжнародна система одиниць вимірювання (Левченко В.І.).....	13

Розділ 2. ОБМІН ВУГЛЕВОДІВ ПРИ ПАТОЛОГІЇ ВНУТРІШНІХ

ОРГАНІВ (Кондрахін І.П., Левченко В.І.).....	17
---	----

Біологічна роль вуглеводів.....	17
Перетравлення і всмоктування вуглеводів.....	19
Порушення перетравлення і всмоктування вуглеводів.....	23
Проміжний обмін вуглеводів та його порушення.....	25
Методи діагностики порушень обміну вуглеводів.....	31

Розділ 3. КЛІНІКО-БІОХІМІЧНА ОЦІНКА ОБМІНУ ЛІПІДІВ ПРИ ПАТОЛОГІЇ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ

(Кондрахін І.П., Левченко В.І.).....	38
---	----

Біологічна роль ліпідів.....	38
Перетравлювання та всмоктування ліпідів і їх порушення.....	39
Порушення обміну ліпідів.....	46
Кетогенез та його порушення	49
Перекисне окиснення ліпідів та його порушення.....	52
Біохімічні методи діагностики порушень ліпідного обміну.....	53

Розділ 4. ОБМІН БІЛКІВ ПРИ ПАТОЛОГІЇ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ (Левченко В.І.).....

Причини порушення обміну простих білків в організмі.....	60
Порушення перетравлення білків та всмоктування амінокислот.....	62
Порушення гомеостазу білків.....	69
Порушення виділення білка.....	75
Обмін амінокислот та його порушення (Галіс В.Л., Левченко В.І.).....	76
Небілкові азотисті компоненти крові (Левченко В.І., Цвілховський М.І.).....	81
Діагностики порушень обміну білків.....	87

Розділ 5. ВОДНО-ІОННИЙ ОБМІН ПРИ МЕТАБОЛІЧНИХ ХВОРОБАХ І ПАТОЛОГІЇ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ

(Мельничук Д.О., Томчук В.А., Левченко В.І., Грищенко В.А.).....	89
---	----

Транспорт води між секторами.....	91
Регуляція осмотичного гомеостазу.....	92
Порушення водно-електролітного обміну.....	96
Методи діагностики порушень водно-електролітного обміну.....	99
Клінічна оцінка натрієвого статусу.....	100
Клінічна оцінка калієвого статусу.....	102

Розділ 6. КИСЛОТНО-ОСНОВНИЙ БАЛАНС ПРИ ВНУТРІШНІХ ХВОРОБАХ (Галіс В.Л., Левченко В.І., Мельничук Д.О., Томчук В.А.)..

Характеристика кислотно-основного балансу та механізми його регуляції.....	105
---	-----

Порушення кислотно-основного балансу.....	110
Особливості кислотно-основного балансу у новонароджених телят.....	116
Методи діагностики порушень кислотно-основного балансу.....	117
Розділ 7. ОБМІН МАКРО- І МІКРОЕЛЕМЕНТІВ ПРИ ПАТОЛОГІЇ	
ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ (Левченко В.І.).	120
Метаболізм макроелементів та клінічна біохімія макроелементозів.....	120
Обмін кальцію в нормі і при патології (Апуховська Л.І.).....	121
Абсорбція кальцію та її порушення.....	122
Обмін фосфору в нормі та при патології (Апуховська Л.І.).....	127
Біологічні функції фосфору.....	130
Вплив нестачі або надлишку кальцію та фосфору.....	131
Обмін магнію в нормі та при патології.....	134
Біохімічні методи діагностики порушень обміну кальцію, фосфору і магнію.....	136
Біохімія обміну калію.....	139
Біохімія обміну натрію.....	142
Біохімія обміну хлору.....	144
Біохімія обміну сірки.....	145
Метаболізм мікроелементів та клінічна біохімія мікроелементозів.....	147
Клінічна біохімія за нестачі кобальту.....	148
Клінічна біохімія за нестачі міді.....	150
Клінічна біохімія за нестачі заліза.....	152
Абсорбція, обмін і виділення заліза.....	154
Клінічна біохімія за нестачі цинку.....	156
Клінічна біохімія за нестачі марганцю.....	158
Клінічна біохімія за нестачі та надлишку селену.....	160
Клінічна біохімія за нестачі та надлишку фтору.....	162
Біохімічні методи діагностики мікроелементозів.....	164
Розділ 8. КЛІНІЧНА ВІТАМІНОЛОГІЯ (Левченко В.І.).	166
Жиророзчинні вітаміни.....	168
Обмін вітаміну А та його зміни при патології.....	168
Засвоєння вітаміну A та його порушення.....	171
Біологічна роль вітаміну A.....	174
Особливості метаболізму вітаміну A в сільськогосподарських тварин.....	177
Методи діагностики порушень A-вітамінного обміну.....	178
Обмін вітаміну D та його зміни при патології (Апуховська Л.І.).....	179
Клінічна біохімія обміну токоферолу.....	187
Біохімія обміну вітаміну К.....	190
Клінічна біохімія обміну водорозчинних вітамінів.....	192
Вітамін В ₁ (тіамін).....	192
Вітамін В ₂	194
Пантотенова кислота.....	196
Нікотинова кислота.....	198
Вітамін В ₆ (піридоксин).....	200
Фолієва кислота.....	201
Ціанокобаламін.....	203
Біотин.....	205

Аскорбінова кислота.....	207
Вітамін Р (рутин).....	209
Вітаміноподібні речовини.....	210
Вітамін В ₄ (холін).....	210
Вітамін F.....	211
Коензим Q (убіхінон).....	212
Інозит (інозитол).....	213
Вітамін В ₁₃	213
Вітамін В ₁₅	213
Параамінобензойна кислота (ПАБК).....	213
S-метилметіонін (вітамін U).....	214
Розділ 9. КЛІНІЧНА ФЕРМЕНТОЛОГІЯ (Влізо В.В.).....	215
Ферментопатія.....	215
Ферментодіагностика.....	217
Індикаторні ферменти та їх роль при діагностиці захворювань окремих органів.....	219
Клінічна інтерпретація змін активності індикаторних ферментів.....	223
Ферментотерапія.....	229
Використання ферментів у лабораторній діагностиці.....	230
Розділ 10. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН (Галіас В.Л.).....	232
Біохімія злокісного росту. Канцерогенез. Канцерогени і онкогени.....	232
Метаболізм речовин в організмі при злокісному рості.....	235
Біохімічні методи діагностики злокісних пухлин.....	239
КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ПРИ ПАТОЛОГІЇ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ	
Розділ 11. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ПРИ ХВОРОБАХ СЕРЦЯ	
(Левченко В.І., Сахнюк В.В.).....	245
Біохімія м'язового скорочення.....	246
Особливості обміну речовин у міокарді.....	247
Порушення метаболізму в міокарді.....	249
Біохімічні методи діагностики хвороб міокарда	251
Розділ 12. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ПРИ ХВОРОБАХ ОРГАНІВ ДИХАННЯ (Левченко В.І.).....	254
Розділ 13. БІОХІМІЯ І ПАТОБІОХІМІЯ СИСТЕМИ КРОВІ (Левченко В.І.).....	260
Біохімія і патобіохімія гемоглобіну.....	260
Дихальна функція крові.....	263
Розлади дихальної функції крові.....	267
Біохімічні зміни крові при анеміях.....	269
Біохімія і патобіохімія згортання крові.....	272
Система згортання крові.....	273
Механізм згортання крові.....	277
Протизгортуюча система крові.....	279
Фібриноліз.....	280
Порушення гемостазу.....	282

Розділ 14. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ПРИ ПАТОЛОГІЇ ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ (Галіас В.Л., Левченко В.І.).....	286
Патобіохімія при шлунково-кишкових хворобах у новонародженого молодняку (Левченко В.І.).....	286
Порушення метаболічних процесів при хворобах передшлунків у жуйних тварин (Галіас В.Л.).....	292
Порушення метаболічних процесів при хворобах шлунково-кишкового каналу в моногастрічних тварин (Галіас В.Л.).....	298
Розділ 15. БІОХІМІЯ І ПАТОБІОХІМІЯ ПЕЧІНКИ	
(Левченко В.І., Головаха В.І.).....	301
Роль печінки в обміні вуглеводів.....	302
Біохімія і патобіохімія обміну ліпідів у печінці.....	304
Обмін білків у печінці та його порушення.....	307
Знешкоджуvalна функція печінки.....	310
Біохімія і патобіохімія пігментного обміну в печінці.....	312
Жовчоутворюvalна та жовчовидільна функція печінки.....	316
Біохімічні синдроми та їхнє значення в диференціальній діагностиці хвороб печінки.....	322
Розділ 16. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ПРИ ПАТОЛОГІЇ СЕЧОВОЇ СИСТЕМИ (Левченко В.І., Галіас В.Л.).....	326
Особливості метаболізму в нирковій тканині у нормі та при патології.....	327
Утворення і виділення сечі в нормі і при патології.....	330
Зміни хімічного складу сечі.....	335
Органічні компоненти сечі.....	335
Неорганічні (мінеральні) компоненти сечі.....	339
Патологічні компоненти сечі.....	342
Біохімічні механізми сечокам'яної хвороби.....	346
Розділ 17. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ПРИ ХВОРОБАХ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ (Влізло В.В.).....	348
Розділ 18. КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ ЕНДОКРИНОПАТИЙ	
(Кондрахін І.П., Левченко В.І.).....	358
Дисфункція гіпоталамуса і гіпофіза.....	360
Дисфункція надніркових залоз.....	366
Дисфункція внутрішньої секреції підшлункової залози (Кондрахін І.П.)....	370
Дисфункція щитоподібної залози (Левченко В.І.).....	374
Дисфункція прищітоподібних залоз (Кондрахін І.П.).....	383
Дисфункція внутрішньої секреції статевих залоз (Кондрахін І.П.)....	385
Ендокринне ожиріння (Кондрахін І.П.).....	387
Порушення ендокринної функції тимуса.....	388
Гормонойди.....	389
СПИСОК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	391
ДОДАТОК А	392
ДОДАТОК Б	394
ДОДАТОК В	394
СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	395

Навчальне видання

ЛЕВЧЕНКО Володимир Іванович,

ВЛІЗЛО Василь Васильович, КОНДРАХІН Іван Петрович,
МЕЛЬНИЧУК Дмитро Олексійович, АПУХОВСЬКА Лариса Іванівна,

ГАЛЯС Віктор Людвигович, ГОЛОВАХА Володимир Іванович,
САХНЮК Володимир Володимирович, ТОМЧУК Віктор Анатолійович,
ГРИЩЕНКО Вікторія Анатоліївна, ЦВІЛІХОВСЬКИЙ Микола Іванович

ВЕТЕРИНАРНА КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ

Редактор Л.В. Міщенко

Комп'ютерна верстка: С.І. Сидоренко

Здано до складання 5.08.2002. Підписано до друку 20.11.2002.
Формат 60x84 1/16. Папір офсетний № 1. Гарнітура Times New Roman.
Друк офсетний. Ум. друк. арк. 23.25. Тираж – 2500. Зам. 2–288.

09100, Біла Церква, Соборна площа, 8/1.
Білоцерківський державний аграрний університет.

Редакційно-поліграфічний сектор відділу НТПІ БДАУ.
09100, Біла Церква, Соборна площа, 8/1, тел. 3-11-01

Відтиражовано ВАТ “Білоцерківська книжкова фабрика”,
09100, Біла Церква, вул. Леся Курбаса, 4