

4. Куркин В.А. Расторопша пятнистая – источник лекарственных средств // Химико-фармацевтический журнал/2003.-N 4.-с.27-41.

5. Бушарова Е.В. Основы применения ультразвуковой диагностики у мелких домашних животных, С.- П.,НОУДО « Институт Ветеринарной Биологии»/2008, с. 71-82.

УДК 619:616

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ЭНДОТОКСИКОЗА В КАЧЕСТВЕ НОВЫХ ПОДХОДОВ В ДИАГНОСТИКЕ НЕЗАРАЗНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОРОСЯТ

**З.Г. Шляпкинова, кандидат биологических наук
8(8342)322675, zulja1@rambler.ru**

**Р.Е. Киселева, доктор биологических наук, профессор
8(8342)322675, biochem_mrsu@mail.ru
ГОУВПО «МГУ им. Н.П. Огарева»**

Ключевые слова: поросята, эндотоксикоз, двенадцатиперстная кишка, алиментарный стресс.

Работа посвящена изучению влияния эндотоксикоза на развитие алиментарного стресса у поросят от рождения до отъёма. Установлено, что в зависимости от расположения соска (от 1до 10) у поросят уменьшается масса тела и увеличивается эндотоксикоз (молекулы средней массы, циркулирующие иммунные комплексы). Самые высокие показатели эндотоксикоза наблюдаются у поросят при отъёме, который может выступать в качестве критерия тяжести заболевания.

Введение. Одним из важнейших этапов онтогенеза животных является адаптация после рождения и на раннем постнатальном этапе [1].

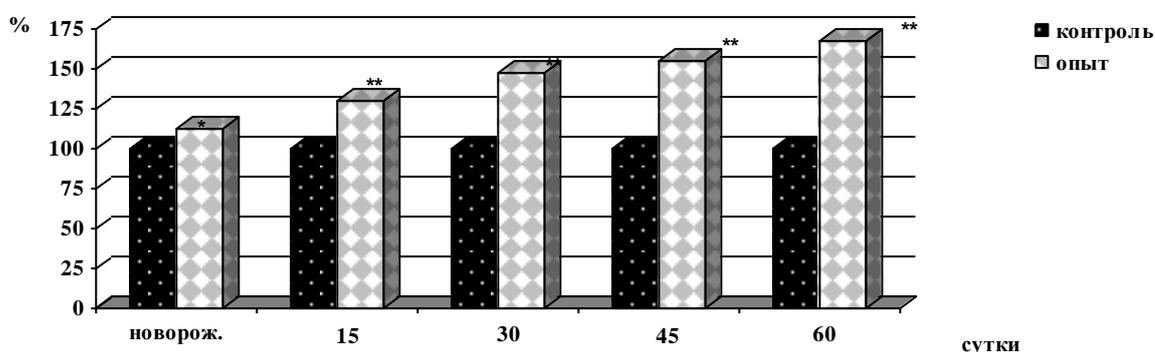
Молочная железа свиноматки, продуцирующая молозиво и молоко, представляет собой источник питания и защиты поросят-сосунов против инфекции в первые две-три недели их жизни. Чтобы уберечь их от заболеваний и дать им полноценный корм, свиноматка должна продуцировать необходимое количество молозива и молока, а каждый поросенок иметь возможность получить эти продукты и быть способным усвоить их. У поросят до приёма молозива в сыворотке крови содержится незначительное количество иммуноглобулинов. Всасывание гамма-глобулина из просвета кишечника прекращается примерно через 36 ч после рождения. Поступившие антитела сохраняются в сыворотке крови поросят в течение первых недель после рождения [2, 3, 4.]. Однако на практике не всегда удается преодолеть алиментарную причину депрессии роста и развития поросят в процессе выращивания. Чаще всего к таким факторам депрессии относят недостаточную молочность свиноматок. Следовательно, если новорожденный поросенок по ряду причин недополучает молозиво от матери, он испытывает недостаток в материнских иммуноглобулинах, что делает его незащищенным при воздействии любого стресс-фактора. Типичным клиническим проявлением стрессовой реакции являются заболевания желудочно-кишечного тракта (стрессы, обусловленные нарушением кормления) и заболевания органов дыхания (температурный стресс). Эти заболевания сопровождаются накоплением в организме животных патологических интермедиатов, являющихся эндотоксинами. В настоящее время проблема экзогенной и эндогенной интоксикации и их роль в обострении хронических процессов является актуальной задачей в ветеринарной медицине. Эндогенная интоксикация связана с повышенным распадом биомолекул, клеток и тканей, усилением процесса катаболизма в них, накоплением эндотоксинов мембранодеструктивного действия, обеспечивает общность биохимических проявлений эндотоксикоза [1,3].

Исследования проведены по выяснению степени выраженности нарушений функции слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки при алиментарном стрессе. Для раннего прогнозирования стрессчувствительности у поросят предложены маркеры эндотоксикоза, в качестве которых использованы молекулы средней массы (МСМ) и циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК).

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служила кровь и слизистая оболочка двенадцатиперстной кишки поросят полученных от свиноматок крупной белой породы основного стада в осенне-весенний период в свиноводческом хозяйстве ОПХ «Ялга» Мордовской Республики. Перед опоросом все свиноматки были клинически здоровы, аналогичны по возрасту, развитию и многоплодию. Животные содержались в типовых помещениях, в специально оборудованный клетках. Количество молочных желез в сосках определяли по состоянию выводящих протоков, с помощью отдаивания сосков после опороса свиноматок по числу струек молока. Возрастной срок отъема поросят от свиноматки - 60 суток. Живую массу поросят определяли путем индивидуального взвешивания при рождении, на 15-ые, 30-ые, 45-ые сутки и при отъеме (60-ые сутки). Исследования проведены на 50 поросятах-сосунах в возрасте от рождения до отъема. Животные были разделены на две группы: I-группа – контрольная группа, кормящиеся от передних (1-5) сосков; II-группа - поросята, кормящиеся от последних (6-10) сосков и погибающие от желудочно-кишечной патологии, вызванной алиментарным стрессом. Кровь у поросят забирали утром, из хвостовых сосудов в стеклянные пробирки: при рождении, на 15-ые, 30-ые, 45-ые и 60-ые сутки супоросного периода.

Статистическая обработка результатов проведенных биохимических исследований осуществлялась на основе параметрического метода Стьюдента. Все расчеты произведены с помощью персонального компьютера на базе процессора Celeron-450, профессионального пакета для обработки и анализа статистической информации «Statistica 6.0».

Результаты исследования. Закономерен тот факт, что три-четыре поросенка, которые родились в числе последних, получают задние соски, отличающиеся меньшей молокоотдачей. В дальнейшем эти поросята отстают в росте и развитии от своих сверстников. Причиной данного факта является недополучение достаточного количества молозива матери. У них развивается алиментарный стресс, сопровождающийся развитием неспецифической диареи. На фоне этого происходит накопление в тканях и биологических жидкостях организма избытка продуктов патологического катаболизма – эндотоксинов. Развивающийся при эндотоксикозе, процесс воспаления проявляется неуправляемым каскадным протеолизом. Это приводит к наполнению в крови больных животных молекул средней массы (МСМ). Будучи продуктами распада белков, они действуют как вторичные эндотоксины, вызывая угнетения или расстройство процессов пищеварения, сопровождающиеся деструкцией в двенадцатиперстной кишке (рис.1). Накопление МСМ в крови является важным звеном в развитии нарушений обмена веществ. Образую прочный комплекс с инсулином, пептид изменяет химические свойства гормона, что затрудняет или делает невозможным его связывание специфическими клеточными рецепторами. Следствием этого является нарушение утилизации глюкозы тканями и процессов ионного транспорта, которые находят под контролем инсулина. Кроме того, образование комплекса пептид-гормон подавляет стимулирующее влияние инсулина на К-зависимую АТФазу мембран жировых клеток, что в свою очередь тормозит освобождение из них липопротеинлипазы и приводит к нарушению обмена фосфолипидов мембран энтероцитов, изменяя энергетический баланс животных.

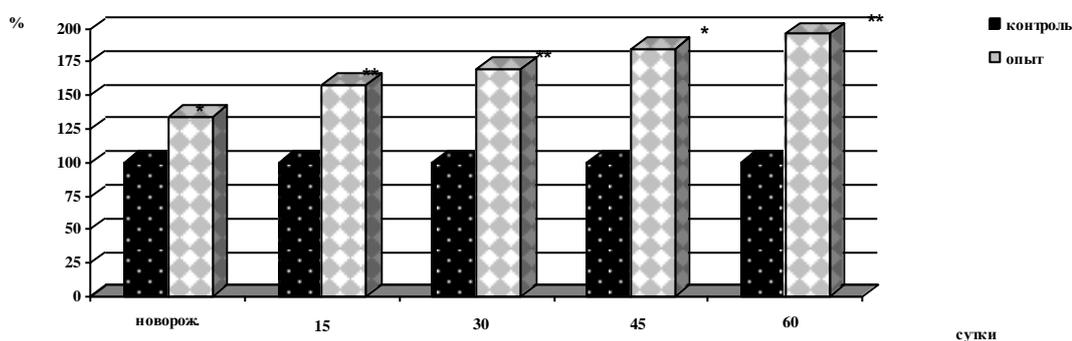


Примечание: достоверность различий по отношению к контролю: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,001$

Рисунок 1. Влияние стресс-реакции на содержание (МСМ) у поросят на постнатальных этапах развития

Повышение содержания МСМ в крови ведет к образованию полипептидов с низкой и средней молекулярной массой, которые могут изменять проницаемость клеточных мембран, нарушать трансмембранный транспорт (в том числе, ингибируя Na^+ - и K^+ -зависимую АТФазу), угнетать тканевое дыхание, разобщать окисление и фосфорилирование, влиять на перекисное окисление липидов и обмен моноаминов в головном мозге, ингибировать ряд ферментов (лактатдегидрогеназу, пируваткиназу, транскетолазу) и синтез гемоглобина. Они нарушают микроциркуляцию, запускают ряд иммунологических реакций, ответственных за вторичную иммунодепрессию, проявляют цитотоксическое действие, влияют на свертываемость крови и фибринолиз, вызывают гиперкатаболизм, дисметаболизм аминокислот, гипогликемию, нарушение липидного состава крови и т.д. В результате биологического воздействия МСМ наблюдается пониженная толерантность к бактериальной и вирусной инфекции, недостаточность клеточного и гуморального иммунитета, анемия, ухудшение нервно-мышечной проводимости, гипертонус миокарда. Содержание МСМ в значительной степени отражает тяжесть и глубину нарушений в организме [1]. Важным фактором для поросят в течение первых 15-и суток следует считать место у сосков. Животные, использующие передние соски быстрее наедаются и более продолжительное время отдыхают, а это способствует быстрому приросту их массы тела, вследствие уменьшения действия стресс-факторов. У 30-суточных поросят показатель эндотоксикоза (МСМ) увеличивается на 47% по отношению к контролю, что может быть связано с условиями содержания, с питанием и с другими биологическими (болезни) и абиотическими факторами (температура, свет). Значение МСМ у 45-суточных поросят, кормящихся у 6-10 сосков, повышается на 55% по отношению к контролю. Перед отъемом их от матери проводят вакцинацию животных для поддержания иммунитета 60-суточных животных. Данное мероприятие является мощным стресс-фактором, что и подтверждают данные анализа: МСМ по сравнению с контролем выросли на 68 %.

Важным фактором в формировании иммунного комплекса является класс входящего в него иммуноглобулина, поскольку он определяет валентность антител и тем самым обуславливает размер циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Одним из основных действий ЦИК является активация плазменных компонентов системы комплемента и иммунокомпетентных клеток. Комплемент играет важную роль в выведении ЦИК из организма. Способность ЦИК взаимодействовать с компонентами классического, либо альтернативного, пути системы комплемента в конечном итоге определяет характер воспаления и тканевого повреждения в организме. Причиной повышения концентрации ЦИК в сыворотке крови является, в данном случае, нарушение выработки антител, вследствие недополучения с молозивом матери необходимых иммуноглобулинов, что приводит к проявлению алиментарного стресса [2]. При обследовании животных, в разные возрастные этапы выявлены изменения в содержании циркулирующих иммунных комплексов (рис.2). Проведенные исследования показали, что существует прямая зависимость между содержанием ЦИК в сыворотке поросят, страдающих эндотоксикозом, и тяжестью развития алиментарного стресса, осложненного желудочно-кишечными заболеваниями.



*Примечание: достоверность различий по отношению к контролю: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,001$*

Рисунок 2. Влияние стресс-реакции на содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови поросят на постнатальных этапах развития

Так на новорожденном этапе содержание ЦИК увеличивается на 34% у поросят, кормящихся у 6-10 сосков по отношению к пороссятам, кормящимся у передних сосков. Через 15 суток ЦИК увеличивается на 58 % по отношению к контролю; на 70% увеличился через 30 суток; через 45 суток реакция повышается на 85%, а на 60-ые сутки показатель ЦИК вырастает на 96%, по сравнению с контролем. Рост показателей в 60-суточном возрасте связан с мощным стресс-фактором, которым является отъем поросят от матери и тяжелая форма диспепсии. Патогенность циркулирующих иммунных комплексов в известной степени определяется также антигенами, экзо- и эндогенными аутоантигенами, среди которых определяющую роль играют Р-белки, являющиеся продуктами распада клеточных рецепторов. Большая концентрация антигена ведет к увеличению образования ЦИК. С другой стороны, их нарушенное выведение из организма способствует длительной циркуляции и увеличению концентрации в крови, что создает условия для повреждающего ими воздействия на ткани. В случае, когда элиминирующие факторы оказываются недостаточными, ЦИК вызывает множественные патологические процессы.

Заключение. Впервые описаны морфофункциональные изменения в слизистой оболочке ДПК у поросят от рождения до отъема под влиянием эндотоксинов на развитие алиментарной стресс-реакции. У новорожденных поросят, получающих молозиво от последних сосков свиноматки, к пятому дню, при смене типа питания, наблюдается накопление в крови эндотоксинов. У больных поросят, по сравнению со здоровыми животными, накапливаются молекулы средней массы (МСМ) и циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК). Нарушение в системе интоксикация/детоксикации служит прогнозом неблагоприятного исхода для здоровья животного. Развитие в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки алиментарной стресс-реакции сопровождается накоплением в сыворотке крови новорожденных поросят эндотоксинов, нарушением развития диффузной эндокринной системы кишечника. Защитные механизмы организма не справляются с развившимся эндотоксикозом. Анализ данных по практическому использованию разработанных и созданных новых аналитических систем для оценки эндотоксикоза позволяет предположить, что в ближайшие годы роль исследования мембранотропных эндотоксинов в научных и практических исследованиях будет неуклонно расти.

Библиографический список:

1. Киселева, Р.Е. Биохимические аспекты эндотоксикоза / Р.Е. Киселева, Н.В. Альба, Л.В. Кузьмичева и др. // Биохимические аспекты эндотоксикоза. - Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2001. - 104 с.
2. Константинова, Н.А. Иммунные комплексы и повреждения тканей / Н.А. Константинова. - М.: Медицина, 1996. - 256 с.
3. Шляпникова, З.Г. Биосинтетические процессы в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишке у поросят / З.Г. Шляпникова, Е.Ю. Бояркина, Л.П. Тельцов, Р.Е. Киселева // Матер. X науч. конф. молодых уч., аспирантов и студ. МГУ им. Н.П. Огарева: Естест. и техн. науки. – Саранск, 2005. Ч. 2. – С. 101-106.
4. Шляпникова, З.Г. Влияние эндотоксинов образующих при стресс-реакции в организме поросят / З.Г. Шляпникова // Боровск, 2006. – С. 218-219.