

Е. А. Калаева¹, В. Н. Калаев¹, К. А. Ефимова¹, Н. Н. Каверин¹, А. Е. Черницкий²

Динамика показателей белкового обмена и активности ядрышкообразующих районов лимфоцитов в первый месяц жизни у телят в норме и при развитии бронхопневмонии

Аннотация. В условиях промышленного выращивания крупного рогатого скота одним из самых распространенных заболеваний молодняка является бронхопневмония. «Золотым стандартом» диагностики служит рентгенологическое и ультразвуковое обследование грудной клетки. В настоящее время не выявлено чувствительных и специфичных цитолого-биохимических маркеров бронхопневмонии у телят, поэтому актуальным представляется их поиск. Нами было обследовано 30 телят (23 здоровых и 7 с бронхопневмонией) голштинской красно-пестрой породы в первый месяц после рождения. Изучена динамика показателей белкового обмена и активности ядрышкообразующих районов (ЯОР). У здоровых и больных животных к концу 2 недели жизни наблюдалось снижение содержания белка в сыворотке крови. У заболевших бронхопневмонией животных средние значения концентрации общего белка были ниже аналогичных у здоровых телят, однако статистически достоверных отличий не установлено. Концентрации креатинина и мочевины также указывали на уменьшение количества белка и интенсивности его обмена. В организме заболевших животных нарастала интоксикация, и уровень мочевины в крови оставался постоянным даже на фоне снижения содержания белка. Отмечена положительная динамика изменения содержания иммуноглобулинов в крови как у здоровых, так и заболевших бронхопневмонией телят. Повышение концентрации общего белка у больных телят на 28 суток (по сравнению с 14 сутками) обусловлено продукцией антител и ростом объема γ -глобулиновой фракции сывороточных белков. Среди исследованных показателей «ранних» предикторов бронхопневмонии выявить не удалось. По результатам ROC-анализа «поздними» предикторами бронхопневмонии являются концентрация мочевины, креатинина и активность ЯОР на 28 суток. Эти предикторы могут использоваться для подтверждения диагноза, оценки состояния организма и эффективности терапии, выбора лекарственных препаратов и формирования прогнозов. Синтез антител В-лимфоцитами не зависит от состояния белкового обмена в целом: концентрация иммуноглобулинов увеличивалась на фоне снижения содержания общего белка. Повышение активности ЯОР в условиях развернутой клинической картины заболевания может являться прогностически благоприятным признаком, свидетельствующем о достаточном адаптивном потенциале гуморального звена иммунитета и нормальной работе иммунной системы в целом.

Ключевые слова: белок; иммуноглобулин; креатинин; мочевина; бронхопневмония; теленок; ядрышко.

Авторы:

Калаева Елена Анатольевна — кандидат биологических наук, доцент кафедры биофизики и биотехнологии медико-биологического факультета; e-mail: kalaevaee@gmail.com;

Калаев Владислав Николаевич — доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, цитологии и биоинженерии медико-биологического факультета; e-mail: dr_huixs@mail.ru;

Ефимова Ксения Андреевна — аспирант кафедры генетики, цитологии и биоинженерии медико-биологического факультета; e-mail: xenia.ephimova@gmail.com;

Каверин Николай Николаевич — кандидат биологических наук, ассистент кафедры физиологии человека и животных; e-mail: deanery@bio.vsu.ru;

Черницкий Антон Евгеньевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории болезней органов воспроизводства, молочной железы и молодняка сельскохозяйственных животных; e-mail: cherae@mail.ru.

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», Россия, г. Воронеж, Университетская площадь, 1;

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», Россия, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114б.

Введение. Период новорожденности у млекопитающих характеризуется интенсивным ростом и адаптацией к внеутробной среде обитания. В это время потребности организма в белке особенно велики. Становление белкового гомеостаза требует мобилизации метаболического потенциала организма [1, 2] и сопровождается повышенной нагрузкой на белоксинтезирующие системы. Срыв адаптации может приводить к нарушениям развития, возникновению различных заболеваний, задержке роста и т.д.

Ответственными за синтез белка в соматических клетках являются ядрышки, обеспечивающие продукцию рРНК и формирование рибосом. Ядрышкообразующими районами (ЯОР) называют локусы хромосом, в которых сосредоточены кластеры рибосомных генов. Активность ЯОР коррелирует с количеством зрелой рРНК [3], следовательно, для оценки состоятельности белоксинтезирующих систем можно использовать анализ числа ядрышек.

Синтез белков, входящих в состав плазмы крови, происходит в клетках печени, за исключением антител, продуцируемых производными В-лимфоцитов, и пептидных гормонов, вырабатываемых клетками эндокринных желез. Концентрация и соотношение отдельных фракций белков и продуктов их деградации в плазме в норме — достаточно постоянный для каждого вида животных показатель, отражающий состояние организма; однако оценивать состояние животного в раннем неонатальном периоде следует на основе динамических характеристик [4]. Необходимо также дифференцировать нормальные адаптационные процессы от патологических, обусловленных воздействием инфекции или иных факторов.

В условиях промышленного выращивания крупного рогатого скота одним из самых распространенных заболеваний молодняка является бронхопневмония [5, 6]. Диагностика проводится на основании данных анамнеза, клинических признаков [7], патологоанатомических исследований, лабораторных анализов [8]. В настоящее время наиболее объективными и точными способами диагностики являются выборочное рентгенологическое и ультразвуковое обследования грудной клетки. Однако данные методы требуют наличия специализированного дорогостоящего оборудования и квалифицированного персонала. Поэтому актуальным представляется поиск цитолого-биохимических маркеров бронхопневмонии, обладающих достаточной чувствительностью и специфичностью для постановки диагноза.

Целью нашей работы явилось исследование основных показателей белкового обмена здоровых и больных бронхопневмонией телят в динамике

первого месяца жизни для выявления связей между уровнями общего белка, иммуноглобулинов, мочевины, креатинина, активностью ядрышкообразующих районов и поиска прогностически ценных предикторов бронхопневмонии.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись телята голштинской красно-пестрой породы в возрасте от 1 до 28 суток. Животные были разделены на 2 группы: клинически здоровые ($n=23$) и больные бронхопневмонией ($n=7$). У последних на 3, 7, 14 сутки после рождения наблюдали симптомы поражения органов дыхания, на 28 сутки диагностировали бронхопневмонию. При бронхопневмонии у телят регистрировали кашель с выбросом мокроты, двустороннее серозно-катаральное носовое истечение, смешанную одышку, влажные хрипы, повышенную чувствительность межреберных промежутков при пальпации, тахикардию, тахипноэ, повышение температуры тела до $40,0^{\circ}\text{C}$. Животные лежали с вытянутой шеей, аппетит был снижен или отсутствовал. При разгара бронхопневмонии начинали лечение телят по схеме, принятой в хозяйстве. Случаев падежа среди заболевших животных не было.

Забор крови проводили на 1, 7, 14, 28-е сутки после рождения в утренние часы до кормления путем пункции яремной вены в вакуумные пробирки без антикоагулянта для получения сыворотки крови, с ЭДТА-Na — для образцов цельной крови.

Были соблюдены все международные и национальные руководящие принципы по уходу и использованию животных.

Были исследованы следующие показатели: концентрация общего белка, иммуноглобулинов, креатинина, мочевины в сыворотке крови; ядрышковая активность в лимфоцитах периферической крови на 1, 7, 14, 28 сутки эксперимента.

Концентрацию общего белка сыворотки крови определяли рефрактометрически, иммуноглобулинов — по методу A.D. McEvan [9] на спектрофотометре «UV-1700 Shimadzu» (Япония). Концентрацию мочевины и креатинина в сыворотке крови телят измеряли на биохимическом анализаторе «Hitachi-902» (Япония).

Методом W. Howell, D. Black [10] выявляли транскрипционно активные ядрышкообразующие районы хромосом в ядрах лимфоцитов, окрашивая мазки 50% раствором AgNO_3 20 минут в темноте при комнатной температуре, а затем 5 минут при 37°C в термостате. Активность ЯОР определяли как отношение общего количества ядрышек к числу проанализированных клеток. Просматривали не менее 100 лимфоцитов на каждом препарате.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакетов прикладных статистических программ Stadia 7.0 Professional и MedCalc 17.5.3. Характер распределения большей части исследованных показателей отличался от нормального (по критериям Колмогорова, ω^2 , χ^2), поэтому сравнение медиан выборок осуществляли с использованием W-критерия Вилкоксона (для выявления различий между здоровыми и больными животными одного возраста) и W-критерия Вилкоксона для парных данных (для выявления возрастной динамики в каждой группе) [11]. Данные представлены в формате «среднее арифметическое $\pm$ стандартное отклонение» и приведены медианы показателей. ROC-анализ проводили по методу DeLong et al., [12]. Проведена оценка площади под ROC-кривой (AUC), чувствительности (%), специфичности (%) теста и критических значений показателей. Нулевую гипотезу при применении всех методов статистической обработки отвергали при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение.

Содержание общего белка (ОБ) в сыворотке крови телят отражает его поступление с кормом, сбалансированность аминокислотного состава рациона, степень всасывания белков в желудочно-кишечном тракте и состояние белоксинтезирующей функции печени [13, 14]. Концентрация ОБ в сыворотке крови 1-суточных телят находилась в пределах нормы и составляла 60,2 г/л у здоровых и у заболевших бронхопневмонией животных. На 14 сутки исследуемый показатель достоверно снизился по сравнению с таковым в 1 сутки в обеих группах и составил, соответственно, 58,5 и 55,0 г/л. К 28 суткам содержание ОБ у здоровых животных оставалось ниже исходных показателей (57,3 г/л), а в группе животных с бронхолегочной патологией восстановилось до уровня 56,8 г/л. Таким образом, у здоровых телят концентрация белка в сыворотке крови в течение первого месяца жизни снижалась, у заболевших бронхопневмонией динамика исследуемого показателя носила волнообразный характер (рис. 1а). В течение всего срока наблюдений значения концентрации ОБ за пределы возрастной нормы [14] не выходили (таблица). Существенного повышения концентрации ОБ при бронхопневмонии за счет объема γ -глобулиновой фракции также не было обнаружено.

У жвачных животных десмохориальная плацента не позволяет иммуноглобулинам матери поступать в кровь эмбриона [15, 16]. Поскольку в первый месяц постнатального развития собственные иммуноглобулины у телят не синтезируются, кровь новорождённого теленка до первой выпойки молозива практически не содержит антител

[17, 18, 19]. Через 24 часа после рождения уровень иммуноглобулинов у здоровых телят составил 18,0 г/л, у заболевших бронхопневмонией — 17,2 г/л. Считается, что к 10–14 суткам жизни у телят происходит физиологическое снижение уровня γ -глобулинов [13], однако нами было обнаружено, что в обеих группах животных уровень иммуноглобулинов в первые 2 недели жизни колебался в пределах статистической погрешности (таблица). У телят с бронхолегочной патологией истощение резервов колостральных антител к концу 2 недели было выражено более заметно (рис. 1б). К 28 суткам жизни, очевидно, начался синтез собственных антител, вследствие чего их концентрация в сыворотке крови превысила референсные показатели [14] и достигла 25,7 и 23,0 г/л у здоровых и заболевших бронхопневмонией животных, соответственно. Таким образом, отмечена положительная динамика изменения содержания иммуноглобулинов в крови в обеих группах животных.

Анализ ядрышковой активности в лимфоцитах периферической крови представляет большой интерес, поскольку позволяет контролировать состояние организма при ряде заболеваний [3, 20, 21]. ЯОР у крупного рогатого скота локализованы на хромосомах 2, 3, 4, 11 и 28-й пар, максимальное число ядрышек в клетке — 10 [22, 23]. Считается, что изменение активности ядрышек в лимфоцитах отражает интенсивность иммунного ответа и не связано с процессом биосинтеза белков, обеспечивающих увеличение массы тела [24]. У здоровых телят количество ЯОР на 1 сутки после рождения составляло 2,38; на 7 сутки — 2,54 и статистически достоверно не отличалось от аналогичных показателей заболевших животных. Повышение активности ЯОР было выявлено у 14- и 28-дневных телят из обеих групп. Причем у особей, которым был поставлен диагноз «бронхопневмония», число активных ядрышкообразующих районов на 28 сутки превышало аналогичный показатель здоровых телят (рис. 1 д). Таким образом, за 2 недели до регистрируемого увеличения концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови по росту активности ЯОР можно судить о готовности лимфоцитов к синтезу собственных антител. При этом в условиях бронхолегочной патологии происходила дополнительная стимуляция В-лимфоцитов.

Установлено, что содержание мочевины в крови возрастает при избыточном потреблении белка, кровотечениях, лихорадке, травмах, нарушениях работы почек; снижение происходит при нарушении синтетической функции печени, а также при дефиците белка в пище [25]. Концентрация мочевины в крови телят суточного возраста в обеих

исследуемых группах находилось в пределах возрастной нормы [26–28] (таблица). На 7 сутки эксперимента исследуемый показатель у здоровых животных заметно снизился (2,5 ммоль/л). До окончания сроков наблюдения содержание мочевины в крови здоровых телят оставалось ниже нормы, хотя и была выявлена тенденция к его повышению. У телят, заболевших бронхопневмонией, концентрация мочевины статистически достоверно не изменялась на протяжении первого месяца жизни и на 28 сутки превышала таковую в группе здоровых животных (4,2 ммоль/л), вероятно вследствие интоксикации, вызванной нарушением функции дыхательной системы. Падение уровня мочевины у здоровых животных может указывать на замедление деструкции белка в условиях его относительного дефицита.

В отличие от мочевины, концентрация креатинина в крови не зависит от количества получае-

мого с пищей белка. Индивидуальные различия у животных объясняются разным объемом скелетной мускулатуры [29, 30]. Концентрация креатинина в сыворотке крови телят снизилась по сравнению с 1 сутками в обеих группах, достигнув минимума на 28 сутки эксперимента. При этом у больных животных к концу первого месяца жизни данный показатель был статистически достоверно ниже такового у здоровых телят (табл. 1), вероятно, вследствие замедления прироста мышечной массы, ослабления двигательной активности. Однако концентрация креатинина не выходила за пределы диапазона референсных значений [26–28] на протяжении всего периода наблюдений.

В целом изменения содержания креатинина и мочевины в сыворотке крови обследованных животных указывали на снижение количества белка и интенсивности его обмена (рис. 1 в и г).

Таблица. Динамика показателей белкового обмена в сыворотке крови здоровых и заболевших бронхопневмонией телят в первый месяц жизни

Сутки после рождения	Референсные значения [14, 26–28]	Здоровые телята	Больные телята
<i>Общий белок, г/л</i>			
1	50,0–67,0	61,6±2,0; Ме=60,2	58,6±3,0; Ме=60,2
7	54,0–69,0	60,1±1,6; Ме=59,7	55,1±2,0; Ме=57,3
14	50,0–71,0	58,7±1,4; Ме=58,5*	54,3±1,8; Ме=55,0*
28	50,7–67,7	58,4±0,9; Ме=57,3*	57,1±0,7; Ме=56,8
<i>Иммуноглобулины, г/л</i>			
1	11,4–25,8	18,1±1,3; Ме=18,0	16,7±2,12; Ме=17,2
7	6,5–22,3	18,7±1,3; Ме=19,7	19,4±2,0; Ме=19,1
14	4,4–21,2	20,5±1,5; Ме=20,9	16,5±2,5; Ме=15,5
28	4,6–10,7	25,0±0,8; Ме=25,7*	23,6±1,5; Ме=23,0*
<i>Креатинин, мкмоль/л</i>			
1	67–177	125,1±30,97; Ме=114,0	149,0±37,8; Ме=129,0
7	67–177	103,8±17,5; Ме=102,0*	109,9±15,9; Ме=105,0*
14	67–177	107,0±22,5; Ме=103,0*	100,6±18,4; Ме=106,0*
28	67–177	97,9±12,8; Ме=99,0*	84,71±7,0; Ме=86,0**
<i>Мочевина, ммоль/л</i>			
1	1,3–5,0	3,9±1,2; Ме=4,0	4,8±1,5; Ме=4,1
7	4,4–7,3	3,0±1,4; Ме=2,5*	3,9±1,8; Ме=3,2
14	4,7–8,0	3,1±0,9; Ме=2,9*	3,8±1,8; Ме=3,0
28	4,2–6,8	3,4±1,1; Ме=3,3*	4,2±1,1; Ме=4,2 ⁺
<i>Ядрышкообразующие районы</i>			
1	≤10	2,43±0,32; Ме=2,38	2,59±0,33; Ме=2,57
7	≤10	2,52±0,33; Ме=2,54	2,75±0,44; Ме=2,78
14	≤10	2,65±0,47; Ме=2,64*	2,90±0,36; Ме=3,05*
28	≤10	2,64±0,30; Ме=2,63*	2,94±0,32; Ме=2,80**

Обозначения:

* — различия с контролем (1 сутки жизни) достоверны (P<0,05);

+ — различия с показателем у здоровых животных в те же сроки жизни достоверны (P<0,05).

Среди исследованных показателей белкового обмена «ранних» предикторов бронхопневмонии выявить не удалось, а при манифестации заболевания предикторы могут использоваться только для подтверждения диагноза, оценивания общего состояния организма и эффективности терапии, выбора лекарственных препаратов и формирования прогноза исхода болезни.

По результатам ROC-анализа «поздними» предикторами бронхопневмонии являлись концентрации мочевины и креатинина и активность ЯОР на 28 сутки (рис. 2). Чувствительность всех показателей составляла 100%, что делает их хорошими идентификаторами бронхолегочной пато-

логии. Специфичность данных тестов оказалась сравнительно невысокой (от 47,8% для мочевины до 69,6% для креатинина). Качество предикторов оценивается как хорошее (мочевина и активность ЯОР) и очень хорошее (креатинин). Критические значения показателей, указывающие на наличие патологического процесса в организме: мочевина — выше 2,85 ммоль/л, креатинин — меньше 93,0 мкмоль/л, активность ЯОР — больше 2,63.

Таким образом, функция продукции антител плазматическими клетками крови демонстрировала достаточную автономность от состояния белкового обмена в целом, концентрация иммуноглобулинов в сыворотке увеличивалась на фоне снижения

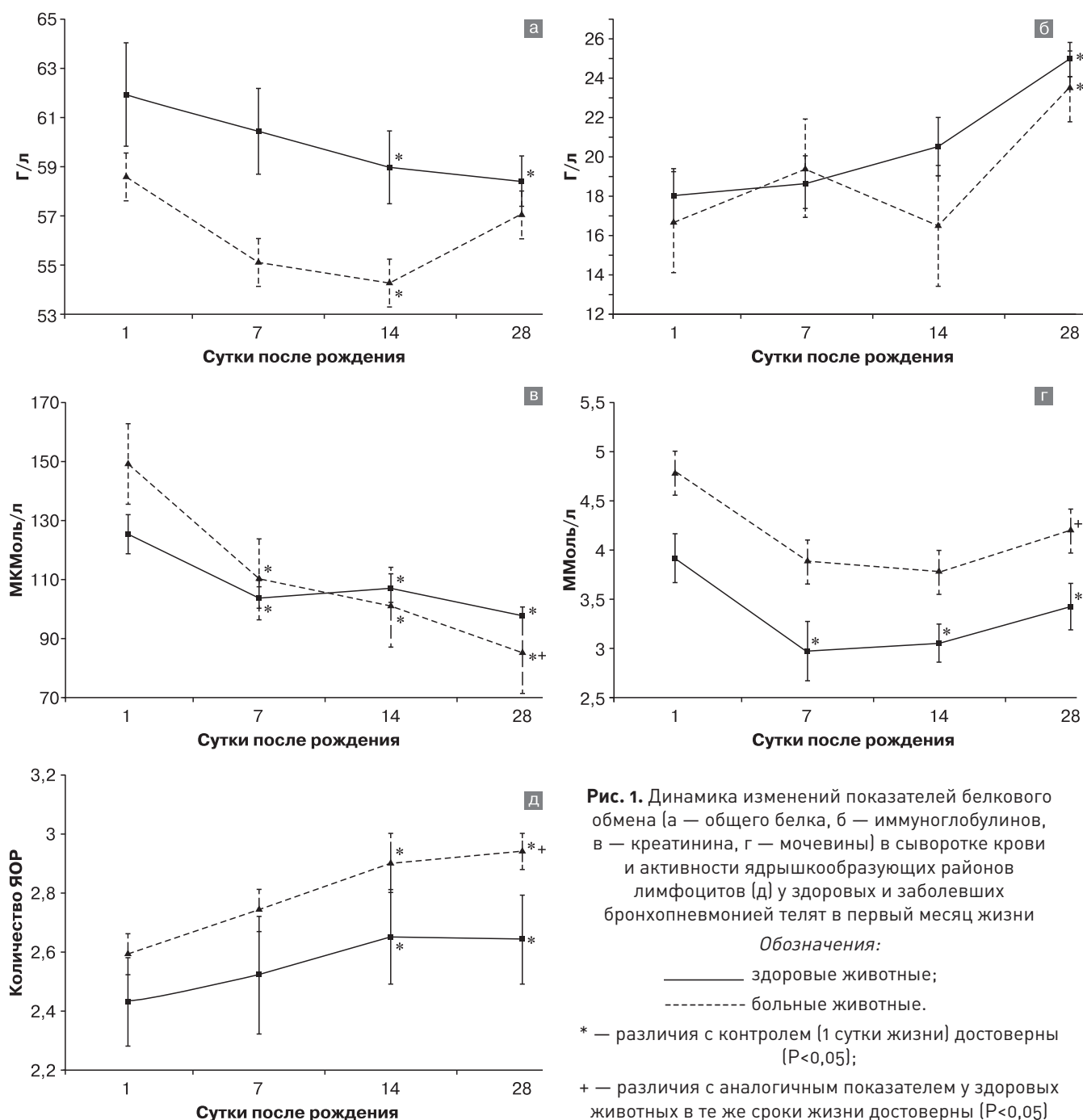


Рис. 1. Динамика изменений показателей белкового обмена (а — общего белка, б — иммуноглобулинов, в — креатинина, г — мочевины) в сыворотке крови и активности ядрышкообразующих районов лимфоцитов (д) у здоровых и заболевших бронхопневмонией телят в первый месяц жизни

Обозначения:

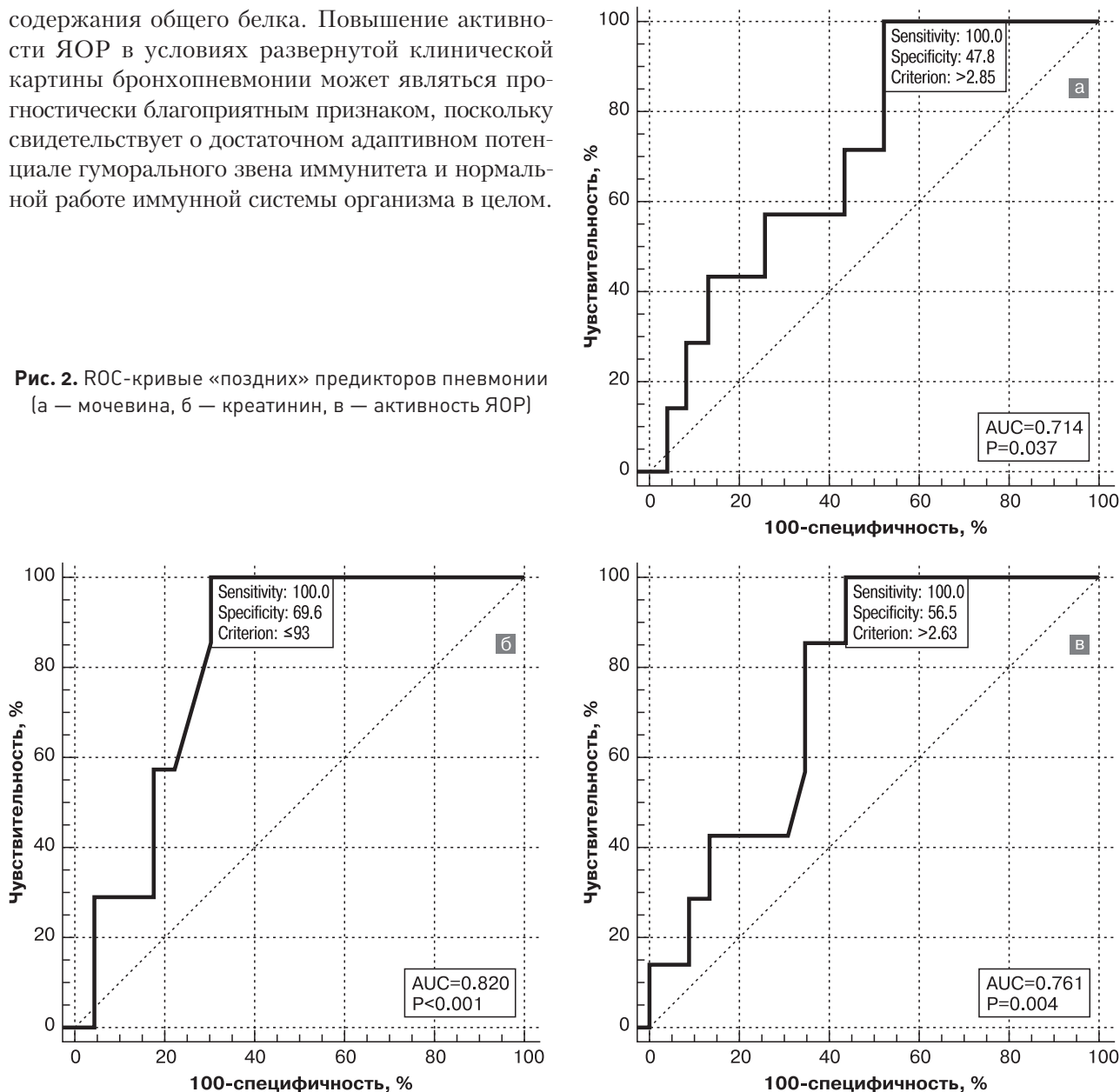
— здоровые животные;
- - - больные животные.

* — различия с контролем (1 сутки жизни) достоверны ($P < 0,05$);

+ — различия с аналогичным показателем у здоровых животных в те же сроки жизни достоверны ($P < 0,05$)

содержания общего белка. Повышение активности ЯОР в условиях развернутой клинической картины бронхопневмонии может являться прогностически благоприятным признаком, поскольку свидетельствует о достаточном адаптивном потенциале гуморального звена иммунитета и нормальной работе иммунной системы организма в целом.

Рис. 2. ROC-кривые «поздних» предикторов пневмонии (а — мочевины, б — креатинина, в — активность ЯОР)



Литература

1. Дмитриев А. Ф. Взаимосвязь совершенства терморегуляторных процессов с иммунобиологическим статусом новорожденных животных / А. Ф. Дмитриев, А. В. Агарков // Вестник АПК Ставрополя. — 2014. — № 3 (15). — С. 111–115.
2. Рецкий М. И. Метаболические адаптации телят в ранний постнатальный период / М. И. Рецкий, Г. Н. Блинецова, С. В. Шабунин. — Воронеж: Изд-во ВГУ, 2010 — 228 с.
3. Анализ ядрышек в интактных лимфоцитах периферической крови разных видов млекопитающих / П. М. Кленовицкий, Б. С. Иолчиев, М. А. Жилинский [и др.] // Достижения науки и техники АПК. — 2015. — Т. 29, № 12. — С. 92–94.
4. Агарков А. В. Формирование иммунобиологического статуса новорожденных поросят. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук, Ставрополь — 2015, 155 с.
5. Шабунин С. В. Респираторные болезни телят: современный взгляд на проблему / С. В. Шабунин, А. Г. Шахов, А. Е. Черницкий [и др.] // Ветеринария. — 2015. — № 5. — С. 3–13.
6. Данилов С. Н. Респираторные заболевания телят в промышленном животноводстве / С. Н. Данилов // Ветеринария. — 2011. — № 3. — С. 12–14.
7. Левченко В. И. Внутренние болезни животных : учебник для студентов ветеринарного факультета / В. И. Левченко. — Белая Церковь, 2001. — 543 с.

8. Бронхопневмония (катаральная пневмония) — Bronchopneumonia. — URL: <http://zhivotnovodstvo.net.ru/spravochnik-veterinarnoj-terapii/100-bolezni-dyhatelnoj-sistemy/526-bronhopnevmoniya-kataralnaya-pnevmoniya-bronchopneumonia.html> (дата обращения 24.01.2019).
9. McEwan A. D. A turbidity test for the estimation of immune globulin levels in neonatal calf serum / A. D. McEwan, E. W. Fisher, I. E. Selman [et al.] // Clinica chimica acta. — 1970. — Vol. 27. — P. 155–163.
10. Howell W. Controlled silver staining of nucleus organizer regions with a protective colloidal developer: in a one step method / W. Howell, D. Black // Experientia. — 1980. — Vol. 36. — P. 1014–1015.
11. Калаева Е. А. Теоретические основы и практическое применение математической статистики в биологических исследованиях и образовании : учебник / Е. А. Калаева, В. Г. Артюхов, В. Н. Калаев; Воронежский государственный университет. — Воронеж : Издательский дом ВГУ, 2016. — 284 с.
12. DeLong E. R. Comparing the Areas under Two or More Correlated Receiver Operating Characteristic Curves: A Nonparametric Approach / E. R. DeLong, D. M. DeLong, D. L. Clarke-Pearson // Biometrics. — 1988. — Vol. 44. — P. 837–845.
13. Черницкий А. Е. Методическое пособие по прогнозированию и ранней диагностике респираторных болезней у телят / А. Е. Черницкий, Л. И. Ефанова, А. И. Золотарев [и др.]. — Воронеж: Издательство «Истоки», 2013. — 48 с.
14. Кондрахин И. П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / И. П. Кондрахин. — М.: Колосс, 2004. — 520 с.
15. Воронин Е. С. Иммунология / Е. С. Воронин, А. М. Петров, М. М. Серых [и др.]. — М.: Колос — Пресс, 2002. — 408 с.
16. Таранович А. Здоровье телят — путь к успешному выращиванию высокопродуктивных животных / А. Таранович // Молочное и мясное скотоводство. — 2010. — № 1. — С. 17–19.
17. Ярилин А. А. Основы иммунологии / А. А. Ярилин. — М.: Медицина, 1999. — 608 с.
18. Малашко В. В. Метаболизм и структурно-функциональные изменения в организме животных и птицы при использовании катозала®: монография / В. В. Малашко, А. Н. Кузнецов, Д. В. Малашко. — Гродно: ГГАУ, 2010. — 224 с.
19. Корякина Л. П. Показатели естественной резистентности и физиолого-биохимический статус крови у новорожденных телят / Л. П. Корякина, Н. И. Борисов // Вестник СВФУ. — 2015. — № 5(49). — С. 23–30.
20. Бутеева С. К. Влияние генофонда свиней на активность и полиморфизм интерфазных ядрышковых организаторов лимфоцитов / С. К. Бутеева // Вестник НГАУ. — 2014. — № 3. — С. 62–66.
21. Жиденова А. Н. Межполовые различия по уровню активности интерфазных ядрышкообразующих районов хромосом у крупного рогатого скота / А. Н. Жиденова // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. — 2011. — Т. 3. — № 19. — С. 62–65.
22. Киселёва Т. Ю. Идентификация районов ядрышкового организатора хромосом крупного рогатого скота / Т. Ю. Киселёва // Бюл. ВНИИ развед. и генетики сельскохозяйственных животных. — 1988. — № 102. — С. 17–20.
23. Павлов Э. Д. Анализ ядрышек в интактных лимфоцитах периферической крови разных пород овец / Э. Д. Павлов, Н. Т. Мачкаева, П. М. Кленовицкий [и др.] // Зоотехния. — 2008. — № 3. — С. 29–30.
24. Логинов С. И. Количественный анализ ядрышкообразующих районов хромосом у крупного рогатого скота в норме и при патологии / С. И. Логинов, О. Н. Семенова, Н. И. Илюшина [и др.] // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. — 2004. — № 3. — С. 103–106.
25. Васильева Е. А. Клиническая биохимия сельскохозяйственных животных / Е. А. Васильева. — М.: Агропромиздат, 2000. — 359 с.
26. Биологические основы ветеринарной неонатологии: монография / Х. Б. Баймишев, Б. В. Криштофорова, В. В. Лемещенко [и др.]. — Самара: РИЦ СГСХА, 2013. — 452 с.
27. Кацы Г. Д. Иммунологические и биохимические исследования крови телят-акклиматизантов породы Шароле и экологического поколения в условиях Донбасса / Г. Д. Кацы, Е. И. Ладыш. — URL: <https://www.sworld.com.ua/konfer29/825.pdf> (дата обращения 24.01.2019).
28. Сазонов А. А. Современный подход к комплексному лечению бронхопневмонии у телят / А. А. Сазонов, С. В. Новикова // Молочное и мясное скотоводство. — 2015. — № 4. — С. 37–40.
29. Показатели белкового обмена. — URL: <http://www.bionow.ru/bnows-810-1.html> (дата обращения 24.01.2019).
30. Клинико-диагностическое значение исследования концентрации креатинина и креатина в сыворотке крови и моче. — URL: https://studopedia.ru/7_116806_kliniko-diagnosticheskoe-znachenie-issledovaniya-kontsentratsii-kreatinina-i-kreatina-v-sivorotke-krovi-i-moche.html (дата обращения 24.01.2019).

Kalaeva E.¹, Kalaev V.¹, Efimova K.¹, Kaverin N.¹, Chernitskiy A.²

Dynamics of protein metabolism indicators and activity of lymphocyte nucleoli activity in the first month of life in calves in normal conditions and in the progression of bronchopneumonia

Abstract. *In conditions of industrial breeding of cattle one of the most common diseases of newborns is bronchopneumonia. The «gold standard» for the disease diagnostic are X-ray and ultrasound examination of the chest. Sensitive and specific cytological and biochemical markers of bronchopneumonia in calves have not been identified at present, therefore their search seems relevant. We examined 30 calves (23 healthy and 7 with bronchopneumonia) of Holstein red-motley breed in the first month after birth. The dynamics of protein metabolism indicators and activity of nucleolus-forming regions were studied. In healthy and sick animals the decreasing in serum protein content was observed by the end of 2nd weeks of life. In animals with bronchopneumonia the mean concentrations of protein were lower than those in healthy calves, but no statistically significant differences were found. Creatinine and urea concentrations also indicated the decreasing in the amount of protein and the intensity of its metabolism. In diseased animals intoxication increased as a result of impaired functioning of the respiratory system and the level of urea in the blood remained constant even against the background of a decrease in protein content. The positive dynamics of changes in the content of immunoglobulins in the blood of both healthy and sick with bronchopneumonia calves was noted. The increasing of the concentration of total protein in sick calves by 28th day (compared with 14th day) is due to the production of antibodies and the increasing in the γ -globulin fraction of proteins. Among the studied indicators of «early» predictors of bronchopneumonia could not be identified. According to the results of the ROC-analysis, «late» predictors of bronchopneumonia were the concentration of urea and creatinine and the activity of nucleolus-forming regions at 28th days. These predictors can be used to confirm the diagnosis, assess the condition of the body and the effectiveness of therapy, the choice of drugs and the formation of predictions. The function of the production of antibodies by B-lymphocytes did not depend on the state of protein metabolism in general, the concentration of immunoglobulins in serum increased against the background of the decreasing in the total protein content. Increasing the activity of nucleolus-forming regions in conditions of a developed clinical picture of the disease can be a prognostically favorable sign, since it indicates a sufficient adaptive potential of the humoral immunity and normal functioning of the immune system as a whole.*

Key words: protein; immunoglobulin; creatinine; urea; bronchopneumonia; calf; nucleolus.

Authors:

Kalaeva E. — PhD. (Biol. Sci.), assistant professor of the Department of Biophysics and Biotechnology; e-mail: kalaevae@gmail.com;

Kalaev V. — Dr. Habil (Biol. Sci.), professor of the Genetic, Cytology and Bioengineering Department; e-mail: Dr_Huixs@mail.ru;

Efimova K. — post-graduate student of the Genetic, Cytology and Bioengineering Department; e-mail: xenia.ephimova@gmail.com;

Kaverin N. — PhD. (Biol. Sci.), Assistant of the Department of Human and Animal Physiology, e-mail: deanery@bio.vsu.ru;

Chernitskiy A. — PhD. (Biol. Sci.), Senior Research Scientist of the Laboratory of Diseases of the Reproductive Organs, Breast and Young Farm Animals; e-mail: cherae@mail.ru.

¹ Voronezh State University, Russia, Voronezh, University sq., 1;

² All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Russia, Voronezh, Lomonosova str., 114b.

References

1. Dmitriev A. F. The relationship of the perfection of thermoregulatory processes with the immunobiological status of newborn animals / A. F. Dmitriev, A. V. Agarkov // Vestnik APK Stavropol'ya. — 2014. — Vol. 3 (15). — P. 111–115.
2. Retsky M. I. Metabolic adaptations of calves in the early postnatal period / M. I. Retsky, G. N. Bliznetsova, S. V. Shabunin. — Voronezh: VSU publishing house, 2010 — 228 p.
3. Analysis of the nucleoli in intact peripheral blood lymphocytes of various mammalian species / P. M. Klenovickij, B. S. Iolchiev, M. A. Zhilinskij [et al.] // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. — 2015. — Vol. 29, No 12. — P. 92–94.
4. Agarkov A. V. Formation of the immunobiological status of newborn piglets. Thesis for the degree of candidate of biological sciences. — Stavropol. — 2015, 155 p.

5. Shabunin S. V. Respiratory diseases of calves: a modern approach to the problem / S. V. Shabunin, A. G. Shakhov, A. E. Chernitskiy [et al.] // Veterinariya. — 2015. — No. 5. — P. 3–13.
6. Danilov S. N. Respiratory diseases of calves in industrial animal husbandry / S. N. Danilov // Veterinariya. — 2011. — No. 3. — P. 12–14.
7. Levchenko V. I. Internal Diseases of Animals: A Textbook for Students of the Veterinary Faculty / V. I. Levchenko. — Belaya Cerkov, 2001. — 543 p.
8. Bronchopneumonia (catarrhal pneumonia) — Bronchopneumonia. — Available at: <http://zhivotnovodstvo.net.ru/spravochnik-veterinarnoj-terapii/100-bolezni-dyhatelnoj-sistemy/526-bronhopnevmoniya-kataralnaya-pnevmoniya-bronchopneumonia.html> (accessed 24.01.2019).
9. McEwan A. D. A turbidity test for the estimation of immune globulin levels in neonatal calf serum / A. D. McEwan, E. W. Fisher, I. E. Selman [et al.] // Clinica chimica acta. — 1970. — Vol. 27. — P. 155–163.
10. Howell W. Controlled silver staining of nucleus organizer regions with a protective colloidal developer: in a one step method / W. Howell, D. Black // Experientia. — 1980. — Vol. 36. — P. 1014–1015.
11. Kalaeva E. A. Theoretical foundations and practical application of mathematical statistics in biological research and education: textbook / E. A. Kalaeva, V. G. Artyuhov, V. N. Kalaev; Voronezhskij gosudarstvennyj universitet. — Voronezh: VSU Publishing House, 2016. — 284 p.
12. DeLong E. R. Comparing the Areas under Two or More Correlated Receiver Operating Characteristic Curves: A Nonparametric Approach / E. R. DeLong, D. M. DeLong, D. L. Clarke—Pearson // Biometrics. — 1988. — Vol. 44. — P. 837–845.
13. Chernitskiy A. E. Methodological manual for prognosis and early diagnosis of respiratory diseases in calves / A. E. Chernitskiy, L. I. Efanova, A. I. Zolotarev [et al.]. — Voronezh: Istoki Publishing House, 2013. — 48 p.
14. Kondrahin I. P. Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics / I. P. Kondrahin. — Moscow.: Koloss, 2004. — 520 p.
15. Voronin E. S. Immunology / E. S. Voronin, A. M. Petrov, M. M. Seryh [et al.]. — Moscow.: Kolos — Press, 2002. — 408 p.
16. Taranovich A. Calves' health is the path to successful breeding of highly productive animals / A. Taranovich // Molochnoe i myasnoe skotovodstvo. — 2010. — Vol. 1. — P. 17–19.
17. Yarilin A. A. Basics of Immunology / A. A. Yarilin. — Moscow: Medicine, 1999. — 608 p.
18. Malashko V. V. Metabolism and structural and functional changes in the organism of animals and birds when using Katozal®: monograph / V. V. Malashko, A. N. Kuznecov, D. V. Malashko. — Grodno: GGAU, 2010. — 224 p.
19. Koryakina L. P. Indicators of natural resistance and physiological and biochemical status of blood in newborn calves / L. P. Koryakina, N. I. Borisov // Vestnik SVFU. — 2015. — Vol. 5(49). — P. 23–30.
20. Buteeva S. K. The influence of the pig gene pool on the activity and polymorphism of interphase nucleolar organizers of lymphocytes / S. K. Buteeva // Vestnik NGAU. — 2014. — Vol. 3. — P. 62 – 66.
21. Zhidenova A. N. Interdisual differences in the level of activity of interphase nucleolus-forming regions of chromosomes in cattle / A. N. Zhidenova // Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. — 2011. — Vol. 3. — No 19. — P. 62 – 65.
22. Kiselyova T. Yu. Identification of areas of the nucleolar organizer of cattle chromosomes / T. Yu. Kiselyova // Byul. VNII razved. i genetiki sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh. — 1988. — Vol. 102. — P. 17–20.
23. Pavlov E. D. Analysis of the nucleoli in intact peripheral blood lymphocytes of different breeds of sheep / E. D. Pavlov, N. T. Machkaeva, P. M. Klenovickij [et al.] // Zootekhniya. — 2008. — Vol. 3. — P. 29–30.
24. Loginov S. I. Quantitative analysis of nucleus-forming regions of chromosomes in cattle in health and pathology / S. I. Loginov, O. N. Semenova, N. I. Ilyushina [et al.] // Sibirskij vestnik sel'skohozyajstvennoj nauki. — 2004. — Vol. 3. — P. 103–106.
25. Vasil'eva E. A. Clinical biochemistry of farm animals / E. A. Vasil'eva. — Moscow: Agropromizdat, 2000. — 359 p.
26. Biological bases of veterinary neonatology: monograph / H. B. Baimishev, B. V. Kristoforova, V. V. Lemeshchenko [et al.]. — Samara: RIC SSAA, 2013. — 452 p.
27. Kacy G. D Immunological and biochemical studies of the blood of acclimatizing calves of the Charolais breed and the ecological generation in the conditions of Donbass / G. D. Kacy, E. I. Ladysh. — Available at: <https://www.sworld.com.ua/konfer29/825.pdf> (accessed 24.01.2019).
28. Sazonov A. A. Modern approach to the integrated treatment of bronchopneumonia in calves / A. A. Sazonov, S. V. Novikova. // Molochnoe i myasnoe skotovodstvo. — 2015. — Vol. 4. — P. 37–40.
29. Indicators of protein metabolism. — Available at: <http://www.bionow.ru/bnows-810-1.html> (accessed 24.01.2019).
30. Clinical and diagnostic value of the study of the concentration of creatinine and creatine in serum and urine. — Available at: https://studopedia.ru/7_116806_kliniko-dagnosticheskoe-znachenie-issledovaniya-kontsentratsii-kreatinina-i-kreatina-v-sivorotke-krovi-i-moche.html (accessed 24.01.2019).