

Александр Иванович Ашенбреннер

Федеральный Алтайский научный центр агrobiотехнологий, ведущий научный сотрудник лаборатории ветеринарии, кандидат ветеринарных наук, Научный городок, Барнаул, Алтайский край, Россия, e-mail: ashen.77@yandex.ru

Юлия Александровна Чекунова

Федеральный Алтайский научный центр агrobiотехнологий, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарии, кандидат ветеринарных наук, Научный городок, Барнаул, Алтайский край, Россия, e-mail: 89130847532@mail.ru

Нина Юрьевна Беляева

Федеральный Алтайский научный центр агrobiотехнологий, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарии, Научный городок, Барнаул, Алтайский край, Россия, e-mail: n9635244526@yandex.ru

Юрий Александрович Хаперский

Федеральный Алтайский научный центр агrobiотехнологий, ведущий научный сотрудник лаборатории ветеринарии, кандидат ветеринарных наук, доцент, Научный городок, Барнаул, Алтайский край, Россия, e-mail: uax23@mail.ru

ПЛАЦЕНТАРНАЯ ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР ПОСЛЕРОДОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У КОРОВ

Цель исследования – изучение уровня ферментативной активности общей и плацентарной щелочной фосфатаз в сухостойный период и возможности применения данных показателей как прогностических маркеров послеродовых осложнений у коров. Задачи исследования: изучить динамику изменения в крови сухостойных коров, уровень ферментативной активности общей щелочной и плацентарной щелочной фосфатаз (ПЩФ); определить прогностическую информативность плацентарной щелочной фосфатазы при прогнозе послеродовых болезней у коров. Опыт проводился в ФГБНУ ФАНЦА ПЗ «Комсомольское» Павловского района Алтайского края. Были сформированы из коров две группы: контрольная группа в количестве 61 гол. с физиологическим течением родов и послеродового периода и опытная группа животных 43 гол. с послеродовыми осложнениями, к которым отнесли эндометрит после самопроизвольного отделения последа; задержание последа; послеродовой парез. Для лабораторных исследований брали кровь у коров из подвостовой вены в утренние часы перед кормлением, однократно за 45–15 дней до отела. Достоверные изменения ферментативной активности ПЩФ в сравнении с животными контрольной группы, как за 45, так и за 15 дней до отела, отмечены лишь у животных с задержанием плодных оболочек на 45 и 16,7 Ед/л соответственно ($p < 0,05$). Достоверное снижение в крови стельных коров за 15 дней до отела уровня ферментативной активности ПЩФ ниже 14,0 Ед/л может служить прогностическим признаком развития послеродовых осложнений, в частности задержания плодных оболочек.

Ключевые слова: прогностический маркер, послеродовые заболевания, щелочная фосфатаза, плацентарная щелочная фосфатаза, ферментативная активность.

Alexander I. Ashenbrenner

Federal Altai Scientific Center for Agrobiotechnology, leading researcher at the Laboratory of Veterinary Medicine, candidate of veterinary sciences, Scientific Town, Barnaul, Altai Territory, Russia, e-mail: ashen.77@yandex.ru

Yulia A. Chekunkova

Federal Altai Scientific Center for Agrobiotechnology, senior researcher at the Laboratory of Veterinary Medicine, candidate of veterinary sciences, Scientific Town, Barnaul, Altai Territory, Russia, e-mail: 89130847532@mail.ru

Nina Yu. Belyaeva

Federal Altai Scientific Center for Agrobiotechnology, senior researcher at the Laboratory of Veterinary Medicine, Scientific Town, Barnaul, Altai Territory, Russia, e-mail: n9635244526@yandex.ru

Yuri A. Hapersky

Federal Altai Scientific Center for Agrobiotechnology, leading researcher at the Laboratory of Veterinary Medicine, candidate of veterinary sciences, associate professor Scientific Town, Barnaul, Altai Territory, Russia, e-mail: uax23@mail.ru

PLACENTA-LIKE ALKALINE PHOSPHATASE AS COWS' POSTPARTUM DISEASES PREDICTIVE MARKER

The aim of research is to study the level of enzymatic activity of total and placental alkaline phosphatases in the interlactation period and the possibility of using these indicators as prognostic markers of postpartum sequela in cows. Research objectives are to study the dynamics of changes in the cows' blood within the interlactation period, the level of enzymatic activity of total alkaline and placental alkaline phosphatases (PAP); to determine the prognostic information value of placental alkaline phosphatase in the prognosis of postpartum diseases in cows. the experiment was carried out in FSBSI FASCA Breeding Plant "Komsomolskoye", Pavlovsky District, the Altai Region. Two groups were formed from cows: a control group in the amount of 61 animals with the physiological course of childbirth and the postpartum period and an experimental group in the amount of 43 animals with postpartum sequela, which included endometritis after spontaneous separation of the placenta; retention of the placenta; postpartum paresis. For laboratory studies, blood was taken from cows from the tail vein in the morning before feeding, once 45–15 days before calving. Significant changes in the enzymatic activity of PAP in comparison with animals of the control group, both 45 and 15 days before calving, were noted only in animals with retention of membranes by 45 and 16.7 U / L, respectively ($p < 0.05$). A significant decrease in the blood of pregnant cows 15 days before calving, the level of the enzymatic activity of the PAP below 14.0 U / L can serve as a prognostic sign of the development of postpartum sequela, in particular, in particular placenta (amniotic membranes) retention.

Keywords: prognostic marker, postpartum diseases, alkaline phosphatase, placental alkaline phosphatase, enzymatic activity.

Введение. Щелочные фосфатазы относятся к группе ферментов, обладающих строгой тканевой специфичностью, что позволяет с достаточной степенью вероятности определить происхождение энзима в крови, моче и других тканевых жидкостях. Фосфатазы, проявляющие свою каталитическую активность при щелочных значениях pH, отличаются не только по изоферментному составу, но и по целому ряду химических, физических и каталитических характеристик, определяемых особенностями физиологии данного органа или ткани. Широкий эволюционный полиморфизм данных энзимов дополняется функциональной онтогенетической гетерогенностью, выявляемой в процессе раз-

вития организма или формирования адаптивных или патологических реакций [1].

Активность плацентарной щелочной фосфатазы (ПЩФ) в крови матери при нормальной и осложненной беременности отражает состояние фето-плацентарного комплекса и, в частности, функцию ворсинчатого хориона плаценты [2].

Как активность общей сывороточной щелочной фосфатазы, так и вклад в общую активность каждого конкретного изофермента зависят от возраста биологического объекта, а также от особенностей его физиологического (например, беременность) или патологического состояния [3]. То есть увеличение в сыворотке крови пациента активности одного из изоферментов

щелочной фосфатазы может адресно указывать на место протекания патологического процесса [4, 5]. Причем следует отметить, что увеличение активности одного из изоферментов щелочной фосфатазы не всегда приводит к увеличению общей активности фермента, которая может оставаться в пределах референтных величин за счет уменьшения активности других изоформ щелочной фосфатазы, имманентно присутствующих в сыворотке крови [6].

Цель исследований: изучение изменения ферментативной активности общей и плацентарной щелочных фосфатаз в сухостойный период и определение их информативной ценности для прогноза послеродовых заболеваний.

Задачи исследований: изучить динамику изменения в крови сухостойных коров, уровень ферментативной активности общей щелочной и плацентарной щелочной фосфатаз; определить прогностическую информативность плацентарной щелочной фосфатазы при прогнозе послеродовых болезней у коров.

Материалы и методы исследований. Экспериментальные исследования проводились в ФГБНУ ПЗ «Комсомольское» Павловского района и в лаборатории ветеринарии ФГБНУ ФАНЦА. С целью определения течения родов и родовых осложнений использовали статистические данные журнала для регистрации больных животных (форма № 1-вет.). Характер инволюции матки и послеродовые осложнения определяли на 10-й и 21–30-й дни после отела при помощи портативного УЗИ сканера iScan со встроенным электронным линейным ректальным датчиком 7,5 MHz.

Контрольная группа (61 гол.) была сформирована из коров с физиологическим течением родов и послеродового периода. Опытная группа животных составила 43 коровы с послеродовыми осложнениями, к которым отнесли: эндометрит после самопроизвольного отделения последа, задержание последа, послеродовой парез.

Для лабораторных исследований брали кровь у коров из подхвостовой вены в утренние часы перед кормлением, однократно за 45–15 дней до отела.

Исследование в крови плацентарной щелочной фосфатазы проводили кинетическим УФ-методом, предварительно в сыворотке крови термически инактивировали другие изоферменты, при температуре 65 °С в течение 10 мин [7]. Ферментативную активность общей щелочной фосфатазы определяли кинетическим УФ-методом с использованием наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест», согласно инструкции по применению данных наборов при помощи фотометрического автоматического анализатора ChemWellCombi 2910 (ChemWell 2910-AwareneessTehnology, США).

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы Excel и оценки критериев достоверности по Стьюденту.

Результаты исследований и их обсуждение. Всего была изучена кровь на уровень ферментативной активности общей ЩФ и ПЩФ в разные периоды до отела от 104 коров, среди которых у 35 животных после отела развились различные послеродовые заболевания. В зависимости от срока стельности животные были условно разделены на 2 подгруппы (табл. 1).

Таблица 1

**Динамика изменения уровня ферментативной активности ЩФ и ПЩФ
в крови сухостойных коров**

Показатель	Кол-во дней до отела	Характер течения послеродового периода			
		Контрольная группа	Опытная группа		
			Задержание последа	Эндометрит	Послеродовой парез
ЩФ общая, Ед/л	45	145,4±17,07	172,2±8,9↑	148,3±18,88	98,8±14,98*
	15	142,7±14,78	117,0±15,33*	114,9±13,5	124,6±8,2
ЩФ плацентарная, Ед/л	45	50,1±7,46	96,6±1,1*	45,2±8,57	53,5±15,59
	15	31,5±4,76	14,8±3,84*	34,3±3,87	28,0±7,40

*p < 0,05.

При анализе данных таблицы 1 отмечается, что достоверное снижение ферментативной активности общей ЩФ на 46,6 Ед/л в среднем за 45 дней до отела в сравнении с контрольной группой животных произошло только у тех коров, у которых впоследствии развился послеродовой парез, однако данные изменения происходили в пределах стандартных интервалов ($p < 0,05$). В группе животных с задержанием последа уровень ферментативной активности общей ЩФ в среднем превышал верхний уровень стандартных интервалов на 19 Ед/л, хотя изменения не достоверны в сравнении с контрольной группой животных. С увеличением сроков стельности, за исключением животных с послеродовым парезом, в крови коров, как с физиологическим течением послеродового периода, так и с послеродовыми осложнениями, происходит снижение уровня общей ЩФ, однако в группах коров с осложнениями изменения уровня ферментативной активности были более резкими, что согласуется с данными Ю.А. Долженкова (2010). В поздний предродовой период в среднем за 15 дней до отела у животных, у которых после отела произошло задержание плодных оболочек, уровень ферментативной активности общей ЩФ достоверно отличался от животных контрольной группы на 25,7 Ед/л, однако данные изменения происходили в пределах стандартных интервалов ($p < 0,05$). Животные с послеродовым парезом имели обратную динамику изменения ферментативной активности общей ЩФ в поздний сухостойный период, т. е. происходило незначительное увеличение ферментативной активности общей ЩФ в пределах стандартных интервалов, вероятнее всего связанное с нарушениями минерального обмена, которые впоследствии привели к развитию у животных гипокальцемии.

Динамика изменения ферментативной активности ПЩФ во всех группах животных имела

однонаправленный характер, т. е. с увеличением сроков стельности происходило снижение ее активности в среднем на 34,2 Ед/л. Следует отметить, что в зависимости от характера послеродовых осложнений наиболее резкое снижение ферментативной активности ПЩФ было характерно для животных с задержанием последа, у которых уровень снижения активности составил 81,8 Ед/л. Однако в целом средние значения достоверно между группами коров не отличались. Достоверные изменения ферментативной активности ПЩФ в сравнении с животными контрольной группы, как за 45, так и за 15 дней до отела, отмечены лишь у животных с задержанием плодных оболочек на 45 и 16,7 Ед/л соответственно ($p < 0,05$) (табл. 1).

С целью подтверждения прогностической информативности уровня ферментативной активности ПЩФ как маркера послеродовых заболеваний был определен минимальный уровень активности ПЩФ в среднем за 15 дней до родов, при котором в 100 % случаях наблюдали осложнения в послеродовой период, который составил 14 Ед/л.

При определении прогностической информативности ПЩФ как маркера послеродовых заболеваний установлено, что в контрольной группе животных в среднем за 15 дней до отела уровень ферментативной активности ПЩФ выше 14 Ед/л наблюдался у 78,2 % животных, при эндометрите уровень активности ПЩФ выше 14 Ед/л отмечается у 88,2 % животных, при послеродовом парезе уровень ферментативной активности ПЩФ выше 14 Ед/л у отмечен у 87,5 % животных. При задержании последа уровень ферментативной активности ПЩФ выше 14 Ед/л наблюдается только у 20,0 % животных, т. е. у 80,0 % коров, имеющих показатель ПЩФ ниже 14 Ед/л, после отела происходило задержание плодных оболочек (табл. 2).

Таблица 2

**Прогностическая информативность уровня ферментативной активности
ПЩФ при послеродовых болезнях у коров**

Показатель	n	Уровень ферментативной активности ПЩФ > 14,0 Ед/л, голов (%)
Количество коров, всего	104	
В т. ч.:		
с физиологическим течением послеродового периода	69	54 (78,2)
задержанием плодных оболочек	10	2 (20,0)
эндометритом	17	15 (88,2)
послеродовым парезом	8	7 (87,5)

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют, что с увеличением сроков стельности, за исключением животных с послеродовым парезом, в крови коров как с физиологическим течением послеродового периода, так и с послеродовыми осложнениями происходит снижение уровня общей ЩФ, а снижение ферментативной активности ПЩФ происходит независимо от того, какие осложнения развивались после отела. Достоверное снижение в крови стельных коров за 15 дней до отела уровня ферментативной активности ПЩФ ниже 14,0 Ед/л может служить прогностическим признаком развития послеродовых осложнений, в частности задержания плодных оболочек. Наиболее оптимальное время для исследования вышеуказанных показателей в крови сухостойных является 15–20 дней до родов. Прогностическая точность использования данного показателя составляет 80,0 %.

Литература

1. Plouzec C.A., Leslie K.K., Stephens J.K., Ccou J.Y. Differential gene expression in amnion, chorion and trophoblast of the human placenta // *Placenta*, 1993. V. 14 № 3. P. 277–285.
2. Цимбалова Т.А., Цирельников Н.И. Сравнительная электрофоретическая характеристика изоформ щелочной фосфатазы в плазме крови и экстрактах ворсинчатого хориона на различных сроках беременности // *Бюл. клин. эксп. мед.* 1992. Т. 114. С. 236–238.
3. Уиллард М.Д. Нарушение функции желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы и печени // *Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных*. М.: Аквариум, 2004. С. 194–235.
4. Raymond L.J. Heather Tarpley L., Kenneth Latimer S., Perry Bain J. // *Alkaline Phosphatase Activity asa Clinical Chemistry Diagnostic Aid Class*. Athens, GA. P. 30602–7388.
5. Бокарев А.В., Стекольников А.А. Активность щелочной фосфатазы и концентрация сиаловых (нейраминовых) кислот в сыворотке крови у собак с некоторыми патологиями костной системы // *Актуальные проблемы ветеринарной медицины: сб. науч. тр. № 134*. СПб.: Изд-во СПбГАВМ, 2002. С. 31–33.
6. Стекольников А.А. Прогностическое значение печеночного изофермента ALP при лечении собак циклофосфаном // *Структурно-функциональные особенности биосистем севера (особи, популяції, сообщество): мат-лы конф., (26–30 сентября 2005 г., Петрозаводск). Ч. 2 (М-Я)*. Петрозаводск, 2005.
7. Бокарев А.В., Стекольников А.А. Исследование ингибирования изоферментов щелочной фосфатазы сыворотки крови собак при различных режимах тепловой денатурации // *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2010. № 1 (5). С. 8–18.

References

1. Plouzec S.A., Leslie K.K., Stephens J.K., Ccou J.Y. Differential gene expression in amnion, chorion and trophoblast of the human placenta // *Placenta*, 1993. V. 14 № 3. R. 277–285.
2. Tsimbalova T.A., Tsirel'nikov N.I. Sravnitel'naya ehlektroforeticheskaya kharakteristika izoform shchelochnoi fosfatazy v plazme krovi i ehkstraktakh vorsinchatogo khoriona na razlichnykh srokakh beremennosti // *Byul. klin. ehksp. med.* 1992. T. 114. S. 236–238.
3. Uillard M.D. Narushenie funktsii zheludochno-kishechnogo trakta, podzheludochnoi zhelezy i pecheni // *Laboratornaya diagnostika v klinike melkikh domashnikh zhivotnykh*. M.: Akvarium, 2004. C. 194–235.
4. Raymond L.J. Heather Tarpley L., Kenneth Latimer S., Perry Bain J. // *Alkaline Phosphatase Activity asa Clinical Chemistry Diagnostic Aid Class*. Athens, GA. R. 30602–7388.
5. Bokarev A.V., Stekol'nikov A.A. Aktivnost' shchelochnoi fosfatazy i kontsentratsiya sialovykh (neiraminovykh) kislot v syvorotke krovi u sobak s nekotorymi patologiyami kostnoi sistemy // *Aktual'nye problemy veterinarnoi meditsiny: sb. nauch. tr. № 134*. SPb.: Izd-vo SPBGAVM, 2002. S. 31–33.
6. Stekol'nikov A.A. Prognosticheskoe znachenie pechenochnogo izofermenta ALP pri lechenii sobak tsiklofosfanom // *Strukturno-funktsional'nye osobennosti biosistem severa (osobi, populyatsii, soobshchestva): mat-ly konf., (26–30 sentyabrya 2005 g., Petrozavodsk). Ch. 2 (M-YA)*. Petrozavodsk, 2005.
7. Bokarev A.V., Stekol'nikova A.A. Issledovanie ingibirovaniya izofermentov shchelochnoi fosfatazy syvorotki krovi sobak pri razlichnykh rezhimakh teplovoi denaturatsii // *Aktual'nye voprosy veterinarnoi biologii*. 2010. № 1 (5). S. 8–18.