

**УДК 619:616.41:636.12:611.4/.612.119**

**ПІДДУБНЯК О. В.**, аспірант

Науковий керівник – д-р вет. наук, професор **ГОЛОВАХА В.І.**

*Білоцерківський національний аграрний університет*

## **ІНФОРМАТИВНІСТЬ АКТИВНОСТІ 2,3-ДФГ У КОНЕЙ**

Встановлено, що у клінічно здорових нежеребних та вагітних кобил протягом 9 міс. жеребності показники 2,3-дифосфогліцератного шунта гліколізу не змінюються і лише перед пологами – підвищуються. Зростання активності 2,3-ДФГ в еритроцитах є раннім діагностичним тестом гіпоксії під час різних захворювань. Зокрема, за хронічного бронхіту та аліментарного виснаження активність його була вищою відповідно на 35,5 і 62,1 % порівняно із здоровими. Однак найбільш тяжкий ступінь гіпоксії виявлений у коней з явищами невротатії (клінічні ознаки та патолого-анатомічні зміни були характерні для поєданого перебігу алкалоїдомікотоксикозу та енцефаліту), про що свідчить високий вміст цього метаболіту –  $14,38 \pm 1,57$  мкмоль/мл суспензії еритроцитів, що в 3,2 рази більше, ніж у здорових коней.

Скрутне економічне становище державних кінних підприємств призвело до недбалого утримання та неповноцінної годівлі тварин, що спричинило виникнення різних захворювань, перебіг яких негативно впливає на еритроцитопоез та сприяє виникненню явищ гіпоксії в організмі. Традиційно її оцінюють за загальноприйнятими показниками (визначають загальну кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну, величину гематокриту та індекси „червоної крові”) [1]. Однак останні змінюються здебільшого в розпалі патологічних процесів, що нерідко не дає змоги своєчасно їх діагностувати. Тому виявлення явища гіпоксії на ранніх стадіях розвитку [2,3] має стати ключовим елементом у практиці ветеринарного лікаря, особливо в конярстві. Серед ранніх маркерів гіпоксії, які найбільше вивчені у людей [4], великої рогатої худоби [5–7] і свиней [8], є 2,3-дифосфогліцерат (2,3-ДФГ), що знижує спорідненість гемоглобіну з киснем і сприяє швидкій трансфузії його в тканини. У коней роль цього метаболіту практично не з'ясована. Тому мета роботи і полягала у вивченні інформативності активності 2,3-ДФГ у коней.

**Матеріал та методи дослідження.** Матеріалом для дослідження були вагітні тварини та коні з різною патологією, яких поділили на декілька груп. Першу групу склали нежеребні клінічно здорові кобили (вік 5–15 років) української верхової породи (n=17); другу – кобили 8–11 міс. жеребності (n=19); третю – коні, хворі на хронічний бронхіт (n=10); четверту – тварини з ознаками аліментарного виснаження

(n=15) і п'яту – коні з явищами невропатії (клінічні ознаки й патолого-анатомічні зміни були характерні для поєданого перебігу алкалоїдомікотоксикозу та енцефаліту) (n=10).

У суспензії еритроцитів досліджували концентрацію загального і неорганічного фосфору та активність 2,3-ДФГ (методика Дусе у модифікації Л.І. Апуховської), у крові визначали загальну кількість еритроцитів (пробірочним методом), вміст гемоглобіну (геміглобінціанідним методом), величину гематокриту (центрифугуванням за Шклярем).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Встановлено, що у нежеребних клінічно здорових кобил вміст загального фосфору в еритроцитах складав у середньому  $11,11 \pm 0,74$  мкмоль/мл, неорганічного –  $6,82 \pm 0,48$ , активність 2,3-ДФГ –  $4,28 \pm 0,48$  мкмоль/мл суспензії еритроцитів ( $\delta = \pm 1,67$ ), а частка 2,3-ДФГ у загальному фосфорі становила  $37,25 \pm 3,73$  % (табл. 1). У коней цей індекс нижчий порівняно з тваринами інших видів [6,7]. За таких показників активності 2,3-дифосфогліцератного шунта гліколізу гематологічні показники крові становили: кількість еритроцитів –  $8,08 \pm 0,43$  Т/л ( $\delta = \pm 1,44$ ); вміст гемоглобіну –  $145,3 \pm 4,0$  г/л ( $\delta = \pm 12,7$ ); гематокритна величина –  $41,2 \pm 0,92$  ( $\delta = \pm 2,97$ ) %.

Таблиця 1 – Показники 2,3-ДФГ у нежеребних клінічно здорових (n=17) і глибокожеребних кобил (n=19)

Групи тварин	$P_{\text{заг}}$ , мкмоль/мл сусп. ер.	$P_{\text{н}}$ , мкмоль/мл сусп. ер.	2,3-ДФГ, мкмоль/мл сусп. ер.	$\frac{2,3\text{-ДФГ}}{P_{\text{заг}}}$ , (у відсот.)
Нежеребні клінічно здорові кобили	7,56–15,40 $11,11 \pm 0,74$	4,07–8,92 $6,82 \pm 0,48$	2,14–6,63 $4,46 \pm 0,52$	19,93–51,9 $37,25 \pm 3,73$
8–9-й місяці жеребності	9,59–17,01 $13,4 \pm 1,28$	5,4–8,71 $6,97 \pm 0,71$	2,61–10,95 $6,43 \pm 1,33$	24,8–64,4 $46,0 \pm 5,8$
10–11-й місяці жеребності	10,56–17,0 $13,86 \pm 0,45^x$	4,86–11,1 $7,14 \pm 0,35$	5,55–7,83 $6,73 \pm 0,37^{xx}$	34,7–55,1 $48,9 \pm 1,7^x$

**Примітка.** <sup>x</sup> –  $p < 0,05$ ; <sup>xx</sup> –  $p < 0,01$  порівняно з клінічно здоровими тваринами.

Проведені дослідження показали, що у частини клінічно здорових кобил показники еритроцитопоезу, у тому числі і 2,3-дифосфогліцератного шунта гліколізу, упродовж 9 міс. жеребності мали тенденцію до збільшення.

Надалі, з наближенням пологів (10–11-й місяці жеребності) ці величини зростають. Зокрема збільшується вміст загального фосфору –  $13,86 \pm 0,45$  мкмоль/мл суспензії еритроцитів ( $p < 0,05$ ). Вірогідно вищою була активність 2,3-ДФГ ( $6,73 \pm 0,37$  мкмоль/мл суспензії еритроцитів;  $p < 0,01$ ) і його частка до загального фосфору –  $48,9 \pm 1,7$  %, що на  $11,65$  % більше порівняно із здоровими –  $37,25 \pm 3,73$  % ( $p < 0,05$ ; табл. 1). Такі зміни активності 2,3-дифосфогліцератного шунта гліколізу в кобил у цей період, очевидно, є фізіологічним явищем, яке спрямоване на усунення тимчасової гіпоксії. Наявність її перед пологами підтверджують низькі величини (у  $25$  % кобил) загальної кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну.

Більш показовими зміни цього антигіпоксичного механізму (2,3-дифосфогліцератного шунта гліколізу) були під час захворювань. Зокрема, за хронічного бронхіту вміст загального фосфору в еритроцитах становив  $13,36 \pm 0,70$  мкмоль/мл суспензії еритроцитів, що на  $16,8$  % більше порівняно із здоровими тваринами ( $p < 0,05$ ; табл. 2).

Таблиця 2 – Показники 2,3-ДФГ у нежеребних клінічно здорових кобил і коней, з хронічним бронхітом та аліментарним виснаженням

Групи тварин	$P_{\text{заг}}$ , мкмоль/мл сусп. ер.	$P_{\text{н}}$ , мкмоль/мл сусп. ер.	2,3-ДФГ, мкмоль/мл сусп. ер.	$\frac{2,3\text{-ДФГ}}{P_{\text{заг}}}$ , (у відсот.)
Нежеребні клінічно здорові кобили	7,56–15,40 $11,11 \pm 0,74$	4,07–8,92 $6,82 \pm 0,48$	2,14–6,63 $4,46 \pm 0,52$	19,93–51,9 $37,25 \pm 3,73$
Коні, хворі на хронічний бронхіт	10,9–16,0 $13,36 \pm 0,70^x$	5,1–8,68 $6,96 \pm 1,48$	4,55–10,9 $6,91 \pm 0,98^x$	35,0–68,13 $47,48 \pm 4,68$
Коні з ознаками аліментарного виснаження	11,43–19,03 $14,89 \pm 1,29^x$	5,24–11,53 $7,71 \pm 0,86$	4,43–11,93 $7,18 \pm 1,2^x$	28,78–62,69 $47,94 \pm 5,68$

**Примітка.** <sup>x</sup> –  $p < 0,05$  порівняно з клінічно здоровими тваринами.

Підвищені величини його виявили у  $40$  % хворих. Вищим (на  $35,5$  %) у коней був і вміст 2,3-ДФГ –  $6,91 \pm 0,98$  мкмоль/мл суспензії еритроцитів, що, очевидно, викликано значними структурними змінами в мембранах клітин, порушенням

метаболической активности эритроцитов, внаслідок чого посилюється анаеробне розщеплення глюкози, яка є каталізатором регуляції 2,3-дифосфогліцератного шунта гліколізу.

На відміну від 2,3-ДФГ, загальноприйняті показники еритроцитопоезу, а саме: загальна кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну та гематокритна величина істотно не змінюються, що, напевно, вказує на вирішальне значення 2,3-ДФГ навіть за легкого ступеня гіпоксії.

Виражені ознаки кисневого голодування тканин виявлені у коней за аліментарного виснаження. Зміни еритроцитопоезу проявлялися олігоцитемією, олігохромемією (відповідно у 53,3 і 60 % тварин) та зменшенням величини гематокриту ( $33,9 \pm 1,4$  %).

Як відомо, розвиток анемічного стану перебігає з явищами гіпоксії, а важливим внутрішньоклітинним механізмом адаптації еритроцитів є підвищення активності 2,3-дифосфогліцератного шунта гліколізу в них. Встановлено, що концентрація загального фосфору і 2,3-ДФГ у хворих коней були вірогідно вищими ( $p < 0,05$ ), порівняно з клінічно здоровими, і становили відповідно  $14,89 \pm 1,29$  і  $7,18 \pm 1,2$  мкмоль/мл суспензії еритроцитів (табл. 2), що, напевно, вказує на компенсаторні механізми регуляції функціонування складових компонентів цитоплазми еритроцитів: а саме ефіру фосфорної кислоти (2,3-ДФГ), який сприяє зниженню спорідненості гемоглобіну з киснем і більш швидкому вивільненню його з молекули гемоглобіну.

Перебіг багатьох захворювань як інфекційної, так і неінфекційної етіології спричинює виникнення функціональних порушень нервової системи, яка однією з перших реагує на стан гіпоксії в організмі. Тому виявлення її на ранніх стадіях за допомогою чутливого тесту – 2,3-ДФГ є першочерговим завданням діагностики невропатії.

Встановлено, що концентрація загального фосфору в еритроцитах у хворих коней була підвищеною і складала  $20,5 \pm 1,57$  мкмоль/мл суспензії еритроцитів, що в 1,85 рази більше порівняно з клінічно здоровими ( $p < 0,001$ ; табл. 3). Однак вміст неорганічного фосфору мав тенденцію до зниження ( $6,11 \pm 0,75$ ), що свідчить,

напевно, про збіднення ліпідними компонентами мембран еритроцитів, внаслідок чого змінюється їх проникність до макроелемента та зростає його роль у синтезі органічних сполук.

Оскільки 2,3-ДФГ знижує спорідненість гемоглобіну до кисню, то з поглибленням кисневого голодування підвищується і його вміст. Наші дослідження показали, що активність 2,3-ДФГ в еритроцитах у хворих коней з явищами невропатії була у 3,2 рази більшою, порівняно із здоровими, і складала  $14,38 \pm 1,57$  мкмоль/мл суспензії еритроцитів (табл. 3).

Таблиця 3 – Показники 2,3-ДФГ у нежеребних клінічно здорових кобил і коней з ознаками невропатії

Групи тварин	$P_{\text{заг}}$ , мкмоль/мл сусп. ер.	$P_{\text{н}}$ , мкмоль/мл сусп. ер.	2,3-ДФГ, мкмоль/мл сусп. ер.	$\frac{2,3\text{-ДФГ}}{P_{\text{заг}}}$ , (у відсот.)
Клінічно здорові коні	7,56–15,40 $11,11 \pm 0,74$	4,07–8,92 $6,82 \pm 0,48$	2,14–6,63 $4,46 \pm 0,52$	19,93–51,9 $37,25 \pm 3,73$
Коні з ознаками невропатії	16,58–25,75 $20,50 \pm 1,57$	3,34–9,88 $6,11 \pm 0,75$	10,87–20,80 $14,38 \pm 1,57$	54,2–84,12 $69,43 \pm 4,58$
p<	0,001	0,5	0,001	0,001

Частка цього ефіру фосфорної кислоти до загального фосфору становила  $69,43 \pm 4,58$  % проти  $37,25 \pm 3,73$  % у здорових (на 53,6 % більше).

Такі показники 2,3-дифосфогліцерату свідчать про тяжкий гіпоксичний стан, на що вказують зміни і більш поширених на практиці показників еритроцитопоезу (загальна кількість еритроцитів і гемоглобін). У хворих коней відмічали олігоцитемію та олігохромемію відповідно у 72,7 і 45 % коней, пойкилоцитоз і анізоцитоз.

Отже, виявлені зміни еритроцитопоезу за явищ невропатії є явною ознакою тяжкого ступеня тканинної гіпоксії, розбалансування процесів аеробного та посилення процесів анаеробного розщеплення глюкози у тканинах, що, на нашу думку, могло призвести до незворотних процесів у клітинах нервової системи.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** Встановлено, що у клінічно здорових нежеребних та вагітних кобил протягом 9 міс. жеребності показники 2,3-дифосфогліцератного шунта гліколізу не змінюються і лише перед пологами вони підвищуються. Зростання активності 2,3-ДФГ в еритроцитах є раннім діагностичним тестом гіпоксії під час різних захворювань. Зокрема, за хронічного бронхіту та аліментарного виснаження активність його була вищою відповідно на 35,5 і 62,1 % порівняно із здоровими. Однак найбільший ступінь гіпоксії виявлений у коней з явищами невропатії (клінічні ознаки і патолого-анатомічні зміни були характерними для поєданого перебігу алкалоїдомикотоксикозу та енцефаліту), про що свідчить високий вміст 2,3-ДФГ –  $14,38 \pm 1,57$  мкмоль/мл суспензії еритроцитів (у 3,2 рази більше, ніж у здорових коней).

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Bunn H.F. Evolution of mammalian hemoglobin function // *Blood*. – 1981. – Vol. 58, № 2. – P. 189–197.
2. Мешкова Н.П., Алекахіна В.В. Определение фосфорно-глицериновой кислоты // *Успехи биол. химии*. – 1954. – С. 285–288.
3. Albaba M.M., Fortier H.L., Glander V.E. Physiologic features of hemoglobin associated with altered cation and 2,3-DPG content // *Blood*. – 1978. – Vol. 52, № 1. P. 135–141.
4. Омельченко Л.І., Апуховська Л.І., Івашкевич С.П. Дослідження ліпідного складу мембран, вмісту 2,3-дифосфогліцерату і неорганічного фосфору в еритроцитах крові у дітей з рахітом // *Педіатрія, акушерство і гінекологія*. – 1980. – № 2. – С. 20–22.
5. Neffson A. W. Acute laryngotracheo-bronchitis. – New York, 1989. – P. 15.
6. Стан гемопоєзу та структурно-функціональні властивості мембран і цитоплазми еритроцитів при аліментарній дистрофії у корів / В.І. Левченко, В.П. Москаленко, М.Я. Тишківський та ін. // *Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту*. – Вип. 2, ч. 1. – Біла Церква, 1997. – С. 50–53.
7. Розумнюк А.В., Москаленко В.П., Бойко Ф.А. Структурно-функціональні властивості еритроцитів у телят, хворих на бронхопневмонію // *Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту*. – Вип. 11. – Біла Церква, 2000. – С. 103–106.
8. Бершадський В.І. Особливості еритропоєзу та метаболізму в еритроїдних клітинах свиней в неонатальному періоді: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Львів, 1996. – 18 с.

#### **Информативность активности 2,3-ДФГ у лошадей**

**О. В. Пиддубняк**

Установлено, что у клинически здоровых холостых и беременных кобыл на протяжении 9 мес. жеребости показатели 2,3-дифосфоглицератного шунта гликолиза не изменяются, и только перед родами они повышаются. Увеличение активности 2,3-ДФГ в эритроцитах является ранним диагностическим тестом гипоксии при разных заболеваниях. В частности, при хроническом бронхите и алиментарном истощении активность его была выше соответственно на 35,5 и 62,1 %, сравнительно со здоровыми. Однако наиболее тяжелая степень гипоксии обнаружена у лошадей с явлениями невропатии (клиническая картина и патолого-анатомические изменения были характерны для алкалоидомикотоксикоза и энцефалита), о чем свидетельствует высокое

содержание этого метаболита –  $14,38 \pm 1,57$  мкмоль/мл суспензии эритроцитов, что в 3,2 раза больше, чем у здоровых лошадей.

### **Informativity of 2,3 DPG activities in horses**

#### **O. Piddubnyak**

There was established that in clinically healthy bared and pregnant mares, during 9 month of pregnancy the indexes 2,3-difosfoglycerate shunt do not change and increase only before parturition. The increasing of 2,3-DPG activity in erythrocytes are early diagnostic test for hypoxia at different diseases – namely it was 35,5 and 62,1 % at chronicle bronchitis and alimentary emancipation accordingly. The most developed hypoxia was found in horses with nevropatia (clinical and pathological changes were characteristic to joined course of alkaloidemicotoxicosis and encephalitis), that was evident by high content of the metabolite –  $14,38 \pm 1,57$  mkmol/ml of erythrocyte suspension that is 3,2 times as much as in healthy horses.