

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРОПРОМЫШЛЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
УКРАИНСКАЯ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ

На правах рукописи

НИКИТИНА
НАТАЛИЯ СЕРГЕЕВНА

ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНОГО СОСТОЯНИЯ
КРОВИ НА ОБМЕН МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ У КУР

03.00.04 -- биохимия

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Львов

1991

АБ 23.743

Работа выполнена на кафедре биохимии и биотехнологии Украинской
ордена Трудового Красного Знамени сельскохозяйственной академии

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор, член-
корреспондент АН УССР Д.А.Мельничук

Официальные оппоненты:

- доктор биологических наук, профессор Г.И.Калачнюк
- доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник
В.А.Кокунин

Ведущее предприятие: Белоцерковский сельскохозяйственный
институт им. П.Л.Погребняка.

Защита диссертации состоится "31" сентября 1991 г. в 13 часов
в аудитории №1 на заседании специализированного совета Д 120.17.01
по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук при
Львовском ордена Трудового Красного Знамени зооветеринарном инсти-
туте (290601, г.Львов, ул.Пекарская, 50).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Львовского орде-
на Трудового Красного Знамени зооветеринарного института.

Автореферат разослан "30" 09 1991 г.

Ученый секретарь
специализированного совета,
доцент

П.И.Головач

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00815797 (.)

ЛННБ ім. В. Стефаніка
АН УРСР

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В условиях птицефабрик промышленного типа в настоящее время все еще широко распространено такое заболевание птиц, как подагра, в основе которого лежит нарушение обмена мочевой кислоты. Поэтому изучение молекулярных механизмов возникновения и протекания этой болезни с целью совершенствования существующих способов лечения и профилактики — чрезвычайно актуальны как в теоретическом, так и в прикладном отношении. Как известно, у кур мочевая кислота — конечный продукт не только пуринового, но и азотистого обмена. Чрезмерное накопление мочевой кислоты в тканях вызывает кристаллизацию ее солей, что приведет к развитию подагры (Gutman, 1965). Известно, что основными причинами возникновения данного заболевания могут быть: избыток пуринов и белка в рационе (Coon, 1975; Hevia, 1978); почечная недостаточность (Cameron, 1981); наследственные ферментативные аномалии пуринового обмена (Fox, 1981) и ряд других (Константинов, 1972). Известно также, что нарушение обмена мочевой кислоты, а иногда и развитие подагры у птиц, наблюдается при сдвиге кислотно-щелочного равновесия (КЩР) организма в сторону ацидоза (Петрунь Л.М. и др., 1982). Однако, не совсем ясно, является ли нарушение КЩР только следствием возникновения подагры или же оно может стать причиной этого заболевания. Кроме того, имеются противоречивые данные об эффективности применения бикарбоната натрия как одного из терапевтических средств лечения подагры (Mankiewicz, 1977).

Цель работы. Изучить влияние нарушений КЩР на обмен мочевой кислоты в тканях кур. Для достижения поставленной цели представлялось необходимым решить следующие задачи:

1) изучить состояние КЩР, активность коантинооксидазы и коантидегидрогеназы, содержание ряда метаболитов цикла трикарбоновых кислот, гликолиза и обмена аммонийного азота в крови и тканях кур при подагре, а также у интактной птицы при экспериментальном изменении состояния КЩР крови;

2) исследовать влияние коррекции нарушенного КЩР крови больных подагрой кур на обмен мочевой кислоты, функционирование цикла трикарбоновых кислот и гликолиза;

3) на основе полученных данных глубже уяснить молекулярные механизмы этиологии и патогенеза подагры кур с целью совершенствования существующих способов ее лечения и профилактики.

Научная новизна. В результате проведенных исследований показано, что в тканях кур, больных подагрой, имеет место значительное усиление процессов гликолиза и сдвиг КЩР в сторону метаболического ацидо-

ва. На интактных курах установлено, что метаболические ацидозы (средней и тяжелой формы) активируют процессы образования и накопления аммиака и мочевой кислоты в тканях. Степень указанной активации зависит от степени тяжести ацидоза. Противоположные по направленности изменения указанных метаболических процессов имеют место при метаболическом алкалозе средней формы тяжести. В то же время тяжелый метаболический алкалоз обуславливает (как и при ацидозах) усиление образования и накопление аммиака и мочевой кислоты в тканях интактных кур.

В опытах *in vitro* впервые показана зависимость активности ксантин-дегидрогеназы тканей кур не только от величины рН в инкубационной среде, но и от концентрации HCO_3^- и CO_2 , в том числе и при постоянном значении ее рН. Выявлено также, что коррекция ацидозного состояния в организме больной податрой птицы в значительной мере способствует нормализации обмена веществ и, в том числе, приводит к снижению концентрации мочевой кислоты в тканях. Делается вывод о том, что ацидозное состояние или тяжелый метаболический алкалоз может стать одним из этиологических факторов нарушения обмена и накопления мочевой кислоты в организме птицы. Сформулировано положение о гомеостатической роли активации процессов аммоние- и урикогенеза, обеспечивающих утилизацию избытка протонов в тканях птицы при ацидозе.

Практическая ценность. Полученные данные расширяют существующие представления о молекулярных механизмах этиологии и патогенеза податры кур и могут быть использованы в учебном процессе на ветеринарных и зооинженерных факультетах сельскохозяйственных ВУЗов. Результаты эксперимента являются основанием для разработки практических рекомендаций по профилактическому обследованию параметров КЩР крови птицы и совершенствованию способа коррекции ацидозного состояния организма скормливанием с кормом или питьевой водой определенных доз бикарбоната натрия. Приоритетность указанных исследований подтверждается положительным решением Госкомитета по изобретениям при Совете Министров СССР на выдачу авторского свидетельства по заявке "Способ профилактики и лечения ацидоза у кур" № 4775423/15.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы докладывались на У Всесоюзном биохимическом съезде (Киев, 1986), Всесоюзном симпозиуме "Биохимия сельскохозяйственных животных и Продовольственная программа" (Ташкент, 1986), научных семинарах Института биохимии им. А.В.Палладина АН УССР и научных конференциях профессорско-преподавательского состава Украинской сельскохозяйственной академии.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 4 работы, авторское

свидетельство.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 132 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, включающей описание задач, материалов и методов исследований и их обсуждения (три главы), заключения, выводов, практических рекомендаций, приложения. Список литературы содержит 214 источников (37 отечественных и 177 зарубежных). Работа включает 12 рисунков, 29 таблиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Первая серия исследований проведена на клинически здоровых и больных подагрой курах породы белый леггорн 160-дневного возраста в условиях птицефабрики. Висцеральная форма подагры (обильное отложение мочекислых солей на всех висцеральных покровах, увеличение почек с многочисленными островками отложений уратов в их паренхиме, расширение мочеточников, заполнение их мелоподобной массой солей мочевой кислоты) была установлена при патологоанатомическом осмотре тушек больной птицы.

Вторая серия экспериментов проводилась в условиях вивария. Клинически здоровых кур породы белый леггорн 150-дневного возраста разделили на пять групп. Первая группа (контроль) получала стандартный комбикорм (ГОСТ 18221-72) из расчета 115 г на голову в сутки. Суточную дозу комбикорма скармливали в два приема. С целью экспериментального изменения КЩР крови в комбикорм опытных групп вводили: 20%-раствор соляной кислоты из расчета 4 мл и 8 мл соответственно на 1 кг корма (группа 2 - метаболический ацидоз средней формы и группа 3 - метаболический ацидоз тяжелой формы); бикарбонат натрия из расчета 2 г и 4 г соответственно на 1 кг корма (группа 4 - метаболический алкалоз средней формы и группа 5 - метаболический алкалоз тяжелой формы):

Указанные дозы соляной кислоты и бикарбоната натрия подбирались нами в процессе ряда рекогносцировочных опытов. Комбикорм с указанными добавками скармливали птице в течение девяти дней, периодически контролируя состояние КЩР крови.

В третьей серии опытов *in vitro* использовали цитозольную фракцию ткани печени кур, в которой исследовали изменение активности квантиндегидрогеназы под влиянием различных концентраций H^+ , CO_2 и HCO_3^- в инкубационной среде.

В четвертой серии опытов использовали кур породы Тетра В 329-дневного возраста с клиническими признаками подагры, которой скарм-

ливали в два приема стандартный комбикорм (ГОСТ 18221-72). Птица опытной группы вместо воды получала 0,5% раствор бикарбоната натрия.

Определяли:

- состояние КЩР в крови - с помощью биологического микроанализатора типа ОР-210/1 (ВНР) и номограммы Зигаард-Андерсона (Агапов, 1968);
- концентрацию аммиака и глутамина в цельной крови и в ТХУ-экстрактах - по методу Силаковой и др. (1969);
- общее содержание свободных аминокислот в экстрактах плазмы крови - с помощью анализатора аминокислот типа ИД-1200 В (ЧССР);
- содержание мочевой кислоты в крови и тканях печени и почек - согласно методу Мюллер-Зейфerta (1963);
- содержание некоторых метаболитов цикла трикарбоновых кислот и гликолиза (молочной, пировиноградной (Нохорст, 1963), глутаминовой (Верт, Бергмейер, 1963), α -кетоглутаровой (Бергмейер, Верт, 1963), яблочной (Нохорст, 1963), шавелевоуксусной (Нохорст, Келн, 1963) кислот) - с применением ферментативных методов;
- активность коантиноксидазы и коантиндегидрогеназы в печени и почках - по методу Rowe (1966) и Козаченко с соавт. (1982);
- содержание белка - по *Лойбу*, 1951.

При исследовании влияния H^+ , CO_2 и HCO_3^- в различных концентрациях на активность коантиндегидрогеназы в печени кур содержание HCO_3^- рассчитывали таким образом, чтобы общая концентрация углекислоты при различных рН инкубационной среды составляла 10, 30, 60 мМ. Контролем служила инкубационная смесь с эквимолярным по Ca^+ раствором CaCl_2 . Изменения уровней H^+ и CO_2 в каждой из инкубационных сред достигали путем насыщения углекислотой до соответствующих значений рН. Активность коантиндегидрогеназы определяли по Rowe, 1966 и Козаченко с соавт., 1982.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

I. Состояние кислотно-щелочного равновесия крови и особенности обмена веществ у кур при подагре

Анализируя показатели КЩР крови здоровых и больных подагрой кур можно сделать вывод о том, что больная птица находится в состоянии острой формы метаболического ацидоза (рис.1). Об этом свидетельствует снижение величины сдвига буферных оснований, а также концентрации истинного бикарбоната в крови больных кур в 2-3 раза по сравнению с контролем. Результаты, приведенные на рисунке 2, свидетельствуют о значительном увеличении в крови больных подагрой кур концентрации аммиака (на 92%), что указывает на резкое нарушение обмена аммоний-

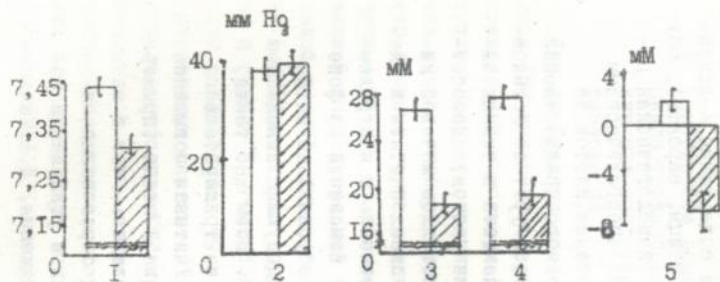


Рис. 1. Параметры кислотно-щелочного состояния крови кур, клинически здоровых (I) и больных подагрой (II), $n=6$. 1 - pH, 2 - P_{CO_2} , 3 - истинный бикарбонат, 4 - общее содержание CO_2 , 5 - сдвиг буферных оснований.

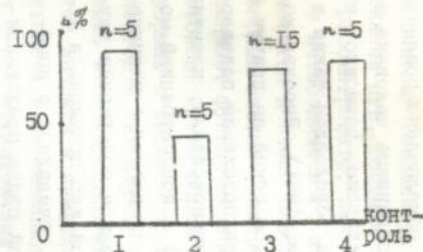


Рис. 2. Различия (%) в уровнях аммиака (I), глутамина (II), мочевой кислоты (III) и свободных аминокислот (IV) в крови больных подагрой кур (опыт) по сравнению со здоровыми (контроль).

I. Изменение ксантиндегидрогеназной активности в тканях печени и почек кур при подагре (мкмоль мочевой кислоты/мг белка за 30 мин; $M \pm m$; $n=8$)

Группы птиц	Ксантиндегидрогеназа	
	печень	почки
Клинически здоровые	$815,0 \pm 85,0$	$782,0 \pm 78,0$
Больные подагрой	$2128,4 \pm 89,0$	$1770,0 \pm 408,0$

ного азота в их организме, которое, вероятно, обусловлено усилением процессов аммониегенеза, как показано для организма человека и животных при ацидозе (Tanner, 1983). С другой стороны, возможно, что установленный высокий уровень аммиака в тканях обусловлен также и почечной недостаточностью у больных кур (Самсова, 1981). Высокая концентрация глутамина (рис.2), очевидно, является одной из причин усиленного образования пуринов. Высказанное предположение подтверждается повышенной (в 2 раза) активностью ксантиноксидазы, ксантиндегидрогеназы в тканях печени и почек (табл. I) и концентрацией мочевой кислоты в крови больных подагрой кур по сравнению с клинически здоровой птицей (рис.2). Выявленное повышенное содержание глутамата в тканях печени и почек больных подагрой кур примерно в 3 раза по сравнению с контролем свидетельствует, очевидно, о пониженной активности глутаматдегидрогеназы. В этой связи представляют несомненный интерес сведения о содержании α -кетоглутарата в тканях больной птицы. Установлено, что концентрация этого метаболита в тканях печени и почек больных подагрой кур в 4-11 раз выше чем у клинически здоровых. Повышенное в 2 раза содержание α -лактата и пирувата в тканях печени и почек больной птицы, вероятно, обусловлено усилением в них процессов гликолиза. Физиологическая целесообразность этого может быть обусловлена как энергетическими нуждами организма, так и необходимостью обеспечения клеток за счет глюкозы α -кетоглутаратом, в качестве основного предшественника глутамина, используемого в процессе биосинтеза уратов. Установлено, что высокое содержание кетоновых тел и лактата в тканях вызывает снижение интенсивности выведения почками уратов, способствуя перенасыщению ими тканей и образованию кристаллов мочевой кислоты (Кисел, Заливец, 1976). Содержание малата и оксалоацетата в тканях печени и почек больных подагрой кур по сравнению с контролем достоверно не изменяется ($P > 0,05$). Отсутствие изменений на фоне высокой концентрации α -кетоглутарата, видимо, обусловлено интенсивным участием его в связывании аммиака и последующим выведением этого метаболита из цикла трикарбоновых кислот. Возможно также, что оксалоацетат и малат интенсивно выводятся из трикарбонового цикла, используя в реакциях глюконеогенеза. Учитывая повышение концентрации свободных аминокислот в крови больной птицы (примерно в 2 раза выше чем у здоровой), можно предполагать, что в ее тканях усиливаются протеолитические процессы и образовавшиеся аминокислоты, дезаминируясь, играют важную роль в утилизации избытка протонов (рис.2). Исходя из этого предположения, Д.А.Мельни-

чук считает (Мельничук Д.А., 1980), что накопление мочевой кислоты в тканях кур, больных подагрой (ненаследственной этиологии), следует рассматривать, как проявление функционирования одного из механизмов метаболического кислотно-щелочного гомеостаза. Мочевая кислота относится к очень слабым кислотам и, видимо, при истощении основных буферных систем (бикарбонатной, фосфатной, белковой и др.) организм усиливает функционирование этого механизма для связывания избытка протонов. Таким образом, не исключено, что не только избыток азота в кормах с высоким содержанием белка, но и избыток кислотных эквивалентов в них служит причиной заболевания птицы подагрой. Подтверждение этого предположения могло бы существенно повлиять на выбор путей лечения и профилактики данного заболевания. Для проверки правильности вышеуказанного предположения нами была проведена следующая серия исследований по изучению особенностей урикогенеза, а также функционирования трикарбонового цикла и гликолиза в тканях кур при экспериментально вызванных метаболических ацидозах и алкалозах разной степени выраженности (средней и тяжелой форм).

2. Особенности обмена аммонийного азота, функционирования цикла трикарбоновых кислот и гликолиза в крови и тканях кур при экспериментальном изменении кислотно-щелочного равновесия

Для достижения поставленной цели подопытных кур породы белый леггорн 150-дневного возраста разделили на пять групп и скормливали им стандартный комбикорм (ГОСТ 18221-72) из расчета 115 г на голову в сутки. Воду не ограничивали, содержание - клеточное. С целью создания модели экспериментального изменения КЩР крови в комбикорм для кур опытных групп вводили: 20%-ный раствор соляной кислоты из расчета 4 мл и 8 мл соответственно на 1 кг корма (группа 2 - метаболический ацидоз средней формы и группа 3 - метаболический ацидоз тяжелой формы); бикарбонат натрия из расчета 2г и 4г соответственно на 1 кг комбикорма (группа 4 - метаболический алкалоз средней формы и группа 5 - метаболический алкалоз тяжелой формы). Отмеченные дозы соляной кислоты и бикарбоната натрия подбирали в ряде рекогносцировочных опытов. В течение девяти дней опыта выборочно контролировали состояние КЩР крови подопытных кур. Спустя указанный срок у подопытной птицы существенно изменилось состояние КЩР крови. Данные таблицы 2 свидетельствуют о создании экспериментальной модели средних и тяжелых форм ацидоза и алкалоза в организме кур. При этом, в крови кур второй (метаболический ацидоз средней формы) и третьей

(метаболический ацидоз тяжелой формы) групп в сравнении с контролем увеличивается (примерно в 3 раза) содержание аммиака. Причем степень этого увеличения зависит от тяжести ацидоза. Метаболический алкалоз средней формы (четвертая группа) обуславливает недостоверные изменения этого показателя, однако, при метаболическом алкалозе тяжелой формы (пятая группа) наблюдается увеличение концентрации аммиака в крови в 2 раза по сравнению с контролем. Это объясняется, вероятно, резким нарушением электролитного баланса биологических жидкостей и, соответственно, процессов аммонийного обмена в тканях. Установлено, что в крови кур с метаболическим ацидозом средней и тяжелой формы по сравнению с контролем содержание глутамина повысилось в 3 раза, а у птицы с метаболическим алкалозом средней формы его уровень в 2 раза снижен. Однако тяжелая форма метаболического алкалоза обуславливает значительное повышение (примерно в 3 раза) концентрации глутамина. При этом, у кур, находящихся в состоянии метаболического алкалоза средней и тяжелой формы (четвертая и пятая группы), концентрация глутамата повышается в тканях печени в 2-3 раза, почек - 4-6 раз по сравнению с контролем. Показательно и то, что в крови, а также тканях печени и почек кур при метаболическом ацидозе средней и тяжелой формы (вторая и третья группы), а также метаболическом алкалозе тяжелой формы (пятая группа) в 1,1-3 раза повышается уровень мочевой кислоты по сравнению с контролем. Эти данные еще раз подтверждают предположение о том, что наблюдаемое увеличение содержания мочевой кислоты в организме подопытной птицы в данном случае можно рассматривать как следствие нарушения КЩР крови. Указанный факт очень важен и можно полагать, что как ацидозное состояние птицы, так и тяжелый метаболический алкалоз в значительной мере могут способствовать заболеванию кур подагрой или же осложнять ее течение. Весьма интересными являются данные об изменении активности ксантиноксидазы и ксантиндегидрогеназы в организме подопытной птицы в зависимости от состояния КЩР крови. Так, в тканях печени кур второй группы (метаболический ацидоз средней формы) активность ксантиндегидрогеназы в 4 раза выше по сравнению с четвертой группой (метаболический алкалоз средней формы) и в 3 раза - чем в контроле. Эти различия усиливаются между группами, характеризующимися резкими нарушениями КЩР крови (третья и пятая группы), и контролем. Аналогичные изменения наблюдаются и в активности ксантиноксидазы печени, а также ксантиноксидазы и ксантиндегидрогеназы почек подопытной птицы. Эти данные свидетельствуют о возможном регуляторном воздействии концентрации H^+ и HCO_3^- на активность ксантиноксидазы и ксантиндегидрогеназы тка-

2. Показатели кислотно-щелочного состояния крови кур при экспериментально вызванных ацидозе и алкалозе ($M \pm m$; $n = 5$)

Группа птиц	pH	P_{CO_2} мм Hg	Сдвиг бу- ферных ос- нований, мм	Истинный бикарбонат, мм	Общее со- держание CO_2 , мм
Группа - I (контроль)	7,44 \pm 0,02	42,8 \pm 2,2	+4,1 \pm 0,7	28,6 \pm 1,4	29,6 \pm 1,4
Группа - 2 (метаболиче- ский ацидоз средней формы)	7,26 \pm 0,24	37,6 \pm 3,9	-9,2 \pm 0,5*	16,0 \pm 0,7*	17,4 \pm 0,8*
Группа - 3 (метаболиче- ский ацидоз тяжелой формы)	7,17 \pm 0,01*	42,4 \pm 6,1	-13,3 \pm 1,5*	14,9 \pm 2,4*	15,6 \pm 2,6*
Группа - 4 (метаболиче- ский алкалоз средней формы)	7,46 \pm 0,01	48,2 \pm 2,7	+8,9 \pm 1,0*	34,4 \pm 1,7*	35,5 \pm 1,6*
Группа - 5 (метаболиче- ский алкалоз тяжелой формы)	7,48 \pm 0,02	70,8 \pm 4,9*	+16,8 \pm 2,1*	49,4 \pm 2,3*	50,8 \pm 2,4*

Результаты опытных групп сравнивали с контролем, * - указано $P < 0,05$

3. Активность коантиндегидрогеназы в тканях печени и почек кур в зависимости от кислотно-щелочного состояния крови (мкмоль мочевого кислоты/мг белка за 30 мин; $M \pm m$; $n = 4$)

Группа птиц	Коантиндегидрогеназа	
	печень	почки
Группа - I (контроль)	622,0 \pm 29,0	554,0 \pm 71,0
Группа - 2 (метаболический ацидоз средней формы)	1821,2 \pm 431,0	820,4 \pm 67,3
Группа - 3 (метаболический ацидоз тяжелой формы)	2195,2 \pm 253,4	852,7 \pm 54,3
Группа - 4 (метаболический алкалоз средней формы)	506,9 \pm 23,0	386,0 \pm 53,0
Группа - 5 (метаболический алкалоз тяжелой формы)	961,6 \pm 68,4	776,9 \pm 32,3

ней печени и почек кур и, соответственно, на обмен мочевой кислоты в их организме. Таким образом, проведенные наблюдения свидетельствуют об усилении процессов аммониегенеза в тканях печени и почек кур при ацидозе. Результаты исследований показывают, что интенсивность процессов аммоние- и урикогенеза в тканях кур зависит от степени ацидоза и алкалоза. Однако, исходя из полученных данных еще нельзя конкретно сказать, что же является действующим началом в возникновении наблюдаемых нарушений обмена аммонийного азота - сдвиг pH среды или изменение концентрации HCO_3^- и CO_2 в ней. С целью выяснения этого вопроса проведена серия опытов *in vitro*. В инкубационных средах искусственно моделировали различные кислотно-щелочные состояния и изучали активность основного фермента обмена мочевой кислоты - ксантиндегидрогеназы (КФ I.2.I.37). Установлено, что при pH 8,0 и 60 мМ HCO_3^- она снижается на 28% по сравнению с активностью при наличии в среде 30 мМ HCO_3^- (рис.3). В условиях pH 8,4 повышение концентрации HCO_3^- от 30 до 60 мМ вызывает снижение активности фермента на 33%. Это свидетельствует о специфической роли углекислоты (HCO_3^- и P_{CO_2}) в регуляции активности ксантиндегидрогеназы. Анализируя данные рисунка 3 относительно постоянного уровня HCO_3^- (30 мМ) и изменяющегося pH, можно заключить, что при pH 8,4 она на 21% ниже чем при pH 7,6. Однако, наибольшее ингибирующее воздействие на активность фермента в ткани печени подопытных кур оказывает одновременное увеличение в среде концентрации бикарбоната и величины pH.

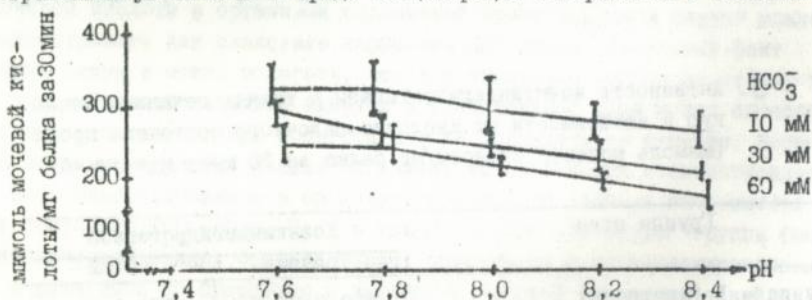


Рис.3. Активность ксантиндегидрогеназы печени кур при различных уровнях pH и HCO_3^- в опытах *in vitro*, n=4

При изучении влияния изменений КДР крови на уровень ряда метаболитов цикла трикарбоновых кислот и гликолиза в организме кур установлено, что в ткани почек кур четвертой и пятой групп концентрация α -лактата, пирувата и α -кетоглутарата в 1,5-2 раза выше по срав-

нению с контролем. Изменения подобного характера наблюдаются также в ткани печени. Очевидно, повышение содержания перечисленных метаболитов в тканях при алкалозах следует рассматривать как проявление внутриклеточной системы кислотно-молочного гомеостаза, направленной на нейтрализацию избытка щелочных элементов, поступающих с комбикормом в организм подопытной птицы. Таким образом, повышая величину рН и концентрацию HCO_3^- в тканях до определенного уровня, можно активировать процессы гликолиза в них. В условиях длительного или высокодозированного применения препарата (метаболический алкалоз тяжелой формы) стимуляция трикарбонового цикла становится более выраженной. Установлено, что понижение уровня рН и концентрации HCO_3^- в тканях кур второй группы (метаболический ацидоз средней формы) обусловило достоверное снижение ($P > 0,05$) содержания α -лактата, пирувата и α -кетоглутарата. При метаболическом ацидозе средней и тяжелой формы концентрация малата и оксалоацетата в ткани печени интактных кур по отношению к контролю достоверно не изменяется, что, очевидно, объясняется усиленным образованием глюкозы из оксалоацетата. Следует подчеркнуть, что у кур третьей группы, получавших большую дозу 20%-ного раствора соляной кислоты, наблюдается повышение (в 1,2-4 раза) концентрации α -лактата, пирувата и α -кетоглутарата в ткани печени по сравнению с контролем. Данное нарушение утилизации органических кислот, очевидно, связано с тем, что вызванный высокой дозой 20%-ного раствора соляной кислоты тяжелый метаболический ацидоз снижает способность почек превращать метаболиты трикарбонового цикла и гликолиза в глюкозу. Таким образом, интенсивность обмена аммонийного азота, а также функционирование трикарбонового цикла и гликолиза в организме кур в значительной мере зависят от концентрации H^+ и HCO_3^- в крови. Причем характер изменений перечисленных звеньев обмена веществ во многом зависит от степени сдвига параметров КЩР крови.

3. Влияние коррекции нарушенного кислотно-щелочного равновесия крови больных подагрой кур на обмен аммонийного азота, функционирование цикла трикарбоновых кислот и гликолиза в их организме

Как следует из полученных данных, в организме кур при подагре развивается состояние метаболического ацидоза, усиливаются аммоние- и урикогенез, нарушается функционирование цикла трикарбоновых кислот и гликолиза. С другой стороны показано, что экспериментальный метаболический ацидоз (особенно тяжелой формы) у интактных кур обу-

словливает изменения в обмене веществ, во многом сходные с нарушениями при подагре. В связи с этим, представляло интерес изучить влияние коррекции нарушенного КЩР крови больной подагрой птицы на азотистый обмен, функционирование цикла трикарбоновых кислот и гликолиза в их организме. Все подопытные куры до опыта находились в состоянии ацидоза, поскольку концентрация истинного бикарбоната и величина сдвига буферных оснований их крови в 1,5-6 раз ниже чем у клинически здоровой птицы. Через восемнадцать дней кислотно-щелочное состояние крови кур опытной группы, получавших вместо воды 0,5%-ный раствор бикарбоната натрия, значительно нормализовалось (рис.4).

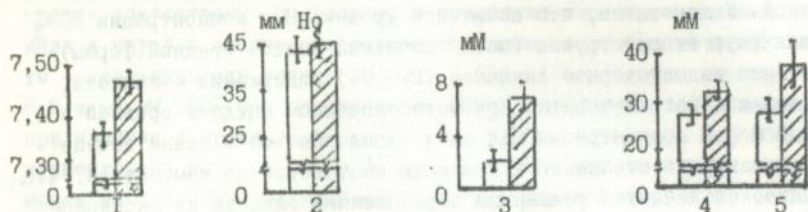


Рис.4. Кислотно-щелочное состояние крови кур, больных подагрой (0) и при введении им 0,5%-ного раствора бикарбоната натрия (1), $n=7$. 1 - pH, 2 - P_{CO_2} , 3 - сдвиг буферных оснований, 4 - истинный бикарбонат, 5 - общее содержание CO_2 .

При этом в крови наблюдалось снижение (на 50%) концентрации аммиака, что может свидетельствовать о значительной нормализации процессов аммониегенеза (рис.5). Высказанное предположение подтверждается уменьшением содержания в крови глутамина на 44%, в тканях печени и почек глутамата - на 64-72%, активности ксантиноксидазы и ксантиндегидрогеназы - на 46-66% по сравнению с контролем. Снижение ферментативной активности обуславливает уменьшение концентрации мочевой кислоты в крови, а также тканях печени и почек кур опытной группы на 25-30%. Коррекция нарушенного КЩР в организме больной птицы видимо улучшает условия для активного использования аминокислот в процессах биосинтеза белка в тканях. На это в определенной степени указывает наблюдаемая тенденция к снижению (на 27%) общего содержания свободных аминокислот в крови кур опытной группы по сравнению с контролем (рис.5). Нормализация кислотно-щелочного состояния в организме больных подагрой кур положительно сказывается и на обмене углеводов, о чем в определенной степени свидетельствует снижение содержания α -лактата, пирувата, α -кетоглутарата ($P < 0,05$) в тканях печени и почек кур опытной группы. Следовательно, приведенные

данные указывают на значительное терапевтическое воздействие коррекции нарушенного КЩР в организме кур при подагре, выражающееся в нормализации интенсивности аммоние- и урикогенеза, гликолиза и функционирования трикарбонового цикла в тканях больных кур.

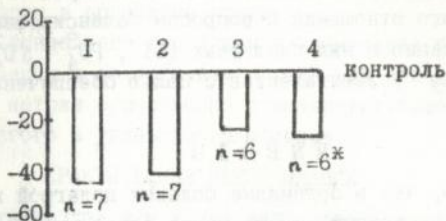


Рис.5. Различия (%) в содержании аммиака (I), глутамина (2), мочевой кислоты (3), суммарных свободных аминокислот (4) в крови больных подагрой кур (опыт) и после введения им 0,5%-ного раствора бикарбоната натрия (контроль)

* - указано $P > 0,05$.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о существенном изменении обмена веществ в организме кур при подагре (ненаследственного происхождения), что проявляется в смещении состояния КЩР их крови в сторону метаболического ацидоза, накоплении в тканях аммиака и продуктов его метаболизма (глутамина, глутамата, мочевой кислоты), активации ксантиноксидазы и ксантиндегидрогеназы, значительном повышении концентрации конечных продуктов гликолиза и метаболитов трикарбонового цикла. Исходя из этого, делается вывод о том, что одним из основных пусковых механизмов гиперпродукции мочевой кислоты у кур является, прежде всего, усиление аммониегенеза в тканях. Что же касается факторов, обуславливающих стимуляцию этого процесса, то, как следует из литературных и полученных нами данных, кроме общеизвестных (H^+), к таковым относятся и сдвиг уровня бикарбонатов в крови в сторону ацидоза или тяжелого метаболического алкалоза.

Следовательно, сдвиг КЩР в крови кур в сторону ацидоза или тяжелого метаболического алкалоза может служить одним из этиологических факторов нарушения обмена мочевой кислоты и накопления ее в тканях. Проведенными исследованиями показано также, что нормализация КЩР крови кур, больных подагрой, посредством введения в их организм определенных доз бикарбоната натрия с комбикормом или питьевой водой в значительной мере угнетает образование мочевой кислоты, облегчая

течение болезни. Вместе с тем, полученные данные также предполагают что избыточное поступление бикарбоната натрия в организм птицы, вызывая тяжелый метаболический алкалоз, оказывает противоположный эффект - стимулирует аммониегенез и накопление в тканях мочево́й кислоты. Изложенное выше убедительно свидетельствует о необходимости более внимательного отношения к вопросам балансирования рационов для кур по содержанию в них кислотных (Cl^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}) и щелочных (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) эквивалентов с целью обеспечения КЩР в их организме.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что в организме больных подагрой кур, по сравнению с клинически здоровыми, имеют место следующие изменения обмена веществ:

а) развивается острый метаболический ацидоз, характеризующийся пониженной концентрацией в крови истинного бикарбоната (18,2 мМ), общего содержания CO_2 (19,3 мМ) и сдвигом буферных оснований в сторону ацидоза (-6,8 мМ);

б) в крови в 1,5-2 раза увеличивается концентрация аммиака, глутамина, свободных аминокислот и мочево́й кислоты. В тканях печени и почек в 2 раза повышается активность ксантиноксидазы и ксантиндегидрогеназы, что указывает на усиление процессов аммоние- и урикогенеза;

в) в тканях печени и почек в 1,5-4 раза увеличивается концентрация пирувата, α -лактата и α -кетоглутарата. Содержание малата и оксалоацетата не изменяется.

2. Активацию процессов аммоние- и урикогенеза в тканях кур при ацидозе, обеспечивающую утилизацию избытка протонов, следует рассматривать в качестве одного из факторов поддержания гомеостаза.

3. Разработана экспериментальная модель вариаций различных состояний КЩР в крови кур, на которой показаны следующие результаты:

а) при метаболических ацидозах средней и тяжелой формы обнаружены такие же отклонения исследуемых параметров обмена веществ, как и в случае подагры. Степень их выраженности зависит от тяжести ацидоза;

б) при метаболическом алкалозе средней тяжести изменения азотистого и углеводного обменов по направленности противоположны таковым, характерным для ацидозного состояния;

в) метаболический алкалоз тяжелой формы приводит к повышению в 1,5 раза активности ксантиноксидазы и ксантиндегидрогеназы, увели-

чению концентрации мочевой кислоты, что свидетельствует об усилении процессов аммоние- и урикогенеза;

г) ацидозное состояние или тяжелый метаболический алкалоз может стать одним из этиологических факторов нарушения обмена и накопления мочевой кислоты в организме птицы.

4. Коррекция ацидозного состояния у клинически больной подагрой птицы путем введения в ее организм с питьевой водой или комбикормом бикарбоната натрия существенно нормализует вышеперечисленные нарушения азотистого и углеводного обменов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Крупным птицеводческим хозяйствам рекомендуется проводить периодический контроль состояния КЩР в организме птицы. Оснастить ветеринарные лаборатории птицефабрик или областные ветлаборатории приборами типа "биологический микроанализатор" и по мере необходимости корректировать нарушение КЩР крови кур. Экспериментальные данные позволили обосновать вариации следующих параметров КЩР крови у взрослых кур яйценосного направления продуктивности, содержащихся в условиях птицефабрик промышленного типа: pH 7,46-7,48; P_{CO_2} 36,5-40,5 мм Hg; сдвиг буферных оснований +4,6-4,7 мМ, истинный бикарбонат 27,5-28,5 мМ; общее содержание CO_2 28,5-29,5 мМ.

2. Для коррекции ацидозного состояния у кур рекомендуется применение бикарбоната натрия в виде 0,5%-ного водного раствора (вместо воды) или скармливание его с кормом (3 г/кг корма). Длительность применения препарата определяется путем контроля за состоянием КЩР крови птицы. При этом следует учитывать, что высокие дозы и чрезмерная длительность применения бикарбоната натрия могут привести к развитию у птицы тяжелого метаболического алкалоза, что также обусловит нарушение обмена пуринов.

3. Полученные данные могут быть использованы в учебном процессе на ветеринарных и зооинженерных факультетах сельскохозяйственных ВУЗов при изучении этиологии, патогенеза, способов профилактики и лечения подагры кур.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Коровина Н.С. Состояние кислотно-щелочного равновесия крови кур при подагре // Укр. биохим. журн. - 1985. - 57, №4. - С.81-82.
2. Коровина Н.С., Мельничук Д.А. Особенности обмена аммонийного азота у кур при подагре // Информационное письмо, Киев, 1985, 12 с.
3. Петрунь Л.М., Коровина Н.С., Мельничук Д.А. Особенности азотистого обмена у кур при подагре // Укр. биохим. журн. - 1985, - 57, №6. - С. 77-80.
4. Петрунь Л.М., Мельничук Д.А., Коровина Н.С. Состояние азотистого и энергетического обмена у кур при подагре // Тезисы доклада, У Всесоюзный биохимический съезд, Киев, 1986 г. М.: Наука, 1986. Т.3. - С. 308.
5. Способ профилактики и лечения ацидоза у кур/ Мельничук Д.А., Петрунь Л.М., Тищенко Г.Н., Коровина Н.С. // А.с. № 4775423/ 15. - Решение от 27.XI.90.

ПОДП.К ПЕЧ. 24.12.1990г. ФОРМАТ 60 x 84 / 16 БУМ ТИП № 1 ПЕЧ.ОФС.
УСЛ.ПЕЧ.Л. 1. УЧ.-ИЗД.Л. 1,25 ТИРАЖ 100. ЗАК. 1077. БЕСПЛАТНО.

AB 25.443

42

42