

УДК 619:636.085:636.2:636.4:616.992.28

**ОТДЕЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПАТОГЕНЕЗА ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ
ПАТОЛОГИИ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО МИКОТОКСИКОЗА У
КОРОВ**

Краевский А.И.

Лазоренко А.Б.

Кургуз Н.Н.

Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы

В статье приведены результаты исследований вопросов патогенеза гинекологической патологии при хроническом микотоксикозе у коров. Выяснено, что при хроническом микотоксикозе у коров, наблюдается развитие коагулопатии, которая проявляется гиперфибриногенемией, накоплением в плазме растворимого фибрина и сокращением активированного частичного тромбопластинового времени, при одновременном росте фибринолитического потенциала плазмы крови, углубляющегося инициацией перекисного окисления липидов, ростом уровня эндотоксикоза, вследствие увеличения в плазме крови содержания малонового диальдегида и одновременного снижения уровня оксида азота. Дисфункция системы гемостаза, эндотоксикоз, иницируют обострение вирусных персистирующих инфекций слизистых оболочек, что проявляется снижением титра антител к вирусу инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи, а также ростом частоты акушерской и гинекологической патологии.

Известно много видов грибов-микровицетов, способных к образованию микотоксинов, а количество идентифицированных микотоксинов исчисляется сотнями и постоянно растет [1]. Микотоксины - вторичные метаболиты микроскопических (плесневых) грибов, являются естественными загрязнителями растений, имеющих широкое распространение и способны нанести значительный вред здоровью животных, а через животноводческую продукцию - и человеку. В мире около 25-30% концентрированных кормов ежегодно поражаются микроскопическими грибами [2]. Потребление загрязненных микровицетами и микотоксинами растительных кормов приводит к развитию острых и хронических заболеваний - микотоксикозов, сопровождающиеся повреждением и нарушением функций различных органов и систем организма животных [2-4]. Они способны увеличивать частоту заболеваний и снижать эффективность животноводческой отрасли, в частности, скотоводства. Экономический ущерб, который наносят микотоксины сельскохозяйственному производству, обусловлены снижением питательности кормов, негативным влиянием на организм животных. Повышенное внимание к изучению микроскопических грибов и их токсинов обусловлено увеличением чувствительности к ним высокопродуктивных

животных и требований экологической безопасности к продукции растениеводства и животноводства, приводит к усилению контроля за микотоксином в сырье и в продуктах [2,3]. Микотоксины, представляют собой довольно устойчивые вещества к воздействию негативных факторов окружающей среды, а большинство из них не разрушаются при различных технологических обработках кормов. Микотоксины обладают тератогенным, мутагенным и канцерогенным действием, способны нарушать белковый, липидный и минеральный обмен и вызвать иммуносупрессию организма [4]. У крупного рогатого скота часть микотоксинов разрушается в рубце, поэтому изучению их влияния на организм коров не уделяется должного внимания, в то же время, влияние микотоксинов на животных других видов и птиц хорошо изучены [4,5]. В связи с микробной биотрансформацией микотоксинов у жвачных их считают более устойчивыми к воздействию микотоксинов. Однако, степень разрушения микотоксинов в рубце незначительно, а некоторые продукты распада могут быть более токсичны, чем их предшественники [6,7]. Кроме того, многие другие факторы могут нейтрализовать свойства микрофлоры рубца, которая разрушает микотоксины. Известно, что среди микрофлоры рубца, простейшие проявляют большую нейтрализующую активность в отношении микотоксинов, чем бактерии. Высокое содержание концентратов в рационе, приводит к снижению рН содержимого рубца у высокопродуктивных коров, что негативно влияет на одноклеточных рубца и, соответственно, может ограничивать разрушения в рубце микотоксинов. Высокая концентрация и быстрый транзит токсинов могут также нейтрализовать свойство микрофлоры рубца разрушать микотоксины. Производственные стрессы, действие инфекционных агентов, незначительный дефицит питательных веществ, генетическая предрасположенность, взаимодействие между различными микотоксинами, могут влиять на чувствительность крупного рогатого скота к микотоксинам [4-7]. Микотоксины вызывают повышение заболеваемости и снижение продуктивности животных. Однако, механизмы их развития изучены недостаточно, что ограничивает разработку эффективных способов лечения и профилактики болезней. Известно, что при развитии патологического процесса в организме происходят нарушения гемостаза. Однако, результатов его исследования при хронических микотоксикозах в доступной нам литературе не было обнаружено. Система гемостаза поддерживает в динамическом равновесии процессы активации и ингибирования, как в клеточной так и в ферментной звеньях коагуляции [8,9]. Важная роль в этих процессах принадлежит фибриногену и его метаболитам, избыточное накопление, которых влечет глубокие нарушения системы микроциркуляции [10]. Известно, что одним из основных путей катаболизма фибриногена являются: протеолиз тромбином, при этом образуется растворимый фибрин-мономер, который превращается в фибрин-полимер, последний стабилизируется фактором XIII, а полимеризация фибрина приводит к увеличению активированного частичного тромбопластинового времени [10-12].

Функция фибринолитической системы организма заключается в естественном лизисе фибрина, образующегося в процессе перманентного локального гемостаза. В то же время, роль фибринолиза неограничивается только выделением фибрина с сосудистого русла. Он выполняет важную функцию и в других биологических процессах [13].

Оксид азота (NO) регулирует метаболические процессы в организме животных [14]. При хронических воспалительных процессах происходит повреждение эндотелия сосудов, которое приводит к снижению синтеза NO в организме [15]. Одним из важных механизмов, на основе которого в организме реализуются патологические эффекты, является активация перекисного окисления липидов [14-16].

Таким образом, состояние гемостаза, уровень оксида азота, малонового диальдегида имеют важное значение в развитии патологического процесса в организме животных и могут иметь лечебно-прогностическое значение при изучении патогенеза при хроническом микотоксикозе.

Целью наших исследований было проведение мониторинга кормов для коров, относительно степени загрязнения микобиотой и определение патогенетических механизмов нарушения воспроизводительной функции животных путем определения состояния гемостаза, уровня продуктов ПОЛ, оксида азота и поствакцинального титра антител против вирусных болезней слизистых оболочек в сыворотке крови коров при хроническом микотоксикозе.

Материалы и методы. На первом этапе нами исследовались корма из хозяйств северо-восточного региона Украины. В кормах определяли наличие микотоксинов и микроскопических грибов.

Исследование микотоксинов в кормах проводили с использованием методики комплексного определения афлатоксина В₁, патулина, зеараленона и стеригматоцистина методом тонкослойной и жидкостной хроматографии в лаборатории отдела токсикологии, безопасности и качества сельскохозяйственной продукции ННЦ «ИЭКВМ».

Степень контаминации кормов микроскопическими грибами определяли по общепринятым методам микологического анализа, проводили - первичное выделение путем посева в питательную среду - агары сусло и Чапека, выделение в чистую культуру, идентификацию и подсчет общего количества спор грибов в пересчете на 1 г корма [17-21]. При условии оценки кормов, которые скармливались крупному рогатому скоту, использовали следующие критерии: допустимый - до 10 тыс. спор; средний - 10-100 тыс. спор; высокий - более 100 тыс. спор в 1 г корма. Кроме того, определяли токсичность путем проведения биопробы на белых мышах.

В зависимости от загрязнения кормов микроскопическими грибами и их токсинами, которые скармливались коровам, выбрали два хозяйства СЗАО «Маяк» и АФ «Владана» с высоким его уровнем и два - низким СОО «Виктория» и АФ «Песковское», параллельно изучая состояние воспроизводительной функции. При этом учитывали продуктивность животных и выход телят на 100 коров.

Следует отметить, что животных СЗАО «Маяк» и СОО «Виктория» осеменяли при спонтанном проявлении половой цикличности, а в АФ «Владана» и АФ «Песковское» осеменение проводили при использовании схем стимуляции и синхронизации половой цикличности.

На втором этапе исследований определяли состояние гемостаза, уровень оксида азота и малонового диальдегида (МДА) в плазме крови бесплодных коров хозяйств с различной степенью загрязнения кормов микроскопическими грибами и их токсинами. Гемостазиологические исследования включали в себя определение содержания фибриногена по методу В.А. Белицера с соавт. [22], растворимого фибрина (РФ) - по методу Т.В. Варецкой с соавт. [23], фибринстабилизирующего фактора - унифицированным методом.

Уровень $\alpha 1$ -ИП и $\alpha 2$ -М, определяли по методу К.М. Веремеенко с соавт. [24], суммарную фибринолитическую активность (СФА), плазминовую активность (ПА) и активность тканевого активатора пламиногена (t-РА) - по методу фибриновых пластинок [25], уровень оксида азота - по методике Грина в модификации П.П. Голикова [26], содержание МДА - по методике Л.И. Андреевой с соавт. [27].

Учитывая значение состояния названных систем в формировании иммунитета на следующем этапе определяли титры антител против герпес вирусных инфекций - инфекционного ринотрахеита - пустулёзного вульвовагинита (ИРТ) и вирусной диареи (ВД) в РНГА на 30 сутки после прививки вакциной «Риповак-2».

Результаты исследований. По результатам микологического исследования кормов в СОО «Виктория» и АФ «Песковское» установили, что они имели низкую и среднюю загрязненность спорами микроскопических грибов (до 100 тыс. спор / г корма), а содержание микотоксинов не превышало МДУ. В СЗАО «Маяк» и АФ «Владана» корма имели высокую загрязненность спорами микроскопических грибов (более 100 тыс. спор / г корма) и повышенное содержание микотоксинов, а также были токсичными.

Исходя из полученных данных следует отметить, что состояние воспроизводительной функции коров на молочных фермах названных хозяйств зависело от степени загрязненности кормов спорами микроскопических грибов, токсичности, вида и уровня микотоксинов, продуктивности животных, о чем свидетельствует выход телят на 100 коров. Самым высоким этот показатель был в СОО «Виктория» (85 телят на 100 коров) с удовлетворительным качеством кормов и не высокой молочной продуктивностью. Подобную зависимость воспроизводства животных от качества кормов отмечали у высокопродуктивных коров АФ «Песковское» (77 телят на 100 коров) при использовании стимуляции и синхронизации половой цикличности начиная с 45 дня после отела и у бесплодных животных.

В каждом из четырех хозяйств 17,5 - 34,7% маточного поголовья были яловыми. В то же время процент бесплодных коров в каждой популяции

животных в зависимости от времени года колебался от 35,4 до 48,6%. Основной причиной бесплодия коров в хозяйствах с высоким содержанием в кормах спор микроскопических грибов и их токсинов были субклинические воспалительные процессы половых органов, которые регистрировали у 60-80% животных. Они возникали в результате трансформации акушерских болезней послеродового периода (задержание последа, субинволюция матки, послеродовый эндометрит) в гинекологическую патологию.

На следующем этапе исследований изучали патогенетические механизмы гинекологической патологии воспалительного характера на фоне хронического микотоксикоза.

Таблица 1. - Показатели системы гемостаза, уровень оксида азота и ПОЛ в крови коров при хроническом микотоксикозе

Показатели	Хронический микотоксикоз, n=10	Клинически здоровые животные, n=19
Fg, г/л	5,73±0,65	4,56±0,2
РФ, мг%	55,4±17,5***	0
ФХП, %	82,1±16,9	72,5±1,75
АЧТВ тест, %	62,3±12,5	42,0±2,67
α_1 -П, мкмоль/л	168,1±3,9	167,5±5,0
α_2 -М, г/л	3,38±0,32	3,0±0,1
СФА, мм ²	113,2±11,15*	62,8±18,0
РА, мм ²	28,9±2,82***	7,7±3,3
t-РА, мм ²	84,4±10,8*	46,4±14,4
НОх, мкмоль/л	16,3±3,7*	25,2±2,11
МДА, мкмоль/л	3,8±0,5*	2,0±0,45

Примечание. * - $p < 0,05$; *** - $p < 0,001$; остальные - $p > 0,05$, относительно клинически здоровых животных.

При хроническом микотоксикозе метаболизм фибриногена характеризовался тенденцией к повышению его содержания, а также ростом уровня РФ. Подтверждением явления полимеризации фибрина была тенденция к повышению активности XIII и удлинению АЧТВ. Ингибиторный потенциал плазмы крови коров при хроническом микотоксикозе функционировал напряженно, о чем свидетельствует тенденция к повышению уровня α_2 -М. В то же время, у коров при хроническом микотоксикозе происходила активация фибринолиза. Суммарная фибринолитическая активность (СФА) увеличилась в 2 раза ($p < 0,05$) относительно клинически здоровых животных, что, очевидно, связано с увеличением плазминовой активности (ПА) более чем в 3,7 раза ($p < 0,001$), а также тканевого активатора пламиногена (t-РА) в 1,8 раза ($p < 0,05$).

Уровень оксида азота у коров при хроническом микотоксикозе достоверно снижался на 54,6% ($p < 0,05$), а МДА достоверно повышался по сравнению с клинически здоровыми животными.

Таким образом, у коров при хроническом микотоксикозе напряженно функционируют коагуляционная, ингибиторная и фибринолитическая системы гемостаза, а снижение уровня оксида азота и рост малонового диальдегида свидетельствует об угнетении сосудисто-тромбоцитарной и антиоксидантной систем организма может иметь влияние на состояние иммунной системы. Подтверждением этого могут быть результаты исследований титра антител против вируса инфекционного ринотрахеита, который у коров при хроническом микотоксикозе был на уровне $5,7 \log_2$, вирусной диареи - $4,7 \log_2$, тогда как у клинически здоровых животных эти титры были значительно выше, соответственно $7,7$ и $5,2 \log_2$.

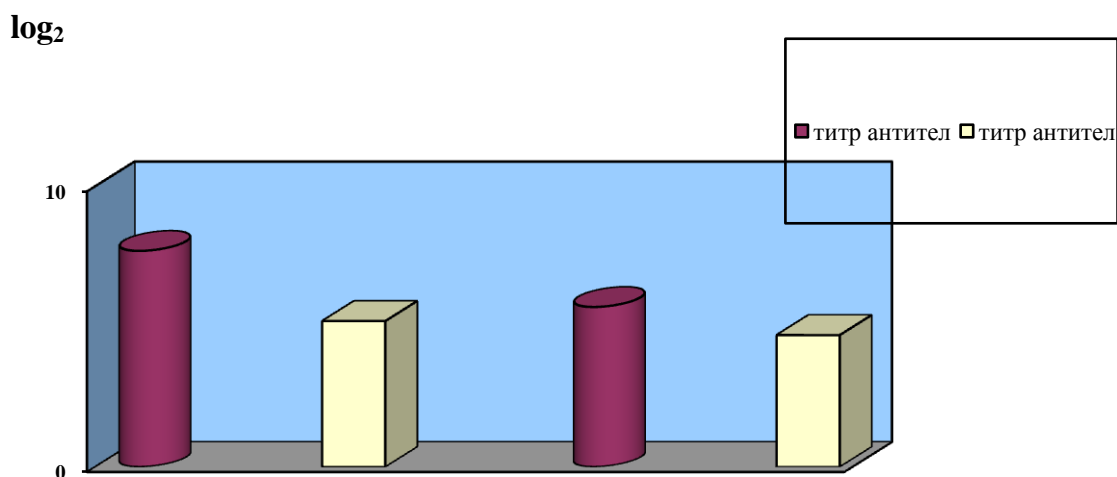


Рис. 1 Уровень титра антител против вирусных инфекций слизистых оболочек

Таким образом, у коров при хроническом микотоксикозе проявляются иммуносупрессивные свойства микотоксинов из-за напряженного функционирования коагуляционной, ингибиторной и фибринолитической звеньев гемостаза, а также угнетение сосудисто-тромбоцитарной и антиоксидантной систем организма.

На фоне хронического микотоксикоза происходит угнетение иммунной системы организма, что приводит к уменьшению напряжения иммунитета после вакцинации, а также к росту частоты акушерско-гинекологической патологии и длительного бесплодия коров.

Выводы и перспективы дальнейших исследований.

1. При хроническом микотоксикозе у коров, наблюдается развитие коагулопатии, о чем свидетельствует гиперфибриногенемия, накопление в плазме продуктов тромбинового протеолиза фибриногена - растворимого фибрина и сокращения активированного частичного тромбопластинового времени, при одновременном росте фибринолитического потенциала плазмы крови, что углубляется инициацией перекисного окисления липидов, ростом уровня эндотоксикоза, из-за нарастания в плазме крови содержания малонового диальдегида и одновременного снижения уровня оксида азота.

2. Дисфункция системы гемостаза, эндотоксикоз, иницируют обострение вирусных персистирующих инфекций слизистых оболочек, что проявляется снижением титра антител к вирусу инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи, а также ростом частоты акушерской и гинекологической патологии.

Список литературы.

1. Bryden W.L. Mycotoxins in the food chain: human health implications / W.L. Bryden // *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* – 2007. – Vol. 16 (Suppl. 1). – P. 95–101.

2. Frisvad J.C. Important mycotoxins and the fungi which produce them / J.C. Frisvad, U. Thrane, R.A. Samson // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2006. – Vol. 571. – P. 3–31.

3. Gray M. Molds and mycotoxins: beyond allergies and asthma / M. Gray // *Altern. Ther. Health Med.* – 2007. – Vol. 13 – P. 146–152.

4. Scott P.M. Industrial and farm detoxification processes for mucotoxins: Pap. Satellite Meet LUTOX 8th int. Congr. Toxicol "Mycotoxins Food Chain" Toulouse July 2-4, 1998 MYCOTOX'98 / P.M. Scott // *Rev. med. vet (Fr)* 1998. – Vol. 149, №6 – P. 543–548.

5. Гогин А.Е. Микотоксикозы: значение и контроль / А.Е. Гогин – *Ветеринария*, 2006. – №3. – С. 9–11.

6. Петенко А.И., Ярошенко В.А., Коцаев А.Г., Карганян А.К. Обеспечение биологической безопасности кормов // *Ветеринария*. – 2006. – №7. – С. 7–11.

7. Билай В.И. Токсинообразующие микроскопические грибы / В.И. Билай, Н.М. Пидопличко. – К.: Наукова думка, 1970. – С. 141-264.

8. Mazur L.J. Spectrum of noninfectious health effects from molds / L.J. Mazur, J. Kim // *Pediatrics*. – 2006. – Vol. 118 – P. 1909–1926.

9. Черный В.И. Нарушения в системе гемостаза при критических состояниях./ В.И. Черный, Т.П. Кабанько, И.В. Кузнецова – Киев: Здоровье, 2000. – С. 23–30.

10. Pinto S. Increased thrombin generation in normal pregnancy / S. Pinto, R. Abbate, C. Rostagno // *Acta Eur. Fertil.* – 1988. – Vol.19 – № 5. – P. 263–267.

11. Голота В.Я. Діагностика претромботичного стану за допомогою сучасних коагулологічних тестів в акушерській практиці / В.Я. Голота, М.Ш. Гамісонія, Т. М. Платонова, Є.М. Макогоненко // *Лаб. діагностика*. – 1998. – №3. – С.15–18.

12. Потапов О.О. Скрипінгові тести у динамічному дослідженні системи гемостазу при тяжкій черепно-мозковій травмі. / О.О.Потапов, О.П. Кмита// Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2007. – №1 – С. 90–93.
13. Андреев Г.В. Фибринолиз / Г.В. Андреев – М.: Изд – во Моск. ун-та, 1979 – 352с.
14. Голиков П.П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний / П.П. Голиков – М: ИД Медпрактика-М, 2004. – 180 с.
15. Шаганенко В. С. Оксид азоту і агрегація тромбоцитів у корів з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок / В. С. Шаганенко, А. В. Яремчук // Наук. вісник вет. медицини. – 2010. – Вип. 4 (76). – С. 131–135.
16. Данчук В.В. Пероксидне окислення у сільськогосподарських тварин та птиці./ В.В. Данчук // Кам'янець-Подільський: Абетка, 2006. – 192с.
17. Машков Б.М. Справочник по качеству зерна и продуктов его переработки / Б.М. Машков, З.И. Хазина. – М.: Колос, 1980. – С. 39–58.
18. Куцан О.Т. Санітарно-токсикологічні проблеми забруднення кормів лісостепу України протягом 2001–2005 рр. / О.Т. Куцан [та ін.] // Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2006. – Вип. 86. – С. 219–224.
19. Гогин А.Е. Микотоксикозы: значение и контроль / А.Е. Гогин - Ветеринария, 2006. – №3. – С. 9-11.
20. Билай В.И. Аспергиллы. Определитель / В.И. Билай, Э.З. Коваль. – К.: Наукова думка, 1988. – 204 с.
21. Билай В.И. Фузари. Определитель. / В.И. Билай. – Киев: Наукова думка, 1977. – 443 с.
22. Белицер В.А. Определение содержания фибриногена в плазме крови / В.А. Белицер, Т.В. Варецкая, Ю.П. Бутилин // Лаб. дело. – 1983. – №4. – С. 38–42.
23. Варецкая Т.В. Определение растворимого фибрина в плазме крови / Т.В. Варецкая, Л.И. Михайловская // Лаб. дело. – 1992. – №7,8. – С.10–14.
24. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1988. – 200 с.
25. Astrup T. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity / T. Astrup, S. Mullertz // Arch. Biochem. Biophys. – 1952. – Vol. 40. – P. 346–351.
26. Голиков П.П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний / П.П. Голиков – М: ИД Медпрактика-М, 2004. – 180 с.
27. Андреева Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кушкин // Лаб. дело. – 1988. – №11. – С. 41–44.

Krajewsky A.I.

Lazorenko A.B.

Kurguz N.N.

Sumy National Agrarian University, Sumy

The results of research question pathogenesis of gynecological pathology for chronic mycotoxicosis in cattle. It was found that for chronic mycotoxicosis in cattle, there is the development of coagulopathy, manifested hiperfibrinohemiyeyu accumulation of soluble fibrin in plasma and reduction of activated partial thromboplastin time, a simultaneous increase in fibrinolytic potential of plasma, which deepens the initiation of lipid peroxidation, increase the level of endotoxemia, through the increase in plasma malondialdehyde content and the simultaneous reduction of nitric oxide. Dysfunction of hemostasis, endotoxemia, trigger exacerbation of viral infections persistent mucous membranes, which shows a low titer antibodies to infectious rhinotracheitis virus and viral diarrhea, and increased frequency of obstetric and gynecological pathology.

Информация о авторах.

Краевский А.И. – доктор ветеринарных наук, профессор, зав. кафедрой хирургии Сумского национального аграрного университета, Украина.

(Email – Kay57@ukr.net)

Лазоренко А.Б. – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры хирургии Сумского национального аграрного университета, Украина.

(Email - LazorenkoAB@yandex.ru)

Кургуз Н.Н. – аспирант кафедры хирургии Сумского национального аграрного университета, Украина, (научный руководитель Краевский А.И.).