



УДК 619:591.088:636.9

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ПО БИОХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ КРОВИ У РАЗНЫХ ВИДОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

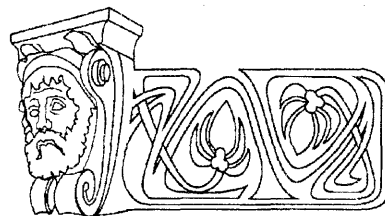
М.Л. Малинин, Е.И. Тихомирова*, Л.Б. Обух, В.В. Кияшко*, В.Н. Ласкавый

ГНУ Саратовская Научно-исследовательская ветеринарная станция

Российской академии сельскохозяйственных наук

* Саратовский государственный университет,
кафедра микробиологии и физиологии растений

E-mail: tichomirova_ei@mail.ru



Проведено изучение влияния пола на активность ключевых ферментов метаболизма, показателей белкового, углеводного и липидного обмена в крови разных видов лабораторных животных. Показаны достоверные половые различия по большинству биохимических показателей крови белых крыс; у кроликов выявлены различия в активности некоторых ферментов и значениях индексов. Половая принадлежность морских свинок не влияла на результаты биохимических исследований крови.

Sex Differences to the Biochemical Characteristics by the Blood of Laboratory Animals

M.L. Malinin, E.I. Tikhomirova, L.B. Obuh, V.V. Kiyashko, V.N. Laskaviy

It is made study of sex influence to the most important enzymes of animal metabolism and parameters of protein, carbohydrate and lipid parts of metabolism for different species of laboratory animals. Shown true sex differences for many biochemical parameters of blood for white rats; for rabbits are founded differences for some enzyme activities and also some indexes. Guinea-pig sex was not important to results of blood biochemical study.

Введение

Для оценки физиологического состояния экспериментальных животных традиционно используют биохимические показатели. Для этого большинство исследователей ограничивается определением содержания в крови животных глюкозы, общего белка, мочевины, креатинина, активности аминотрансфераз и лактатдегидрогеназы [1]. В то же время для адекватной оценки изменения физиологического состояния макроорганизма на фоне различных внешних воздействий, в том числе при инфекционной нагрузке, необходимо определение в сыворотке крови целого комплекса наиболее информативных показателей. Не менее важным является и формирование аналоговых групп экспериментальных животных при изучении активности многих ключевых ферментов метаболизма, а также показателей белкового, углеводного и липидного обмена. В отношении влияния половой принадлежности животных

на биохимические показатели их физиологического состояния доказательных данных в изученной нами литературе не обнаружено. В этой связи целью наших исследований являлось выяснение влияния половой принадлежности разных видов лабораторных животных на референтные значения биохимических параметров крови.

Материалы и методы

Исследования проводили на 65 беспородных белых крысах обоего пола в возрасте 2–3 месяцев, массой 160–200 г; 40 морских свинок обоего пола в возрасте 5–6 месяцев, массой 400–450 г; 30 кроликах обоего пола в возрасте 1,5–2 лет, массой 4–4,5 кг.

Сыворотку крови получали по общепринятой методике [2]. Биохимические анализы выполнялись на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BS 3000 P.

Для определения активности аспартат-аминотрансферазы (АСТ, КФ 2.6.1.1) использовали кинетический спектрофотометрический метод А. Кармен без применения пиридоксальфосфата [3]; аланинаминотрансферазы (АЛТ, КФ 2.6.1.2) – кинетический спектрофотометрический метод без применения 5-фосфопиридоксала [4]; гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ, КФ 2.3.2.2) – метод G. Szasz [5]; лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) – кинетический метод La Due J. et al. [6]; креатинкиназы (КК, КФ 2.7.3.2) – ферментативный кинетический метод I.T. Oliver [7]. Активность щелочной фосфатазы (фосфомоноэстераза I, КФ 3.1.3.1) определяли кинетическим методом O.A. Bessey et al. [8] в модификации А.А. Покровского с соавторами [4]; общей кислой фосфатазы (фосфомоноэстеразы II, III, IV) – методом A. Bodansky [9] в



модификации A.L. Babson et al. [10] по двум точкам. Для определения активности изоферментов кислой фосфатазы простатическая фракция (фосфомоноэстераза II) ингибировалась тартратом натрия. Активность простатической фракции вычислялась как разность активности общей и непростатической КФ [6].

Для оценки углеводного и белкового обмена у экспериментальных животных определяли в сыворотке крови содержание глюкозы, общего белка, альбумина, мочевины и креатинина. Концентрацию глюкозы определяли унифицированным глюкозооксидазным методом N.G. Asp et al. [6]; концентрацию общего белка – модифицированным нами методом осаждения белка сульфосалициловой кислотой [11]. Альбумин определяли прямым колориметрическим методом T. Omura et al. с бромкрезоловым зеленым [12]; мочевины – уреазным методом E.K. Marshall [13] в модификации H. Talke et al. [4]; креатинин – кинетическим методом, основанным на реакции M. Jaffe [14, 15].

Для оценки липидного обмена определяли в плазме крови содержание общего хо-

лестерина (ОХс) и его фракций, общих триацилглицеринов (триглицеридов, ОТг) и их фракций. Холестерин определяли колориметрическим методом P. Trinder [16]; липопротеиды высокой плотности – методом G. Assmann [6]; триглицериды – энзиматическим колориметрическим методом M.W. McGowan et al. [4]. Вычисляли концентрацию липопротеидов низкой и очень низкой плотности, а также индекс атерогенности (холестериновый коэффициент атерогенности) [17]. По аналогии с холестериновым индексом рассчитывали триглицеридовый индекс [18]. Полученные результаты были обработаны статистически по общепринятым методикам [19].

Результаты и их обсуждение

При исследовании ферментного спектра сыворотки крови белых крыс были установлены достоверные половые различия по активности АСТ, КК, ЛДГ, ЩФ, ГГТ, в отличие от активности АЛТ и КФ (табл. 1).

Определение показателей белкового обмена позволило выявить достоверные половые различия по концентрации общего белка,

Таблица 1

Биохимические показатели сыворотки крови разных видов лабораторных животных

Показатель	Белые крысы			Морские свинки			Кролики		
	Самцы	Самки	p**	Самцы	Самки	p**	Самцы	Самки	p**
АЛТ*	78,61±9,1	54,14±11,7	> 0,05	63,82±3,9	78,13±13,8	> 0,05	77,07±13,5	104,35±44,3	> 0,05
АСТ*	168,88±27,5	103,11±9,5	< 0,05	109,59±14,8	102,67±18,9	> 0,05	72,82±26,4	52,25±9,0	> 0,05
КК*	751,56±118,1	367,92±43,2	< 0,01	1351,71±398,0	1331,30±349,3	> 0,05	2143,85±525,8	595,00±101,5	< 0,05
ЛДГ*	1454,20±327,8	599,80±80,1	< 0,05	525,29±88,3	878,86±209,9	> 0,05	640,35±71,8	454,21±60,3	> 0,05
ЩФ*	61,48±29,0	254,06±30,3	< 0,05	175,01±25,0	140,02±11,0	> 0,05	224,58±29,4	226,96±75,5	> 0,05
КФ*	75,10±30,5	43,96±5,8	> 0,05	27,70±4,0	21,94±2,3	> 0,05	447,46±54,4	61,98±10,2	< 0,001
ГГТ*	25,22±3,0	14,80±2,3	< 0,05	31,12±4,3	26,54±2,2	> 0,05	15,07±0,7	14,93±0,7	> 0,05
Белок, г/л	81,32±2,8	49,58±1,2	< 0,001	40,92±2,3	42,10±2,6	> 0,05	79,08±4,0	76,61±4,2	> 0,05
Мочевина, мм/л	5,06±0,6	4,96±0,3	> 0,05	9,01±0,9	8,80±0,4	> 0,05	5,81±0,3	5,80±0,5	> 0,05
Креатинин, мм/л	134,90±8,9	113,75±3,8	< 0,05	109,64±8,1	99,86±2,7	> 0,05	120,16±2,1	113,44±3,6	> 0,05
Глюкоза, мм/л	7,19±0,3	7,44±0,3	> 0,05	7,19±0,4	6,84±0,3	> 0,05	8,40±0,4	8,95±0,4	> 0,05
ОХс, мм/л	2,00±0,2	1,33±0,1	< 0,001	0,77±0,1	0,92±0,1	< 0,01	0,83±0,1	0,89±0,2	> 0,05
Индекс атерогенности	0,52±0,2	2,98±0,6	< 0,05	4,43±0,9	3,39±0,8	> 0,05	1,01±0,2	0,02±0,001	< 0,001
ОТг, мм/л	0,67±0,2	0,86±0,1	< 0,05	0,53±0,1	0,75±0,1	> 0,05	0,91±0,2	0,64±0,1	> 0,05
Тг-ЛПВП, мм/л	0,59±0,1	0,13±0,1	< 0,05	0,24±0,1	0,40±0,1	> 0,05	0,37±0,04	0,50±0,04	> 0,05
ИА-Тг	0,15±0,1	15,68±8,6	< 0,001	11,12±6,4	3,01±1,2	< 0,05	2,30±0,7	0,42±0,03	< 0,05

*Активность ферментов приведена в мкмоль/(мин·л); **p – достоверность различий по половому признаку.



Таблица 2

Концентрация альбумина (г/л)
в крови интактных лабораторных животных

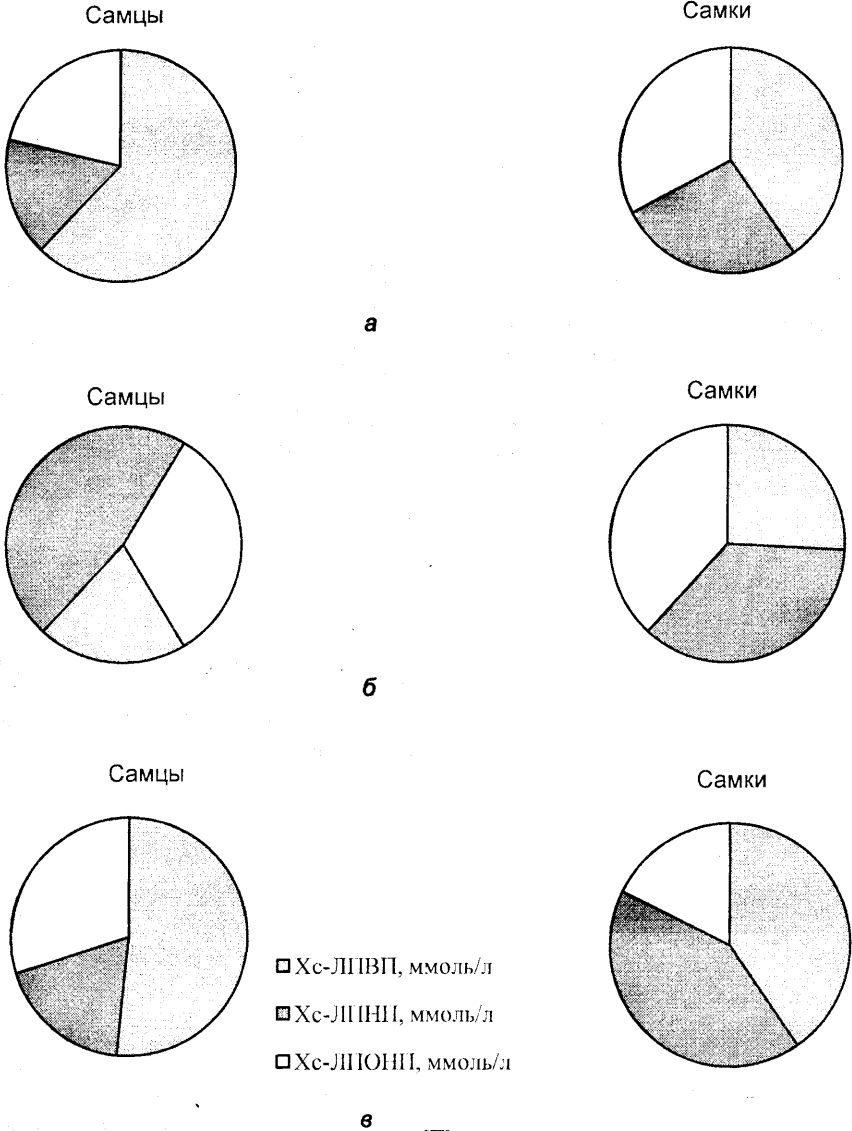
Пол	Крысы	Кролики
Самцы	40,63±1,1	52,34±0,3
Самки	46,42±1,2	43,41±0,5
p**	< 0,05	< 0,001

**p – достоверность различий по половому признаку.

альбумина и креатинина (см. табл. 1, 2). В то же время по содержанию мочевины достоверных различий между самцами и самками белых крыс не выявлено.

В липидном спектре отмечены достоверные половые различия по содержанию общего холестерина, липопротеидов очень низкой плотности, общих триглицеридов, триглицеридов ЛПВП, а также по триглицеридовому индексу и индексу атерогенности; по содержанию липопротеидов низкой и высокой плотности достоверных различий обнаружить не удалось (см. табл. 1, рисунок, а).

При этом у самцов активность АСТ, КК, ЛДГ, ГГТ, концентрация общего белка, креатинина, общего холестерина и триглицеридов высокой плотности оказались выше у сам-



Показатели липидного обмена сыворотки крови интактных белых крыс (а), морских свинок (б), кроликов (в)



цов, а активность ЩФ, концентрация общих триглицеридов, значение индекса атерогенности и триглицеридового индекса – у самок.

При исследовании ферментного спектра и показателей белкового обмена сыворотки крови морских свинок статистически достоверных различий между самцами и самками установлено не было (см. табл. 1).

Изучение показателей липидного спектра крови выявило достоверные различия между самцами и самками по содержанию общего холестерина и по триглицеридовому индексу (см. табл. 1, рисунок). При этом концентрация общего холестерина и значение триглицеридового индекса у самок было выше, чем у самцов.

При исследовании ферментного спектра сыворотки крови кроликов были обнаружены достоверные половые различия по активности КК, КФ, а уровень активности АЛТ, АСТ, ЛДГ, ГГТ и ЩФ у самцов и самок достоверно не различался (см. табл. 1). При исследовании углеводного и белкового обмена установлены достоверные различия лишь по содержанию альбумина (см. табл. 2).

При исследовании липидного спектра показаны достоверные различия между самцами и самками по содержанию холестерина ЛПНП, а также по индексу атерогенности и триглицеридовому индексу, в то время как по содержанию общего холестерина, холестерина ЛПВП и ЛПОНП, общих триглицеридов и триглицеридов ЛПВП достоверные различия не обнаружены (см. табл. 1, рисунок). При этом активность КК, КФ, значение индекса атерогенности и триглицеридового индекса были выше у самцов.

Заключение

Таким образом, если в качестве объекта исследования при биохимических исследованиях крови используют морских свинок, то можно не учитывать половую принадлежность при формировании групп аналогов животных. Исключение составляет лишь определение содержания общего холестерина, по которому имеются половые отличия, однако при этом липидный спектр самцов и самок существенно не различается.

При широком спектре биохимических исследований на кроликах желательно учитывать половую принадлежность животных, так как по ряду показателей есть достоверные различия. В то же время при определении печеночных проб, компонентов остаточ-

ного азота и показателей углеводного обмена в крови пол кроликов существенного значения не имеет.

При проведении биохимических исследований крови крыс учитывать пол животных при формировании групп аналогов необходимо в обязательном порядке.

Библиографический список

1. Клиническая диагностика внутренних незаразных болезней сельскохозяйственных животных / А.М. Смирнов, П.Я. Конопелько, В.С. Постников и др. Л.: Колос. Ленингр. отд-ние, 1981. 447 с.
2. Предтеченский В.С., Боровская В.М., Марголина Л.Т. Руководство по лабораторным методам исследования / Под ред. Л.Г. Смирновой и Е.А. Кост. М.: Медгиз, 1950. 802 с.
3. La Due J., Wroblewski F., Karmen A. Serum GOT activity in human acute transmural myocardial infarction // Science. 1954. Vol.120. P.497–498.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. Минск: Беларусь, 2000.
5. Szasz G. A kinetic photometric method for serum γ -glutamyltransferase // J. Clin. Chem. 1969. Vol.15. P.124–136.
6. Клиническое руководство по лабораторным тестам / Под ред. Н. Тица; Пер. с англ. М.: ЮнимедПРЕСС, 2004. 960 с.
7. Creatine Kinase enzymes / Ed. by H. Lang. Springer Verlag, 1981. 317 p.
8. Bessey O.A., Lowry O.H., Brock M.J. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum // J. Biol. Chem. 1946. Vol.164. P.321–329.
9. Bodansky A. Phosphatase studies // J. Biol. Chem. 1933. Vol.101. P.93.
10. Babson A.L., Read P.A. A new assay for prostatic acid phosphatase in serum // Amer. J. Clin. Pathol. 1959. Vol.32(1). P.88–91.
11. Малинин М.Л. Метод определения общего белка // Журн. современного естествознания. 2007. №12. С.34.
12. Omura T., Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes // J. Biol. Chem. 1964. №239. P.2370–2377.
13. Marshall E.K., And J.R., Davis D.M. Urea: its distribution in and elimination from the animal body // J. Biol. Chem. 1914. Vol.18. P.53–80.
14. Butler A.R. The Jaff reaction: Identification of the colored species // Clin. Chim. Acta. 1976. Vol.59. P.227–232.
15. Spenser K. Analytical reviews in clinical biochemistry: The estimation of creatinine // Ann. Clin. Biochem. 1986. Vol.23. P.1–25.
16. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor // Ann. Clin. Biochem. 1969. Vol.6. P.24.
17. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. СПб.: Питер, 1999. 512 с.
18. Малинин М.Л. Триглицеридовый индекс // Журн. современного естествознания. 2007. №12. С.35.
19. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1980. 293 с.