

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет ветеринарної медицини

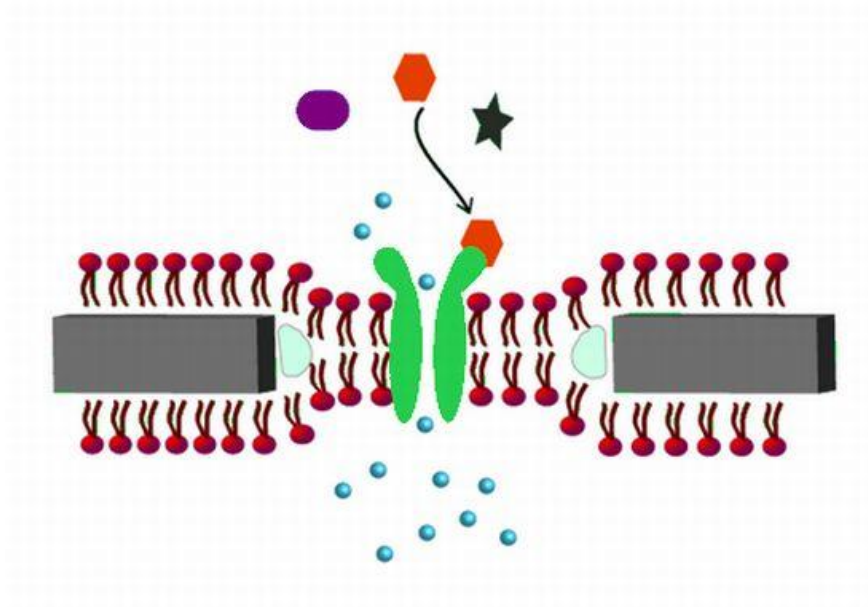
Кафедра біохімії ім. акад. М.Ф. Гулого

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

для самостійної роботи з дисципліни

“ВЕТЕРИНАРНА КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ”

для студентів факультету “Ветеринарна медицина”
спеціальності 6.110101 – ветеринарна медицина,
освітньо-кваліфікаційний рівень – “Бакалавр”



Київ – 2016

УДК 577.1:636:612.015

Наведено методичну інформацію щодо поглиблення теоретичних знань з дисципліни “Ветеринарна клінічна біохімія” студентів факультету “Ветеринарна медицина” під час виконання самостійної роботи за біохімічних досліджень кислотно-лужної рівноваги, імунодефіцитного стану організму тварин та патологій печінки згідно навчальної програми підготовки фахівців спеціальності 6.110101– “Ветеринарна медицина” освітньо-кваліфікаційного рівня – “Бакалавр”.

Рекомендовано вченою радою факультету ветеринарної медицини НУБіП України протокол № 13 від 30 червня 2016 р.

Укладачі: В.А. Томчук, В.А. Грищенко, В.І. Цвіліховський.

Рецензенти: В.І. Карповський, О.М.Туницька

НАВЧАЛЬНЕ ВИДАННЯ
МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
для самостійної роботи з дисципліни
“ВЕТЕРИНАРНА КЛІНІЧНА БІОХІМІЯ”
для студентів факультету “Ветеринарна медицина”
спеціальності 6.110101 – ветеринарна медицина,
освітньо-кваліфікаційний рівень – “Бакалавр”

Укладачі: ТОМЧУК Віктор Анатолійович
ГРИЩЕНКО Вікторія Анатоліївна
ЦВІЛІХОВСЬКИЙ Валерій Іванович

Відповідальний за випуск В.А. Томчук

Зав. видавничим центром НУБіП України А.П. Колесніков
Редактор З.І. Маренець

Підписано до друку
Ум. друк. арк.6,4
Тираж 100 пр.

Формат 60x84 1/16
Обл.-вид.арк.
Зам.

Видавничий центр НУБіП України.
03041, Київ, вул. Героїв оборони, 15.

ЗМІСТ

Вступ.....	5
Обмін води.....	7
Зміни балансу електролітів.....	11
Кисотно-лужна рівновага.....	17
Імунна система.....	20
Специфічний імунітет.....	20
Неспецифічний імунітет.....	21
Дослідження імуноопосередкованих порушень.....	21
Дослідження аглютинації еритроцитів.....	21
Визначення антиеритроцитарних антитіл.....	22
Типування крові.....	24
Перехресна проба на сумісність.....	27
Визначення антинуклеарних антитіл.....	27
Визначення антитромбоцитарних антитіл.....	30
Первинні імуноопосередковані розлади.....	31
Трансфузійні реакції.....	31
Неонатальний ізоеритроліз.....	32
Аутоімунна гемолітична анемія.....	34
Аутоімунна тромбоцитопенія.....	35
Ідіопатична імуноопосередкована нейтропенія.....	37
Системна червона вовчанка	38
Методи визначення імунодефіцитних захворювань.....	39
Дослідження функцій нейтрофілів.....	39
Дослідження лімфоцитів.....	39
Визначення сироваткових імуноглобулінів.....	40
Імунодефіцити.....	41
Клінічні ознаки.....	41
Спадкові дефекти нейтрофілів.....	41
Тяжкий комбінований імунодефіцит.....	41
Недостатність сироваткових імуноглобулінів.....	43
Дефіцит комплементу.....	44
Недостатність антивірусного імунітету.....	44
Порушення пасивного перенесення імуноглобулінів.....	45
Мікроанатомія печінки.....	46

Функціональна одиниця печінки	46
Анатомія та фізіологія клітин, які складають функціональну одиницю печінки.....	48
Визначення активності ферментів печінки	55
Ферменти печінки як показники зміни проникності мембрани гепатоцитів	55
Аланінамінотрансфераза	55
Аспаратамінотрансфераза	57
Сорбітолдегідрогеназа і глутаматдегідрогена	59
Креатинкіназа	59
Лактатдегідрогеназа	60
Ферменти печінки як показники порушення течії жовчі або індукуючої дії лікарських речовин: лужна фосфатаза і γ - глутамілтрансфераза	61
Лужна фосфатаза	62
γ -глутамілтрансфераза	65
Макроферменти.....	67
Тести, що характеризують стан синтетичної функції печінки:	
альбумін	67
Аміак, сечовина і сечова кислота	70
Фактори коагуляції.....	74
Глюкоза	75
Холестерол і ліпопротеїни.....	75
Тестування екскреторної функції печінки: білірубін	76
Жовчні кислоти	83
Метаболізм жовчних кислот.....	83
Розлади обміну жовчних кислот.....	86
Дослідження метаболізму і/або екскреції барвників і ксенобіотиків як засіб визначення функцій печінки.....	88
Оцінка результатів функціональних тестів печінки.....	89
Список літератури.....	90

Вступ

На сучасному етапі теоретичної та практичної ветеринарії, володіння лише клінічними, фізіологічними та патолого-анатомічними показниками при органів і тканин є недостатнім. Слід обов'язково опиратися на дані клініко-лабораторного дослідження крові, жовчі, біоптатів печінки та ін. біологічного матеріалу, відібраного від хворих тварин, що суттєво допомагає при уточненні патогенезу захворювання, розробки тестів ранньої діагностики, перевірки ефективності запропонованої терапії.

Матеріал цих навчально-методичних розробок допоможе слухачам, які навчаються за спеціальностями “Ветеринарна медицина” і “Лабораторна діагностика хвороб тварин,” при опануванні дисциплін “Ветеринарна клінічна біохімія” та “Клінічна гематологія”, дозволить кваліфіковано підійти до призначення схеми лікування та профілактики окремих патологій, контролювати лабораторними методами перебіг захворювання. Цей навчально-методичний матеріал є базисом для глибокого розуміння патологічних процесів в організмі тварин, що перебігають під час незаразних, інфекційних та інвазійних хвороб, та розвиває лікарське мислення.

Мета навчального видання – надання слухачам необхідного об'єму знань та практичних навичок з проведення клініко-лабораторних досліджень різноманітного біологічного матеріалу, отриманого від хворих тварин, при патологічних перебігах, техніки одержання і підготовки біоматеріалу для його лабораторного аналізу та вірної інтерпретації результатів цих досліджень.

Досягнення цієї мети передбачає виконання ряду найважливіших завдань, в результаті чого у слухачів повинні бути сформовані такі теоретичні знання та практичні навички:

а) відпрацьована техніка відбору та підготовки біологічного матеріалу з тканин та рідин організму від хворої тварини для проведення біохімічних лабораторних досліджень;

б) знання фізіологічних параметрів основних клініко-біохімічних показників у здорових тварин та вірна їх інтерпретація у хворих;

в) володіння сучасними методами та методиками біохімічних досліджень;

г) за допомогою сучасних лабораторних методів дослідження та тестів проведення дієвої та ефективної діагностики хвороб навіть при відсутності специфічного прояву захворювання;

д) аналізувати одержані результати та приймати вірне рішення.

Обмін води

Дорослий організм приблизно на 60 % (за масою) складається з води. Внутрішньоклітинна вода становить 40 %, а позаклітинна – 20 % (5 % знаходиться в плазмі та 15 % – в інтерстиціальному просторі). Основним катіоном позаклітинної рідини є натрій, тоді як у внутрішньоклітинному просторі – калій. У знаходиться більше 98 % всього калію, що міститься в організмі. Головним аніоном в клітинах є фосфат, а в позаклітинному просторі переважають аніони хлориду і бікарбонату. Гомеостаз води та електролітів у плазмі підтримується регулюючою діяльністю ендокринних органів, нервовою системою і нирками. Нейрогормональну регуляцію в цілому здійснюють ниркові каналці, які зберігають для організму натрій і воду та виводять калій. Проксимальні та дистальні каналці здійснюють реабсорбцію натрію. Обмін натрію і калію в дистальних каналцях посилюється під впливом альдостерону, який сприяє затримці натрію і виведенню калію.

Тиск, необхідний для врівноваження осмотичного руху рідини через мембрану, що володіє вибірковою проникністю, носить назву *осмотичного тиску*. Його величина непрямо відображає вміст води і концентрацію розчинених у ній речовин. Осмотичний тиск прямо пропорційний концентрації осмотично активних частинок у розчині. Осмотичний ефект однієї молекули натрію хлориду вдвічі перевищує такий же ефект молекули альбуміну. Підвищення осмотичного тиску вказує на збільшення концентрації розчинених речовин і зниження концентрації води в розчині. Осмоляльна концентрація розчину називається *осмоляльністю* і виражається числом осмолей на кілограм води. При визначенні осмоляльності біологічних рідин (плазма, сеча) зазвичай як одиницю використовують *міліосмоль* (мосм), рівний 1/1000 осмоля. Осмоляльність, що виражається числом осмолей на літр розчину, в разі біологічних рідин повністю відповідає осмоляльності, і обидва терміни взаємозамінні. Осмоляльність визначають для виявлення клінічно важливих змін водного балансу організму в цілому. Осмотичний

тиск розчину пропорційний його осмоляльності за рахунок концентрації розчинених речовин. Більш ніж 90 % з них у позаклітинній рідині представлені натрієм і хлоридом. Концентрація циркулюючого в крові натрію в цілому є показником осмоляльності плазми. Для розрахунку осмоляльності може бути використане визначення концентрації натрію в кровотоці разом з визначенням двох головних неелектролітів, що впливають на осмоляльність – глюкози і сечовини. Розраховану осмоляльність (мосм/кг) складають: натрій (подвоєна концентрація, ммоль/л) плюс глюкоза (ммоль/л) плюс сечовина (ммоль/100 мл). Концентрацію натрію (у ммоль/л) визначають шляхом ділення вмісту натрію (виражене в мекв/л) на 1, глюкози (мг/100 мл) на 18 і сечовини (мг/100 мл) на 2,8. Відмінність між вимірною осмоляльністю і розрахованою осмоляльністю відображає присутність невеликої кількості циркулюючих речовин, визначених при прямому вимірюванні, але, які не включаються в розрахунок. Ця відмінність, або дефіцит осмоляльності, відносно стала величина. Відмінність, що перевищує 10 мосм/кг, вказує на присутність чужорідних речовин, з яких заслуговують на увагу етиленгліколь, етанол і метанол.

Розподіл рідини між внутрішніми і позаклітинними компартментами насамперед визначається осмотичним ефектом електролітів, особливо натрію і хлориду. Клітинні мембрани непроникні для цих невеликих іонів, які впливають на переміщення води через мембрани, підтримуючи ізотонічність. Введення гіпотонічних рідин викликає набухання клітин, тоді як гіпертонічні розчини призводять до їх зморщення. Втрата натрію, блювання або надмірне вживання діуретиків можуть спровокувати зниження об'єму позаклітинної рідини, гіпоосмотичну дегідратацію. Неадекватна секреція антидіуретичного гормону (АДГ) призводить до затримки води і гіпонатріємії – гіпоосмотичної гіпергідратації. При втраті води, порушенні секреції АДГ (нецукровий діабет) або відсутності реакції нирок на АДГ (нефрогенний нецукровий діабет) може виникнути стан гіперосмолярності внаслідок підвищення концентрації іонів натрію в крові – гіперосмотична дегідратація (рис. 1).

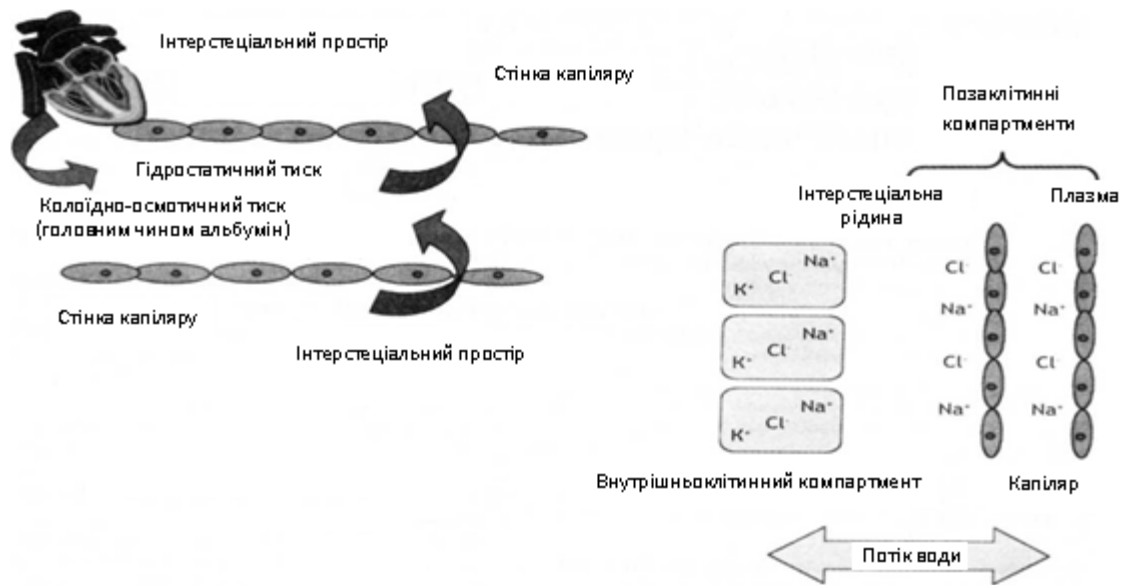


Рис. 1. Баланс гідростатичного і колоїдно-осмотичного тиску є головним чинником, що підтримує нормальний розподіл позаклітинної рідини між плазмою та інтерстиціальним простором. Основне значення в створенні колоїдно-осмотичного тиску у кровотоці належить концентрації альбуміну, оскільки молекули цього білка невеликі за розміром і містяться в крові у великій кількості. При збалансованому харчуванні синтез альбуміну в печінці контролюється колоїдно-осмотичним тиском. При зміні гідростатичного тиску, важкій гіпоальбумінемії або порушенні цілісності капілярної мембрани можуть з'явитися набряки.

Зміни гідростатичного тиску і колоїдно-осмотичний ефект є головними чинниками, що визначають відносну кількість позаклітинної рідини, розподіленої між плазмою і інтерстиціальним простором. Розподіл рідини між внутрішніми і позаклітинними компартментами залежить головним чином від осмотичного ефекту електролітів, особливо натрію та хлориду. Клітинні мембрани відносно непроникні для цих іонів, але вода легко просочується крізь мембрани, що обумовлює ізотонічність рідини всередині і за межами клітин. Швидкість дифузії води визначається осмотичним ефектом і може змінюватися при захворюваннях, а також у результаті введення рідин. Відносно невеликі зміни концентрації речовини в позаклітинній рідині, для яких мембрана непроникна, можуть викликати помітні зміни об'єму інтерстиціальної рідини. Набряком є накопичення

надмірної кількості води в тканинах. Внутрішньоклітинний набряк у тканинах спостерігається при запаленні або уповільненні кровотоку. Іони натрію, що в нормі надходять до клітин під час метаболічної активності, в результаті зміни функції мембрани або її проникності не можуть ефективно виходити за її межі. Надлишок натрію викликає осмотичне надходження води, що призводить до набрякання тканин. Якщо навколишнє середовище клітини гіпертонічне, вона зморщується, тоді як гіпотонічність позаклітинної рідини створює умови для їх набухання і набрякlosti тканин. Головний мозок розміщений в черепній коробці і тому, навіть при невеликих змінах об'єму клітин з'являються неврологічні ознаки як перший показник зміни гомеостазу води і натрію.

Підвищений вихід рідкої частини плазми в інтерстиціальний простір через капіляри або ускладнений відтік рідини вздовж лімфатичних судин у кров можуть сприяти розвитку позаклітинного набряку тканин. Прискорений вихід води через капілярну стінку, як правило, обумовлюється зміною проникності судин, зниженням колоїдно-осмотичного тиску або підвищенням гідростатичного тиску. Прикладами кожного з цих порушень можуть слугувати відповідно запалення або реакція гіперчутливості, важка гіпоальбумінемія і серцева недостатність. Іншою важливою причиною виникнення позаклітинного набряку є чинники, що перешкоджають відтоку лімфи. До них відносяться пухлини, що розвиваються в лімфатичних судинах або здавлюють їх зовні, а також природжена відсутність лімфатичних судин. Коли набрякла рідина скупчується в «потенційно» існуючих просторах тіла, наприклад, в плевральній, черевній, перикардіальній порожнинах або усередині суглобової сумки, це явище носить назву *ефузії* (утворення випоту). Мембрани, або оболонки, що утворюють ці порожнини, не чинять істотної перешкоди у проходженні через них рідини, електrolітів або білків, які здатні проникати з «потенційних» порожнин в інтерстиціальний простір навколишніх тканин і повертатися назад. Ефузія може розвиватися як результат захворювання органів, що межують з порожнинами або тканинами,

які оточують органи. З іншого боку, відсутність вибіркової проникності мембран, що вкривають порожнини, дає можливість використовувати черевну порожнину для перитонеального діалізу з метою видалення шкідливих продуктів при уремії або введення ізотонічних рідин і ліків.

Зміни балансу електролітів

Гіпонатріємія, або падіння концентрації натрію в крові нижче за норму, може бути наслідком зменшення його вмісту в позаклітинній рідині або надлишку води. Втраті натрію сприяють тривале блювання, діарея, введення деяких діуретиків і недостатність альдостерону. При цьому виникає гіпоосмотична дегідратація. Надмірна секреція АДГ може підсилити тиск води в нирках, що призведе до гіпергідратації і гіпонатріємії (гіпоосмотична гіпергідратація). Гіпернатріємія – аномально висока концентрація іонів натрію в циркулюючій крові може виникнути внаслідок надходження води з позаклітинної рідини. Надмірне видалення води нирками відбувається при недостатній секреції АДГ, нецукровому діабеті або неадекватній реакції нирок на звичайний рівень гормону (нефрогенний нецукровий діабет). Гіпернатріємія, яка обумовлена втратою води, призводить до гіперосмотичної дегідратації. Надходження всередину додаткової кількості солі без достатньої кількості води може викликати гіпернатріємію.

Концентрація позаклітинного калію регулюється, оскільки фізіологічні функції клітин надто чутливі до кількості змін вмісту цього електроліту. Підвищення його рівня, навіть мінімальне, може викликати серцеві аритмії, небезпечні для життя. Провідну роль у балансі калію відіграють нирки і альдостерон, що секретується наднирниками, тому ниркова недостатність і гіпокортицизм (гіпоальдостеронізм) можуть бути причинами виникнення гіперкаліємії, тобто збільшення концентрації іонів калію в циркулюючій крові вище за норму. Перерозподіл калію між чисельними внутрішньоклітинними компартментами і просторами, де присутня позаклітинна рідина, відбувається швидко як компенсаторна відповідь на

захворювання. Інсулін є одним з найбільш важливих фізіологічних чинників, які підвищують надходження калію в клітини. Порушення кислотно-лужної рівноваги змінює баланс внутрішньоклітинного калію. Метаболічний ацидоз підвищує відтік калію з клітин, а метаболічний алкалоз дає протилежний ефект. Зміна осмоляльності позаклітинної рідини здатна викликати перерозподіл калію з його виходом із внутрішньоклітинного компартменту. Гіперглікемія при цукровому діабеті підвищує позаклітинну осмоляльність, обумовлюючи клітинну дегідратацію і супутній відтік калію з клітин в позаклітинну рідину. Помилкова гіперкаліємія (псевдогіперкаліємія) виникає у тому випадку, коли при вираженому лейкоцитозі або тромбоцитозі сироватку відокремлюють від згустку крові із запізненням (лейкоцити і тромбоцити містять значну кількість калію). В еритроцитах собак породи акіта кількість калію більша, ніж у собак інших порід. Тому при тривалому стоянні крові, що згорнулася, вміст калію в її рідкій частині зростає. Еритроцити коней і великої рогатої худоби також багаті на калій і більш сприйнятливі до гемолізу. Зволікання із видаленням сироватки зі зразка крові може обумовити підвищення рівня в ній калію.

Зменшення концентрації іонів калію в циркулюючій крові (гіпокаліємія) виникає внаслідок недостатнього його надходження в організм, надмірної втрати, розведення або зрушення іонного балансу у бік підвищення внутрішньоклітинної концентрації калію. Важливою причиною дефіциту калію є його втрата через шлунково-кишковий тракт, що посилюється при відсутності апетиту. Одночасна втрата хлоридів при частому блюванні або секвестрації у травний сік сичуга жуйних тварин здатні призвести до розвитку гіпокаліємічного, гіпохлоремічного метаболічного алкалозу. Надмірна втрата калію зустрічається при гіперальдостеронізмі (часто разом з гіпернатріємією), нирковому тубулярному ацидозі (нерідко у поєднанні з гіперхлоремічним ацидозом), а також у разі застосування деяких діуретиків. Введення коням фуросеміду призводить до виснаження пулу катіонів в організмі в такій мірі, що

утворюються ехіноцити. Інсулінотерапія при діабеті у тварин може викликати зниження рівня калію в крові, сприяючи його надходженню в клітини разом з глюкозою.

Псевдо-гіперхлоремією називають індуковане штучним шляхом підвищення рівня хлоридів у сироватці тварин, яким для усунення епілептичних судом у якості антиконвульсанта вводять калію бромід.

Різниця, або інтервал між концентраціями головного катіону (натрію) і основних аніонів (хлоридів і бікарбонатів) у циркулюючій крові характеризується відносною видовою сталістю (рис. 2). Вона відповідає кількості аніонів, що не враховуються в крові, головним чином за рахунок від'ємно заряджених білків, які за звичайних умов не виявляються традиційними методами. У розрахунок аніонного інтервалу включали калій, проте, це нічого не додає до інтерпретації знайдених величин. Якщо використовувати його концентрацію, стандартні величини для аніонного інтервалу трохи збільшуються. Визначення аніонного інтервалу може виявитися корисним при встановленні можливих причин порушення кислотно-лужної рівноваги. Збільшення аніонного інтервалу у поєднанні з метаболічним ацидозом внаслідок підвищення рівня метаболізуючих і неметаболізуючих кислот у крові. Зростання рівня молочної кислоти може бути обумовлене гіповолемічним шоком, значним фізичним навантаженням або надмірним згодовуванням зернових продуктів. Посилене утворення кетонів тіл, кетоацидоз є наслідком цукрового діабету або кетозу. Затримка сульфатів і фосфатів (неметаболізуючі кислоти) при нирковій недостатності сприяє розвитку уремичного ацидозу. Токсикоз, викликаний етиленгліколем, саліцилатами, метанолом (неметаболізуючі кислі речовини), призводить до ацидозу і збільшення аніонного інтервалу. Зменшення величини останнього і відсутність порушень кислотно-лужної рівноваги може бути зв'язано з гіпоальбумінемією. Метаболічний ацидоз з гіперхлоремією при нормальному або пониженому аніонному інтервалі розвивається як результат втрати організмом бікарбонатів діареї або

ниркового тубулярного ацидозу. Крім того, при цих розладах виявляють понижений рівень калію. На відміну від зазначеного, збільшення вмісту калію часто зв'язане з гіперхлоремічним метаболічним ацидозом при нормальному або зменшеному аніонному інтервалі, що може спричинюватися недостатністю альдостерону (гіпокортицизм).

Електроліти в сечі визначають шляхом розрахунку величини їх парціальної екскреції (FE):

$$FE (\%) = \left[\frac{\text{електроліти в сечі (мекв/л)} : \text{електроліти в сироватці (мекв/л)}}{\text{креатинін в сироватці (мг/100 мл) : креатинін в сечі (мг/100 мл)}} \right] \times 100$$

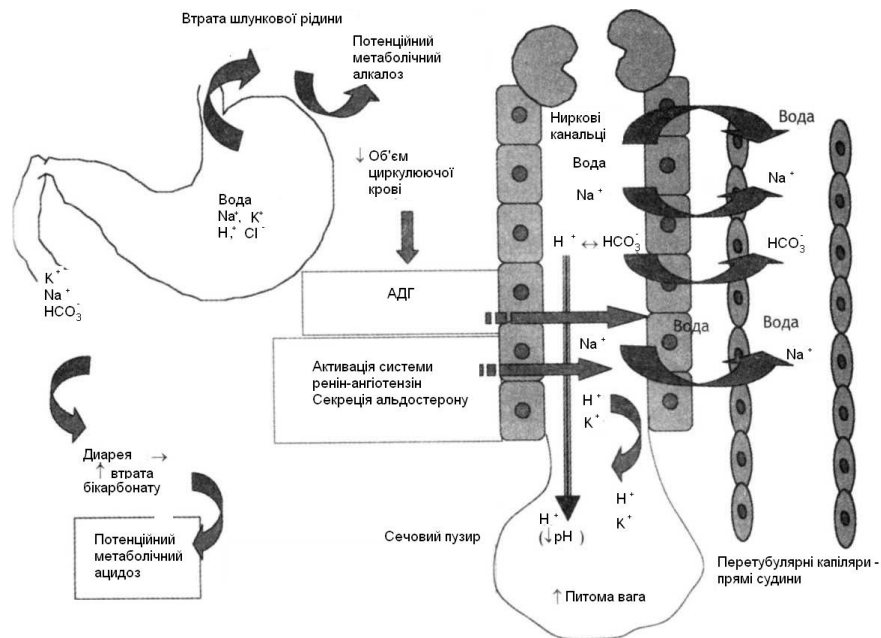


Рис. 2. Захворювання органів апарату травлення є частою причиною порушень балансу електролітів. Рідина, що знаходиться в шлунку, складається з води, а також з високої концентрації іонів водню (H^+) і хлориду (Cl^-) і меншим умістом іонів натрію (Na^+) і калію (K^+). Тоді як рідина, що міститься в тонкому кишечнику, багата на іони калію і бікарбонату. Блювання або секвестрація рідини в сичузі жуйних можуть призвести до розвитку метаболічного алкалозу. Головними чинниками, що сприяють його підтримці, є зниження об'єму циркулюючої крові і втрата хлориду та калію. Нирки відповідають за реабсорбцію води в результаті прискорення секреції антидіуретичного гормону (АДГ) і, що найбільш важливе, реабсорбцію натрію. У нормальних умовах на рівні проксимальних каналців аніон хлориду обмінюється на іон натрію, проте у разі дефіциту останнього створюються умови, що сприяють реабсорбції бікарбонатів. У дистальних каналцях

натрій в нормі обмінюється на іони Гідрогену або калію. В результаті дефіциту калію обмін Гідрогену підвищується під впливом альдостерону. Затримка бікарбонатів у нирках і підвищений обмін іонів Гідрогену призводять до додаткової їх втрати з сечею. Наслідком є ацидурія, тобто кислотно-лужний парадокс. На відміну від цього, тимчасове підвищення секреції кислоти, що обумовлено хімічним складом корму, призводить до появи надлишку бікарбонатів у крові, явище, що отримало назву *лужного підйому*. Фізіологічна відповідь нирок полягає в прискореній екскреції бікарбонатів (лужна сеча).

Причини гіперкаліємії.

1. Недостатність альдостерону (гіпокортицизм).
2. Обструкція сечовивідного каналу.
3. Розрив сечового міхура.
4. Ниркове захворювання, що супроводжується анурією або олігурією.
5. Дифузний некроз тканин.
6. Гіперкаліємічний періодичний параліч (коні).
7. Тривале стояння крові, що звернулася, при відокремленні сироватки від згустка; еритроцити, що відрізняються високим вмістом калію, вивільнення якого в сироватку обумовлює помилкову гіперкаліємію; це явище властиве свійським тваринам більшості видів, за винятком собак і котів (не враховуючи собак порід акіта і англійський спрінгер-спаніель).
8. Використання в якості антикоагулянту калієвої солі гепарину.
9. Метаболічний ацидоз.

Причини гіпокаліємії.

1. Втрата калію через шлунково-кишковий тракт (блювання, діарея).
2. Хронічне захворювання нирок або пов'язана з характером раціону нефропатія (кішки).
3. Постобструкційний діурез.
4. Внутрішньовенне введення бідних на калій рідин.
5. Надмірне застосування діуретиків.

6. Гіпокаліємічний періодичний параліч.
7. Синдром гіпокаліємії у молочної худоби.
8. Парентеральне введення поживних розчинів.
9. Гіперальдостеронізм.
10. Нирковий ацидоз.
11. Цукровий діабет (у зв'язку з лікуванням інсуліном).

Причини гіпонатріємії.

1. Надмірне потовиділення.
2. Гіперглікемія (цукровий діабет).
3. Хронічне захворювання нирок (нефропатія з втратою солей).
4. Повторний дренаж плевральної порожнини.
5. Секвестрація рідини, або втрата «третього простору» (панкреатит, перитоніт, розрив сечового міхура).
6. Застійна серцева недостатність (набряк).
7. Недостатність альдостерону (гіпокортицизм).
8. Надмірне застосування діуретиків.
9. Надмірна (неадекватна) секреція антидіуретичного гормону.

Причини гіпернатріємії.

1. Втрата через шлунково-кишковий тракт (блювання, діарея).
2. Недостатнє надходження в організм води.
3. Нецукровий діабет, «нефрогенний» нецукровий діабет.
4. Непомітна підвищена втрата води (гарячка, висока температура навколишнього середовища, прискорене дихання).
5. Захворювання нирок, постобструкційний діурез.
6. Цукровий діабет (після лікування інсуліном).
7. Осмотичний діурез.
8. Надлишковий прийом солі (сольове отруєння) або внутрішньовенне

введення гіпертонічного розчину.

9. Гіперальдостеронізм.

Причини змін аніонного інтервалу.

Збільшення

1. Ацидоз: лактоацидоз, отруєння етиленгліколем, уремія, діабетичний кетоацидоз, надлишкове згодовування кормів, кетоз, посилене фізичне навантаження, отруєння саліцилатами
2. Некротизуючий ентероколіт у коней.
3. Введення інгібітору карбоангідрази
4. Нирковий тубулярний ацидоз.

Зменшення

1. Гіпоальбумінемія.
2. Поліклональна гамапатія.

Кислотно-лужна рівновага

Основна частина іонів Гідрогену в циркулюючій крові утворюється в результаті метаболізму глюкози, інших вуглеводів і слабких кислот. Концентрацію іонів Гідрогену в рідині визначають шляхом вимірювання рН, величина якого зростає разом з падінням концентрації іонів Гідрогену. Іони бікарбонату при надлишку іонів водню виконують функцію буферної системи, і при нормально перебігаючих метаболічних процесах утворюється підвищена кількість двоокису вуглецю і води – реакція, що каталізується карбоангідразою в альвеолах легень і епітеліальних клітинах ниркових каналців. Надлишок двоокису вуглецю стимулює дихання і видаляється з повітрям, що видихається; крім того, двоокис вуглецю реагує з водою в ниркових каналцях з утворенням бікарбонату (табл. 1).

Таблиця 1. Характеристика первинних порушень кислотно-лужної рівноваги.

	pH	[H ⁺]	[HCO ₃ ⁻]	pCO ₂
Метаболічний алкалоз	↑	↓	↑	↑
Метаболічний ацидоз	↓	↑	↓	↓
Респіраторний ацидоз	↓	↑	↑	↑
Респіраторний алкалоз	↑	↓	↓	↓
Втрата компонентів через шлунково-кишковий тракт (блювання, діарея)				

Первинні процеси виділені більш жирними стрілками.

Порушення кислотно-лужної рівноваги характеризуються первинними змінами вмісту або бікарбонату, або двоокису вуглецю. Метаболічний і респіраторний ацидози визначаються за зменшенням pH, що викликається значним зниженням концентрації іонів бікарбонату і значним підвищенням парціального тиску двоокису вуглецю. І навпаки, метаболічний і респіраторний алкалози характеризуються підвищенням величини pH, яке обумовлене значним підвищенням концентрації іонів бікарбонату і зниженням рівня двоокису вуглецю. Нирки і легені коректують первинні порушення кислотно-лужної рівноваги, проте при клінічно виражених порушеннях фізіологічна відповідь рідко буває повною. У результаті, компенсовані зміни з боку бікарбонату і двоокису вуглецю зазвичай не досягають значної величини.

Причини метаболічного ацидозу.

1. Лактоацидоз (шок, значне фізичне навантаження).
2. Отруєння етиленгліколем.
3. Уремія.
4. Гіпокортицизм.
5. Діабетичний кетоацидоз.
6. Кетоз.

7. Надлишковий зерновий корм.
8. Некротизуючий ентероколіт у коней.
9. Отруєння саліцилатами.
10. Отруєння паральдегідом.
11. Діарея.
12. Надмірне вживання інгібіторів карбоангідрази.
13. Нирковий тубулярний ацидоз.
14. Пероральний прийом кислих агентів.

Причини метаболічного алкалозу.

1. Блювання.
2. Секвестрація рідини в першому або четвертому відділі шлунку (жуйні).
3. Надмірне вживання діуретиків, тіазидів.
4. Надмірне введення бікарбонату натрію.
5. Підвищене потовиділення у коней.
6. Первинний гіперальдостеронізм.

Причини респіраторного ацидозу.

1. Серцево-легенева блокада.
2. Порушення функції легень: обструкція дихальних шляхів, хвороби паренхіми легень, пневмоторакс.
3. Анестезія, застосування агентів, що пригнічують центральну нервову систему.

Причини респіраторного алкалозу.

1. Гіпоксемія: застійна серцева недостатність, анемія.
2. Гіпервентиляція: стимуляція центральної нервової системи – ліки (отруєння саліцилатами, ксантином), біль, сепсис, викликаний грамнегативними бактеріями.
3. Надмірна штучна вентиляція.

Імунна система

Імунна система є інтегрованою сіткою, яка складається з клітин різних типів, багаточисельних цитокінів і деяких білків плазми. Всі компоненти імунної системи діють синергічно, видаляючи з організму інфекційні агенти, паразити і чужорідні антигени, тому порушення імунної відповіді підвищує чутливість організму до шкідливих агентів. Неадекватна, надто сильна імунна відповідь слугує причиною опосередкованого імунною системою пошкодження тканин.

Специфічний імунітет

Імунокомпетентними клітинами, які відповідають на специфічні антигени, є лімфоцити. За продукцію імуноглобулінів (антитіл) відповідальні В-лімфоцити. Проте утворення антитіл В-клітинами вимагає участі Т-лімфоцитів, макрофагів і дендритних клітин. На відміну від В-лімфоцитів, які продукують антитіла, що поступають у кров (гуморальний імунітет) і переносяться в місця входження чужорідного агента (антигена), Т-лімфоцити самі мігрують в ділянки тіла, де присутній чужорідний антиген. Т-лімфоцити різних субпопуляцій виконують роль регуляторів імунної відповіді, володіють цитотоксичністю, беруть участь в реакціях гіперчутливості сповільненого типу і «трансплантат проти господаря». Т-хелпери ($CD4^+CD8^-$) беруть участь в реалізації гуморальної імунної відповіді, а цитотоксичні Т-клітини ($CD4^-CD8^+$) відіграють провідну роль в клітинному імунітеті, що забезпечує знищення патогенних грибів, найпростіших, а також пухлинних клітин. Функція супресорних і регуляторних Т-клітин полягає в підтримці балансу між активацією імунної системи і гальмуванням її активності, що запобігає розвитку аутоімунітету. Т-клітини пам'яті починають проліферувати, отримавши сигнал від антигенів, які представляють такі клітини як В-лімфоцити, макрофаги і дендритні клітини.

Неспецифічний імунітет

Стан неспецифічного або природженого імунітету забезпечують нейтрофіли, макрофаги, тучні клітини, еозинофіли, базофіли, НК-клітини (природні кіллери), а також система комплементу. Макрофаги, наряду з фагоцитозом і продукцією різних запальних цитокінів, беруть участь в процесингу і представленні антигенів Т-лімфоцитам. Іншим компонентом неспецифічного імунітету є поверхні слизових оболонок і продукти, що секретуються ними.

Дослідження імуноопосередкованих порушень

Дослідження аглютинації еритроцитів

Якщо в зразку крові спостерігається скупчення еритроцитів, важливо встановити, чи відбулася аутоаглютинація (поява агрегатів еритроцитів) або, чи утворилися так звані «монетні стовпчики» (еритроцити, що злиплися один з одним, у вигляді стовпчиків). При відмиванні еритроцитів фізіологічним сольовим розчином «монетні стовпчики» розпадаються, тоді як у разі аутоаглютинації агрегати еритроцитів зберігаються. Щоб виявити ці відмінності, кров центрифугують, видаляють плазму і еритроцити ресуспендують в сольовому розчині. Існує більш швидший спосіб диференціації аутоаглютинації і «монетних стовпчиків». На предметному склі змішують краплю сольового розчину з краплею крові, що містить антикоагулянт. Приготований препарат у вологому стані досліджують під мікроскопом. Такого роду розведення крові знижує утворення «монетних стовпчиків», але не впливає на аглютинацію. Аутоаглютинація говорить про те, що на поверхні еритроцитів зв'язана підвищена кількість імуноглобулінів. Звичайно це IgM, оскільки молекула імуноглобуліну цього класу має 10 антигензв'язаних ділянок (рис. 3). При виявленні аутоаглютинації в зразку відмитих сольовим розчином еритроцитів, проводити прямий антиглобуліновий тест необов'язково.

Визначення антиеритроцитарних антитіл

Ці тести проводять в тих випадках, коли аутоаглютинація відсутня, але є підозра на аутоімунну гемолітичну анемію (АІГА).

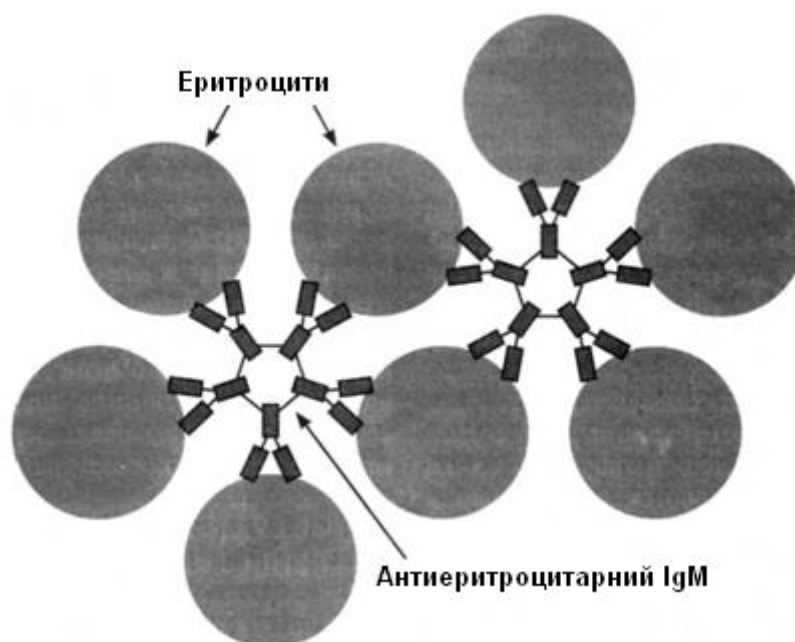


Рис. 3. Антиеритроцитарні антитіла IgM, що викликають аглютинацію еритроцитів.

Пряме визначення антиглобулінових антитіл, або тест Кумбса

У цьому тесті використовують промиті еритроцити досліджуваної тварини і видоспецифічні антисироватки до IgG, IgM і третього компоненту комплексу для виявлення присутності цих факторів на поверхні еритроцитів (рис. 4). Якщо відсутні ознаки хвороби холодних аглютинінів, визначення зазвичай проводять при 37°C, так як при більш нижчій температурі тест дає позитивний результат у значної кількості здорових тварин. Окрім АІГА позитивний результат тесту може бути отриманий при ізоеритролізі новонароджених (ІН) і реакціях на переливання крові, а також у тварин з різними інфекційними, паразитарними, пухлинними, запальними і іншими вторинними аутоімунними захворюваннями.

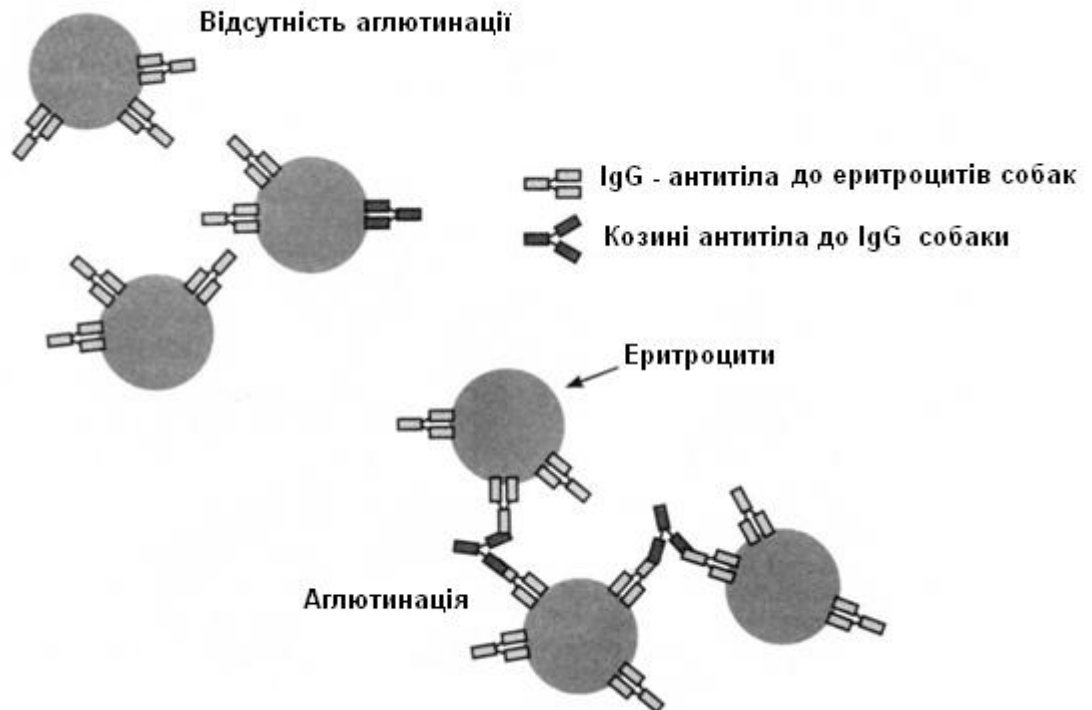


Рис. 4. Пряме визначення антиглобулінових антитіл (тест Кумбса). Додавання антитіл до IgG собаки викликає аглютинацію еритроцитів, на поверхні яких присутній зв'язаний IgG собаки.

Якщо підозрюють можливу імунну реакцію на лікарський препарат, цей препарат слід включити в тест-систему.

Негативний результат аналізу не включає АІГА. Причиною псевдонегативного результату можуть бути наступні фактори: недостатня кількість антитіл або комплекменту на поверхні еритроцитів, невідповідність кількостей антиглобулінових антитіл кількості зв'язаних з поверхнею еритроцитів антитіл або комплекменту, використання видонеспецифічних реагентів або проведення тесту при невідповідній температурі, досліджувана тварина протягом тижня або більше отримувала глюкокортикоїди, при дослідженні крові тварини з лікарською індукованою АІГА в тест-системі не був включений підозрілий лікарський препарат.

Проточна цитометрія з використанням прямого імунофлуоресцентного аналізу

Для виявлення імуноглобулінів на поверхні еритроцитів клітини обробляють видоспецифічними антиглобуліновими антитілами, кон'югованими з ізотіоціанатом флуоресцеїну. Мічені у такий спосіб еритроцити визначають за допомогою проточної цитометрії. При діагностуванні АІГА у собак прямий імунофлуоресцентний метод чутливіший, але менш специфічний, ніж пряме визначення антиглобулінових антитіл.

Прямий імуноферментний метод визначення антиглобулінових антитіл

Це варіант ІФМ, розроблений для дослідження еритроцитів собак. Метод дозволяє визначати підвищену кількість зв'язаних з еритроцитами імуноглобулінів, комплементу або того чи іншого у хворих анемією собак незалежно від причини анемії. Тест високочутливий, але недостатньо специфічний для діагностики АІГА. Крім того, він віднімає багато часу і в основному використовується в дослідницьких роботах.

Типування крові

Зовнішня поверхня еритроцитів несе велике число білкових і складних вуглеводних антигенів. Деякі антигени присутні на еритроцитах всіх особин даного виду, тоді як інші, які називаються аллоантигенами, властиві лише деяким представникам даного виду і складають частину їх спадкової характеристики. Аллоантигени еритроцитів визначають серологічно в реакціях аглютинації і гемолізу. На підставі детальних генетичних досліджень виділено декілька груп крові, що розрізняються по специфічності відповідних аллоантигенів еритроцитів. Кожен з цих аллоантигенів кодується окремим хромосомним локусом, а гени кожного локуса існують в двох або більше алельних формах (алельні гени). Антигенність еритроцитів різних

груп крові визначається структурою вуглеводних компонентів зв'язаних з мембраною гліколіпідів і ліпопротеїнів. Рідше специфічність антигенів груп крові залежить від антигенних детермінант (послідовностей амінокислот) мембранних білків еритроцитів. Більшість аллоантигенів груп крові є інтегральними структурами мембрани еритроцитів, що утворюються в процесі розвитку еритроїдних клітин; проте деякі аллоантигени, наприклад антиген 7 еритроцитів собак (DEA 7) і J-система великої рогатої худоби, продукуються в інших тканинах організму, поступають в плазму і вже потім зв'язуються з еритроцитами.

Серед домашніх тварин найдетальніше вивчені групи крові у коней і великої рогатої худоби, що зв'язане з постійним типуванням груп крові з метою ідентифікації тварин і їх батьків. У великої рогатої худоби налічується щонайменше 11 груп крові з численними алельними варіантами в межах групи. Число можливих комбінацій різних аллоантигенів груп крові у великої рогатої худоби перевищує 2 трильйони, і можна говорити про те, що кожна тварина має свою власну, індивідуальну характеристику еритроцитів, що відрізняє його від будь-якої іншої тварини даного виду. В даний час для ідентифікації тварин замість типування груп крові частіше використовують секвенування (визначення послідовності) ДНК.

При попаданні в організм «чужих» аллоантигенів до них утворюються аллоантитіла. Еритроцитарні аллоантигени істотно розрізняються по здатності індукувати гемолітичну анемію. Багато з них володіє слабкими імуногенними властивостями (тобто не спричиняють утворення антитіл у високих титрах) або індукує продукцію аллоантитіл, які неактивні при нормальній температурі тіла. На щастя, лише небагато аллоантигенів еритроцитів здатні викликати у тварин небезпечну для життя гемолітичну хворобу. Клінічне значення мають такі аллоантитіла, як DEA 1.1 (Aa1), і, можливо, DEA 1.2 (Aa2) у собак, АВ у кішок, Аa і Qa у коней, а також А і Е у свиней.

В ідеальному випадку перед кожним переливанням крові тваринам необхідно визначати групу крові донора і реципієнта, як це прийнято при

гемотрансфузіях у людини. Загалом ветеринарна медицина не має в своєму розпорядженні такої можливості, оскільки типуровання трудомістке «в домашніх умовах» і дороге коштує. Проте можна відіслати зразки крові передбачуваних донорів у відповідну лабораторію для типування, а потім вибрати тих донорів, в крові яких відсутні клінічно значущі еритроцитарні аллоантигени. Для зведення до мінімуму вірогідності важких трансфузних реакцій доцільно провести перехресну пробу на сумісність зразків крові вибраних донорів і реципієнта.

Типування груп крові бажано проводити перед схрещуванням, щоб підібрати для цієї мети тварин однакової групи крові – це зведе до мінімуму ризик розвитку гемолітичних реакцій (неонатального ізоеритроліза) у новонароджених. Найчастіше типування здійснюють у коней, якщо раніше кобили приносили лошат, у яких після вигодовування молозивом розвивалися гемолітичні реакції. Доцільно також проводити типування деяких порід кішок, серед яких поширена група крові В (табл.).

Таблиця 2. Частота групи крові В у чистопорідних кішок в США

Частота групи крові В (%)	Порода
25-50	Екзотична короткошерстна, англійська короткошерстна, корнішрекс, девонрекс
5-25	Абіссінська, бірманська, персидська, гімалайська, сомалійська, сфінкс, шотландська висловуха, японський бобтейл
<5	Мейнкун (мейнска єнотова кішка), норвезька лісова кішка, безпородна короткошерстна, беспородна довгошерстна
Не зустрічається	Сіамська, бірманська, токійська, російська блакитна, східна короткошерстна, американська короткошерстна, оцікат

За: Andrews (2000) і Urs Giger et al. Частоту групи крові А визначають шляхом віднімання від 100% частоти групи крові В, оскільки група крові АВ зустрічається у край рідко.

Перехресна проба на сумісність

Цю пробу проводять для виявлення гемаглютинуючих і гемолітичних антитіл в сироватці крові донора і реципієнта. Суспензію відмитих еритроцитів інкубують із зразком сироватки, потім інкубат центрифугують і визначають наявність гемолізу і аглютинації, видимої неозброєним оком і під мікроскопом. Так звана велика перехресна проба використовується для визначення антитіл, що містяться в сироватці реципієнта і спрямованих проти еритроцитів донора. Відповідно, в малій перехресній пробі визначають антитіла в сироватці донора, що реагують з еритроцитами реципієнта. Перехресна проба не дає точної відповіді, якщо в зразку крові досліджуваної тварини присутні аутоаглютинація або сильний гемоліз.

Відсутність аглютинації або гемолізу в перехресних тестах не свідчить про те, що тварини мають схожі групи крові, а лише показує, що попередні антитіла не визначаються і тому виникнення гострої гемолітичної трансфузної реакції у край маловірогідне. Проте при відмінностях сильних аллоантигенів все ж таки може виникнути уповільнена трансфузійна реакція. В цьому випадку сприятливий ефект переливання крові виявиться короткочасним, оскільки антитіла, що утворюються до еритроцитів донора приведуть до їх фагоцитозу і елімінації протягом декількох днів.

Визначення антинуклеарних антитіл

Присутність антинуклеарних (антиядерних) антитіл (АНА) в крові людини і тварин зв'язана з різними аутоімунними захворюваннями. Найчастіше АНА визначаються у собак, імовірно хворих системною червоною вовчанкою (СЧВ). Дослідження показують, що у собак АНА відносяться головним чином до IgG. Вони гетерогенні по складу і направлені проти різних, що екстрагуються гістонових і негістонових антигенних компонентів ядра, але не проти нативної дволанцюгової ДНК.

АНА-тест

АНА найчастіше визначають методом непрямой імуофлуоресценції (рис. 5). Досліджувану сироватку в різних розведеннях наносять на поверхню скла, на якому іммобілізовані клітини тканини. Після певного часу, необхідного для зв'язування АНА з ядрами клітин, що містяться в сироватці, скло промивають і наносять на його поверхню мічені флуоресцеїном антиглобулінові антитіла, видоспецифічні до імуноглобулінів сироватки.

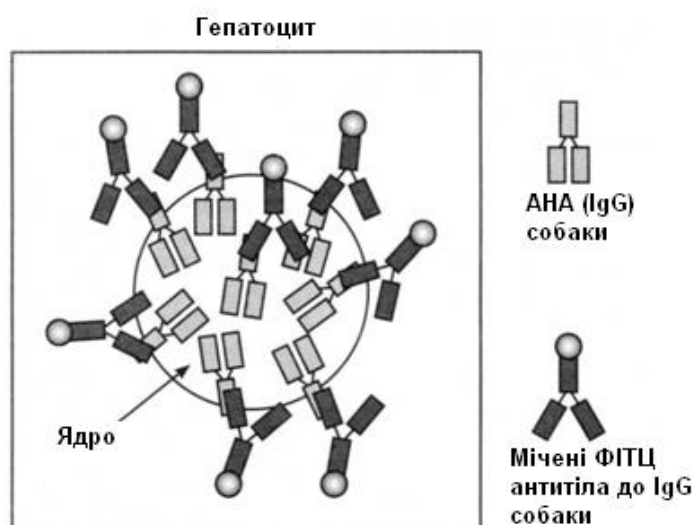


Рис. 5. Тест для виявлення антинуклеарних антитіл (АНА). Зрізи печінки інкубують з досліджуваною сироваткою, відмивають і визначають присутність АНА за допомогою мічених ізотіоціанатом флуоресцеїну (ФІТЦ) антитіл до імуноглобулінів тварини даного виду.

Скло знову промивають, після чого за допомогою флуоресцентного мікроскопа визначають флуоресценцію ядер клітин, чи містить сироватка АНА. Альтернативою імуофлуоресцентному аналізу служить імунопероксидазний метод. Як субстрат для визначення АНА тварин найчастіше використовують заморожені зрізи печінки гризунів; проте більш кращим субстратом виявилися епітеліальні клітини лінії НЕр-2 людини внаслідок їх зниженої здатності зв'язувати білки нормальної сироватки, а також більш наглядною картиною флуоресценції ядер клітин. При

дослідженні сироватки собак результат тестування вважають за позитивний, якщо титр антитіл перевищує 1/25 (при використанні як субстрат клітин HEp-2) або вище 1/100 (якщо субстратом служить печінка щура).

Позитивний результат АНА-тесту отримують у собак з СЧВ (у 97- 100 % хворих тварин). Проте тест може дати позитивний результат і при інших захворюваннях, таких як хронічні бактерійні інфекції (наприклад, бактерійний ендокардит), паразитарні інвазії (зокрема, ураження серця і легенів, викликані нематодами), рикетсіозні інфекції, вірусні інфекції (що викликаються вірусами лейкозу кішок і інфекційного перитоніту кішок), а також пухлини. Але при перерахованих захворюваннях титри АНА низькі. Слабопозитивний результат АНА-тесту отримують у багатьох здорових кішок і приблизно в 20 % здорових собак.

Визначення LE-клітин

LE-клітини (від англ. lupus erythematosus – червоний вовчак) є лейкоцити (нейтрофіли), які містять одне крупне аморфне включення червонувато-пурпурного кольору, що займає майже всю цитоплазму клітин. Це включення не що інше, як ядро зруйнованого лейкоцита, опсонізованого АНА і комплементом, і фагоцитоване інтактним лейкоцитом. Іноді LE-клітини утворюються при зберіганні зразків крові, кісткового мозку і суглобової рідини. Принцип визначення LE-клітин полягає в тому, щоб сприяти утворенню, забезпечивши контакт інтактних клітин з ядерним матеріалом, що вивільняється в результаті руйнування лейкоцитів. Лейкоцити руйнують, пропускаючи кров, що згорнулася, через сито, або додають в зразок крові з антикоагулянтом скляні шарики і суміш енергійно струшують. Після зруйнування лейкоцитів, зразки якийсь час інкубують, щоб змогли утворитися LE-клітини. Потім із лейкоцитарної плівки готують мазки, фарбують їх і досліджують на присутність LE-клітин. Результат тесту вважається позитивний, якщо в мазку виявляється хоча б одна LE-клітина. В даний час ветеринарні лабораторії рідко використовують цей тест, оскільки

існує чутливіший і менш трудосімки АНА-тест. Перевага визначення LE-клітин полягає в тому, що для його виконання не потрібні видоспецифічні реагенти і він більш специфічний для СЧВ, ніж АНА-тест.

Визначення антитромбоцитарних антитіл

Для виявлення антитромбоцитарних антитіл розроблений ряд тестів. До їх числа входять прямий імунофлуоресцентний аналіз мегакаріоцитів кісткового мозку, а також різні способи визначення імуноглобулінів, зв'язаних з поверхнею тромбоцитів. Інтерпретація результатів мікроскопічного дослідження імунофлуоресценції мегакаріоцитів суб'єктивна; крім того, цей метод вимагає аспірацію кісткового мозку для отримання мегакаріоцитів.

Визначення підвищеного зв'язування імуноглобулінів із тромбоцитами у тварин можна здійснити за допомогою проточної цитометрії, радіоімунологічного аналізу, ІФМ і мікроскопічного дослідження імунофлуоресценції тромбоцитів. Проте ці тести доступні не кожній ветеринарній лабораторії. Оскільки велика частина, що містяться в крові антитромбоцитарних антитіл зв'язана з тромбоцитами, методи прямого тестування тромбоцитів тварин чутливіші, ніж непрямі методи, в яких використовують досліджувану сироватку і тромбоцити здорових контрольних тварин. На жаль, прямі тести необхідно провести протягом найближчих декількох годин після отримання зразків крові. У нормальних умовах тромбоцити завжди несуть на поверхні деяку кількість адсорбованого імуноглобуліну, і ця кількість може зростати у міру зберігання зразка крові, що приводить до псевдопозитивних результатів. Щоб вирішити цю проблему, були запропоновані різні стандартні граничні показники для свіжої крові і крові, що зберігалася протягом доби після її отримання. Результати тесту будуть позитивними також, якщо на поверхні тромбоцитів адсорбуються імунні комплекси. Жоден з методів визначення антитромбоцитарних антитіл, що є в даний час, не є таким же доступним і

недорогим, як прямий антиглобуліновий тест для визначення антиеритроцитарних антитіл.

Первинні імуноопосередковані розлади

Обумовлене імунними механізмами руйнування клітин в тому або іншому ступені відбувається при багатьох інфекційних, паразитарних, неопластичних, запальних і індукованих ліками захворюваннях.

Трансфузійні реакції

Нормальними (або природними) антиеритроцитарними аллоантитілами називають такі аллоантитіла, присутність яких в плазмі крові даного індивідуума не зв'язана з його попереднім контактом з кров'ю іншого індивідуума того ж виду. В більшості випадків аллоантитіла у тварин утворюються в результаті дії еритроцитарних антигенів іншої специфічності, що відбувається при переливанні крові, вагітності або вакцинації продуктами, які містять антигени крові. На щастя, нормальні аллоантитіла, що мають клінічне значення, у тварин зустрічаються рідко. Тому, важкі гемолітичні трансфузійні реакції на несумісні еритроцити рідко виникають при першій гемотрансфузії. Виняток становлять кішки, що мають групу крові АВ: у них в крові присутні нормальні гемолітичні антитіла анти-А у високому титрі. У США групу крові В мають менше 5 % безпородних коротко- і довгошерстих кішок, але більше 50 % чистокровних кішок деяких порід (див. табл.). Переливання крові групи А кішкам з групою крові В може спричинити небезпечну для життя внутрішньосудинну гемолітичну реакцію. На відміну від цього, у кішок, які мають групу крові А, в крові присутні лише слабкі антитіла анти-В і тому переливання таким кішкам крові групи В не викликає важкого внутрішньосудинного гемолізу. Проте в цьому випадку гемотрансфузія виявляється неефективною, оскільки трансфузійні еритроцити фагоцитуються і видаляються після декількох днів.

Хоча у собак виявлено щонайменше 12 різних груп крові, тільки алоантиген DEA 1.1 постійно індукує продукцію гемолізинів в досить високих титрах, щоб викликати значну гемолітичну трансфузійну реакцію, якщо собаці повторно переливають кров тієї ж групи (DEA 1.1). У разі переливання крові групи DEA 1.2 загрози життю тварини внутрішньосудинні гемолітичні реакції не викликають, але у заздалегідь сенсibilізованих DEA 1.2-негативних собак після введення DEA 1.2-позитивних еритроцитів вони фагоцитуються і виводяться протягом доби.

Неонатальний ізоеритроліз

Тварини з неонатальним ізоеритролізом (НІ) народжуються здоровими, проте опісля декількох годин або днів після початку вигодовування молозивом у них розвивається гемолітична анемія. За виникнення НІ у коней в більшості випадків відповідальні аллоантигени еритроцитів Аа і Qa. У негативних по цих аллоантигенам кобил утворюються антитіла анти-Аа і анти-Qa, які містяться в молозиві і разом з ним потрапляють в організм лошат. Якщо лошата успадкували від батька один або обидва аллоантигени, може виникнути гемолітична реакція. Кобила сенсibilізується цими ж чужорідними еритроцитарними антигенами під час вагітності в результаті трансплацентарного переходу еритроцитів плоду. Сенсibilізація еритроцитами плоду тієї ж групи могла відбутися і під час попередньої вагітності. Як правило, перше лоша залишається здоровим. Проте при наступних вагітностях, якщо лошата успадковують від батька той же самий чужорідний для матері еритроцитарний антиген (або антигени), у них може розвинути гемолітична анемія. У новонароджених мулів НІ виникає частіше, ніж у лошат, оскільки еритроцитарний антиген відсутній у коней і зустрічається у деяких ослів і мулів.

НІ був описаний у деяких телят, що народилися від корів, заздалегідь вакцинованих проти анаплазмозу або, які отримали інші вакцини бичачого походження, що містять мембрани еритроцитів. Найбільш важливі

ізоантигени груп крові, відповідальні за цей розлад у телят, до цих пір невідомі. Схрещування DEA 1.1-негативної суки із DEA 1.1-позитивним псом може привести до розвитку неонатальної гемолітичної анемії у DEA 1.1-позитивних цуценят, якщо мати була сенсibiliзована до антигену DEA 1.1 в результаті попередньої гемотрансфузії або вагітності.

НІ зустрічається у котенят групи крові А, народжених уперше племінними кішками з групою крові В, оскільки у всіх дорослих кішок групи крові містять високі титри анти-А антитіл. НІ виявляється частою причиною неонатальної загибелі котенят (синдром в'янення котенят) серед чистокровних кішок тих порід, у яких зареєстрована висока частота групи крові В (див. табл.). У таких котенят можуть бути гемоглобінурія, блідість слизових оболонок, жовтяниця, сонливість, почастішання дихання і серцебиття, слабкість і колапс, що завершуються загибеллю. У тварин, що вижили, можливий некроз кінчика хвоста унаслідок дії холодних IgM-антитіл або місцевого тромбоутворення.

Щоб максимально не знизити ризик розвитку НІ, необхідно заздалегідь провести типування крові тварин, призначених для в'язки. Вірогідність виникнення НІ у потомства можна оцінити на підставі результатів перехресної проби на сумісність, використовуючи еритроцити чоловічої статі і сироватку крові жіночої статі, яку отримують під час вагітності. Якщо така вірогідність встановлена перед пологами, то новонароджені не повинні отримувати молозиво матері, доки не буде виконана перехресна проба на сумісність еритроцитів новонародженого і сироватки матері. У тому випадку, якщо встановлена несумісність, новонародженого протягом двох днів повинна годувати прийомна мати і лише потім його можна повернути рідній матері, оскільки за цей термін слизова оболонка шлунково-кишкового тракту новонародженого втрачає здатність абсорбувати антитіла матері.

Аутоімунна гемолітична анемія

АІГА може бути первинною (аутоімунною) або виникнути як наслідок інфекцій (риккетсіями, бактеріями, простими або гемотропними мікоплазмами), пухлин (особливо лімфом) і дії токсинів або деяких лікарських агентів. Передбачалося, що у собак пусковим механізмом розвитку АІГА служить комбінована вакцинація, але така асоціація не була підтверджена в подальших дослідженнях. При аутоімунній відповіді антитіла направлені проти антигенів власних еритроцитів. При вторинних імуноопосередованих розладах, антитіла взаємодіють з чужорідними або зміненими власними антигенами, при цьому можуть виявитися пошкодженими еритроцити. Діагноз АІГА ставлять на підставі аутоаглютинації (що зберігається після відмивання еритроцитів сольовим розчином) або позитивного результату прямого антиглобулінового тесту, який дає позитивний результат приблизно у 60 % собак з АІГА. Вагомим доказом імуноопосередкованого процесу служить присутність в крові сфероцитів; проте при цьому необхідно виключити інші причини появи сфероцитоза: дія отрути змій, отруєння цинком, трансфузія крові, що довго зберігалася, і спадкові розлади. Достовірно визначити сфероцитоз вдається тільки у собак, оскільки у інших домашніх тварин центральна зона прояснення еритроцитів в природних умовах менша. Діагноз імуноопосередкованої гемолітичної анемії (ІОГА), яку називають також ідіопатичною АІГА, ставлять шляхом виключення інших відомих розладів, що супроводяться АІГА.

ІОГА поширена серед собак, але не домашніх тварин інших видів. Ретроспективні дослідження показали, що частота виникнення ІОГА підвищена у собак таких порід, як староанглійська вівчарка, кокер-спанієль, бородатий коллі, пудель, англійський спрингер-спанієль і ірландський сетер. Захворювання в основному розвивається у собак середнього віку, особливо у стерилізованих самок. Приблизно у 80 % хворих собак спостерігається сфероцитоз і приблизно у 66 % абсолютний ретикулоцитоз. Регенераторна

відповідь при ІОГА може бути відсутньою, якщо захворювання починається гостро або в тих випадках, коли антитіла і комплемент діють на ретикулоцити або клітини-попередники кісткового мозку. Зазвичай спостерігаються білірубінемія і білірубінурія. Гемоглобінемія з гемоглобінурією зустрічаються менш ніж у 10 % хворих тварин. В більшості випадків АІГА у собак опосередкована антитілами класів IgG, IgM і комплементом, якщо ж має місце аутоаглютинація або внутрішньосудинний гемоліз, то найбільш вірогідна участь всіх чинників.

Для собак з ІОГА характерні нейтрофілія, часто із значним зрушенням вліво, і тромбоцитопенія, нерідко пов'язана з підвищеною утилізацією тромбоцитів. У багатьох собак до часу постановки діагнозу виявляється стан гіперкоагуляції, звичайним ускладненням якої є десеміноване внутрішньосудинне звертання крові (ДВС) і поліорганний венозний тромбоз (особливо легеневий тромбоз). Все це може послужити причиною загибелі. В окремих випадках виникаюча тромбоцитопенія, мабуть, також має аутоімунне походження (синдром Еванса). ІОГА може бути також частиною системної червоної вовчанки, полісистемного аутоімунного захворювання.

ІОГА розвивається приблизно у двох третин собак з АІГА. На відміну від собак, у тварин інших видів АІГА зазвичай є не первинним, а вторинним розладом. У кішок вона найчастіше обумовлена інфекціями, що викликаються, FELV і *Mycoplasma haemofelis*, а у коней АІГА найчастіше виявляється при інфікуванні вірусом гемолітичної анемії коней і після введення лікарських речовин, зокрема пеніциліну.

Аутоімунна тромбоцитопенія

Імуноопосередкована тромбоцитопенія (ІОТ) виникає в тих випадках, коли імуноглобулін (в основному IgG) зв'язується з поверхнею тромбоцитів, зумовлюючи тим самим їх передчасне руйнування і видалення макрофагами. Наявність ІОТ встановлюють за допомогою ідентифікації імуноглобулінів, зв'язаних з тромбоцитами хворої тварини (прямий тест), або шляхом

визначення в сироватці цієї тварини імуноглобулінів, здатних зв'язуватися з тромбоцитами, отриманими від здорової тварини того ж виду (непрямий тест). Прямий тест чутливіший, ніж непрямий.

ІОТ може бути первинною (аутоімунною) або виникнути як наслідок рикетсіозних, бактерійних, вірусних інфекцій і паразитарних інвазій; причиною її виникнення служать також пухлини, ревматоїдний артрит або лікарські агенти. Крім того, описані випадки розвитку неонатальної алоімунної тромбоцитопенії у новонароджених коней, мулів і свиней. Цей розлад виникає внаслідок того, що новонароджений разом з молозивом отримує антитромбоцитарні антитіла.

Діагноз аутоімунної тромбоцитопенії, яку називають також ідіопатичною тромбоцитопенічною пурпурою, ставлять після виключення інших можливих причин ІОТ. Попередній діагноз ІОТ часто підтверджується позитивною реакцією на лікування глюкокортикоїдами, які застосовують окремо або в комбінації з вінкристином, азатиоприном, циклофосфамідом, даназолом або після спленектомії. Аутоімунна тромбоцитопенія зустрічається у поєднанні з АІГА (синдром Еванса) або може бути компонентом СЧВ.

Аутоімунна тромбоцитопенія поширена серед собак, причому захворюваність самок удвічі вища, ніж самців. Зазвичай захворюють тварини середнього віку і відмічено частіше виникнення АІТ у кокер-спанієлей, карликових пуделів, тойпуделів, староанглійських і німецьких вівчарок. У багатьох собак першою ознакою захворювання є геморагії у відсутності яких-небудь інших ознак розладу. Проте у деяких тварин розвиваються сонливість і слабкість, властиві анемії. До звичайних типів досліджуваних геморагій відносяться петехіальні і екхімозні геморагії шкіри і слизових оболонок, синці, крововиливи в передню камеру ока і сітківку, блювота з кров'ю і дьогтеподібний стілець. Спленомегалія, гепатомегалія, лімфаденопатія і лихоманка у собак з АІТ бувають рідко. У відповідь на тромбоцитопенію зазвичай підвищується число мегакаріоцитів в кістковому

мозку, однак амегакаріоцитарна тромбоцитопенія у собак розвивається рідко; у кішок описаний єдиний випадок цього розладу.

Ідіопатична імуноопосередкована нейтропенія

Виявилось, що ідіопатична імуноопосередкована нейтропенія у кішок і собак зустрічається частіше, ніж вважали раніше. У тварин можуть бути лихоманка і нездужання, але нерідко ознаки захворювання відсутні. У таких випадках нейтропенію виявляють при рутинному гематологічному дослідженні, що становить частину програми щорічного фізикального дослідження, або перед анестезією. У деяких тварин виявляються і інші ознаки імуноопосередкованого захворювання, включаючи несептичний менінгіт, неерозійний поліартрит і васкуліт. Нейтропенія зазвичай різко виражена (< 500 нейтрофілів в 1 мкл), без токсичних змін цитоплазми у тварин з відсутністю симптомів захворювання. У кішок може бути помірний лімфоцитоз і слабка тромбоцитопенія. При дослідженні кісткового мозку найчастіше виявляють гранулоцитарну гіперплазію з невеликим числом зрілих нейтрофілів, але в тих випадках, коли мішенями для антитіл служать антигени ранніх попередників нейтрофілів, розвивається гранулоцитарна гіпоплазія.

Для визначення підвищеного рівня антинейтрофільних антитіл запропонований ряд діагностичних тестів із застосуванням методів проточної цитометрії, імунофлуоресцентного аналізу, лейкоаглютинації і радіоімунологічного аналізу. На жаль, жоден з цих тестів є недостатньо надійним для використання в клініці. Тому діагноз імуноопосередкованої нейтропенії ставлять на підставі виключення інших причин нейтропенії. Ретроспективним доказом присутності імуноопосередкованої нейтропенії служить значне підвищення числа нейтрофілів в крові через 1-3 дні після початку імуносупресивної терапії кортикостероїдами.

Системна червона вовчанка

СЧВ – це хронічне аутоімунне захворювання, яке характеризується утворенням різноманітних аутоантитіл (зокрема АНА), що викликають імуноопосередковане ураження багатьох органів. СЧВ досить часто захворювання у собак, але рідко зустрічається у кішок і коней. У крові хворих собак понижено число $CD8^+$ -Т-лімфоцитів, свідчить про те, що неконтрольована продукція аутоантитіл В-лімфоцитами може бути обумовлена втратою субпопуляції супресорних $CD8^+$ -Т-лімфоцитів. До можливих проявів СЧВ відносяться постійна або періодично виникаюча лихоманка, неерозійний поліартрит, ниркова недостатність, лицьовий або слизистошкірний дерматит, лімфаденопатія, спленомегалія, лейкопенія, анемія (часто ПАТ-позитивна), тромбоцитопенія, поліміозит і плевроперикардит. Діагноз СЧВ ставлять на підставі виявлення у тварини декількох з перерахованих запальних процесів. Підтверджують діагноз СЧВ виявленням антинуклеарних антитіл або LE-клітин (клітини червоної вовчанки). Приблизно у 90 % собак з СЧВ титри антитіл перевищують 1/256. Проте АНА у високих титрах можуть бути присутніми і у деяких собак з іншими захворюваннями, а іноді навіть у практично здорових тварин (особливо німецьких вівчарок).

Методи визначення імунодефіцитних захворювань

Дослідження функцій нейтрофілів

Різноманітність функцій нейтрофілів (хемотаксис, фагоцитоз, знищення бактерій) визначає необхідність використання різних тестів для їх вивчення. У більшості комерційних лабораторій ці тести не проводять, їх виконують лише в небагатьох науково-дослідних установах, що мають в своєму розпорядженні необхідне устаткування. Хемотаксис визначають за здатністю нейтрофілів мігрувати у напрямі різних хемоатрактантів. Фагоцитарну функцію нейтрофілів можна досліджувати мікроскопічно. Фагоцитоз і знищення нейтрофілами бактерій досліджують після одночасної інкубації бактерій, сироватки і нейтрофілів. За допомогою тесту з фарбником тетразолієвим нітросинім і хемолюмінесцентного аналізу визначають активність дихальної системи, необхідної для знищення бактерій. Ці тести відносяться до скринінгових, а для встановлення природи специфічних спадкових дефектів потрібні складніші, спеціальні тести.

Дослідження лімфоцитів

Велика частина циркулюючих в крові лімфоцитів представлена Т-клітинами. Тому присутність в крові нормального числа лімфоцитів дозволяє виключити генералізований дефект продукції Т-лімфоцитів. Бластогенну реакцію лімфоцитів використовують для визначення їх реактивності по відношенню до різноманітних мітогенів, які стимулюють різні субпопуляції лімфоцитів. Функцію Т-лімфоцитів оцінюють *in vitro* в тестах за гальмуванням міграції лейкоцитів, випробуванням секреції і цитотоксичності цитокінів. Кількісну оцінку окремих субпопуляцій лімфоцитів проводять за допомогою флуоресцентного мічення поверхневих молекул клітин і проточної цитометрії. Так, за допомогою методу проточної цитометрії було встановлено, що у кішок, інфікованих котячим вірусом імунодефіциту (FIV), в крові понижена кількість CD4⁺-лімфоцитів.

Визначення сироваткових імуноглобулінів

Існують різні методи визначення дефіциту імуноглобулінів. Як скринінговий метод використовують електрофорез білків сироватки, оскільки до імуноглобулінів відносяться всі білки, які мігрують в γ -область гелю, і деякі білки в β -область гелю. Низька концентрація γ -глобуліна вказує на дефіцит Ig (у більшості IgG). Для визначення кількісного і якісного складу Ig застосовують різні варіанти електрофорезу. Вміст окремих класів Ig вимірюють за допомогою ряду методів, включаючи просту радіальну імунодифузію, ІФМ, ракетний імуноелектрофорез і лазерну нефелометрію. Стандартні інтервали зазвичай встановлені для Ig в сироватках дорослих тварин. Це необхідно враховувати при визначенні вмісту Ig в сироватці молодих тварин. Наприклад, концентрація IgM в сироватці собак досягає «дорослого» рівня через декілька місяців після народження, а для IgG і IgA цей термін складає 1 рік, більше для IgA.

Наявність Ig, пасивно перенесених новонародженим разом з молозивом, встановлюють за допомогою різних напівкількісних методів, включаючи турбідиметричний тест з сульфатом цинку, коагуляцію глутаровим альдегідом, преципітацію сульфатом натрію і імунологічний аналіз.

Імунодефіцити

Клінічні ознаки

Загальною ознакою імунодефіцитних станів у тварин є рецидивуючі і хронічні інфекції. Часто виникають інфекції дихальних шляхів, діарея, дерматит, піодермія, отит, спостерігається затримка росту. Так звані опортуністичні інфекції, збудниками яких можуть бути мікроорганізми видів *Pneumocystis* і *Cryptosporidium*, також свідчать про імунодефіцит. При недостатності В-клітинної ланки імунітету у тварин підвищується чутливість до бактерійних інфекцій, тоді як при Т-клітинному дефіциті зростає частота виникнення вірусних, грибкових і протозойних інфекцій. Для тварин з порушенням функцій нейтрофілів характерний розвиток шкірних і системних інфекцій, що викликаються гнійними бактеріями.

Спадкові дефекти нейтрофілів

До спадкових дефектів нейтрофілів відносяться синдром Чедіака-Хігасі у деяких видів тварин, дефіцит молекул адгезії (β_2 -інтегринів) у собак і великої рогатої худоби, недостатність бактерицидної активності нейтрофілів у собак і циклічний гемопоез у сірих коллі.

Тяжкий комбінований імунодефіцит

Синдроми тяжкого комбінованого імунодефіциту (ТКІД) характеризуються недостатністю продукції Т- і В-лімфоцитів. У арабських коней ТКІД успадковується за аутосомно-рецесивним типом. У хворих лоша число лімфоцитів в крові різко понижене або вони відсутні, спостерігається гіпоплазія первинних і вторинних лімфоїдних органів, здатність продукувати антитіла втрачено унаслідок відсутності зрілих Т- і В-лімфоцитів. Дефект утворення зрілих лімфоцитів обумовлений мутацією в гені, що кодує каталітичну субодиницю ДНК-залежної протеїнкінази (ДНК-ПК). Ця протеїнкіназа необхідна для процесу перебудови генів, в результаті якої

формується антигенспецифічні рецептори Т- і В-лімфоцитів. Сироватка здорових новонароджених лошат, отримана до першого годування, містить деяку кількість IgM, але у лошат з ТКІД IgM не визначається. Якщо такі лошата незабаром після народження починають нормально харчуватися молозивом, то вони отримують імуноглобуліни від матері і в цілому виглядають здоровими. Але після руйнування материнських імуноглобулінів в їх організмі, уражені ТКІД лошата, стають сприйнятливими до найрізноманітніших інфекцій, зокрема, до *Pneumocystis carinii* і *Cryptosporidium parvum*, і як наслідок гинуть у віці 4-6 місяців.

Нещодавно з'явилися відомості про ТКІД у джекрассел-тер'єрів. Як і при ТКІД у лошат арабських коней, хворі цуценята також мали спадковий аутосомно-рецесивний дефект каталітичної субодиниці ДНК-ПК. У цих цуценят виявлені глибока лімфопенія, зниження концентрації сироваткових імуноглобулінів і гіпоплазія всіх лімфоїдних органів. Хворі ТКІД цуценята зазвичай гинуть, досягнувши віку 8-14 тижнів.

У собак порід бассет і кардиганвельш-коргі описаний Х-зв'язаний синдром ТКІД. Хворі пси не ростуть, проявляють підвищену чутливість до бактерійних і вірусних інфекцій, у них відсутні пальповані периферичні лімфовузли і тварини як наслідок гинуть у віці 4 місяців, якщо їх не утримувати в стерильному приміщенні. Тварини не продукують IgG і IgA, проте вміст IgM в їх сироватці нормальний. Абсолютне число лімфоцитів в крові зменшене або знаходиться в нижній межі норми. Відсоток В-лімфоцитів зазвичай не змінений, а відсоток Т-лімфоцитів варіює від нуля до норми. Лімфоцити крові не відповідають на Т-клітинні мітогени. Встановлено, що причиною Х-зв'язаного ТКІД у собак є мутації гена, що кодує загальний γ -ланцюг, важливий компонент рецепторів різних інтерлейкінів – ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-7, ІЛ-9 і ІЛ-15.

Недостатність сироваткових імуноглобулінів

Зниження концентрації імуноглобулінів в сироватці людини і тварин може бути обумовлене різними розладами. Варіабельний некласифікований імунодефіцит у людини (ВНІ) характеризується зниженням рівня сироваткових імуноглобулінів (IgG, IgA і/або IgM) і підвищеною чутливістю до інфекцій. Число В-лімфоцитів в крові, як правило, знаходиться в нормі, але у деяких пацієнтів виявляють дефект дозрівання В-лімфоцитів до плазматичних клітин. У інших випадках відзначають дефіцит Т-хелперів або надлишок цитотоксичних Т-лімфоцитів. Симптоми захворювання зазвичай з'являються в юнацькому віці, хоча можуть виникнути і у 10-річних дітей.

Описаний випадок ВНІ у 12-річного скакового коня, який характеризується персистуючою множинною опосередкованою бактерійною інфекцією і значним зниженням змісту IgG, IgG(T), IgM і IgA в сироватці. Загальне число лімфоцитів було нормальним, проте в крові В-лімфоцити не визначалися, а їх число в лімфовузлах і кістковому мозку було помітно знижене. Відсутність зміни загального числа лімфоцитів в крові може бути зв'язане з тим, що В-лімфоцити складають лише незначну їх частину. У коней описані імунодефіцитні стани з падінням рівня IgG одного або декількох типів, що відображає існування різних варіантів ВНІ. Це захворювання було зареєстроване у 7 молодих (вік менше 1 року) карликових такс з пневмонією, викликаною *Pneumocystis carinii*. З порушень імунного статусу у цих тварин відмічені відсутність В-лімфоцитів в лімфовузлах, зниження концентрації імуноглобулінів всіх класів в сироватці крові і аномальна відповідь лімфоцитів крові на мітогени. Схожі порушення виявлені у молодого бордоського дога.

Є дані про подібний ВНІ у собак породи шарпей. Підвищена чутливість до інфекцій у цих собак виникає приблизно з трирічного віку. У них виявлені порушення з боку В- і Т-лімфоцитів і зниження концентрації імуноглобулінів одного або більше класів (IgG, IgM або IgA) в сироватці. Подібний же

дефіцит сироваткових IgA і IgG відмічений у цуценят веймаранерів і ротвейлерів.

X-зв'язана агамаглобулінемія виявлена у лошат чистокровних і упряжних коней, у яких була відсутня визначена кількість В-лімфоцитів. У домашніх тварин описані імунодефіцитні стани з вибірковою недостатністю імуноглобулінів того або іншого класу. Таких як дефіцит IgM у коней і собак, дефіцит IgG у лошат, дефіцит IgG у великої рогатої худоби і дефіцит IgA у собак.

Транзиторна гіпогаммаглобулінемія може виникнути у тварин раннього віку, якщо зникають отримані від матері антитіла. Це відбувається приблизно до 2 місячного віку, продукція власних IgG і IgM у них затримується. Тварини стають сприятливими до бактерійних інфекцій до тих пір, поки їх імунна система не досягне повного розвитку (приблизно до 6-місячного віку).

Дефіцит комплементу

У англійських спанієлів описаний дефіцит третього компоненту комплементу (C3), успадкований як аутосомно-рецесивна ознака. У гомозиготних за цим дефектом тварин розвиваються рецидивуючий сепсис, пневмонія і ранові інфекції. У собак з дефіцитом C3 понижена гуморальна імунна відповідь як на Т-залежні, так і незалежні антигени.

Недостатність антивірусного імунітету

У тварин виявлено ряд розладів, обумовлених недостатністю антивірусного імунітету, і тут ми назвемо лише небагато з них. Це, перш за все, синдром придбаного імунодефіциту кішок, що викликається FIV. Симптоми інфекції у тварин можуть не виявлятися протягом місяців і декількох років, а потім виникає важке хронічне запальне захворювання, що характеризується підвищеною чутливістю до інфекції. Такий стан обумовлений нейтропенією, лімфопенією або поєднанням обох розладів, а

також зниженням числа CD4⁺-Т-лімфоцитів. Подібний же синдром відомий у приматів, у яких збудником захворювання є вірус імунодефіциту мавп, SIV (англ. simian immunodeficiency virus).

Котячий вірус лейкозу FeLV, володіє вираженою імуносупресивною дією. У хронічно інфікованих кішок часто виявляють нейтропенію, лімфопенію або і те і інше. Важко уражені функції Т-лімфоцитів, але функція В-лімфоцитів лише слабо порушена. FeLV-позитивні кішки схильні різноманітних вторинних інфекцій. З вірусних інфекцій, які індукують вторинний імунодефіцит з падінням числа Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів або клітин обох типів, можна назвати собачу чуму, інфекцію плодів, що викликається вірусом кінського герпесу і вірусну діарею великої рогатої худоби у телят.

Порушення пасивного перенесення імуноглобулінів

Порушенням пасивного перенесення імуноглобулінів є набутий імунодефіцитний розлад. Перш ніж новонароджені домашні тварини починають харчуватися молоком матері, рівень імуноглобулінів в їх плазмі украй низький. Молозиво відрізняється високим вмістом IgG і IgA і в ньому присутня також деяка кількість IgM. Імуноглобуліни молозива (особливо IgG) здатні всмоктуватися з тонкого кишечника новонародженого з першого дня життя, зберігаючи всі свої властивості. У тих випадках, коли молозиво недостатньо високої якості, новонароджений ссе погано або у нього порушене всмоктування з кишечника, організм новонародженого не отримує достатньої кількості антитіл, які б могли забезпечити необхідний захист від бактерійних інфекцій (особливо септицемії). Стандартний інтервал для IgG плазми у новонароджених тварин варіює залежно від виду і методу визначення. В цілому у лоша в перші два дня життя концентрація IgG в сироватці нижче 400 мг/100 мл вважається недостатньою, від 400 до 800 мг/100 мл – мінімально необхідний вміст, а вміст вище 800 мг/100 мл є достатнім. У телят концентрацію IgG в сироватці вважають за нормальну, якщо вона перевищує 1000 мг/100 мл.

Мікроанатомія печінки

Розгляд питань мікроанатомії печінки необхідний для того, щоб зрозуміти, яким чином патологічні зміни органу визначають клінічні ознаки захворювання і відбиваються на результатах функціональних тестів, а також дістати можливість поєднувати дані вивчення біоптатів печінки з результатами клініко-патологічного дослідження.

Функціональна одиниця печінки

Концепція функціональної одиниці печінки заснована на моделі мікроциркуляції (рис 6). Артеріосинусоїдні гілки можуть різними способами відкриватися в групи синусоїдів, де тяжі гепатоцитів омиваються артеріальною, венозною та змішаною кров'ю. Найбільшою популярністю користуються дві концепції будови – концепція багатогранною, або класичної часточки, і концепція ацинуса. Діаметр кожної функціональної одиниці печінки рівний приблизно 2 мм і весь орган містить до 100000 таких одиниць. Мікросудинні порушення можуть викликати дисфункцію печінки, що виявляється в розвитку системних патологічних процесів. Вони включають порушення метаболізму Феруму, а також екскреторної та синтетичної функцій печінки. Мікросудинна дисплазія печінки, що супроводжується або не супроводжується позапечінковим портосистемним шунтуванням, відноситься до вроджених вад розвитку у собак і може призвести до печінкової енцефалопатії та змінам показників лабораторних тестів, що відображає структурно-функціональні судинні порушення.

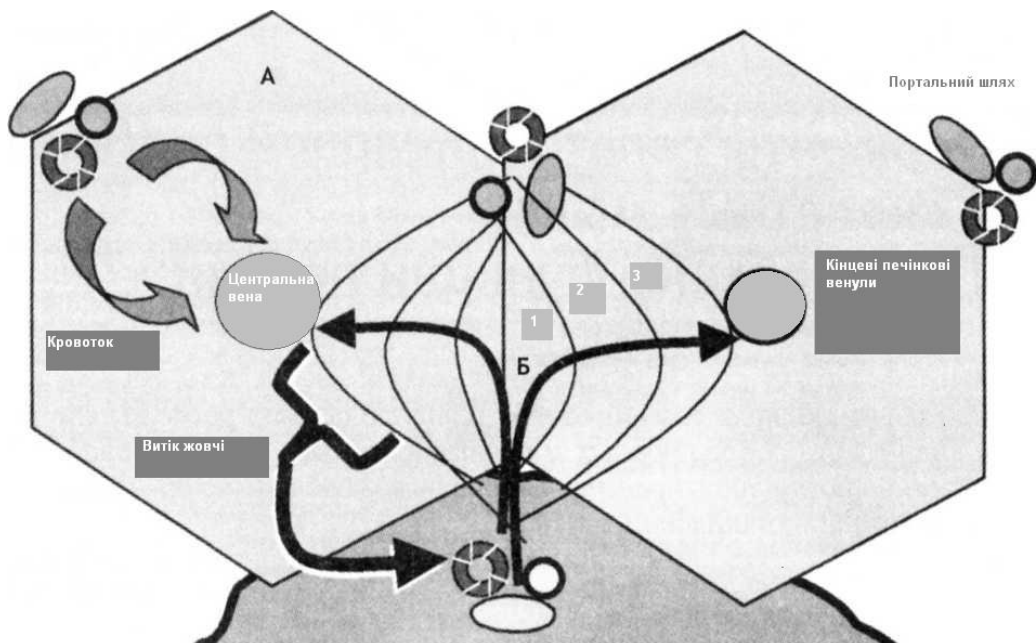


Рис. 6. Традиційна концепція гістологічної одиниці печінки заснована на уявленні про класичну печінкову часточку (А). В центрі шестикутної часточки знаходиться центральна вена. За винятком декількох видів тварин (свиня, білий ведмідь, снот, верблюди) з відносно добре розвиненими міжчасточковими перегородками, або септами, розпізнати мікроскопічно межі часточки важко. Портальні (що відносяться до воріт органу) шляхи розташовуються на периферії часточки. Зазвичай вони складаються з однієї або двох печінкових артерій, однієї ворітної вени і однієї або двох жовчних. У біоптатах печінки людини портальні діади (що складаються з 2 або 3 вказаних вище структур) зустрічаються майже так само часто, як і портальні тріади, що знаходяться в тканинах ближче до поверхні печінки, в порівнянні з глибше розташованими ділянками. Тяжі гепатоцитів беруть участь у побудові синусоїдів, що вистилають ендотелій. Через синусоїди в центральні вени поступає суміш артеріальної та венозної крові, що варіює за складом. Мікроскопічно невиразні простори Діссе, заповнені плазмою, розташовуються між гепатоцитами та ендотеліальними клітинами, які утворюють пористу структуру. Тонкі кінцеві гілки лімфатичного сплетення оточують кінцеві гілки печінкової артерії. Жовч канальців, що утворюється в центральній області, надходить в термінальні міжчасточкові протоки та через систему жовчних протоків, що укрупнюються, прямує в портальні шляхи. Жовчні капіляри подібно до павутини обплітають кінцеві печінкові ворітні венули. Такі фізико-анатомічні відношення разом з активністю біліарного епітелію жовчно-печінкових шляхів полегшують рециркування жовчних кислот з жовчі в кров. Жовчні кислоти є основною рушійною силою, що забезпечує потік жовчі.

Простий ацинус як функціональна одиниця печінки (Б) являє собою різної величини гронаподібний комплекс гепатоцитів, через центр якого (з урахуванням

тривимірної структури) проходить порталний тракт. Ацинус розташований між двома (що найменше) кінцевими печінковими венулами. В результаті розташування судин і функціональної гетерогенності гепатоцитів виникає градієнт концентрації кисню та інших речовин. Гепатоцити зони 3 найбільш чутливі до ішемічного ураження. Утворення, яке складається принаймні з 3 простих ацинусів, носить назву складного ацинуса, а структура, до складу якої входять 3 або 4 складних ацинуси, називається ацинозним агломератом. У двомірному уявленні простий ацинус відповідає двом прилеглим одна до іншої класичним часточкам.

На рисунку приведена порівняльна термінологія, що відноситься до обох постульованих структурно-функціональних одиниць печінки. Концепція одиниці печінки дозволяє пов'язати клінічні прояви захворювання печінки з локалізацією ураження і його поширенням в органі. Існування взаємозалежних структурно-функціональних стосунків обумовлює той факт, що при захворюваннях печінки, викликаних різними причинами, виявляються однакові відхилення, що виявляються при тестуванні функції печінки

Анатомія і фізіологія клітин, які складають функціональну одиницю печінки

Печінка складається з паренхіматозних і непаренхіматозних клітин (рис. 7).

Кожен міліграм печінки людини містить приблизно 170000 паренхіматозних і 30000 непаренхіматозних клітин. Клітинами печінки (гепатоцити) є багаті на ферменти паренхіматозні клітини; до непаренхіматозних клітин відносяться епітеліальні клітини жовчних шляхів, клітини Купфера, асоційовані з печінкою лімфоцити, зрчасті клітини печінки та ендотеліальні клітини. Унаслідок існуючих тісних структурно-функціональних відносин багато печінкових і позапечінкових захворювань мають загальні патофізіологічні механізми та обумовлюють зміни функціонального стану печінки та гістологічні порушення, походження яких часто важко диференціювати.

Порівняльна термінологія, яка використовується при описуванні функціональних одиниць печінки:

<i>Класична часточка (А)</i>	<i>Ацинус(Б)</i>
Перипортальна, периферична	Зона 1, пери портальна
Серединна	Зона 2
Центральна, центрилобулярна	Зона 3, перивенулярна
Панлобулярна	Панацінозна
Мультилобулярна	Мультиацінозна

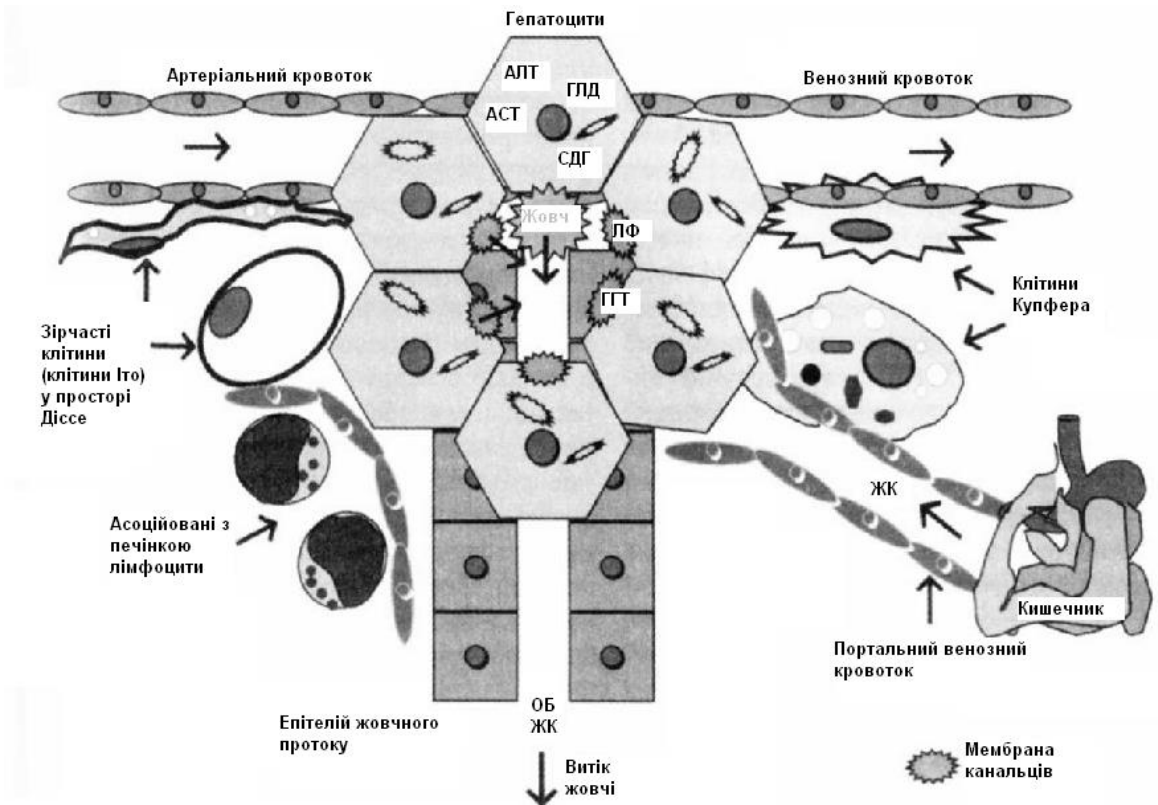


Рис. 7. Клітини структурно-функціональної одиниці печінки (див. рис. 6) і ферменти, що містяться в них.

Велика частина клітин печінки представлена популяцією гетерогенних, полігональних гепатоцитів. Ядро цих клітин розташоване в центрі та оточене добре розвиненою зернистою, еозинофільною цитоплазмою, яка іноді має пінистий, розріджений вигляд залежно від кількості глікогену в ній. Гепатоцити можуть містити ліпофусцин, коричневий зернистий пігмент «зношування», або жовто-зелено-коричневий жовчний пігмент після холестазу. Різноманітні непаренхіматозні клітини печінки складають приблизно від 30 до 40 % її маси. Жовчний епітелій утворює систему протоків зростаючого калібру, які збирають утворену групою канальців жовч і транспортує її в кишечник; за ходом течії жовчі відбувається рециркулювання жовчних кислот. Клітини

Купфера і асоційовані з печінкою лімфоцити розташовуються на оберненій в просвіт синусоїдів поверхні ендотеліальних клітин. Останні при мікроскопічному дослідженні погано помітні та вирізняються лише їх подовжені ядра, які злегка виступають в просвіт синусоїда. Клітини Купфера відносяться до мононуклеарної фагоцитарної системи. Візуалізація цих клітин, що мають неправильну зірчасту форму з протоплазматичними відростками, які проникають між ендотеліальними клітинами в перисинусоїдальний простір, можлива лише за допомогою скануючої електронної мікроскопії. При світловій мікроскопії вони виглядають продовгуватими та можуть містити жовто-коричневий зернистий цероїдний пігмент після гепатоцелюлярного пошкодження, а у разі вроджених портосистемних шунтів і гемолітичної анемії в клітинах Купфера виявляється золотисто-коричневий гемосидерин, що особливо добре помітний при зафарбовуванні прусським синім. Пов'язані з печінкою лімфоцити мають імунофенотипову гетерогенну резидентну популяцію, що складається з НК-клітин, В- і Т-лімфоцитів. Ці клітини розсіяні в паренхімі органа, і в печінці людини їх найбільше в областях, що оточують порталні шляхи. Зірчасті клітини печінки, так звані клітини Іто, печінкові ліпоцити, що депонують жир і вітамін А знаходяться в просторах Діссе. Їх важко розрізнити при світловій мікроскопії, проте вони видимі всюди в паренхімі печінки, коли збільшуються в розмірах при утворенні крупної вакуолі, що містить жир. Ці клітини відіграють важливу роль у розвитку цирозу печінки, що спричиняється її пошкодженням.

На рисунку показана локалізація гепатобіліарних ферментів. АЛТ, СДГ і більша частина АСТ знаходяться в цитоплазмі. ГЛД і компонент АСТ пов'язані з мітохондріями. Порушення цілісності мембран гепатоцитів з подальшим «витокком» цих ферментів викликає первинне підвищення їх рівня в плазмі. У коней і жуйних активність АЛТ недостатньо висока для її визначення з діагностичною метою. СДГ і ГЛД виявляються в печінці більшості домашніх тварин. Жовчні каналці та епітелій жовчних протоків експресують активність ЛФ і ГГТ. Підвищення синтезу цих ферментів та їх вихід в кров зазвичай відбувається при холестатичному пошкодженні печінки або індукції ендogenousним кортизолом (у собак), а також лікарськими речовинами.

АЛТ – аланінамінотрансфераза; АСТ – аспартатамінотрансфераза; ГЛД – глутаматдегідрогеназа; СДГ – сорбітолдегідрогеназа; ЛФ – лужна фосфатаза; ГГТ – γ -глутамілтрансферази; заг. білірубін – загальний білірубін

Приблизно 60 % печінки складають паренхіматозні клітини. Гепатоцит – це багатокутня епітеліальна клітина з мембраною, що володіє

спеціалізованими функціями. Базолатеральна, або синусоїдальна ділянка гепатоциту звернена до синусоїду або перисинусоїдального простору. Ця зона вкрита численними мікрворсинками, що полегшують абсорбцію різноманітних речовин з крові та секрецію продуктів метаболізму.

Функції гепатоцитів різноманітні: синтез білків, метаболізм глюкози, розщеплення гему, метаболізм ліпідів, продукція та метаболізм жовчних кислот і метаболізм ксенобіотиків. Остання функція виконується складною ферментною системою, відомою під назвою *системи оксидаз із змішаною функцією*. Найбільш важливим компонентом цієї системи є цитохром P-450.

Метаболічні перетворення різних речовин визначаються як *реакція фази I*. В результаті окиснювальних реакцій можуть утворюватися більш реактивні метаболіти, ніж компонент, що призводить до гепатотоксичності.

Біохімічні реакції *фази II* каналізують члени іншої суперродини мембранозв'язаних ферментів, уридиндифосфатглюкуронізилтрансферази, що присутні в гепатоцитах. Функція ферментів цієї групи полягає в елімінації ксенобіотиків та ендогенних компонентів, включаючи білірубін, стероїди та тиреоїдний гормон, шляхом їхнього перетворення в глюкуроніди. Ці метаболіти краще розчинні у воді, ніж субстрат, що сприяє їхній екскреції з жовчю і через нирки. Каналікулярна (канальцева) ділянка гепатоциту звернена до міжклітинного простору. Відкриті з одного боку, подібно жолобкам, каналці прилеглих один до одного гепатоцитів змикаються, формуючи жовчний каналець. Ці каналці зливаються разом, створюючи систему протоків, що укрупнюються, утворених епітеліальними клітинами. Канальці та епітелій експресують активність ЛФ і ГГТ. Поверхня мембрани каналців вкрита мікрворсинками та містить мікрофіламенти, що мають скорочувальні властивості, які сприяють течії жовчі. Різноманітні інфекційні агенти при їх позапечінковій локалізації можуть продукувати речовини, що порушують функції мікрофіламентів; виникає так званий *септичний холестаз*, що клінічно проявляється у розвитку жовтяниці.

Гепатоцити володіють вираженою здатністю до регенерації. У щурів регенераторна відповідь розвивається в перші 24 години після часткової гепатоектомії, через 5 діб відновлення досягає 80 % і повністю завершується до кінця 3-го тижня після операції. У частково гепатоектомованих собак максимум регенерації доводиться на перші 72 години. Зміну структурно-функціональних відношень добре ілюструє модель часткової гепатоектомії у щурів. Через 6 годин після часткового видалення печінки концентрація циркулюючих у крові жовчних кислот зростає приблизно в 8 разів. У перший день після операції вона знижується на 50 %, на 5 добу зменшується ще наполовину і досягає доопераційного рівня через 3 тижні після гепатоектомії.

Жовчний епітелій утворює протоки різного розміру, що транспортують жовч у кишечник. Склад жовчі в жовчних протоках змінюється в порівнянні з жовчю, що знаходиться в каналцях. У протоках відбувається реабсорбція води та секреція багатої на бікарбонати жовчі у відповідь на стимуляцію секретином, який вивільняється з дванадцятипалої кишки. Анастомозуюче перибіліарне судинне сплетення, що відходить від печінкової артерії, впадає в перипортальні синусоїди, внутрішньопечінкові протоки, що забезпечують кров'ю внутрішньопечінкові протоки. Кон'юговані жовчні кислоти реабсорбуються жовчним епітелієм упродовж жовчно-печінкового, створюючого бікарбонатні шляхи, та рецикують у взаємодії з перибіліарним портальним сплетенням. Рециркуляція кон'югованих жовчних кислот є найважливішим фізіологічним процесом, який обумовлює потік жовчі (залежний від жовчних кислот потік жовчі). Урсодезоксихолева кислота підсилює потік жовчі шляхом стимуляції жовчно-печінкового шляху.

Клітини Купфера є фіксованими тканинними макрофагами, розташованими в просвіті синусоїдів печінки. Ці клітини мають форму від зірчастої до неправильної яйцевидної, поглинають і руйнують корпускулярний та розчинний матеріал, що надходить з кров'ю через ворітну вену, видаляючи та руйнуючи старі еритроцити, пухлинні клітини й імунні комплекси. Окрім їх фізіологічної захисної функції, вони відіграють важливу,

часто недооцінювану роль у патогенезі порушень печінки. Під впливом ендотоксинів клітини Купфера виділяють ініціатори запалення, що викликає ураження печінки, та інші прозапальні цитокіни – ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6 і ІФγ. Гепатоцити взаємодіють не тільки лише з клітинами Купфера, але й з ендотеліальними та зірчастими клітинами, внаслідок чого також вивільняються цитокіни та фактори росту. Секреція цих факторів лежить в основі одного з механізмів розвитку неспецифічного реактивного гепатиту і помірної зміни активності ферментів печінки, що спостерігаються при різних позапечінкових захворюваннях. Мікроскопічні зміни печінки різного ступеня тяжкості часто виражаються в появі порталних лімфоцитарних інфільтратів, проліферації жовчних протоків, осередків ділянок некрозу одиночних клітин з явищами нейтрофільного або лімфоцитарного запалення і гранулематозних реакцій. Неспецифічне ураження такого типу пов'язане з цілим рядом небажаних наслідків: проведення необов'язкових діагностичних досліджень функцій печінки, невірний діагноз захворювання як первинного ураження печінки і/або позапечінкова патологія, яка залишається неідентифікованою. У собак і кішок частою причиною реактивного гепатиту є гострий панкреатит.

Асоційовані з печінкою лімфоцити є гетерогенною популяцією постійно присутніх в печінці клітин. При імунофенотипуванні показано, що ці лімфоцити несуть маркери, властиві *B- і T- та НК-лімфоцитам*. НК-клітини печінки являють собою великі гранулярні лімфоцити; спочатку їх називали клітинами з фруктовими кісточками, оскільки електроннощільні гранули, що містяться в їх цитоплазмі, нагадують фруктові кісточочки. Ці клітини розташовуються переважно по ходу розгалужень ворітної вени, де вони взаємодіють з антигенами, які надходять з кишечника. НК-клітини володіють цитотоксичною активністю, лізуючи, зокрема, пухлинні клітини. Вони продукують різноманітні цитокіни та беруть участь в імунній відповіді на деякі віруси, внутрішньоклітинні бактерії та паразити. За своєю вираженою цитотоксичною активністю вони нагадують *лімфокін-*

активовані кілерні (ЛІАК) клітини. Експерименти *in vitro* показали, що знищення пухлинних клітин відбувається за допомогою вивільнення перфोरину і гранзимів, що викликають апоптичну загибель клітин-мішеней. Хоча функції резидентної популяції лімфоцитів печінки детально не з'ясовані, місцева імунна реакція може бути обумовлена продукцією цитокінів. Це одна з можливих причин присутності мікроскопічно видимих уздовж порталного тракту лімфоцитів при неспецифічному реактивному гепатиті.

Враховуючи наявність у печінці макрофагів і гетерогенної популяції лімфоцитів, можна вважати, що, згідно аналогії з лімфоїдними органами, печінка здатна відповідати на антигенну стимуляцію. Джерелом антигенів можуть бути ділянки запальної реакції, локалізовані поза печінкою, пухлини та мікрофлора кишечника. Наслідком реакції є зміни рівня ферментів і гістологічної картини печінки, що позначаються як неспецифічний реактивний гепатит. При цьому відхилень функцій печінки зазвичай не виявляється.

Зірчасті клітини печінки, які називаються **клітинами Іто**, печінковими ліпоцитами та парасинусоїдними клітинами, локалізуються в просторах Діссе. За допомогою світлової мікроскопії ці клітини важко розрізнити через веретеноподібну форму. Проте при різних патологічних станах вони мають вигляд округлих, наповнених жиром клітин. У людини гіпертрофія зірчастих клітин печінки виникає в результаті токсичної дії надлишку вітаміну А, а також при лікуванні метотрексатом або кортикостероїдами. У тварин такого роду зв'язок не відмічається. Зірчасті клітини печінки виконують 4 основних функції, які можуть сприяти виникненню патологічних процесів у її паренхімі. Одна з функцій полягає в продукції білків позаклітинного матриксу в фізіологічних умовах, а при активації ці клітини відіграють ключову роль у розвитку фіброзу печінки. Зірчасті клітини печінки здатні скорочуватися у відповідь на дію окису азоту та ендотеліну 1 і тим самим брати участь у регуляції мікросудинного тонусу

при запаленні або пошкодженні тканин. Ці клітини експресують фактор росту гепатоцитів, що має значення при регенерації печінки після некротичного ураження її клітин. І нарешті, зірчасті клітини печінки є головним депо вітаміну А в організмі.

Визначення активності ферментів печінки

Визначення активності циркулюючих у крові ферментів печінки має подвійні завдання: по-перше, встановити наявність ураження пошкодження клітин печінки та ступінь їх відновлення, і, по-друге, виявити підвищену продукцію ферментів, викликану холестаазом або індуковану лікарськими препаратами. Ступінь і тривалість підвищення ферментативної активності в крові залежить від її початкового рівня в тканинах, субклітинній локалізації ферментів, швидкості їх вивільнення і видалення з кровотоку, а також від тяжкості, тривалості та характеру захворювання. Як правило, час напівжиття ферментів у циркулюючій крові варіює від декількох годин до декількох діб: видалення ферментів крові здійснює система макрофагів багатьох органів.

Ферменти печінки як показники зміни проникності мембрани гепатоцитів

(рис. 8, 9; див. рис. 7 і табл. 3)

Аланінамінотрансфераза

(ЕС 2.6.1.2)

Амінотрансферази, які називають також трансаміназами, є ферментами, які ініціюють процес дезамінування амінокислот. Аміногрупи відщеплюються від амінокислот і переносяться на акцепторні молекули (реакція трансамінування) з подальшим утворенням незамінних або замінних амінокислот, які використовуються як джерело енергії або піддаються подальшим перетворенням для запасання у вигляді жиру або глікогену. Піридоксин (вітамін В₆) прискорює процес трансамінування.

Таблиця 3. Приблизний час напівжиття (год) ферментів печінки в плазмі крові собаки та кішки

Фермент	Собака	Кішка
АЛТ	60	3,5
АСТ	12	1,5
ГЛД	18	-
ізо-ЛФ	66	6
ІКЛФ	74	-
КЛФ	0,1	0,03

Висока активність аланінамінотрансферази (АЛТ) виявлена в цитоплазмі гепатоцитів у собак, кішок, гризунів і приматів. У коней і жуйних активність АЛТ мінімальна. АЛТ розподілена в часточках печінки, концентруючись найбільшою мірою в перипортальній ділянці.

Приблизний час (дні) після важкого ураження печінки собаки з одужанням:

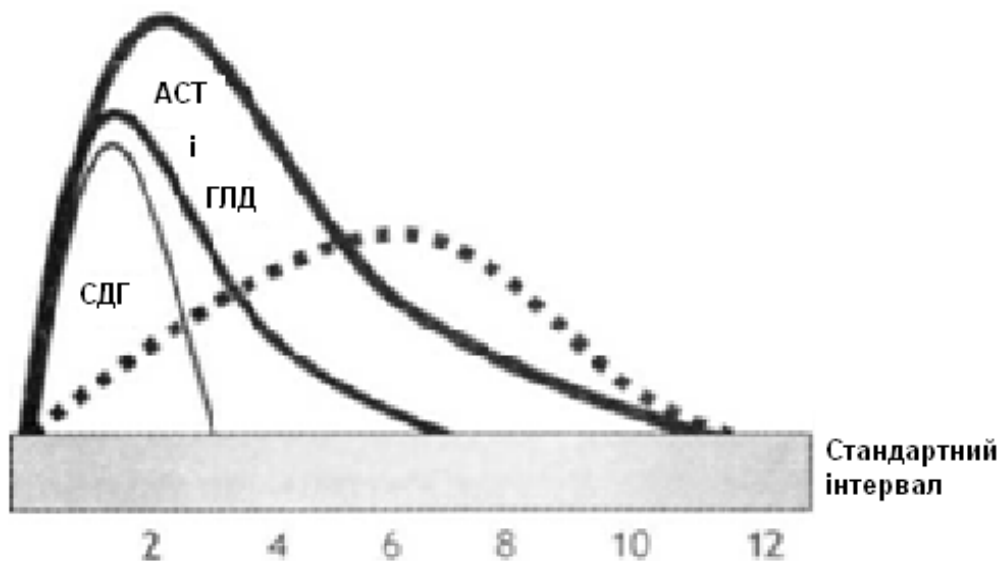


Рис. 8. Приблизна величина і тривалість підвищення активності СДГ, АСТ, ГЛД, АЛТ і ЛФ у циркулюючій крові собак після важкого пошкодження печінки та одужання. Відсутність повного повернення активності ферментів до норми після декількох тижнів указує на

персистуючі та/або прогресуючі захворювання печінки. Рівень циркулюючих у крові ферментів у кішок нормалізується швидше, ніж у собак. У коней та жуйних рівень циркулюючої в крові АЛТ незначний.

АЛТ – аланінамінотрансфераза; АСТ – аспартатамінотрансфераза; СДГ – сорбітолдегідрогеназа; ГЛД – глутаматдегідрогеназа; ізо-ЛФ – ізофермент лужної фосфатази (ALP) печінки; ІКЛФ – індукована кортикостероїдами ЛФ; КЛФ – кишкова ЛФ

При порушенні проникності мембран, що викликане пошкодженням, регенераторною або репаративною активністю, а також метаболічними змінами, АЛТ переходить у кров. У разі гострого ураження паренхіми печінки, ступінь підвищення активності АЛТ у крові приблизно відображає кількість пошкоджених гепатоцитів.

Аспартатамінотрансфераза

(ЕС 2.6.1.1)

Висока активність АСТ характерна для багатьох тканин. У цьому відношенні заслуговують на увагу тканина поперечносмугастих м'язів (скелетні м'язи, міокард) і гепатоцити. Визначення активності АСТ у циркулюючій крові використовують для виявлення порушень з боку печінки у тварин тих видів, яким невластива висока активність АСТ печінки. Пошкодження поперечносмугастих м'язів призводять також до підвищення активності циркулюючої в крові креатинкінази (КК). Визначення активності обох ферментів, АСТ і КК, у крові коней та жуйних дає можливість встановити, чи зв'язано підвищення активності АСТ з ураженням печінки або обумовлено пошкодженням скелетних м'язів.

Собака і кішка:
↑ АЛТ більше, ніж АСТ; без КК → ураження печінки;
↑ АСТ більше, ніж АЛТ; ↑ КК → ураження скелетних м'язів.

Кінь і жуйні:
↑ АСТ без КК → ураження печінки;
↑ АСТ і КК → ураження скелетних м'язів або одночасне скелетних м'язів і печінки.

Після ураження печінки, в кішок і собак у крові підвищується активність АЛТ, а у разі важких порушень збільшується також активність АСТ. Рівень циркулюючої АСТ знижується швидше, ніж АЛТ. Послідовні вимірювання активності АСТ при захворюванні печінки дозволяють визначити стадію перебігу патологічного процесу. Різде падіння активності АСТ у крові свідчить про недостатність регенераторної здатності паренхіматозної тканини. Стійке відхилення активності АСТ від нормального рівня вказує на захворювання, що продовжується. Можливою причиною такого відхилення можуть бути й процеси репарації/регенерації.

Існують дані про те, що падіння активності АЛТ і АСТ у крові людини і тварин зв'язане із застосуванням фенотиазинів і цефазоліну. У собак низька активність АЛТ, що не відповідає рівню АСТ, збільшувалася, якщо в тест-систему вводили піридоксаль-5'-фосфат, біологічно активний метаболіт піридоксину (вітаміну В₆).

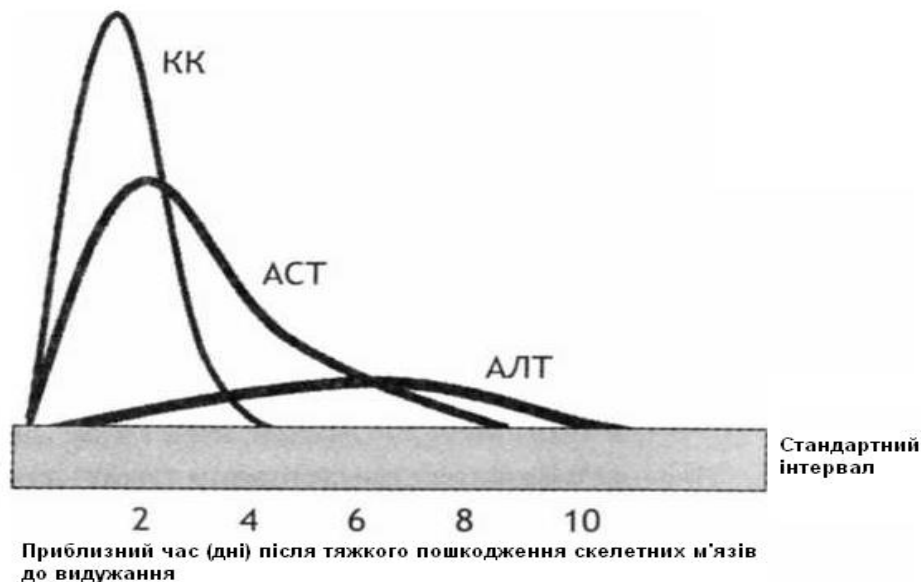


Рис. 9. Приблизна величина і тривалість підвищення активності КК, АСТ і АЛТ у циркулюючій крові домашніх тварин всіх видів після важкого пошкодження скелетних м'язів. У собак і кішок відносна величина рівнів АЛТ, АСТ і КК допомагає диференціювати ураження переважно печінки або скелетних м'язів. У коней та жуйних підвищення активності АСТ разом із значною зміною (або без неї) активності КК указує на ураження печінки. Активність АСТ і КК зростає у коней та жуйних при ураженні

скелетних м'язів або ушкодженні печінки, що при цьому відмічається. Про останнє свідчить підвищення активності СДГ або ГЛД.

АЛТ – аланінамінотрансферази; АСТ – аспартатамінотрансферази; КК – креатинкінази; СДГ – сорбітолдегідрогеназа; ГЛД – глутаматдегідрогеназа

Сорбітолдегідрогеназа (ЕС 1.1.1.14) і глутаматдегідрогеназа (ЕС 1.4.1.3)

Гепатоцити тварин багатьох видів містять велику кількість сорбітолдегідрогенази (СДГ) і глутаматдегідрогенази (ГЛД). СДГ присутня в цитоплазмі, а ГЛД асоційована з мітохондріями. ГЛД розподілена по всій часточці печінки з максимальною концентрацією в її центральній області. Визначення активності обох ферментів особливо важливе для встановлення гепатоцелюлярного ураження у тварин тих видів, які не володіють високими значеннями активності АЛТ у печінці. У клінічних лабораторіях деяких країн визначення ГЛД є рутинним методом дослідження. Чутливість ГЛД-теста при діагностиці хвороб печінки схожа з такою АЛТ-теста.

Креатинінкіназа (ЕС 2.7.3.2)

Для цитоплазми клітин скелетних м'язів характерні високі значення активності креатинінкінази (КК), АСТ і лактатдегідрогенази (ЛДГ). КК каталізує оборотну реакцію перетворення креатинфосфату в креатин у присутності АДФ, який при цьому перетворюється на АТФ, що є джерелом енергії для м'язового скорочення. Шляхом неферментативної дегідратації креатин навпаки перетворюється на креатинін, що швидко дифундує в кровотік з відносно сталою швидкістю, пропорційною м'язовій масі. Креатинін легко фільтрується через клубочки та екскретується з сечею.

Активна форма КК є димером, який складається з субодиниць (Мабо В), що визначають електрофоретичну рухливість молекули. Існує три ізоферменти СК – КК-1 (ВВ), КК-2 (МВ) і КК-3 (ММ). КК-1 у великій

кількості міститься в головному мозку, КК-2 виявляється переважно в міокарді, а КК-3 – у скелетних м'язах і міокарді. Збільшення активності КК у крові зазвичай характеризує пошкодження скелетних м'язів. Ступінь збільшення залежить від характеру пошкодження і початкового рівня ферменту в тканині. У кішок активність КК у тканинах відносно менша, ніж у тварин інших видів. Слід звертати увагу навіть на незначне перевищення верхньої межі стандартного інтервалу. Через невідомі причини у кішок, які страждають на анорексію, активність циркулюючої в крові КК підвищена і знижується через декілька днів після початку відповідного підтримуючого харчування. Активність КК у крові може бути підвищена при захворюваннях, пов'язаних з порушенням обміну речовин. Це спостерігається у собак при недостатності фосфофруктокінази, гіпотиреозі, гіперкортицизмі та злоякісній гіпертермії, а у кішок і собак при м'язовій дистрофії. КК-1 в цереброспинальній рідині може слугувати неспецифічним маркером захворювань центральної нервової системи.

Лактатдегідрогеназа

(ЕС 1.1.1.27)

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) – це цитозольний фермент, що каталізує окиснення L-лактата в піруват. Висока активність ЛДГ властива багатьом тканинам. Фермент складається з пептидних ланцюгів двох типів, М і Н, синтез кожного з яких детермінують окремі гени. Варіабельність субодиниць двох мономерів визначає існування 5 ізоферментів (ЛДГ 1-5). Ізоферменти ЛДГ 1 і 2 представлені головним чином в еритроцитах, міокарді та нирках; ЛДГ-4 і ЛДГ-5 локалізовані переважно в печінці та скелетних м'язах. Оскільки в тканинах активність ферменту висока, навіть відносно не велике тканинне пошкодження або слабкий гемоліз призводять до значного підвищення активності ЛДГ у циркулюючій крові.

**Ферменти печінки як показники порушення течії жовчі або
індукуючої дії лікарських речовин:
лужна фосфатаза (ЕС 3.1.3.1) і γ -глутамілтрансфераза
(ЕС 2.3.2.2)**

(рис. 10, див. рис. 8, 9, табл. 3)

Активність *лужної фосфатази (ЛФ)* і *γ -глутамілтрансферази (ГГТ)* у нормальній тканині печінки мінімальна, але їхня продукція стимулюється при порушенні течії жовчі або під дією лікарських препаратів, що приводить до помітного зростання активності цих ферментів у плазмі крові. Підвищення синтезу ферментів настає через декілька годин, потім вони з'являються в плазмі, причому механізм їхнього вивільнення залишається незрозумілим. Обидва ферменти локалізовані в мембрані; ЛФ пов'язана з каналікулярною мембраною, а ГГТ асоційована з епітеліальними клітинами системи жовчних протоків.

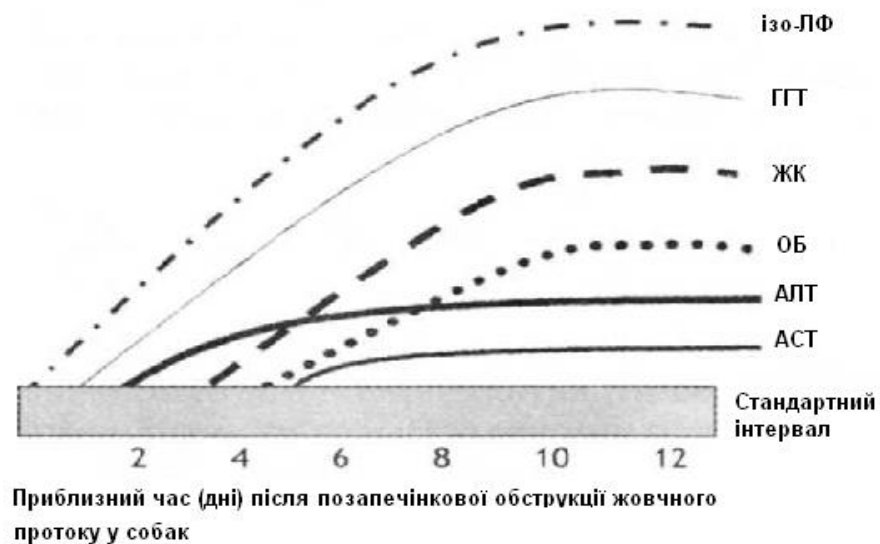


Рис. 10. Приблизна величина і послідовність підвищення активності ізо-ЛФ, ГГТ, АЛТ, АСТ, жовчних кислот і заг. білірубину після перев'язки загальної жовчної протоки у собак. Підвищення рівня ЛФ у кішок менш виражене, ніж у собак, а ще слабше у коней та жуйних. Деякі жовчні кислоти володіють гідрофобними властивостями і тому діють на ліпідні мембрани як сильні детергенти. Їхній тривалий контакт з мембраною гепатоцитів порушує її цілісність, внаслідок чого цитозольні ферменти вивільняються в кровотік. Затримка жовчних кислот стимулює синтез ЛФ і її вивільнення в кров. При підвищеному

рівні заг. білірубін у його основну частину складає кон'югований білірубін. У крові він представлений двома формами – кон'югований білірубін, який створює неміцний, нековалентно зв'язаний комплекс з альбуміном, і кон'югований білірубін, ковалентно зв'язаний з альбуміном. Друга форма називається біліпротеїном, або дельта-білірубін. Внесок кожної форми в підвищення загального рівня кон'югованого білірубін у крові варіює. АЛТ – аланінамінотрансфераза; АСТ – аспартатамінотрансфераза; ізо-ЛФ – ізофермент лужної фосфатази печінки; ГГТ – γ -глутамілтрансфераза; ЖК – жовчні кислоти; заг. – загальний білірубін

Лужна фосфатаза

(ЕС 3.1.3.1)

Активність ЛФ виявляється головним чином у печінці, каналцях нирок, тонкому кишечнику і кістках (остеообластах). ЛФ – зв'язаний з мембраною фермент, що каталізує лужний гідроліз найрізноманітніших речовин. Загальна метаболічна функція цього ферменту недостатньо з'ясована, але він бере участь у процесі ремоделювання (утворення) кісток і, очевидно, зв'язаний з транспортом ліпідів до кишечника. Загальна активність ЛФ у циркулюючій крові здорових тварин складається з активності печінкових і кісткових ізоферментів ЛФ (ізо-ЛФ). Внесок активності кісткових ізо-ЛФ у загальну активність ферменту найбільш значний у тварин, які ростуть, а у дорослих особин їхня активність зростає при пухлинах кісток. Загальна активність збільшується за рахунок активності печінкової ЛФ у відповідь на розлади течії жовчі (холестатичне гепатобіліарне захворювання). У собак виявлений унікальний, індукований кортикостероїдами ізофермент ЛФ (ІКЛФ), який з'являється в крові собак у відповідь на підвищення концентрації глюкокортикоїдів у циркулюючій крові.

Ізоферменти родини ЛФ кодуються різними генами. Існує неспецифічний ген, який кодує ізоферменти в печінці, нирках і кістковій тканині. Ізоферменти, що утворюються в тканинах кожного типу, несуть різні вуглецеві бічні ланцюги та позначаються як ізоформи. Ген кишкової ЛФ специфічно кодує продукцію ЛФ у тонкому кишечнику. У людини є

додаткові гени, які кодують ізоферменти кишечника, плаценти та плацентоподібної тканини. Ген кишкової ЛФ кодує також унікальний ізофермент ІКЛФ. Кишкові ЛФ і ІКЛФ розрізняються за складом вуглецевих ланцюгів. Ізофермент ІКЛФ глікозований (глікозування – зв’язування цукру з пептидом або білком) за рахунок приєднання сілової кислоти. У ранніх дослідженнях припускалося, що ІКЛФ є ізоформа кишкового ізофермента ЛФ, яка піддалася глікозуванню в печінці. Пізніше було встановлено, що клітини печінки здатні синтезувати ізофермент ІКЛФ у відповідь на підвищення концентрації циркулюючих у крові глюкокортикоїдів. Слід відмітити, що у собак ця відповідь має складну природу. Спочатку в кровотоці підвищується активність печінкової ізо-ЛФ, а потім – ІКЛФ. Упродовж 30 діб ізо-ЛФ печінки залишається домінуючим компонентом, що визначає підвищення загальної активності ЛФ у крові; через тиждень після стимуляції кількісно менший внесок у загальну активність починає вносити ІКЛФ. Латентний період до появи ІКЛФ в крові може бути обумовлений затримкою експресії гена, відповідального за синтез цього ізофермента в печінці.

Холестаза, застій жовчі, веде до зміни результатів різних функціональних тестів печінки. Підвищення активності ЛФ у крові є результатом затримки виведення компонентів жовчі, витік ферменту внаслідок зміни проникності мембрани гепатоцитів, викликаного детергентним ефектом гідрофобних жовчних кислот, або посилення інтенсивності синтезу ферменту. У кішок час напівжиття в циркулюючій крові ЛФ складає всього 6 годин, і це обмежує цінність визначення ЛФ як маркера холестатичного захворювання. Навпаки, у собак печінка володіє вираженою здатністю до посилення продукування ЛФ у відповідь на затримку жовчі, а час напівжиття ЛФ у плазмі відносно великий – 66 годин. Після гострого пошкодження печінки активність циркулюючої ЛФ зростає незначно. Через декілька годин виникає значне пошкодження гепатобіліарної системи, течія жовчі порушується, і це служить сигналом для синтезу ЛФ

гепатоцитами. В період репарації печінки активність ЛФ у крові повинна знижуватися, хоча насправді, принаймні у собак, вона може зростати до тих пір, доки не припиниться синтез ферменту *de novo*. Ступінь підвищення активності циркулюючої в крові ЛФ при холестази у коней займає проміжне положення порівняно з кішками і собаками та її визначення можна використовувати в діагностичних цілях. У жуйних діагностична цінність визначення ЛФ обмежена через широкі межі стандартного інтервалу.

Як вже зазначалося вище, збільшення концентрації глюкокортикоїдів у крові собак може спровокувати підвищення активності циркулюючої ЛФ. Схожий ефект виявляє протисудомна терапія. Ступінь цього підвищення залежить від значних індивідуальних коливань. Слід зазначити, що навіть при різкому підйомі активності ЛФ у крові за рахунок збільшення індукованого кортикостероїдами ізофермента ЛФ (ІКЛФ) не спостерігається супутньої білірубінемії. Гепатит може розвинутиися при застосуванні деяких протисудомних препаратів. Діагностувати індукований ліками гепатит допомагає факт значного зростання активності АСТ і/або АЛТ і/або підвищення активності циркулюючої ГГТ. При таких змінах, особливо з урахуванням клінічної картини, може бути доцільна біопсія печінки.

Підвищення активності багатьох ферментів печінки та вмісту білірубину в крові спостерігається при гіпертиреозі у кішок; найчастіше збільшується активність ЛФ, яка підвищується за рахунок ізоферментів печінки, кісток, а також неідентифікованих джерел.

Показано, що у людини та щурів активність ЛФ у крові швидко зростає після їжі, причому в щурів це зростання може бути надто значним. Ступінь підвищення залежить від вмісту в їжі ліпідів. Мабуть, механізм цього явища пов'язаний з секрецією агрегованої ЛФ на апікальну поверхню ентероцитів з подальшим вивільненням в лімфатичні судини та просвіт кишечника. У собак і кішок цей ефект натщесерце клінічно не проявляється, оскільки період напівжиття у них кишкової ЛФ у плазмі крові короткий.

При різних розладах у людей спостерігається зниження кліренсу ферментів, особливо ЛФ і ГГТ, що призводить до підвищення рівня їх активності в плазмі крові. У людини кліренс ферментів змінюється при вірусних інфекціях, цирозі печінки, цукровому діабеті та хронічній нирковій недостатності, а також після гемодіалізу. Не виключено, що подібні зміни кліренсу ферментів можуть зустрічатися і у тварин. Можливі механізми зв'язані зі змінами кінцевих вуглеводних компонентів ферментів (підвищений вміст сіалових кислот), що призводить до порушення процесу розпізнавання рецепторами, які відповідають за видалення ферментів. Підвищена активність ЛФ у крові людини може зберігатися впродовж декількох тижнів після одужання від вірусної інфекції. У кішок активність ЛФ у кровотоці різко підвищується при печінковому ліпідозі. Єдиним поясненням такого підйому є підвищення продукції ферменту, але оскільки період напівжиття ферменту невеликий, чинником, сприяючим збереженню високого рівня активності, може бути понижений кліренс ферменту.

При спадковій доброякісній родинній гіперфосфатаземії людини підвищена активність ЛФ у крові виявляється ще в дитинстві та зберігається в дорослому віці. Причина підвищення ферментативної активності невідома, але вона не пов'язана з холестатичним захворюванням, звідси назва доброякісна. Ця біохімічна аномалія не представляє небезпеки для здоров'я, проте змушує лікаря підозрювати захворювання кісток або печінки, у зв'язку з чим доводиться проводити додаткові дослідження. Біохімічно схожий стан описаний у цуценят сибірської лайки.

γ-Глутамілтрансфераза

(ЕС 2.3.2.2)

ГГТ – це пептидаза, локалізована на мембрані клітин різних тканин. Фермент переносить γ-глутамілову групу з пептидів і інших речовин, що містять цю групу, на акцепторні молекули. ГГТ виводиться з кровотоку за допомогою асіалоглікопротеїнових рецепторів (рецепторів галактози),

присутніх у печінці. Активність ГГТ у крові собак підвищується при холестатичному захворюванні печінки або зростанні концентрації глюкокортикоїдів. На відміну від людини, протисудомні препарати у собак, не викликають підвищення у крові активності ГГТ або воно незначне. При печінковому ліпідозі у крові кішок існує невідповідність активності ЛФ і ГГТ. Хоча обидва ферменти є показниками холестази, активність ЛФ у крові підвищується в набагато більшій мірі, ніж ГГТ. У коней та жуйних активність ГГТ у крові є важливим маркером захворювань жовчного тракту, оскільки визначення активності ЛФ у цих тварин має обмежене діагностичне значення. Підвищення активності ГГТ в крові обумовлене збільшенням продукції ферменту під впливом застійної жовчі.

Кісткова тканина не володіє активністю ГГТ. На відміну від підвищення активності ЛФ, яка спостерігається у тварин, що ростуть або при захворюваннях кісток, активність ГГТ залишається незмінною. Молозиво і грудне молоко в ранні терміни годування містять високу активність ГГТ, тому в новонароджених її активність в крові підвищена. Збільшення активності циркулюючої ГГТ при одночасному підвищенні концентрації білірубину в крові може ускладнювати діагностику патології печінки у хворих лошат, у яких біохімічні зміни імітують холестатичне захворювання. Визначену в крові активність ГГТ можна використовувати як маркер пасивного перенесення імуноглобулінів. Епітеліальні клітини ниркових каналців характеризуються відносно високою активністю ГГТ. Гостре ураження ниркових каналців веде до швидкого наростання активності ГГТ у сечі, але не в циркулюючій крові. Вимірювання активності ГГТ у сечі є корисним показником нефротоксичності ще до появи змін концентрації Нітрогену сечовини та креатиніну в крові.

Моніторинг активності ферментів печінки проводять з метою визначення, чи відбувається одужання і коли воно завершиться. Зазвичай активність ферментів знижується повільніше, ніж можна було б чекати на підставі часу їхнього напівжиття в плазмі, оскільки в процесі регенерації та

репарації печінки не припиняється синтез ферментів та їхнє вивільнення в кров. Поліпшення клінічного стану часто передують повній нормалізації показників функціонального стану печінки. Відсутність повного одужання вказує на персистуюче первинне захворювання печінки або реактивний гепатит при позапечінковій патології.

Макроферменти

Підвищення активності ферментів без видимих причин у крові людини може бути обумовлене присутністю макроферментів. Високомолекулярні ферменти існують у вигляді комплексів з імуноглобулінами або іншими білками. Зміну конформації білків порушує їх розпізнавання рецепторами, які відповідають за їхнє виведення. У людини в крові присутні макроферменти, що визначають підвищену активність АЛТ, АСТ, ЛФ, ГГТ, КК, ЛДГ, ліпази й амілази. У собак в циркулюючій крові ідентифікований комплекс “імуноглобулін-амілаза”, що зумовлює збільшення амілазної активності крові та протеїнурію без клінічних ознак панкреатиту. Таким чином, при виявленні підвищеної активності циркулюючих ферментів при відсутності клінічних і/або патогістологічних проявів слід мати на увазі можливість присутності макроферментів.

Тести, що характеризують стан синтетичної функції печінки: альбумін

(рис. 11, табл. 4)

Альбумін синтезується виключно гепатоцитами. Переходить через наповнені лімфою простори Діссе і пористий епітелій в синусоїди печінки, після чого поступає в кровотік. Найважливіша функція альбуміну полягає в тому, що він запобігає виходу плазми з капілярів за рахунок створення колоїдно-осмотичного тиску. Істотне зниження рівня альбуміну,

циркулюючого в крові, гіпоальбумінемія (зазвичай нижче за 1,5 г/100 мл), веде до появи набряку і випоту в плевральній і/або черевній порожнинах.

Падіння рівня Альбуміну в крові зазвичай обумовлене його збільшеною втратою або зменшенням синтезу.

Таблиця 4. Причини гіпоальбумінемії.

Підвищена втрата;
Нефропатія з втратою білка;
Ентеропатія з втратою білка*;
Геморагія* (внутрішня порожнина тіла, тканинні простори, зовнішня кровотеча з шлунково-кишкового тракту);
Депонування в «третьому просторі» (підшкірне, в порожнині тіла);
Широке ураження шкіри (опіки)*;
Знижена продукція;
Печінкова недостатність;
Природжені портосистемні шунти;
Велика втрата маси печінки;
Зниження синтезу;
Індукована цитокінами у зв'язку із запаленням позапечінкової локалізації;
Гіперглобулінемія;
Неправильне харчування;
Недостатність екзокринної функції підшлункової залози (розлад травлення);
Захворювання тонкого кишечника, що викликає розлад всмоктування;
Тривала дієта з обмеженням білка;
Виснажливе голодування;
Зниження синтезу, індуковане гіпергаммаглобулінемією;
Хронічна печінкова недостатність;
Тривала дієта з пониженим умістом білка;

Тривала недостатньо калорійна дієта;
Розлади травлення (недостатність екзокринної функції підшлункової залози);
Недостатність всмоктування (мальабсорбція).
*Часто з одночасним зменшенням умісту глобулінів.

Збільшена втрата альбуміну часто пов'язана із захворюваннями нирок або тонкого кишечника. Зниження продукції альбуміну є наслідком функціональної недостатності печінки, викликаного втратою значної частини маси органу або природженим портосистемним шунтуванням, а також порушення білоксинтезувальних процесів. Зниженню інтенсивності синтезу цього білка сприяє гіперглобулінемія або секреція цитокінів при позапечінковому запаленні. Швидкість розвитку гіпоальбумінемії залежить від інтенсивності дії чинника, що викликав її, швидкості синтезу в печінці та часу напівжиття альбуміну.

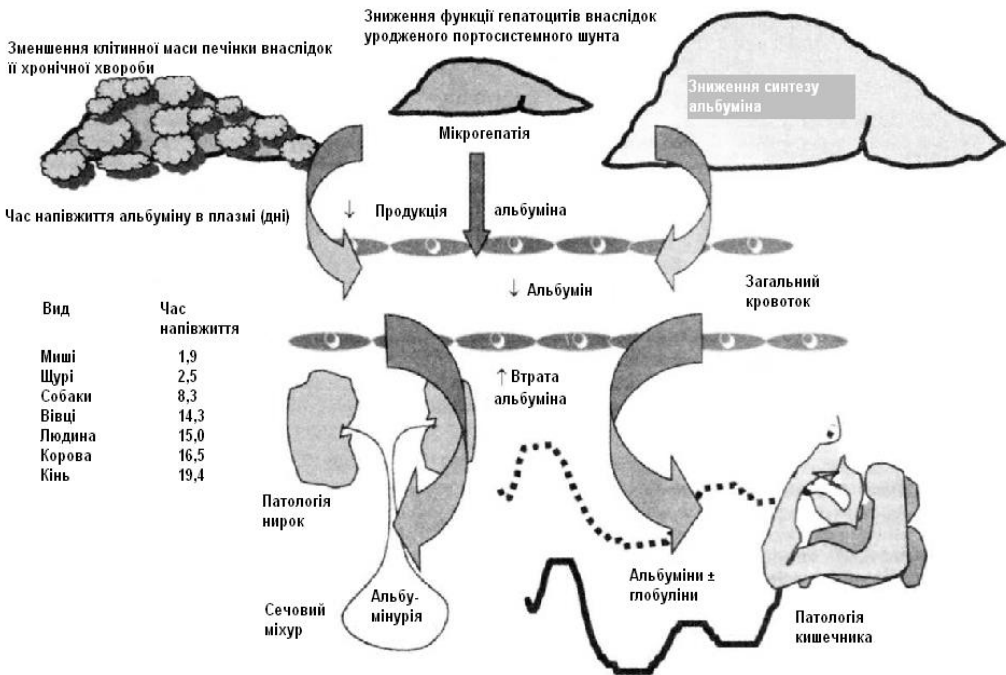


Рис. 11. Зниження рівня альбуміну в крові, як правило, обумовлене його втратою або уповільненням синтезу. Підвищена втрата зазвичай є наслідком захворювання нирок

або кишечника. Зниження продукції найчастіше пов'язане з недостатністю печінки в результаті значної втрати маси паренхіматозної тканини, природженого портосистемного шунтування або зміни регуляції синтезу альбуміну. Зменшенню синтезу альбуміну сприяють гіперглобулемія або секреція цитокінів, викликана позапечінковим запаленням. Швидкість розвитку гіпоальбумінемії залежить від тяжкості ураження печінки, швидкості синтезу білка в печінці та часу напівжиття альбуміну

Оскільки альбумін і багато глобулінів утворюються в печінці, вміст білків у лімфі печінки складає приблизно 90 % їх загальної концентрації в плазмі. Підвищення венозного тиску в печінці (наприклад, при правосторонній серцевій недостатності) викликає витік лімфи печінки в черевну порожнину і утворення асцити з відповідними втратами білка. Мікроскопічно можна спостерігати розширені еферентні лімфатичні судини.

Аміак, сечовина і сечова кислота

(рис. 12-14, табл. 5)

«... Я великий споживач яловичини та вважаю, що це шкодить моєму розуму.»

Сер Ендрю Егьючик, король п'яниць у п'єсі Шекспіра «Дванадцята ніч», на підставі власного досвіду сповістив про те, яку шкоду приносить м'ясо.

«... ті, хто втрачає голову внаслідок флегми, поводяться спокійно, але ті, у кого розливається жовч, галасливі, жахливі та не можуть зберігати спокій.»

Гіппократ Косський (спостереження за нейропсихічними проявами, пов'язаними з гострою або хронічною недостатністю печінки).

Присутність аміаку в крові обумовлена дезамінуванням амінокислот у печінці та розщепленням компонентів вмісту кишечника бактеріями.

Вміст аміаку в крові ворітної вени в 5–10 разів вище, ніж його рівень у периферичній крові. Аміак утворюється в гепатоцитах у результаті метаболізму сечовини в циклі Кребса-Гензелейта. Порушення виведення аміаку, викликане змінами портального кровообігу, зниженням метаболізму внаслідок втрати клітин печінки або природженим дефіцитом ферментів циклу сечовини, призводить до надмірного вмісту аміаку в крові.

Гіперамоніємія зустрічається також у жуйних після вживання з кормом великої кількості сечовини.

Відомо, що гіперамоніємія пов'язана із захворюванням головного мозку, відомим як печінкова енцефалопатія (кома). Це комплексний метаболічний синдром, обумовлений серйозними захворюваннями печінки або вродженим дефектом портального кровообігу. Спірним залишається питання про те, чи служить аміак головним патогенетичним фактором, але кореляція захворювання з його концентрацією в артеріальній крові говорить сама за себе. Вміст аміаку в венозній крові – ненадійний біохімічний маркер печінкової енцефалопатії.

Таблиця 5. Залежність величини деяких лабораторних показників від віку в собак із мікросудинною дисплазією печінки (МДП), а також із МДП у поєднанні з позапечінковим портосистемним шунтуванням (МДП+ВПШ)

Показник	МДП	МДП+ВПШ
Вік (роки)	3,0	1,4
СЕО	73	60
ЖКГШ	41	159
ЖКПІ	93	250
АСТ	59	113
ЛФ	78	265
Альбумін	3,9	2,7
Глюкоза	107	87
Холестерол	247	134
НСК	2,0	9,5
Креатинін	1	0,6



Рис. 12. Недостатність печінки викликає порушення метаболічної, синтетичної та екскреторної функцій печінки, що набувають системного характеру. На рисунку представлені зміни даних лабораторних тестів, що відображають розлади функцій печінки, у собак з мікросудинною дисплазією печінки (МДП), а також з МДП у поєднанні з позапечінковим портосистемним шунтуванням (МДП+ВПШ). Від ступеня недостатності печінки, ймовірно, залежать частота і вираженість відхилень показників від норми. Порушення метаболізму Ферума несприятливо впливає на еритроцитопоез, призводячи до зменшення середнього еритроцитарного об'єму. Про ослаблення синтетичної здатності гепатоцитів свідчать зниження продукції альбуміну та надмірне утворення сечовини. Печінкова енцефалопатія у деяких собак припускає наявність гіперамоніємії. Зростання рівня жовчних кислот є ознакою розладу печінково-кишкової циркуляції. СЕО – середній еритроцитарний об'єм; ЖКГШ – жовчні кислоти на голодний шлунок; ЖКПІ – жовчні кислоти після їжі; НСК – Нітроген сечовини крові.

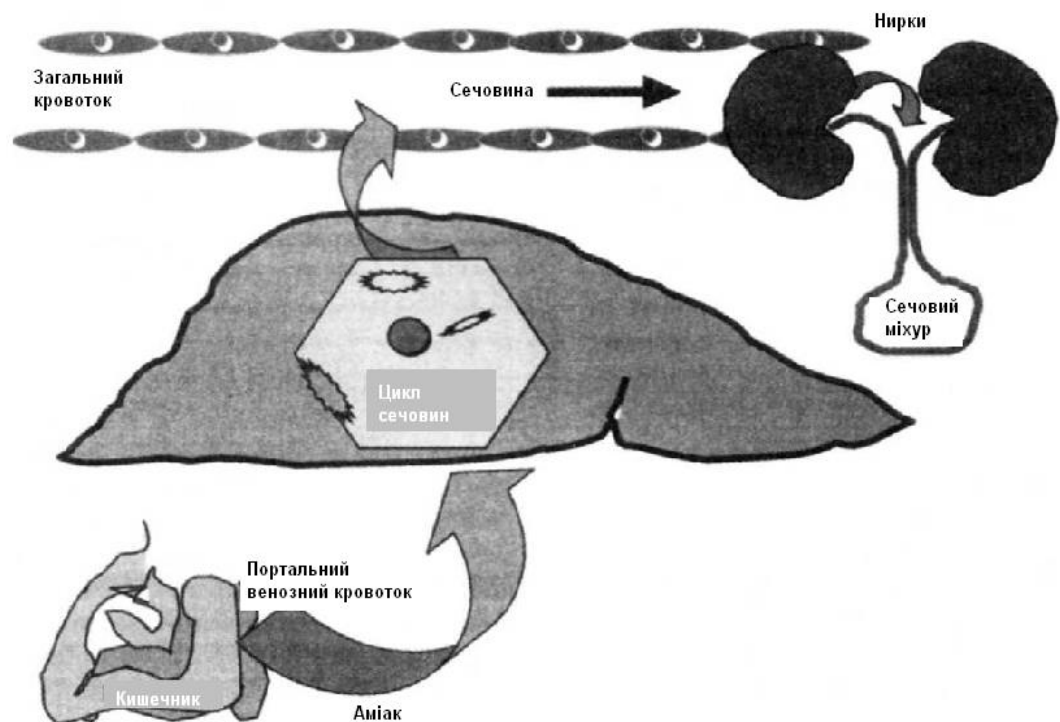


Рис. 13. Аміак утворюється в результаті гідролізу глютаміну в тонкому кишечнику, а також унаслідок дії бактеріальних протеаз, уреаз і амінооксидази у вмісті товстого

кишечнику. Аміак переноситься в печінку за системою ворітної вени, де метаболізується в гепатоцитах з утворенням сечовини в циклі Кребса-Гензелейта. Сечовина поступає в загальний кровотік і фільтрується нирковими клубочками.

Пероральний прийом розчину амонію хлориду може слугувати діагностичним тестом, однак збільшує ризик виникнення енцефалопатії. Замість цього в клініці найчастіше використовують визначення вмісту циркулюючих у крові жовчних кислот. Зниження концентрації сечовини в крові (Нітрогену сечовини в крові, НСК) є непрямим показником зміни метаболізму аміаку, оскільки його утворення залежить від нормальної метаболічної функції печінки.

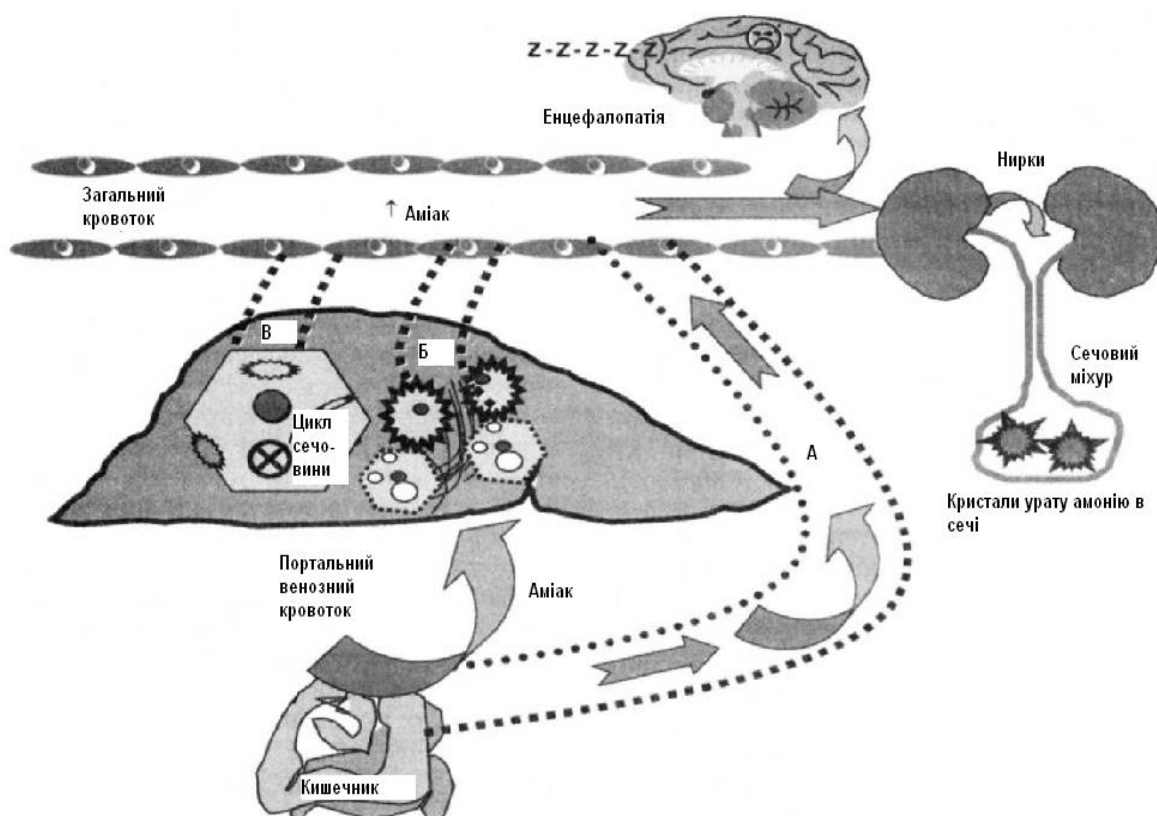


Рис. 13. В основі розвитку гіперамоніємії закладені розлади трьох видів: природжені порто-системні шунти (А); значна втрата маси паренхіматозної тканини внаслідок раптового розвитку недостатності печінки або хронічного гепатиту з присутністю або відсутністю набутого портосистемного шунтування (Б); вроджений дефіцит ферментів циклу сечовини (В). Ймовірно, останній розлад є рідкісною причиною, хоча таку можливість слід мати на увазі у молодих тварин з енцефалопатією, гіперамоніємією та вмістом загальних жовчних кислот у межах стандартного інтервалу. У жуйних гіперамоніємія може виникнути при вживанні великої кількості сечовни з кормом. Поява в сечі кристалів урату амонія найчастіше пов'язана з уродженим портосистемним шунтуванням. Припускають, що гіперамоніємія служить одним з етіологічних факторів

виникнення енцефалопатії. Розлади функцій центральної нервової системи асоційовані з мікросудинною дисплазією печінки у поєднанні з позапечінковим шунтуванням або в його відсутність (див. рис. 12).

Рівень НСК може підвищуватися в результаті шлунково-кишкової кровотечі. Підвищена кількість аміаку, що утворюється в кишечнику внаслідок руйнування багатобілками крові та надходить до печінки через систему ворітної вени, швидко метаболізується. В результаті відбувається підвищення рівня НСК, що не супроводжується збільшенням концентрації циркулюючого креатиніну, якщо тільки швидкість клубочкової фільтрації не знижена внаслідок існуючого захворювання нирок.

Сечова кислота утворюється при розпаді пуринових основ і циркулює в крові у вигляді іонізованого урату. В людини і нижчих приматів його рівень в крові регулюється нирками, однак у більшості інших ссавців елімінація здійснюється печінкою. Гепатоцити окиснюють сечову кислоту з утворенням водорозчинного алантоїну, який екскретується нирками. Зниження метаболізму сечової кислоти у поєднанні з ослабленням метаболізму аміаку при портосистемному шунтуванні призводить до утворення кристалів урату (кристалурія) з виникненням уратних каменів (уролітіаз) або без нього. Доги далматинців схильні до утворення уратних каменів і уролітіазу внаслідок унікального метаболічного порушення печінки, що призводить до неповного окиснення сечової кислоти.

Фактори коагуляції

Всі чинники коагуляції за винятком чинника VIII, продукованого ендотелієм, утворюються в гепатоцитах. Ці клітки синтезують також інші білки плазми, включаючи плазмін і антитромбін III, що відіграють важливу роль у регуляції системи згортання. Макрофаги печінки видаляють з кровотоку продукти деградації фібрину. Тому не дивно, що гепатобілярні захворювання пов'язані з високим ризиком розладів коагуляції. Корисними

скринінговими тестами, що дозволяють виявити порушення коагуляції, є визначення протромбінового часу і активованого часткового тромбoplastинового часу. Синтез активних форм факторів II, VII, IX і X залежить від присутності вітаміну К. У разі недостатності вітаміну К у крові вдається визначити неактивні форми цих факторів, що отримали назву білків, які індукуються відсутністю або антагоністами вітаміну К (PIVKA). Визначення цих білків є ще один спосіб оцінки стану системи згортання. Ослаблення відтоку жовчі в кишковий тракт, викликане всередині або позапечінковим холестатичним захворюванням, здатне порушувати всмоктування вітаміну К. Тому у випадках жовтяниці доцільно ввести пацієнтові вітамін, перш ніж зволікати на інвазивну процедуру. Збільшення вмісту компонентів жовчі в крові в результаті холестази може порушувати функцію тромбоцитів, що можливо встановити шляхом визначення часу кровотечі з слизової оболонки.

Глюкоза

(див. рис. 11-12)

Печінка модулює концентрацію глюкози в крові за допомогою глікогенезу і глікогенолізу (утворення і розщеплювання глікогену) та глюконеогенезу, тобто перетворення амінокислот і гліцеролу на глюкозу. Розвитку гіпоглікемії внаслідок хронічного захворювання печінки, як правило, передує втрата клітинної маси органу. Гіпоглікемія може виникнути як результат гострого дифузного гепатоцелюлярного некрозу. Розлади мікросудинної системи печінки або портосистемне шунтування порушують здатність печінки регулювати концентрацію глюкози в крові.

Холестерол і ліпопротеїни

Печінка – головний орган, де відбувається синтез холестеролу, аполіпопротеїнів і всіх ліпопротеїнів, присутніх у кровотоці, за винятком хіломікронів. Не дивлячись на те, що печінка відіграє головну роль у

метаболізмі ліпідів і розвитку дисліпідемії при хворобах печінки, відповідні клінічні тести для вивчення цих функцій відсутні. Падіння рівня холестеролу в циркулюючій крові пов'язане з природженим портосистемним шунтуванням. Причина такого падіння не встановлена, але це може бути пов'язано зі зміною метаболізму жовчних кислот. При хронічних захворюваннях печінки і наявності портосистемних шунтів виявляються акантоцити. Їхнє утворення обумовлене аномальним складом ліпідів мембрани еритроцитів, мабуть, внаслідок зміни метаболізму ліпідів у печінці.

Тестування екскреторної функції печінки: білірубін

(рис. 14, 15, див. рис. 6, 10)

Некон'югованим білірубіном є пігментний компонент, що утворюється переважно в результаті руйнування гему старих еритроцитів системою моноцитів/макрофагів. Джерелом невеликої кількості некон'югованого білірубину є цитохроми печінки, а також еритроцити, що руйнуються при незавершеному еритроцитопоезі. Водонерозчинний некон'югований білірубін транспортується в печінку альбуміном. Для диференціації некон'югованого білірубину, або непрямого білірубину, від *кон'югованого білірубину* використовують діазореакцію (*тест ван ден Берга*). У літературі некон'югований білірубін називають також вільним білірубіном незалежно від того, чи зв'язаний він з альбуміном чи ні. При контакті з мембраною гепатоцитів, оберненою в синусоїди, відбувається дисоціація некон'югованого білірубину і альбуміну, білірубін транспортується через мембрану та зв'язується з цитоплазматичним лігандом. Захоплення білірубину клітинами печінки є ефективним процесом, внаслідок чого час напівжиття циркулюючого в крові некон'югованого білірубину обчислюється хвилинами. Сайти органічних аніонів для захоплення жовчних кислот і приєднання білірубину розрізняються.

Білірубін зв'язується з глюкуроною кислотою, утворюючи водорозчинний кон'югований білірубін, який називають ще прямим білірубіном, оскільки для його визначення використовують діазореакцію. Метаболічний процес приєднання глюкуронової кислоти каталізує фермент UGT1A1, член родини уридиндифосфатглюкуронозилтрансфераз (LGT). Індукцію мікросхемного ферменту стимулюють речовини різних класів, включаючи фенобарбітал, дексаметазон, клофібрат і рифампіцин. Екскреція кон'югованого білірубіну каналцями здійснюється проти градієнта концентрації за допомогою АТФ-залежного транспортного механізму.

З трьох зв'язаних з гепатоцитами етапів елімінації білірубіну – захоплення, кон'югація та екскреція – лімітуючим швидкість етапом є екскреція. Цей складний процес каналцевої екскреції підлягає негативним впливам агентів, що звільняються з ділянок бактеріальних інфекцій, локалізованих поза печінкою. Запальні фактори та речовини бактеріальної природи можуть паралізувати мембрану каналців, викликаючи функціональний холестаза, який називають септичним холестазом. Навіть при мінімальних патогістологічних змінах у печінці може розвинутися тяжка гіпербілірубінемія. Холестаза спонтанно ліквідується при успішному лікуванні основного (позапечінкового) захворювання.

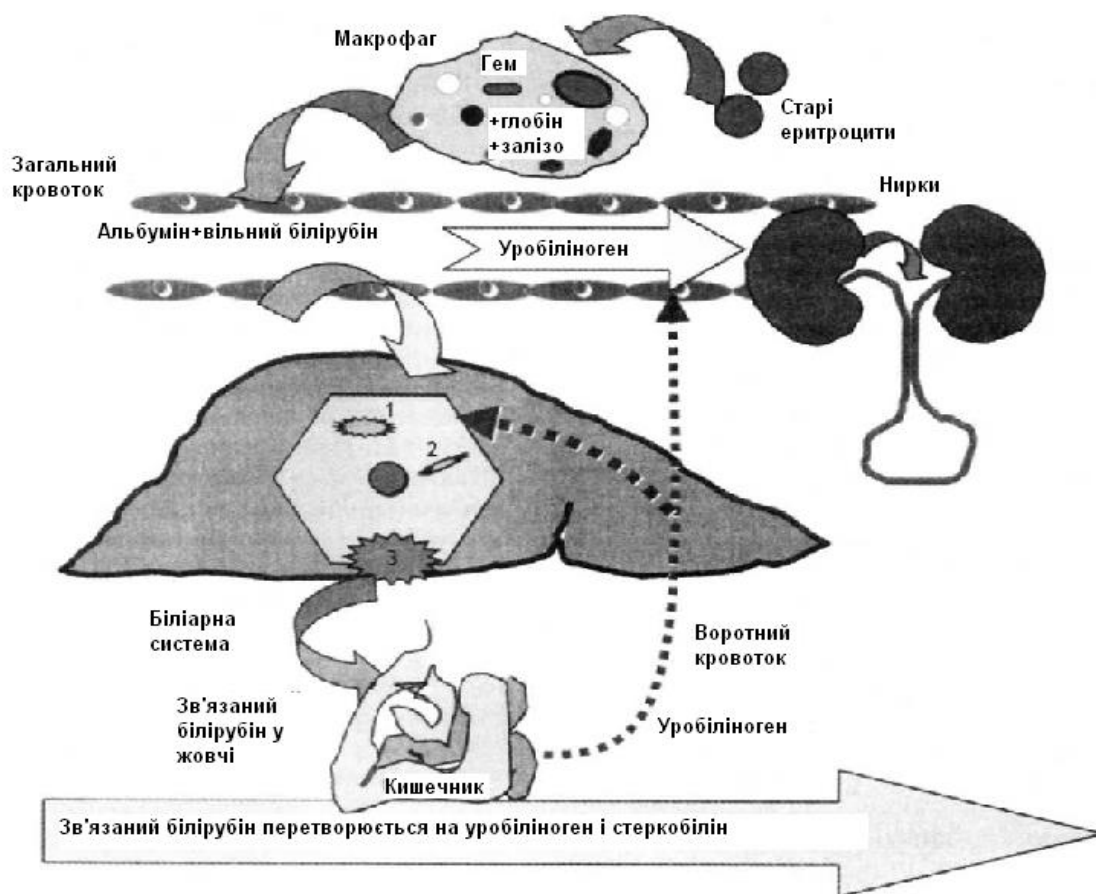


Рис. 14. Макрофаги знищують старі еритроцити та перетворюють гем на вільний (некон'югований) білірубін, зв'язаний з альбуміном, що транспортується до печінки. Гепатоцити (1) захоплюють вільний білірубін (2), перетворюють його на зв'язаний (кон'югований) білірубін (3), що екскретується через мембрану каналців у жовчну систему, звідки він у складі жовчі транспортується у тонкий кишечник. Кишкові бактерії перетворюють зв'язаний білірубін на уробіліноген і стеркобілін. Деяка кількість уробіліногену абсорбується в систему воротної вени. Більша його частина видаляється печінкою та екскретується з жовчю. Невелика кількість поступає в периферичну кров та екскретується з сечею. Уробіліноген окиснюється з утворенням урохрому, що надає сечі жовтий колір. Коричневий колір фекалій обумовлений стеркобіліном

Канальцевий транспорт кон'югованого білірубину являє собою опосередкований носієм процес, який конкурентним способом вдається імітувати, застосовуючи барвники для холецистографії, натрієву сіль сульфобромфталейну (бромсульфалеїн) та індоціанін зелений. Останні два барвники широко використовуються в оцінці функції печінки.

Кон'юговані жовчні кислоти – головна складова частина жовчі, стимулююча її течію, яку називають **залежною від жовчних кислот течією**. Жовч виносить кон'югований білірубін і надлишок холестеролу в тонкий кишечник, звідки вони екскретуються.

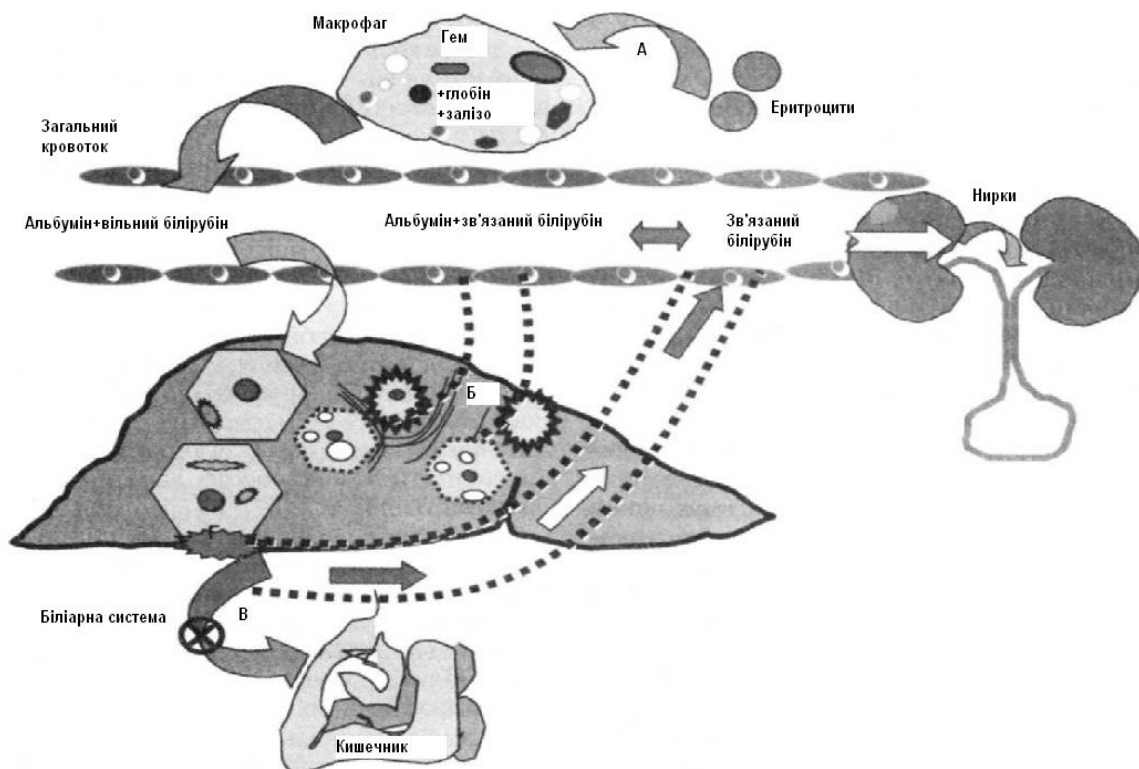


Рис. 15. Гіпербілірубінемія зазвичай є наслідком гемолітичної анемії (А) або холестазу. Холестаз може виникнути в результаті захворювання печінки (Б), позапечінкової обструкції жовчної протоки (В) або дисфункції гепатоцитів (Г), викликані у собак і кішок запаленням, локалізованим поза печінкою, а у коней відсутністю апетиту. Коли в крові підвищується рівень кон'югованого білірубину, він нековалентно або ковалентно зв'язується з альбуміном. Деяка кількість кон'югованого білірубину, зв'язаного з альбуміном нековалентно, може дисоціювати і з'явитися в сечі. Після зникнення холестазу нековалентно зв'язана форма кон'югованого білірубину швидко видаляється з кровотоку печінкою. Кон'югований, ковалентно зв'язаний з альбуміном білірубін, біліпротеїн, виводиться з крові одночасно з руйнуванням альбуміну.

Кишкові бактерії перетворюють приблизно половину білірубину в уробіліноген, водорозчинну безбарвну речовину. Деяка кількість уробіліногену реабсорбується кишечником, але його основна частина швидко реекскретується печінкою в жовч.

Значення такого рециркулювання уробіліногену невідоме, однак воно є одним з прикладів процесу ентерогепатичної (кишково-печінкової) циркуляції. Невелика кількість уробіліногену, що надходить у системний кровотік, екскретується нирками. При контакті сечі з повітрям уробіліноген окиснюється до уробіліну. Його компонент, урохром є головним пігментом, що надає сечі жовтого кольору. При окисненні уробіліногену, що міститься у фекаліях, утворюється стеркобілін коричневого кольору. Визначення уробіліногену в сечі за допомогою паперових смужок, імпрегнованих реагентом, є архаїчним тестом, який раніше використовували для того, щоб відрізнити гіпербілірубінемію, викликану позапечінковою обструкцією, від внутрішньопечінкового холестатичного захворювання. Цей тест ненадійний, оскільки на ентерогепатичну циркуляцію можуть впливати різні фактори. Підвищення рівня циркулюючого в крові кон'югованого або некон'югованого білірубіну надає тканинам жовтого кольору. Це явище називають *жовтяницею (іктерус)*, яка виникає при рівні білірубіну в крові, що перевищує *2 мг/100 мл*. Найчастіше причиною жовтяниці є прискорене руйнування еритроцитів (так звана гемолітична жовтяниця) і гепатоцелюлярні захворювання, які можуть мати як печінковий, так і позапечінковий характер. Визначення переважаючої форми білірубіну в крові, або співвідношення кон'югований/некон'югований білірубін, завжди використовували для диференціальної діагностики жовтяниці у людей. Хоча підхід, заснований на кінетиці метаболізму білірубіну, однак значні міжвидові відмінності в метаболізмі білірубіну не дозволяють використовувати його в якості діагностичного тесту в тварин. Ступінь білірубінемії не дає можливості провести диференціальну діагностику жовтяниці.

Кон'югований білірубін, рівень якого в крові підвищений при гепатобіліарній патології, зв'язаний з альбуміном двояким способом – в одних випадках це нековалентний зв'язок, в інших – ковалентний. Нековалентно зв'язана з альбуміном форма легко дисоціює. Час її напівжиття

в плазмі складає менше 24 годин. Невелика частина білірубину спонтанно відщеплюється від альбуміну і фільтрується через нирки, призводячи до білірубінурії. Її визначають за допомогою діазореагенту (використовуючи занурювання паличок або пігулок, імпрегнованих реагентом), і наявність білірубину в сечі є показником порушення його екскреції печінкою. На світлі білірубін нестабільний. Тому тест слід виконувати відразу після відбору сечі або помістити зразок у холодильник і провести визначення в найближчі 24 години.

Ковалентний зв'язок зумовлює утворення міцного комплексу білірубін-альбумін. Кон'югований комплекс носить назву *біліпротеїну*, або *дельта-білірубину*, відповідно до його ідентифікації методом високоефективної рідинної хроматографії. Біліпротеїн виявляється в крові людини, щурів, собак і кішок, страждаючих на холестатичне захворювання печінки. Його вміст у крові варіює в широких межах: він може бути присутнім і в слідових кількостях і складати велику частину загального білірубину в кровотоці. Внаслідок незворотного зв'язування з альбуміном видалення білірубину з кровотоку відбувається одночасно з деградацією альбуміну. Час напівжиття альбуміну в плазмі щурів, кішок, собак і людини складає відповідно близько 2, 6 (екстрапольована величина), 8 і 15 днів. Високий рівень біліпротеїну є причиною затяжної гіпербілірубінемії та жовтяниці після одужання внаслідок гепатобіліарного захворювання. Більшість хімічних аналізаторів, які є в клініках не можуть розрізнити дві форми комплексу білірубін-альбумін. Аналізатори, в яких застосовується система сухих хімічних реагентів, визначають відразу обидві форми, тобто загальну кількість кон'югованого білірубину в крові. Оскільки нирки не в змозі фільтрувати біліпротеїн, значна гіпербілірубінемія і жовтяниця можуть супроводжуватися лише мінімальною гіпербілірубінурією залежно від кількості біліпротеїну, що утворився.

Гемолітичну жовтяницю ідентифікують за істотним зниженням величини гематокриту. У тварин гемолітична анемія є частішою причиною

жовтяниці, ніж хвороби печінки. Диференціювати жовтяницю позапечінкового походження і жовтяницю як результат холестатичного захворювання печінки важко, так само як визначити тип ураження печінки. Визначення профілю ферментів печінки може дати підстави для вирішення питання про походження жовтяниці, однак цього недостатньо, щоб поставити остаточний діагноз. У цілому ж зміну профілю ферментів печінки слід розглядати просто як показник захворювання печінки. Для того, щоб визначити, чи відображає змінений профіль ферментів печінки первинне гепатобілярне або позапечінкове захворювання, що викликало реактивний гепатит, необхідно провести додаткове тестування. Ультразвукове дослідження зарекомендувало себе як хороший спосіб оцінки стану гепатобілярної системи у собак і кішок. Для подальшого з'ясування природи знайдених патологічних відхилень часто буває необхідне дослідження біоптатів печінки.

У коней жовтяниця має свої особливості. Якщо тварина не приймає корму більше 24 годин, може виникнути гіпербілірубінемія. Мабуть, у коней захопленню некон'югованого білірубіну печінкою перешкоджає (або конкурує з ним) підвищений рівень вільних жирних кислот або інших продуктів обміну і/або знижена внутрішньопечінкова течія жовчі. Гіпербілірубінемія спонтанно зникає, як тільки причина відсутності апетиту успішно усунена. Визначення величини гематокриту і рівня циркулюючих в крові жирних кислот може бути використане для з'ясування інших причин жовтяниці – гемолітичного захворювання або гепатобілярної патології. Помітне падіння величини гематокриту вказує на гемолітичну жовтяницю, а значне підвищення рівня жовчних кислот підтверджує вірогідність холестатичного захворювання печінки.

Ліпемія може зумовити помилково завищену величину вмісту білірубіну. Вірогідність псевдопозитивного результату слід мати на увазі, якщо високий рівень білірубіну визначається у пацієнта при відсутності жовтяниці.

Жовчні кислоти

(рис. 17, 18, див. рис. 12, 13 і 15)

Визначення загального вмісту жовчних кислот у циркулюючій крові є функціональним тестом печінки внаслідок високої ефективності процесу рециркулювання, який називають *ентерогепатичною циркуляцією*. Ключовими компонентами, які здійснюють рециркулювання жовчних кислот, виступають гепатобіліарна система, кінцевий відділ клубової кишки і система ворітної вени. Найбільш частими причинами підвищення рівня жовчних кислот в крові є гепатобіліарні захворювання і розлади кровообігу в системі ворітної вени.

Метаболізм жовчних кислот

Гепатоцити синтезують з холестеролу дві первинні жовчні кислоти, холеву і хенодезоксихолеву, які утворюють кон'югати з гліцином або таурином. Ці кислоти секретуються каналікулярною мембраною в каналці, через які вони транспортуються в кишковий тракт жовчовивідною системою. Кон'юговані жовчні кислоти ефективно абсорбуються (95 %) клубовою кишкою, поступають у систему ворітної вени, а далі в печінку, де відбувається їхнє первинне захоплення (60–80 %) гепатоцитами, розташованими головним чином в зоні 1. Транспортна система, що забезпечує захоплення жовчних кислот, відрізняється від такої, призначеною для захоплення білірубіну. Потім кон'юговані жовчні кислоти реекскретуються в жовчну систему, здійснюючи наступний ентерогепатичний рейс, під час якого вони через свій осмотичний ефект сприяють течії жовчі та як поверхнево-активні детергентні молекули полегшують процес солюбілізації ліпідів, що абсорбуються кишечником. Невелика кількість первинних жовчних кислот, не абсорбованих у клубовій кишці, піддається декарбоксілюванню анаеробними бактеріями товстого кишечнику з утворенням вторинних жовчних кислот. Деякі з них надходять у

систему ворітної вени й також рециклують. У системі кровотоку ворітної вени первинні та вторинні жовчні кислоти складають основну частину пулу цих кислот.

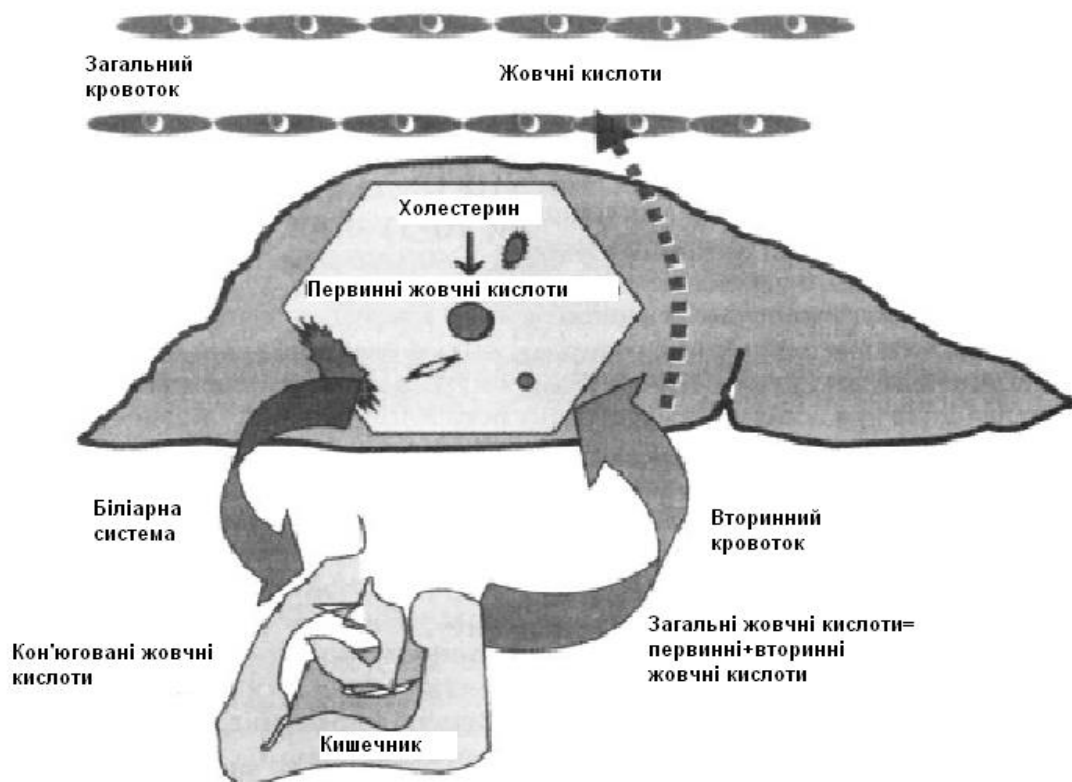


Рис. 17. Первинні жовчні кислоти утворюються з холестеролу, зв'язуються з гліцином або таурином, секретуються в каналці та у системі жовчних протоків транспортуються в тонкий кишечник. Кишкові бактерії метаболізують деякі з первинних жовчних кислот з утворенням вторинних. Зв'язані (кон'юговані) жовчні кислоти активно всмоктуються з клубової кишки в систему ворітної вени, потрапляють в печінку, захоплюються гепатоцитами та реекскретуються в жовч. Цілісність печінково-кишкової системи циркуляції жовчних кислот забезпечує високу ефективність процесу рециркуляції

У собак і кішок велика частина жовчі, що утворилася, до годівлі зберігається в жовчному міхурі. Годівля стимулює вивільнення з кишкової стінки холецистокініну, який викликає скорочення жовчного міхура.

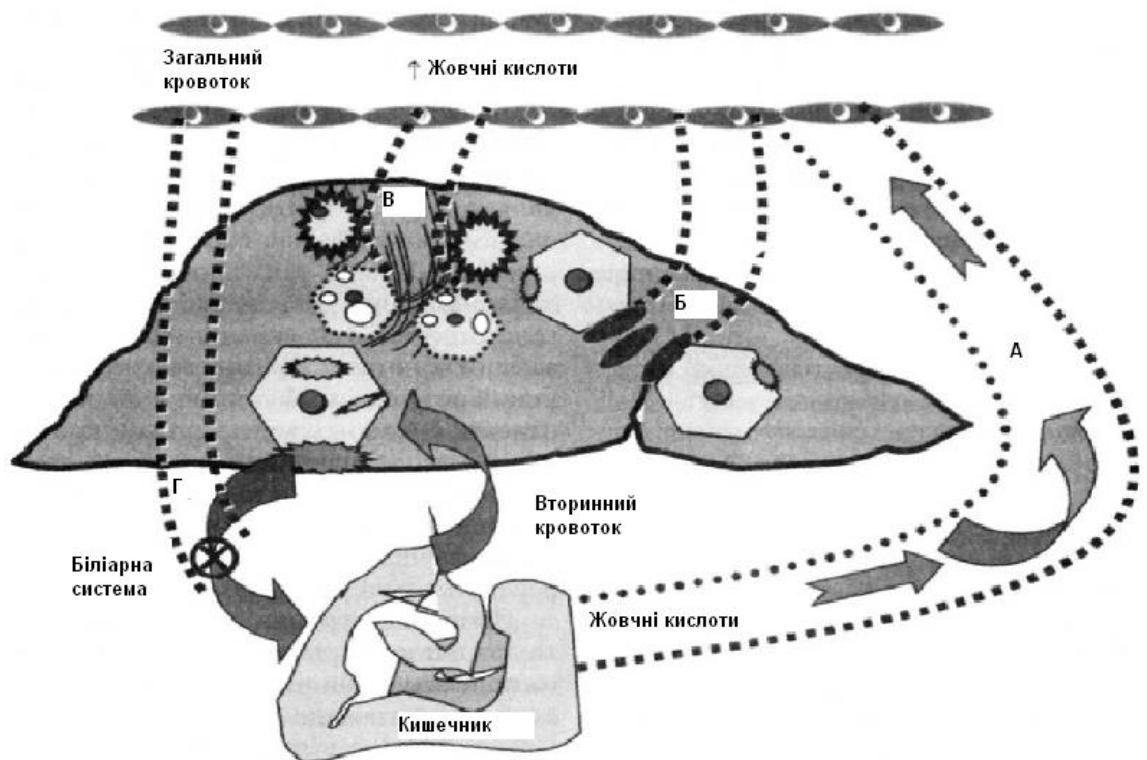


Рис. 18. Підвищення концентрації жовчних кислот у циркулюючій крові зазвичай обумовлене одним з 4 наступних розладів: А – природжене портосистемне шунтування; Б – мікросудинна дисплазія печінки; В – холестатичне захворювання печінки; Г – позапечінкова обструкція жовчної протоки

Визначення концентрації жовчних кислот у крові до годівлі та приблизно через 2 години після дає показники, що характеризують відповідно рівень жовчних кислот на голодний шлунок і постпрандіальний рівень. Існує індивідуальна фізіологічна варіабельність кількості жовчі, що зберігається, і ступеня скорочення жовчного міхура при стимуляції кормом. Співвідношення між цими величинами може бути змінено у деяких хворих тварин. Коли концентрація циркулюючих жовчних кислот знаходиться в межах стандартного інтервалу або близька до нього, ці фізіологічні коливання можуть призвести до того, що рівень постпрандіальних жовчних кислот стає подібним до їхнього рівня на голодний шлунок або навіть менше. У собак це може виникнути і при надмірному розмноженні бактерій в тонкому кишечнику. В коней і жуйних рівень жовчних кислот визначають у зразках, отриманих методом випадкового відбору.

Розлади обміну жовчних кислот

Причинами порушень ентерогепатичної циркуляції, що викликають підвищення концентрації жовчних кислот у кровотоці, є природжені дефекти кровообігу в системі ворітної вени, внутрішньопечінкові захворювання з набутими портосистемними шунтами або без них, а також обструкція жовчної протоки поза печінкою.

У більшості видів тварин розладу циркуляції в системі ворітної вени часто пов'язані з портосистемним шунтуванням. Клінічні ознаки печінкової енцефалопатії та відхилення показників лабораторних скринінгових тестів часто підкріплюються даними визначення рівня циркулюючих жовчних кислот. Вимірювання постпрандіального рівня жовчних кислот нерідко допомагає діагностувати розлад у собак і кішок. Порушення мікроциркуляції в печінці у собак, що називається *печінковою мікросудинною дисплазією*, може привести до печінкової енцефалопатії зі зміною результатів лабораторних тестів, які виявляються чутливішими, ніж клініко-патологічні зміни, обумовлені одночасною присутністю позапечінкових портосистемних шунтів.

Питання метаболізму жовчних кислот, що обговорювалися, в цілому відносяться до всіх домашніх тварин, однак ці матеріали представлені в стислій формі та увага сконцентрована на визначенні концентрації жовчних кислот, яке використовується як функціональний тест печінки. Метаболізм жовчних кислот є складним процесом, та існують значні міжвидові відмінності, що відносяться до окремих етапів цього процесу. Відмінності стосуються виду амінокислот, які використовуються для кон'югації (наприклад, у кішок це винятково таурин), типу і кількості кожної первинної та вторинної жовчної кислоти (зокрема, у свиней первинною є глікохолева кислота), ефективності ентерогепатичної циркуляції (наприклад, жуйні відрізняються широким розмахом і варіабельністю стандартних інтервалів), а також анатомічних особливостей (так, у коней відсутній жовчний міхур).

Детальний опис видових фізіологічних відмінностей можна знайти у відповідній літературі.

Захворювання печінки спочатку встановлюють за зміною активності ферментів печінки. Порушення активності ферментів разом з гістологічними змінами можуть бути обумовлені первинним ураженням печінки або, що буває частіше, реактивний гепатит розвивається як вторинний процес внаслідок ендокринних розладів або запальних процесів в інших органах. Причиною первинного захворювання печінки можуть бути неоплазії або запалення, а також вікові зміни печінки. У старих собак гепатоцелюлярна вузлова гіперплазія є частою причиною аномальних результатів тестування ферментів печінки та гістопатологічних ознак гепатиту, що характеризуються помірним фіброзом (або без нього), екстрamedулярним гемопоезом, зірчастими клітинами печінки, що добре виявляються, осередками макрофагів, що містять ліпіди або пігменти, а також дифузною вакуолізацією чи розрідженням цитоплазми гепатоцитів. Ці явища зазвичай не викликають клінічних ознак або змін результатів функціональних тестів печінки. У старих кішок при мікроскопічному дослідженні часто виявляється лімфоцитарно/лімфоплазмоцитарний портальний гепатит у поєднанні зі зміною результатів печінкових тестів, анорексією і втратою маси тіла.

Вимірювання концентрації жовчних кислот на голодний шлунок і після годівлі може виявитися корисним при вирішенні питання про доцільність проведення біопсії печінки. При їхньому рівні вище 25 мкмоль/л у собак і 15 мкмоль/л у кішок у біоптаті печінки зазвичай спостерігаються гістопатологічні зміни. Оскільки при холестатичному захворюванні концентрація в крові жовчних кислот підвищується раніше, ніж концентрація білірубину, визначення концентрації жовчних кислот зазвичай не дає корисної додаткової інформації при діагностиці розладів у собак і кішок. У випадках гіпербілірубінемії у коней вміст циркулюючих жовчних кислот у межах стандартного інтервалу або близько до нього свідчить про те, що

причиною швидше є відсутність апетиту, ніж холестатичне захворювання печінки.

Збільшення концентрації жовчних кислот у крові, вторинне у відношенні до захворювання печінки або портосистемного шунтування, супроводжується їхньою підвищеною екскрецією із сечею. У собак і кішок визначення в сечі співвідношення жовчні кислоти/креатинін є таким же чутливим тестом при діагностиці захворювань печінки, як і визначення жовчних кислот в сироватці крові.

Дослідження метаболізму і екскреції барвників і ксенобіотиків як засіб визначення функцій печінки

Довгий час для визначення функцій печінки використовували натрієву сіль сульфобромфталейну (бромсульфалеїн) та індоціанін зелений. Барвник вводили внутрішньовенно і визначали час його виведення з системної циркуляції. Згодом з'явилися точніші методи визначення активності ферментів печінки, тому ці барвники в клініці зараз не застосовують. Тести, засновані на вимірюванні кліренсу амінопурину, кофеїну або лідокаїну для визначення функціонуючого об'єму печінки, використовують з дослідницькою метою. Мічений за Карбоном амінопурин деметилується ферментною системою мікросом печінки з утворенням вуглецю двоокису, який можна визначати в повітрі, що видихається. Кофеїном є триметилксантин, який метаболізується в печінці оксидазною системою зі змішаною функцією. Здатність печінки до виведення кофеїну визначається шляхом вимірювання швидкості його видалення з периферичної крові. Лідокаїн, або аміноетиламін, метаболізується біотрансформуючою системою цитохрому P-450 печінки з утворенням моноетилгліцинексилідину. Визначають швидкість його появи в периферичній крові.

Оцінка результатів функціональних тестів печінки

Відхилення рівня ферментів печінки від норми служать показником захворювання печінки або відповіді гепатоцитів на стимуляцію кортикостероїдами чи іншими агентами, що індукують ферменти. Гепатобіліарне захворювання обумовлене або первинним ураженням печінки, або виникає як реакція на запалення інших органів. Ступінь і динаміка змін рівня тестованих ферментів печінки можуть служити показником гострого або хронічного процесу, переважно гепатоцелюлярного або холестатичного захворювання, однак рідко дають можливість поставити специфічний діагноз. Для з'ясування причини відхилення активності ферментів печінки від норми використовують ряд діагностичних підходів. При цьому враховують дані про схильність тварин різних порід до захворювань печінки або до виникнення вродженого портосистемного шунтування, відомості про застосування медикаментозних засобів, можливі позапечінкові захворювання, а також результати визначення рівня жовчних кислот у крові, методів візуалізації та мікроскопічного дослідження зразків печінки. Головне завдання мікроскопічного дослідження тканини печінки полягає в тому, щоб знайти клінічне пояснення виявленим гістоморфологічним змінам, що необхідне для вибору правильного лікування. В описі патології печінки необхідно дати загальну оцінку її лобулярної структури, відзначити присутність новоутворень, накопичення Купруму, запалення, фіброзу або дегенеративних змін, якщо такі мають місце, а також вказати тяжкість і поширеність мікроскопічних уражень. Специфічний діагноз часто вдається поставити у випадках пухлин і ліпідозу печінки у кішок, однак це важко зробити при запальних захворюваннях.

Список літератури

1. Andrews G.A. Red blood cell antigens and blood groups in the dog and cat. – Schalm's veterinary hematology, 5th ed. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins. – 2000. – 767-773 p.
2. Association between reactive oxygen species and diseases activity in chronic hepatitis C / N. De Maria, A. Colantoni, S. Fagluoli [et al.] //Free Radic. Biol. Med. – 1996. – Vol. 21(3). – P. 291–296.
3. Bacon B. R., Liver disease diagnosis and management / B.R. Bacon, A. M. Bisceglie. – Livingstone, 2000. – 481 p.
4. Berk P. D. Hepatic transporters, hepatic transport and its diseases / P.D. Berk, P. L. Jansen // Semin. Liver Dis. – 2000. – Vol. 20. – P. 247–408.
5. Clinical biochemistry of domestic animals / edited Jiro J. Kaneko – 4th ed. – Academic Press. – 1989. – 166-182 p.
6. Hagmann W. Reconstitution of transport-active multidrug resistance protein 2 (MRP2; ABCB2) in proteoliposomes / W. Hagmann, J. Shubert, J. König [et al.] // Biol. Chem. Hoppe Seyler – 2002. – Vol. 383. – P. 1001–1009.
7. Haloenol lactone is a new isozyme-selective and active site-directed inactivator of glutathione-S-transferase / J. Zheng, A.E. Mitchell, A.D. Jones [et al.] // J. Biol. Chem. – 1996. – V. 271, № 34. – P. 20421–20425.
8. Hematology: basic and practice. // ed. by R. Hoffman, E.J. Benz, S.J. Shattil [et al.]. – New York: Churchill Livingstone, 1995. – 2369 p.
9. Hood V.L., Tannen R.L. Protection of acid-base balance by pH regulation of acid production. N Engl J Med – 1998. – T. 339. – 819-826.
10. Humaloya K. Serum dolichols in chronic cholestatic liver diseases / K. Humaloya // J. Hepatol. – 1999. – Vol. 31, № 6 – P. 1014–1019.
11. Kullak-Ublick G. A. Enterohepatic bile salt transporters in normal physiology and liver diseases / G. A. Kullak-Ublick, B. Stieger, P. J. Meier // Gastroenterology. – 2004. – Vol. 126, № 1. – P. 322–342.

12. Li P. F. Oxidative modification of bovine erythrocyte superoxide dismutase by hydrogen peroxide and ascorbate Fe (III) / P. F. Li, Y. Z. Fang, X. Lu // *Biochem. Mol. Biol. Int.* – 1993. – Vol. 29, № 5. – P. 929–937.
13. Mechanisms of Hepatotoxicity / Jaeschke H., Gores G. J., Cederbaum A. I. [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2002. – Vol. 65, № 2. – P. 166–176.
14. Mitochondria in steatohepatitis / D. Pessayre, A. Berson, B. Fromenty [et al.] // *Semin. Liver Dis.* – 2001. – Vol. 21 (1). – P. 57–69.
15. Mosseley R. H. Liver and biliary tract / R. H. Mosseley // *Curr Opin Gastroenterol.* – 2003. – № 19. – C. 181–184.
16. Rault R.M. Hyponatremia associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med Sci* – 1993. – T. 305. – P. 318–320.
17. Regulation of sterol 27-hydroxylase (S27-H) and the acidic pathway of bile acid synthesis / Z. R. Vlahcevic, R. T. Stravitz, D. M. Heuman // XIV International Bile Acids Meeting. Bile Acids in Hepatobiliary Diseases – Basic Research and Clinical Application. Freiburg (Germany), 1996. – 11 p.
18. Reimann K.A., Knowlen G.G., Tvedten H.W. Factitious hyperkalemia in dogs with thrombocytosis. *J Vet Intern Med* – 1989. – T.3. – P 47–52.
19. Scalia S. Bile acid separation / S. Scalia // *J. Chromatography B: Biomedical applications.* – 1995. – Vol. 671, № 1–2. – P. 299–317.
20. Schiano T. D. Drug-induced and toxic liver disease. *Handbook of Liver Disease* / T. D. Schiano, M. Black. – Churchill Livingstone, 1998. – P. 103–123.
21. Sequential acetaldehyde production, lipid peroxidation and fibrogenesis in micropig model of alcohol-induced liver disease / O. Niemela, S. Parkkila, S. Yla-Herttuala [et al.] // *Hepatology* – 1995. – № 22. – P. 12–14.
22. Sielman E.S., Sweeney R.W., Whitlock R.H., et al: Hypokalemia syndrome in dairy cows: 10 cases (1992-1996). *J Am Vet Med Assoc* – 1997.-T. 210, P 240-243.
23. Suzuki H. Transport of drugs across the hepatic sinusoidal membrane Sinusoidal drug influx and efflux in the liver / H. Suzuki, Y. Sugijama // *Semin. Liver Dis.* – 2000. – Vol. 20. – P. 251–263.

24. Viarengo A. Possible role of Ca^{2+} in heavy metal cytotoxicity / A. Viarengo, P. Nicotera // *Compar. Biochem. and Biophys.* – 1991. – № 1–2. – P. 81–84, 100.
25. Vlahcevic Z. R. Prize Lecture: Studies of cholesterol degradative pathways in the rat. Bile acids in gastroenterology. basic and clinical advances / Z. R. Vlahcevic, Adolf Windaus. – London, 1995. – P. 85–109.
26. Акулинин В. Н. Влияние гепатопротектора ливенциале форте на клинично-сонографические показатели у больных с терапевтически резистентной шизофренией на фоне хронической патологии гепатобилиарной системы / В. Н. Акулинин, Г. С. Рачкаускас // *Укр. мед. Альманах.* – 2006. – Т. 9, № 6. – С. 13–19.
27. Алимова Е. К. Липиды и жирные кислоты в норме и при ряде патологических состояний / Алимова Е. К., Аствачатурян А. Т., Жаров Л. Е. – М.: Медицина, 1975. – 260 с.
28. Ангельські С. Клінічна біохімія / Ангельські С., Якубовські З., Домінічак М.; пер. з пол. – Сопот, 1998. – 451 с.
29. Ангельські С., Якубовські З., Домінічак М. Клінічна біохімія: Пер. з пол. – Сопот, 1998. – 451 с.
30. Афолина Г. Б. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ / Г. Б. Афолина, Л. А. Куюн. – К.: Нац. мед. ун-т, 2000. – 285 с.
31. Бабак О. Я. Лекарственные поражения печени: вопросы теории и практики / О. Я. Бабак // *Ліки України.* – 2008. – № 4. – С. 82–88.
32. Бабак О. Я. Синдром холестаза. Причины, механізми розвитку. Клінічні прояви та принципи лікування / О. Я. Бабак // *Сучасна гастроентерологія.* – 2003. – № 2. – С. 27 – 35.
33. Бабак О. Я. Хронические гепатиты / О. Я. Бабак. – Блиц-Принт, 1999. – 209 с.
34. Биохимия человека: в 2-х томах / [Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл]. – М. : Мир, 1993. – 384 с.

35. Болезни печени и желчевыводящих путей / [под ред. В. Т. Ивашкина]. – М.: Медицина, 2005. – 536 с.
36. Буеверов А. О. Лекарственные поражения печени / А. О. Буеверов // РМЖ. – 2001. – Т. 9, № 13–14. – С. 39–46.
37. Ветеринарна клінічна біохімія / [Левченко В. І., Влізло В. В., Кондрахін І. П. та ін.]; за ред. В. І. Левченка і В. Л. Галяса. – Біла Церква: БДАУ, 2002. – 400 с.
38. Ветеринарна клінічна біохімія: навч. посіб. [для студ. вищ. навч. зал.] / [Мельничук Д. О., Грищенко В. А., Томчук В. А. та ін.]; за ред. Д. О. Мельничука. – Київ: НУБіП України, 2009. – 310 с.
39. Визначення функціонально неактивних форм протромбіну для контролю ефективності лікування антикоагулянтами непрямой дії / Д. С. Королева, В. А. Деєв, С. І. Куповская [та ін.] // Лаб. діагностика. – 2009. – N 2 (48). – С. 3–12.
40. Використання екамуліну – активатора протромбіну з отрути ефі багатолускової в клінічній лабораторній діагностиці / Д. С. Королева, Р. П. Виноградова, Т. М. Чернищенко [та ін.] // Лаб. діагностика. – 2009. – N 3 (37). – С. 3–12.
41. Використання ліпосом на основі фосфоліпідів молока у гепатології / [Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, В. А. Томчук та ін.]: за ред. Д. О. Мельничука. – К.: НУБіП України, 2010. – 400 с.
42. Виноградова С. В. Молекулярно-генетические основы гепатотоксичности некоторых лекарственных препаратов / С. В. Виноградова, Н. А. Кравченко // Современные проблемы токсикологии. – 2007. – № 3. – С. 30–38.
43. Вільнорадикальне окислення ліпідів при хронічному токсичному гепатиті та шляхи його корекції: зб. наук. праць співроб. КМАПО ім. П. Л. Шупека. – К., 2000. – Вип. 9, кн. 4. – С. 143–146.

44. Владимиров Ю. А. Биологические мембраны и незапрограммированная смерть клетки / Ю. А. Владимиров // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 9. – С. 2–9.
45. Владимиров Ю.А. Биологические мембраны и патология клетки. // Природа. – 1987. – № 3. – С. 34 – 49.
46. Власова С. Н. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей / С. Н. Власова, Е. И. Шабунина, И. А. Переслегина // Лабораторное дело. – 1990. – № 8. – С. 19–22.
47. Влізло В. В. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / Влізло В. В., Федорук Р. С., Макар І. А. та ін. – Львів, 2004. – 399 с.
48. Головаха В. Гепато-гастроентеральний синдром у новонароджених телят / В. Головаха // Вет. медицина України. – 1996. – № 4. – С. 22–23.
49. Грин Н. Биология : [в 3 т.] / Грин Н., Стаут У., Тейлор Д.; под ред. Р. Сопера. – М.: Мир, 1990. – Т. 1. – 1990. – С. 124–141.
50. Грищенко В. А. Біохімічні показники сироватки крові при медикаментозному гепатиті шурів та їх зміни за різних способів корекції / В. А. Грищенко, О. М. Литвиненко // Наук. вісник Львівського національного ун-ту вет. мед. та біотехнологій ім. С.З. Гжицького – 2007. – Т. 9, № 3 (34). – С. 54–57.
51. Грищенко В. А. Вплив фосфоліпидовмісних препаратів на ліпідний спектр печінки шурів при медикаментозному гепатиті / В. А. Грищенко, О. М. Литвиненко // Науковий вісник Львівського національного університету вет. медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. – 2008. – Т. 10, № 2 (37), ч. 2. – С. 64–67.
52. Грищенко В. А. Жирнокислотний спектр плазми крові, кишечнику, печінки і нирок у перехворілих на диспепсію телят та спосіб його корекції / В. А. Грищенко // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79, № 3. – С. 86–92.

53. Грищенко В. А. Інтенсивність ліпопероксидації і стан антиоксидантної системи захисту в телят, перехворівших на диспепсію / В. А. Грищенко // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 76, № 5. – С. 102–106.
54. Грищенко В. А. Фосфоліпідний склад внутрішньої мітохондріальної мембрани ентероцитів тонкої кишки та гепатоцитів при дії на організм іонізуючої радіації та при застосуванні ліпосом / В. А. Грищенко, В. А. Томчук. – Біологія тварин. – 2011. – Т. 13, № 1–2. – С. 86–91.
55. Громашевская Л. Л. «Средние молекулы» как один из показателей «метаболической интоксикации» в организме / Л. Л. Громашевская // Лаб. диагностика. – 1997. – № 1. – С. 11–16.
56. Данчук В. В. Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці / Данчук В. В. – Кам'янець-Подільський: Абетка, 2006. – 189 с.
57. Довідник. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. – Львів: Інститут біології тварин УААН, 2004. – 399 с.
58. Зупанец І. А. К характеристике гастротоксического действия нестероидных противовоспалительных средств – неселективных, селективных и специфических ингибиторов ЦОГ-2 / И. А. Зупанец, Е. А. Андреева // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 2 (22). – С. 39–43.
59. Ивков В. Г. Липидный бислой биологических мембран / Г. Ивков, Г. Н. Берестовский – М.: Наука, 1982. – 326 с.
60. Использование гепатопротекторов в лечении фульминантной печеночной недостаточности: методические рекомендации / [В. И. Черний, С. Г. Тюменцева, И. В. Кузнецова и др.]. – К., 2005. – С. 27.
61. Калачнюк Л. Г. Регуляція метаболізму жирних кислот та інших ліпідних сполук у жуйних тварин / Л. Г. Калачнюк, Д. О. Мельничук, Г. І. Калачнюк // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79, № 1. – С. 22–45.

62. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностик / Камышников В. С. – [в 2-х т.]. – Минск: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с; Т. 2. – 463 с.
63. Климов А. Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения: [руководство для врачей] / А. Н. Климов, Н. Г. Никульчева. – [3-е изд. перераб. и дополн.]. – С.-Петербург, 1999. – 504 с.
64. Клиническая гастроэнтерология / [под ред. Н.В. Харченко]. – К.: Здоров'я, 2000. – 448 с.
65. Клінічна біохімія : навч. посіб. [для студ. вищ. навч. зал.] / [О.П. Тимошенко, Л. М. Вороніна, В. М. Кравченко та ін.]; за ред. О.П. Тимошенко. – [2-е вид.]. – Київ: ВД «Професіонал», 2005. – 288 с.
66. Клінічна оцінка біохімічних показників при захворюваннях внутрішніх органів / [Передерій В. Г., Хмелевський Ю. В., Конопльова Л. Ф. [та ін.]. – К.: Здоров'я, 1993. – 192 с.
67. Коломієць М. Ю. Стан вільнорадикального окислення ліпідів та протирадикальних захисних систем при токсичних ураженнях печінки / М. Ю. Коломієць, Е. І. Шоріков // Врacheб. практ. – 1998. – № 2 – 3. – С. 18-20.
68. Коновалова Н. Ю. Курс лекцій по біохимии липидов / Коновалова Н. Ю. – Витебск, 1996. – 128 с.
69. Корда М. М. Порушення окислювальних процесів і захисних систем організму за гострого хімічного ураження печінки та шляхи їх корекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук: спец. 14.03.04 "Пат. фізіологія" / М. М. Корда. – Одеса, 1998. – 35 с.
70. Кузнецов В. И. Структурные и функциональные характеристики биомембран у больных острым гепатитом В / В. И. Кузнецов, Н. Д. Ющук, В. В. Моррисон // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2004. – Т. XIV, № 4. – С. 49–53.
71. Кунц Э. «Эссенциальные» фосфолипиды в гепатологии (экспериментальный и клинический опыт) / Э. Кунц, К.-Й. Гундерманн, Э. Шнайдер // Терапевт. архив – 1994. – Т. 66, № 2. – С. 66–72.

72. Кухта В. К. Белки плазмы крови: патохимия и клиническое значение: справочник / Кухта В. К., Олецкий Э. И., Стожаров А. Н. – Минск.: Беларусь, 1986. – С. 57–59.
73. Кушнерева Н. Ф. Влияние стресса на состояние липидного и углеводного обмена печени. Профилактика / Н. Ф. Кушнерева, В. Г. Спрыгин, С. Е. Фоменко // Гигиена и санитария. – 2005. – № 5. – С. 17–21.
74. Левченко В. І. Порівняльна ефективність силібору та есенціале при лікуванні собак, хворих на токсичну гепатодистрофію / В.І. Левченко, Л. М. Соловійова // Вісник Дніпропетровського державного аграрного ун-ту. – 2006. – № 1. – С. 652–657.
75. Лейшнер У. Практическое руководство по заболеваниям желчных путей / У. Лейшнер. – М.: Гэотар-Мед, 2001. – С. 10–25.
76. Логинов А. С., Клиническое значение ферментной системы утилизации активных форм кислорода при хронических заболеваниях печени / А. С. Логвинов, Б. Н. Матюшин // Терап. арх. – 1994. – Т. 66, № 4. – С. 65–68.
77. Мазуркевич А. Й. Фізіологія тварин / Мазуркевич А. Й., Карповський В. І., Камбур М. Д. та ін. – Вінниця: Нова книга, 2010. – 418 с.
78. Майер К. П. Гепатит и последствия гепатита / Майер К. П. – М.: Медицина, 1999. – 423 с.
79. Малкович Н. М. Патогенетичний спосіб корекції порушень глутатіонової антиоксидантної системи печінки за умов лікування експериментального остеартрозу / Н. М. Малкович // Буковинський мед. вісник. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 158–160.
80. Матюшин Б. Н. Цитохром Р 450 зависимое гидроксирование и активность глутатионзависимых ферментов печени при ее хроническом поражении / Б. Н. Матюшин, А. С. Логвинов, В. Д. Ткачев // Вопр. мед. химии. – 1997. – Т. 43, № 4. – С. 256–259.
81. Медведев Ю. В. Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма / Ю. В. Медведев, А. Д. Толстой. – М.: Терра-Календер и Промоушн, 2000. – 232 с.

82. Мейер Д. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика / Мейер Д., Харви Дж.; [пер. с англ.]. – М.: Софион, 2007. – 456 с.
83. Мейер Д., Харви Дж. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ.- М.: Софион. – 2007. – 465 с.
84. Мельничук Д. О. Показники ліпідного і фосфоліпідного спектрів плазми крові за репаративної терапії при неонатальній ентеропатології телят / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко // Укр. біохім. журн. – 2005. – Т. 77, № 1. – С. 89–95.
85. Мельничук Д.А. Метаболическая система кислотно-щелочного гомеостаза в организме человека и животных // Укр. биохим. журн. – 1989. – т. 61, №3. – С. 3 – 21.
86. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / [И. П. Кондрахин, А. В. Архипов, В. И. Левченко и др.]; под ред. проф. И. П. Кондрахина. – М.: «КолосС», 2004. – 520 с.
87. Минушкин О. Н. Опыт терапии заболеваний печени эссенциальными фосфолипидами / О. Н. Минушкин // Consilium medicum. – 2001. – Экстра выпуск. – С. 9–11.
88. Моделювання медикаментозного гепатиту в лабораторних щурів: матеріали IV міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів [“Молодь і поступ біології”] (Львів, 7–10 квітня 2008 р.) / О. М. Литвиненко, В. А. Грищенко. – Львів, 2008. – С. 432–433.
89. Моисеев С. В. Лекарственная гепатотоксичность / С. В. Моисеев // Клиническая фармакология и терапия. – 2005. – 14(1). – С. 10–14.
90. Молекулярні ізоформи та активність лактатдегідрогенази у субструктурах клітини за дії екзогенних факторів / Л. Г. Калачнюк, І. М. Басараб, Д. О. Мельничук [та ін.] // Біологія тварин – 2011. – Т. 13, № 1–2. – С. 103–108.
91. Мохов В. М. Жирнокислотный состав липидов печени при хронических гепатитах, циррозах печени и жировом гепатозе / В. М. Мохов, Ю. А. Блюдзин // Вопросы мед. химии. – 1987. – № 3. – С. 38–42.

92. Никитин Ю. П. Печень и липидный обмен / Ю. П. Никитин, Г. С. Курилович. – Новосибирск: Наука, 1985. – С. 86–93.
93. Особенности лекарственных и вирусно-лекарственных поражений печени / А. И. Хазанов, О. Н. Румянцев, А. В. Калинин [и др.] // Клинический вестник. – 2000. – № 1. – С. 25–29.
94. Особливості стану глутатіонової системи печінки щурів з гострим експериментальним перитонітом за умов дії гіпербаричної оксигенації та даларгіну / А. І. Ковтун, І. Ф. Мешишен, В. М. Коновчук [та ін.] // Буковинський мед. вісник. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 126–128.
95. Оценка холестаза по активности антиоксидантных ферментов и составу липопротеидов плазмы крови больных с патологией печени / А. С. Логинов, Б. Н. Матюшин, С. М. Чебанов [и др.] // Терап. арх. – 1998. – Т. 7, № 4. – С. 40–42.
96. Оцінка протеїн-синтезуючої функції печінки за експериментального гепатиту / В. А. Грищенко, В. А. Томчук, О. М. Литвиненко [та ін.] // Укр. біол. журн. – 2011. – Т. 82, № 1. – С. 63–68.
97. Паламарчук О. В. Особливості морфофункціональних змін печінки щурів під впливом парацетамолу і алілового спирту та в умовах застосування антиоксидантів: автореф. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 14.03.01 "Нормальна анатомія" / О. В. Паламарчук. – Тернопіль, 2003. – 20 с.
98. Патологія клітинних мембран та її корекція засобами репаративної терапії: [методичні вказівки до розділу "Патохімія клітинних мембран" дисципліни "Клінічна біохімія" для ОКР "Магістр"] / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, В. І. Цвіліховський, В. А. Томчук. – К.: НАУ, 2005. – 32 с.
99. Пехіменко Г. В. Фізико-хімічні характеристики сироваткового альбуміну у деяких представників тваринного світу / Г. В. Пехіменко, Т. М. Кучмеровська // Біологія тварин. – 2011. – Т. 13, № 1–2 – С. 147–155.
100. Подымова С. Д. Болезни печени / С. Д. Подымова – М.: Медицина, 1993. – 544 с.

101. Рекомендації з терапії і профілактики шлунково-кишкових хвороб у новонароджених та молодняку тварин: [рекомендації для сільськогосподарських підприємств України та практичних фахівців ветеринарної медицини] / Цвіліховський М. І., Береза В. І., Грищенко В. А. [та ін.]. – К. : НАУ, 2004. – 39 с.
102. Розповсюдження та основні напрями лікування хвороб травного каналу у новонароджених і молодняку тварин / М. І. Цвіліховський, В. Береза, О. М. Якимчук [та ін.] // Наук. праці Одеського державного аграрного університету: Забезпечення ветеринарно-санітарного благополуччя тваринництва, якості і безпеки продукції. – 2004. – Ч. II. – С. 7–11.
103. Сердюков Я. К. Патолого-анатомічні та гістологічні зміни в печінці щурів за медикаментозного гепатиту / Я. К. Сердюков, О. М. Литвиненко, В. А. Грищенко // Современные проблемы токсикологии. – 2008. – № 2 – С. 63–65.
104. Скворцов В.В. Пероксидация липидов и антиоксидантная система в гепатологии / В. В. Скворцов // Гепатология. – 2003. – № 3. – С 7–13.
105. Совалкин В. И. Цитокиновые механизмы в формировании воспалительных заболеваний печени / В. И. Совалкин, Г. Р. Бикбавова, Н. А. Жуков [и др.] // Гепатология. – 2005. – № 1. – С. 4–7.
106. Супероксиддисмутаза – перспективный гепатопротектор / С. М. Дроговоз, В. В. Слышков, Т. Ф. Сарбаш [и др.] // Эксперим. и клинич. фармак. – 1993. – Т. 56. № 4. – С. 51–52.
107. Томчук В. А. Коригування ліпідного складу внутрішньої мембрани мітохондрій епітеліоцитів тонкої кишки та печінки при дії кадмію на організм щурів / В. А. Томчук, В. А. Грищенко, С. В. Хижняк. – 2011. – Т. 13, № 1–2. – С. 176–181.
108. Томчук В. А. Природа та склад жирних кислот ліпідів крові новонароджених телят при диспепсії / В. А. Томчук, Д. О. Мельничук // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т.75, № 1. – С. 72–77.

109. Ферментний сенсор для визначення триацилгліцеролів / С. П. Івашкевич, В. М. Стародуб, А. В. Ребрієв [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т. 72, № 6. – С. 88–91.
110. Харченко Н. В. Актуальные вопросы хронических заболеваний печени / Харченко Н. В. – К., 2004. – 124 с.
111. Харченко Н. В. Вільнорадикальне окислення та стан антиоксидантного захисту у хворих на хронічні гепатити / Н. В. Харченко. – Дніпропетровськ, 2001. – [вип. 32]. – С. 504–509.
112. Цвіліховський М. І. Лікувально-реабілітаційні заходи при шлунково-кишкових розладах травлення у телят / М. І. Цвіліховський, В. А. Грищенко, В. І. Береза // Ветеринарна медицина України. – 2003. – № 11. – С. 26–27.
113. Шахова Е. Г. Влияние флавоноидов на содержание липидов в изолированных гепатоцитах крыс разного возраста / Е. Г. Шахова, Н. А. Бабенко // Буковинський мед. вісник. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 259–261.
114. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей: практическое руководство [для врачей] / Ш. Шерлок, Дули Дж. – М.: Гэотар-Мед, 1999. – С. 29–32, 250 – 255, 275–280, 440–470.
115. Щербиніна М. Б. Функціональний холестазаз як провідний фактор формування гепатобіліарної патології та можливості його медикаментозної корекції: методичні рекомендації / М. Б. Щербиніна, О. В. Закревська. – К., 2006. – 21 с.
116. Яковенко Э. П. Хронические заболевания печени: диагностика и лечение / Э. П. Яковенко, П. Я. Григорьев // Рус. мед. журн. – 2003. – Т. 11, № 5. – С. 91–96.