

УДК: 616.36-07:619

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.200

ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ПОМОЩЬЮ КЛИРЕНСА КОФЕИНА, НА ПРИМЕРЕ ЖИРОВОГО ГЕПАТОЗА

Попова О. С.* – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-0650-0837)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

* alef_z@mail.ru

Ключевые слова: жировой гепатоз, крупный рогатый скот, фармакокинетика, клиренс-тесты

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00011, <https://rscf.ru/project/23-26-00011>

Поступила: 25.10.2024

Принята к публикации: 02.12.2024

Опубликована онлайн: 16.12.2024



РЕФЕРАТ

Печеночная элиминация является функцией взаимодействия между различными процессами, такими как синусоидальное поглощение, внутриклеточный метаболизм, каналикулярная (билиарная) секреция и синусоидальный отток. Целью нашего исследования было изучить взаимосвязь клинического состояния крупного рогатого скота с подтвержденным диагнозом жировой гепатоз, и метаболизмом кофеина-бензоата натрия. Исследования проведены в хозяйстве Псковской области, объектом исследования были голштинизированные коровы, у которых была проведена диспансеризация, по результатам которой были отобраны животные с жировым гепатозом. Опытным животным однократно вводился стерильный раствор кофеин-натрия бензоата (ООО «Мосагроген», Россия) в дозировке 5 мг/кг (согласно инструкции и отработанным ранее методикам). Группе контроля, здоровым животным, инъекцировали такой же лекарственный препарат в аналогичной дозировке. Спустя 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18 и 24 часа у подопытных животных отбирали кровь путём венепункции яремной вены, после чего уровни кофеина определяли методом иммуноферментного анализа по методике и с использованием тест-системы ИФА-Кофеин (производитель Gold Standard Diagnostics, США) на стриповом ИФА-анализаторе Stat Fax 4700 (США). Корреляционная модель диагностики патологий гепатобилиарной системы на основе клиренса кофеина исследовалась с помощью выявления коэффициентов корреляции (Спирмена и Пирсона). При нормальной функции печени кофеин элиминируется в ожидаемые сроки, однако при наличии патологий, наблюдается задержка («плато») в выводе вещества. На основании анализа полученных данных можно создавать прогностические модели, позволяющие ветеринарным специалистам не только диагностировать, но и формировать представление о течении заболеваний.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Гепатобилиарные заболевания включают в себя гетерогенную группу заболеваний печени и желчевыводящей системы, вызванных как инфекционными заболеваниями, так и неинфекционными заболеваниями, включая нарушения, вызванные эндотоксикозом, химическими веществами, неправильным кормлением, а также метаболическими нарушениями и сердечной недостаточностью.

Жировой гепатоз одно из часто встречающихся заболеваний у крупного рогатого скота. Печеночная элиминация является функцией взаимодействия между различными процессами, такими как синусоидальное поглощение, внутриклеточный метаболизм, каналикулярная (билиарная) секреция и синусоидальный отток.

Корреляционная модель диагностики патологий гепатобилиарной системы на основе клиренса кофеина представляет собой инновационное решение, позволяющее более точно выявлять нарушения в работе печени и желчного пузыря [1,2]. Методика включает определение клиренса кофеина с помощью пробы, основанной на его внутривенном введении и последующем анализе крови. В этом случае метаболизируемый экзогенный кофеин играет роль маркера по оценке состояния гепатобилиарной системы.

Поэтому целью нашего исследования было изучить взаимосвязь клинического состояния крупного рогатого скота с подтвержденным диагнозом жировой гепатоз, и метаболизмом кофеина-бензоата натрия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проведены в хозяйстве Псковской области, объектом исследования были голштинизированные коровы, у которых была проведена диспансеризация, по результатам которой были отобраны животные с жировым гепатозом. Далее по принципу пар аналогов, была сформирована подопытная (n=20) и интактная (n=20) группы, состоящие из разнополых животных. Опытным животным

однократно вводился стерильный раствор кофеин-натрия бензоата (ООО «Мосагроген», Россия) в дозировке 5 мг/кг (согласно инструкции и отработанным ранее методикам), как наиболее репрезентативной в клиническом отношении [3]. Группе контроля, здоровым животным, инъектировали такой же лекарственный препарат в аналогичной дозировке.

Спустя 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18 и 24 часа у подопытных животных отбирали кровь путём венепункции яремной вены, после чего уровни кофеина определяли методом иммуноферментного анализа по методике и с использованием тест-системы ИФА-Кофеин (производитель Gold Standard Diagnostics, США) на стриповом ИФА-анализаторе Stat Fax 4700 (США). Корреляционная модель диагностики патологий гепатобилиарной системы на основе клиренса кофеина исследовалась с помощью выявления коэффициентов корреляции (Спирмена и Пирсона) [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Диагноз жировой гепатоз был поставлен на основании биохимических исследований, у коров наблюдали общее угнетение, гипотонию рубца, тусклый и ломкий шерстный покров. В лабораторных исследованиях особое внимание уделяли печеночным показателям: АсАт, АлАт, Общий билирубин, соотношение активности сывороточных АСТ и АЛТ. Данные представлены в таблице 1. Так же проводили исследования по оценке уровня эндогенной интоксикации по концентрации МСМ, а уровень процессов перекисного окисления по МДА [5].

Концентрация молекул средней массы 257, усл.ед составила $0,354 \pm 0,010$ для животных с жировым гепатозом, и $0,157 \pm 0,002$ для здоровых животных, соответственно МДА составил $1,72 \pm 0,13$ и $1,15 \pm 0,14$

Сравнительный анализ полученных данных с нормами, установленными для здоровых животных, позволяет выявить изменения и провести корреляцию между показателями крови и состоянием организма, на уроне метаболизма кофеина,

Исследования подразумевают построение графиков элиминации кофеина, взятых у пациентов с различными заболеваниями гепатобилиарной системы. Эти графики служат основой для вычисления коэффициента клиренса, который отражает способность печени метаболизировать и выводить кофеин. Коэффициент корреляции Спирмена применялся для изучения не линейных зависимостей, тогда как коэффициент Пирсона использовался для определения линейных отношений между переменными [6]. Полученные данные по

элиминации кофеина представлены в таблице 2.

Полученные данные могут указывать на наличие хронических заболеваний печени, таких как воспалительные и дегенеративные, а также на дисфункцию желчного пузыря. Важно отметить, что такая корреляционная модель может быть дополнительно откалибрована путем учета индивидуальных особенностей животного, включая возраст и сопутствующие заболевания [6].

Таблица 1 – Релевантные показатели крови крупного рогатого скота в начале эксперимента

Показатель	Группа 1, контрольная	Группа 2, подопытная
Общий белок, г/л	85,6±1,96	72,6±4,25
АсАт, Ед/л	86,3±4,12	110,3±4,68
АлАт, Ед/л	23,7±3,20	35,3±2,14
Общий билирубин, мкмоль/л	5,47±0,59	9,12±0,74
Мочевина, ммоль/л	4,53±0,47	3,24±0,36

Примечание: степень достоверности * $p \leq 0,05$.

Таблица 2 – Концентрация кофеина у подопытных животных и основные фармакокинетические параметры

Т после введения / пол животных	Концентрация кофеина (в мкг/мл ⁻¹)		Общий плазменный клиренс (мл/мин ⁻¹ /кг ⁻¹)		Среднее время пребывания (ч)		Объем распределения (л/кг ⁻¹)	
	Подопытная группа (n=20)	Контрольная группа (n=20)	Подопытная группа (n=20)	Контрольная группа (n=20)	Подопытная группа (n=20)	Контрольная группа (n=20)	Подопытная группа (n=20)	Контрольная группа (n=20)
1 час	7,20±0,54	7,35±0,05	2,32±0,05	1,52±0,09	6,70±0,22	5,5±0,09	0,442±0,06	32±0,05
2 часа	6,23±0,27	6,28±0,98						
3 часа	5,48±0,36	5,78±0,68						
4 часа	4,78±0,34	4,69±0,58						
5 часов	3,86±0,49	3,98±0,53						
6 часов	3,30±0,24	3,25±0,42						
8 часов	2,84±0,20	2,91±0,57						
10 часов	2,53±0,64	2,46±0,24						
12 часов	1,78±0,27	1,73±0,31						
18 часов	1,23±0,09	0,81±0,23						
24 часа	0,52±0,54	0,37±0,36						

* достоверное отличие между ♂ и ♀ ($p < 0,05$).

При нормальной функции печени кофеин элиминируется в ожидаемые сроки, однако при наличии патологий, наблюдается задержка («плато») в выводе вещества. На основании анализа полученных данных можно создавать прогностические модели, позволяющие ветеринарным специалистам не только диагностировать, но и предсказывать течение заболеваний. Данный метод улучшает персонализированный подход в ходе лечения, позволяя адаптировать терапию в зависимости от индивидуальных особенностей животного.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Анализ показал, что снижение клиренса кофеина (в среднем, на 7-11% для «хронических» и 32-38% для «острых» патологий) коррелировало с ухудшением функционального состояния печени (определяемых по классическим клинико-биохимическим параметрам).

Данные о клиренсе кофеина у различных видов могут стать основой для индивидуализированных схем диагностики, позволяя более точно выявлять патологические изменения и оптимизировать стратегии лечения. Использование этой модели в ветеринарной практике может значительно улучшить качество диагностики и повысить эффективность лечебных вмешательств.

DIAGNOSTICS OF LIVER DISEASES IN CATTLE USING CAFFEINE CLEARANCE, WITH FATTY HEPATOSIS AS AN EXAMPLE

Popova O.S. * – Associate Professor, Ph.D. of Veterinary Science, Department of Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-0650-0837)

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

* alef_z@mail.ru

Financing: The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-26-00011, <https://rscf.ru/project/23-26-00011>.

ABSTRACT

Hepatic elimination is a function of interactions between various processes, such as sinusoidal absorption, intracellular metabolism, canalicular (biliary) secretion and sinusoidal outflow. The aim of our study was to investigate the relationship between the clinical condition of cattle with a confirmed diagnosis of fatty hepatosis and the metabolism of sodium caffeine benzoate. The studies were conducted on a farm in the Pskov region; the object of the study was Holsteinized cows, which underwent a medical examination, according to the results of which animals with fatty hepatosis were selected. The experimental animals were injected once with a sterile solution of sodium caffeine benzoate (ООО Мосагроген, Russia) at a dosage of 5 mg / kg (according to the instructions and previously developed methods). The control group, healthy animals, were injected with the same drug in a similar dosage. After 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 18 and 24 hours, blood was collected from the experimental animals by venipuncture of the jugular vein, after which caffeine levels were determined by the enzyme immunoassay method using the ELISA-Caffeine test system (manufacturer Gold Standard Diagnostics, USA) on a Stat Fax 4700 strip ELISA analyzer (USA). The correlation model for diagnosing hepatobiliary pathologies based on caffeine clearance was studied by identifying correlation coefficients (Spearman and Pearson). With normal liver function, caffeine is eliminated within the expected time frame, but in the presence of pathologies, a delay ("plateau") in the elimination of the substance is observed. Based on the analysis of the data obtained, it is possible to create prognostic models that allow veterinary specialists not only to diagnose, but also to form an idea of the course of diseases.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Количественная оценка функции печени методом клиренс-теста с индоцианином зеленым / И. И. Дзидзава, Б. Н. Котив, Д. П. Кашкин [и др.] // Трансплантология. – 2010. – № 1. – С. 30-37

2. Modern Methods for Assessing the Regenerative Potential of the Liver after Partial Hepatectomy (Review) / S. A. Rodimova, D. S. Kuznetsova, N. V. Bobrov [et al.] // Modern Technologies in Medicine. – 2019. – Vol. 11, No. 4. – P. 175-190
3. Janus, K., Antoszek, J. The effect of sex and age on caffeine pharmacokinetics in cattle. Research in Veterinary Science. – 2000. – № 69(1), p.33–37
4. Лукьянова, Е. А. Биостатистика. Планирование исследований. Описание данных / Е. А. Лукьянова, Т. В. Ляпунова, Е. М. Шимкевич. – Москва: Российский университет дружбы народов (РУДН), 2020. – 32 с. – ISBN 978-5-209-10559-6.
5. Алехин Ю. Н. Влияние метода отбора крови на риск механического гемолиза эритроцитов у телят здоровых и с синдромом эндогенной интоксикации / Ю. Н. Алехин, М. С. Жуков, Г. В. Никоненко // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 1. – С. 110-116.
6. Проблемы химико-аналитических лабораторий при исследовании фармакокинетики лекарственных средств / Е. И. Савельева, Т. И. Алюшина, Г. В. Каракашев, А. С. Радилов // Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии: сборник тезисов докладов пятой Междисциплинарной конференции, Судак, 15–18 сентября 2019 года. – Судак: Издательство "Перо", 2019. – С. 78.
7. Павлова, К. В. Применение коэффициента ранговой корреляции Спирмена в статистических исследованиях / К. В. Павлова // Наука УИС. – 2023. – Т. 3, № 3 (3). – С. 28-32.
- by the indocyanine green clearance test / I. I. Dzidzava, B. N. Kotiv, D. P. Kashkin [et al.] // Transplantology. – 2010. – No. 1. – P. 30-37
2. Modern Methods for Assessing the Regenerative Potential of the Liver after Partial Hepatectomy (Review) / S. A. Rodimova, D. S. Kuznetsova, N. V. Bobrov [et al.] // Modern Technologies in Medicine. – 2019. – Vol. 11, No. 4. – P. 175-190
3. Janus, K., Antoszek, J. The effect of sex and age on caffeine pharmacokinetics in cattle. Research in Veterinary Science. – 2000. – № 69(1), p.33–37
4. Lukyanova, EA Biostatistics. Research planning. Data description / EA Lukyanova, TV Lyapunova, EM Shimkevich. – Moscow: Peoples' Friendship University of Russia (RUDN), 2020. – 32 p. – ISBN 978-5-209-10559-6.
5. Alekhine Yu. N. Effect of blood sampling method on the risk of mechanical hemolysis of erythrocytes in healthy calves and those with endogenous intoxication syndrome / Yu. N. Alekhine, MS Zhukov, GV Nikonenko // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2022. – No. 1. – P. 110-116.
6. Problems of chemical analytical laboratories in the study of drug pharmacokinetics / E. I. Savelyeva, T. I. Alyushina, G. V. Karakashev, A. S. Radilov // Molecular and biological aspects of chemistry, pharmaceuticals and pharmacology: collection of abstracts of reports of the fifth Interdisciplinary Conference, Sudak, September 15-18, 2019. - Sudak: Pero Publishing House, 2019. - P. 78.
7. Pavlova, K. V. Application of Spearman's rank correlation coefficient in statistical studies / K. V. Pavlova // Science UIS. - 2023. - Vol. 3, No. 3 (3). - P. 28-32.

REFERENCES

1. Quantitative assessment of liver function