

**Latvijas Republikas Zemkopības ministrijas
Lauku Atbalsta dienests**

Līgums Nr.170 603 / S 119

**GOVJU SPONGIOZĀS ENCEFALOPĀTIJAS
NACIONĀLĀ ZINĀTNISKĀS IZPĒTES PROGRAMMA**

**Uzdevums: Izpētīt liellopu zarnu sienu morfofunkcionālās
izmaiņas un to iespējamo saistību ar govju
spongiozo encefalopātiju**

Izpildes laiks: 2003.g. jūnijs – 2003.g. decembris

Darba vadītājs: Dr.habil.agr., Dr.med.vet.

Aleksandrs Jemeljanovs

Sigulda 2003

SATURA RĀDĪTĀJS

1. Tēmas pamatojums.....	3.lpp.
2. Materiāls un metodes.....	6.lpp.
3. Rezultāti.....	7.lpp.
4. Diskusija.....	14.lpp.
5. Secinājumi.....	17.lpp.
6. Priekšlikums	18.lpp.
7. Izmantotā literatūra.....	19.lpp.

1. TĒMAS PAMATOJUMS

Govju spongiozā encefalopātija (GSE) joprojām ir problēma Eiropas liellopu ganāmpulkos. Slimība pietuvojusies arī Latvijai : Somijā GSE apstiprināta 2001.gadā, bet Vācijā un Polijā – 2003. gadā. Lai novērstu iespējamu slimības izcelsmi valstī, Latvijā izstrādāta Nacionālā aizsardzības programma. Valstī attiecībā uz GSE ieviesta stingra liellopu kautķermeņu kontrole, kā arī finansējuma iespēju robežās – zinātniskie pētījumi.

Kā liecina mūsu iepriekšējos gados veiktie pētījumi, novērtējot slimības iespējamās izcelsmes risku (A.Jemeljanovs, 2002), GSE iespējamā izcelsme tomēr pastāv, tādēļ gan veterinārajiem speciālistiem, gan dzīvnieku īpašniekiem, kopējiem jābūt sagatavotiem izpildīt visus ar slimības uzraudzību saistītos pasākumus, kā arī atpazīt slimības klīniskās izpausmes.

Tā kā epizootiskā situācija attiecībā uz GSE Latvijā ir saspringta, tādēļ arī zinātniskie pētījumi saistībā ar slimību, - pamatoti.

Slimības skartajās Eiropas valstīs, gan valstīs, kurās pastāv tās izcelsmes risks, izstrādāta stingra uzraudzības un kontroles sistēma, kas balstās uz vienotiem diagnostikas testiem, taču vēl daudz neskaidrību par pašu ierosinātāju – patogēno prionu, nav skaidra arī slimības etiopatogēnēze. Īpatnēji, ka iekļuvus organismā tas organisma audos neizvietojas vienmērīgi. Izpētīts, ka liellopu saslimšanas gadījumos slimības ierosinātājs visvairāk atrodams centrālajā nervu sistēmā (galvas un muguras smadzenēs), kur arī konstatējamas raksturīgas izmaiņas. Tādēļ arī patreizējie ZC “Sigra” pētījumi saistīti ar liellopu smadzeņu glijas histoloģiskiem un imunohistoloģiskiem pētījumiem, lai veidotu liellopu smadzeņu audu datu bāzi gan normā, gan patoloģijā, kas būtu salīdzinošs materiāls iespējamās GSE izcelsmes gadījumos diagnozes noteikšanai.

Pētnieki atzīmē ierosinātāja koncentrēšanos arī tievo zarnu gļotādā. Orāli inficējot dzīvniekus ar patogēnajiem prioniem, eksperimenti pierādīja, ka patogēnie prioni ātri konstatējami zarnu sienīņu limfatiskajos veidojumos – Peijera platēs (T.Maignica et al., 1999) un zarnu inervējošā nervu sistēmā (M.Beekes, P.A.Mc Bride, 2000).

Ņemot vērā, ka gremošanas trakts var būt patogēnam prionam vārti iekļūšanai dzīvnieku organismā, daudzu valstu zinātnieki ar imūnohistoķīmijas metodēm un elektronmikroskopiju strādā pie patoloģisko pazīmju izpētes zarnu sienu šūnās (Eiropas Savienības (ES) projekts 1937; Dr.Martin Jeffrey, Dr Mation Simmons, Weybridge). Šūnu līmeņa pētījumi zarnu traktā varētu atklāt izmaiņas, kas veicina ierosinātāja iekļūšanu govju organismā, kā arī atklātu limforetikulāro audu un nervu perifērās sistēmas iespējamās izmaiņas, kā arī saistību, kas veicina patogēna priona akumulāciju tievo zarnu gļotādā. Pētījumi varētu arī palīdzēt izprast GSE ierosinātāja izplatības gaitu organismā, kas svarīgi slimības iespējamās izcelsmes kontrolē un profilaksē.

Mūsu republikā no nelipīgajām slimībām liellopiem aktuālas ir vielu maiņas slimības, tai skaitā ketoze. Patoloģiskās izmaiņas, ko ketoze rada gremošanas traktā, iespējams varētu būt par veicinošu cēloni GSE izcelsmei, kas pēc gadiem klīniski izpaustos kā nervu sistēmas darbības traucējumi, ko radījis centrālās nervu sistēmas veidojošo uzbūves struktūru sabrukums, un, pielietojot histoķīmiskās un imūnohistoķīmiskās audu izpētes metodes, vizualizējas kā tukšumi tajos. GSE izcelsmes iespējas saistība ar ketozes patogenēzi, tās radītajām morfofunkcionālajām izmaiņām gremošanas traktā – šīs ķēdes izpēte ir aktuāla, jo līdz šim nav pētīta.

Latvijas zemnieku saimniecībās govīm, īpaši augstražīgām govīm, kurām ir spraiga vielu maiņa, bieži vien nav nodrošināti optimāli ēdināšanas un turēšanas apstākļi (T.Jilg et al., 1997; M.Pilmane u.c., 2001). Tādēļ joprojām aktuāli ir vielu maiņas traucējumi, starp kuriem ketoze ieņem vienu no pirmajām vietām citu saslimšanu vidū un parasti vērojama laktācijas pirmajos mēnešos (L.K.Rasmussen et al., 1999; T.Rukkwamsuk et al., 2000; P.Fleisher et al., 2001).

Ketozī raksturo izteikti traucējumi intermediārajā vielu maiņā (T.R.Smith et al., 1997; P.Ciaramella and G.Oliva, 1998; E.Zucca and E.Ferro, 2000), kas saistīti ar ketonvielu pastiprinātu veidošanos un izdalīšanos no organisma .

Liellopu ketožu izpētei, ārstēšanai un profilaksei svarīgi noskaidrot mikroskopiskās izmaiņas dzīvnieka organismā (M.Pilmane u.c., 2001; M.Pilmane et al., 2002). Pēc literatūras datiem visvairāk pētīšanai izmanto histoloģiskās metodes un gaismas un elektronmikroskopu. Visraksturīgākās pārmaiņas gan akūtās, gan hroniskās ketozes stadijās atrodamas iekšējos orgānos: aknas skar aknu taukainā infiltrācija un/vai taukainā deģenerācija, deģeneratīvas pārmaiņas atrod sirdī, nierēs,

olnīcās (J.Vētra un K.Ķaune, 1998). Hroniskos gadījumos konstatējama pat atsevišķu orgānu atrofija, piemēram, vairogdziedzera.

Greimošanas traktā ketožu gadījumos klīniski konstatēta izteikta priekškuņģu atonija (T.Andrews, 1998; G.Burgstaller, 1998). Orgānā atrodamas sausas barības masas. Glumeniekā, tievajās un resnajās zarnās vērojams neliels gļotādas pietūkums un asinsvadu pilnasinība. Nereti zarnās atrodams subakūts katarāls iekaisums. Patoloģiskās izmaiņas greimošanas traktā varētu radīt patogēno prionu, GSE izraisītāju, iespējamu iekļūšanu dzīvnieka organismā. Pēc pārslimošanas greimošanas traktā izteiktas redzamas pārmaiņas nav konstatējamās. Citi literatūras avoti min, ka ar akūtām vielu maiņas slimībām slimojošās govīs tomēr likvidējamās izteikto deģeneratīvo pārmaiņu dēļ iekšējos orgānos. Augstākminētās pretrunas dēļ mūsu darba mērķis bija noskaidrot dažādu greimošanas trakta daļu morfofunkcionālo stāvokli liellopiem, kas slimo ar ketozi. Jo, kā apstiprina mūsu iepriekšējo gadu pētījumi (M.Pilmane, I.Zītare, 1999) greimošanas trakta morfofunkcionālās izmaiņas saistītas ar izmaiņām difūzajā neiroendokrīnajā sistēmā (DNS), pēdējā izdala vielas (hormonpeptīdus u.c.), kas nosaka vietējo imunitāti, regulē barības šķelšanu, absorbciju, zarnu sienu muskuļapvalka kontrakcijas (B.A.Mallard et al., 1998; R.Zabielski et al., 1998).

Ņemot vērā iepriekš minēto, mūsu darba mērķis bija izpētīt morfofunkcionālās izmaiņas liellopu greimošanas traktā – tievajās un resnajās zarnās ar histoķīmijas, imunohistoķīmijas metodēm, iegūt datu bāzi, kura turpmāk, salīdzinot ar pasaules zinātnieku datiem, ļautu spriest par iespējamo GSE izcelsmi Latvijā, palīdzētu apstiprināt diagnozi, kā arī izvērtētu greimošanas traktu kā GSE ierosinātāja iespējamās iekļūšanas vārtiem.

2. MATERIĀLS UN METODEDES

2003. gadā dažādos republikas rajonos mītnēs turēšanas periodā beigās pēc atnešanās klīniski tika izmeklēti 32 liellopi - 3., 4. laktācijas govis. Ketozes diagnozi apstiprinājām laboratoriski, nosakot asinīs ketonvielu līmeni. Piespiedu tika likvidētas 8 govis.

Pēc piespiedu likvidācijas kautuvē 8 govīm tika ņemti

- spurekļa sienas (saccus caecus ventralis),
- tievo zarnu beigu daļas,
- resno zarnu

audu paraugi histoloģiskiem, imunohistoķīmiskiem izmeklējumiem. Darbā tika savākti, ar attiecīgiem antigeniem apstrādāti, krāsoti 156 audu paraugi.

Paraugus diennakti fiksēja maisījumā, kas sastāvēja no 2% formaldehīda un 0,2% pikrīnskābes 0,1 M fosfātbuferī (pH 7,2). Pēc tam audu gabaliņus 12 h skaloja tiroīdbuferī, kurā bija 10% sacharozes, ieguldīja parafīnā un mikrotomā sagrieza 8 μm biezus slāņos.

Griezumus gatavoja, lai ar biotīna un streptavidīna imūnhistoķīmisko metodi noteiktu proteīngēna peptīdu 9,5 (PGP 9,5, darba atšķaidījums 1:1600), neurofilamentus (NF, darba atšķaidījums 1:160, *Euro-Diagnostika*, Dānija), mielīnu (M, darba atšķaidījums 1:50, *Euro-Diagnostika*, Dānija), somatostatīnu (SOM, darba atšķaidījums 1:50, *Euro-Diagnostika*, Dānija), izmantojot S.M.Hsu et al. (1981) imūnhistoķīmijas metodi.

Audu gabaliņi tika ņemti arī rutīnas pārskatam gaismas mikroskopā. Šim nolūkam audus fiksēja 12% formalīnā, ieguldīja parafīnā un sagrieza 8 μm biezus griezumus, ko krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu.

Paraugu izskatīšanu veicām Zeiss mikroskopā.

Pētījumam pakļauto dzīvnieku skaits tika ierobežots, jo imunohistoķīmiskās analīzes veicamas ar dārgiem antigeniem, kuru iegādi ierobežo materiālās iespējas.

Veikta iegūto datu statistiskā apstrāde, pielietojot Г.Г.Автандилов (1990) aprakstīto puskvantitatīvo metodi.

3. REZULTĀTI

19 % gadījumos govīm pēcatnešanās periodā konstatējām ketozi. Ketonvielu līmenis asinīs slimajām govīm grupā vidēji bija $12,1 \pm 0,23$ mg%.

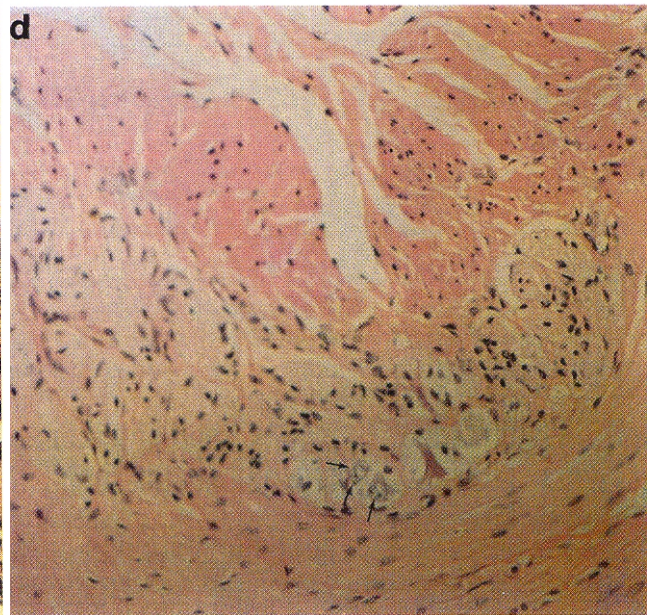
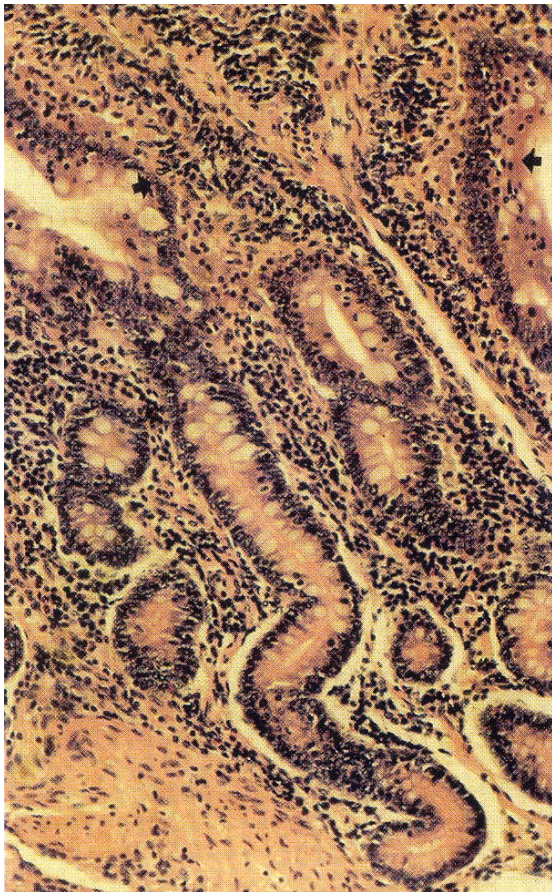
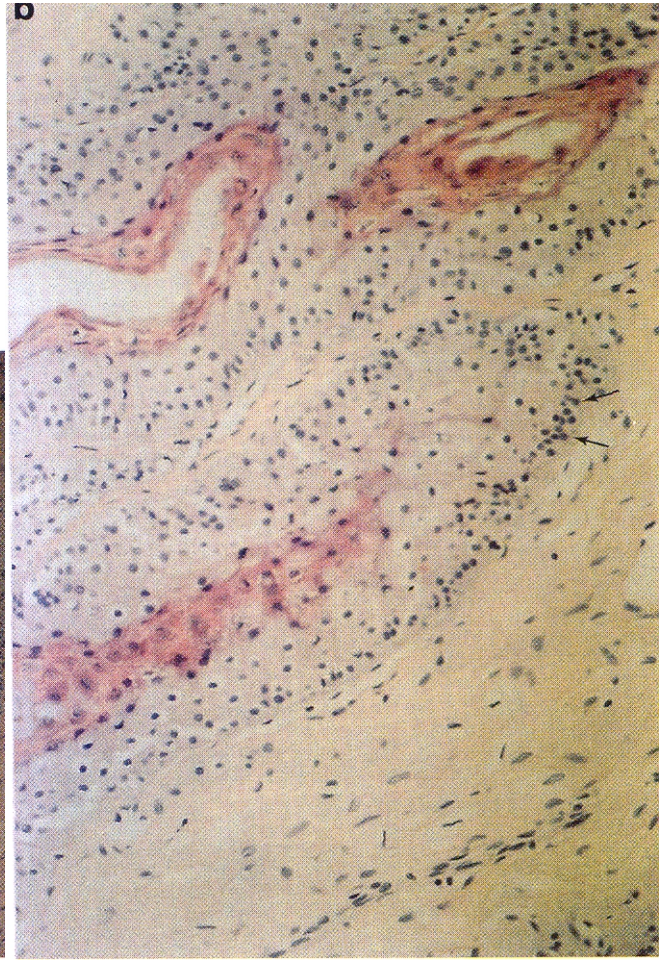
Pārskata griezumos tikai vienā gadījumā – 3 gadus vecai govij visu pētīto orgānu struktūra atbilda relatīvai normai. Piecām dažādas laktācijas govīm redzējām izteiktu priekškuņģa gļotādas atrofiju – bārkstiņas vai nu nebija vai dažkārt bija atrodamas nelielu pauguru veidā (a zīm.). Vienlaicīgi atsevišķās vietās konstatējām dažādi izteiktu parakeratotiska epitēlija bazālo šūnu hiperplāziju (b zīm.). Perēkļveida iekaisuma šūnu infiltrāciju pārstāvēja neitrofilie leukocīti, limfocīti un reti makrofāgi. Vietumis atradām starpmuskuļu ganglijšūnu vakuolizāciju.

Pārskata griezumos zarnās pētījām visus tās sienas slāņus: gļotādu, muskuļslāni, serozu.

Tievo zarnu pārmaiņas septiņiem liellopiem bija relatīvi līdzīgas. Bārkstiņas raksturoja izteikta morfofunkcionālā daudzveidība – bārkstiņas bija tievas, garas, dziļi iesniedzās zarnas lumenā. Bieži bārkstiņas saplūda, veidojot konglomerātus. Vienlaicīgi novērojām masīvu epitēlijšūnu atlobīšanos lumenā. Tievo zarnu sienīņu, īpaši gļotādu, infiltrēja bagātīgs daudzums iekaisuma šūnu (c zīm.). Interesanti, ka vietās, kur iekaisuma šūnu konglomerātu bija visvairāk, veidojās pat limfatiskie mezgliņi, un zemgļotādas nervu pinuma gangliji novietojās tuvu virsmas epitēlijam. Zemgļotādas nervu gangliju šūnas būtiskas struktūras pārmaiņas neuzrādīja, kamēr starpmuskuļu ganglijos nereti konstatējām kodolu vakuolizāciju (d zīm.). Iekaisuma šūnas pārstāvēja limfocīti, neitrofilie un eozinofīlie leukocīti, makrofāgi un plazmocīti (e zīm.).

Resnās zarnas sienīņas gļotādā izteikta bija iekaisuma reakcija, bet zemgļotādu pildīja sekundāro mezgliņu konglomerāti (f zīm.).

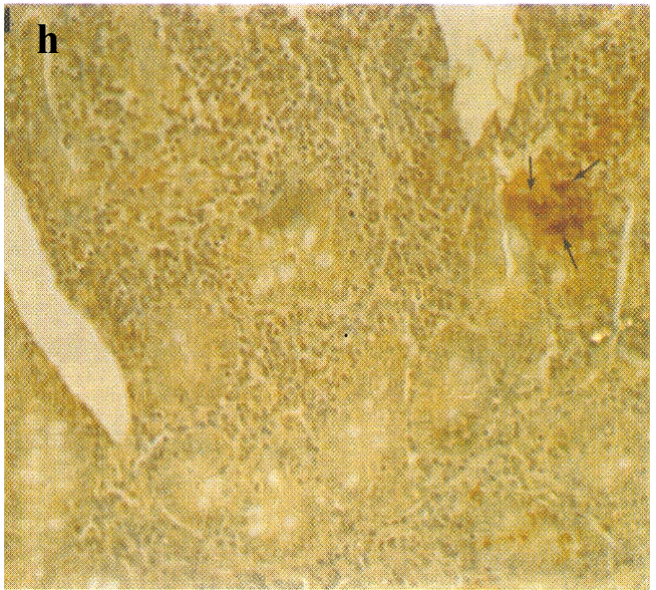
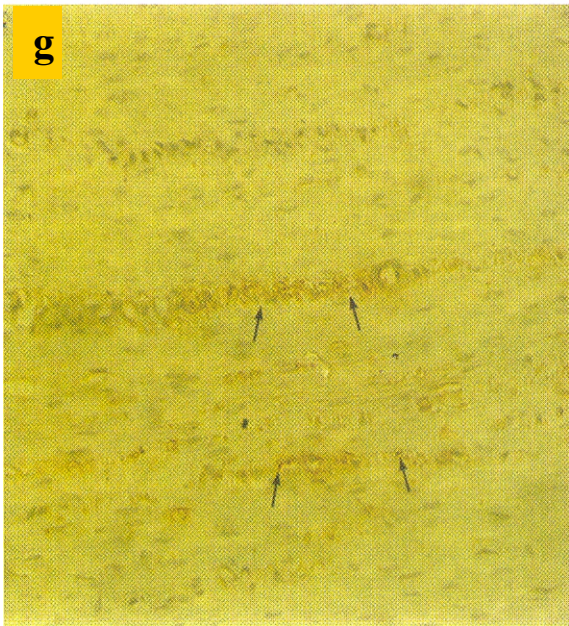
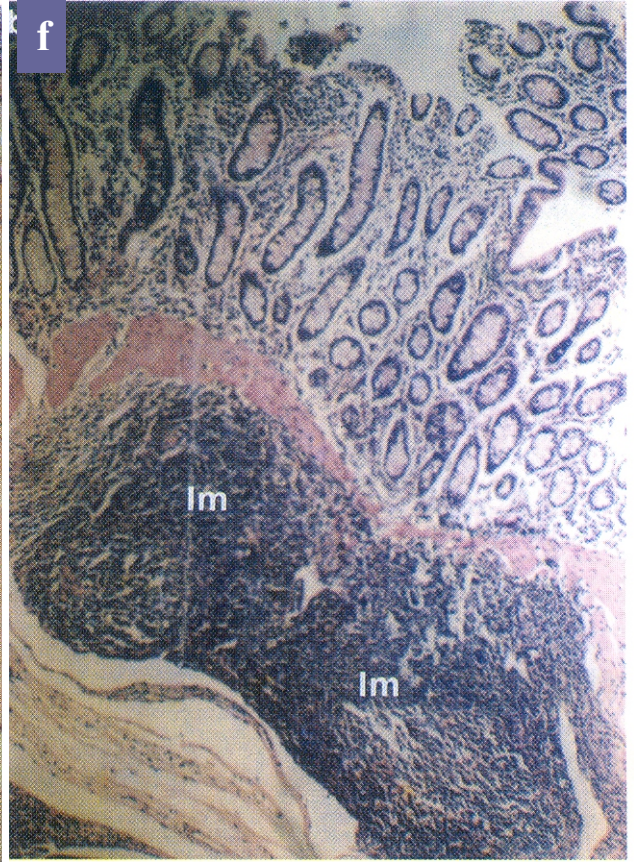
Kopumā pēc inervācijas tipa atradām 5 vāji inervētus priekškuņģus. Fragmentāru un vājas intensitātes neurofilamentu un mielīna krāsojumu konstatēām šo priekškuņģu nervšķiedrās. Kā zināms, mielīns un neurofilamenti ir nervšķiedru kvalitatīvie marķieri: neurofilamenti – nervu struktūras diferenciacijas raksturlielumi; mielīns norāda mielinētas nervšķiedras pilnvērtīgumu. Vienā gadījumā abu nervu struktūru marķieru daudzums priekškuņģī bija vidējs, bet divos gadījumos konstatējām hiperinervāciju. Intensīvi, lai gan fragmentāri ar NF un M iezīmētās



ILUSTRĀCIJU PIERAKSTI

a-d zīm. Ar ketozi slimojošu liellopu spurekļa (a-b) un tievo zarnu (c-d) gaismas mikrofotogrāfijas. Hematoksilīns un eozīns:

- a)** spurekļa gļotāda ar parakeratotisku epitēliju un gļotādas pauguriem bārkstiņu vietā. X 160;
- b)** bultiņas norāda parakeratotiskā epitēlija bazālo šūnu perēkļveida hiperplaziju. X 250;
- c)** ar iekaisuma šūnām izteikti infiltrētas tievo zarnu bārkstiņas veido saplūdušu konglomerātu (bultiņas). X 250;
- d)** bultiņas norāda starpmuskuļu gangliju kodolu vakuolizāciju. X 250.



ILUSTRĀCIJU PIERAKSTI

e-h zīm. Ar ketozi slimojošu liellopu tievās zarnas (e), resnās zarnas (f) (hematoksilīns un eozīns) un tievo zarnu biotīna-avidīna imūnhistoķīmijas (g, mielīna; h, somatostatīna) mikrofotogrāfijas:

- e)** tievās zarnas gļotāda bagātīgi infiltrēta ar eozinofīlajiem leukocītiem, plazmocītiem, limfocītiem. Kriptās redzami intraepiteliālie limfocīti. X 250;
- f)** resnās zarnas gļotādas infiltrācija un limfatiskie mezgliņi (lm) zemgļotādā. X 160;
- g)** bultiņas norāda smalkas mielīna saturošas nervšķiedras starpmuskuļu nervu pinumā. X 150;
- h)** Somatostatīna saturošo šūnu neuroepiteliālais ķermenītis virsmas epitēlijā. X 250.

nervšķiedras atradām starpmuskuļu nervu pinumā. Somatostatīnu saturošos nervu elementus priekškuņģī nekonstatējām.

Zarnu sienīņu nervšķiedras saturēja maz vai vidēji daudz NF un M saturošas nervšķiedras (g zīm.). Gangliju šūnas neuzrādīja nevienu no izmantoto antivielu imūnreaktivitātēm. Neuropeptīdu SOM, kas ir antiproliferatīvs un pretiekaisuma peptīds, saturošas šūnas atradām nelielā skaitā, galvenokārt tievo zarnu virsmas epitēlijā, rajonos, kur tam tuvu bija izteikta iekaisuma šūnu infiltrācija (h zīm.).

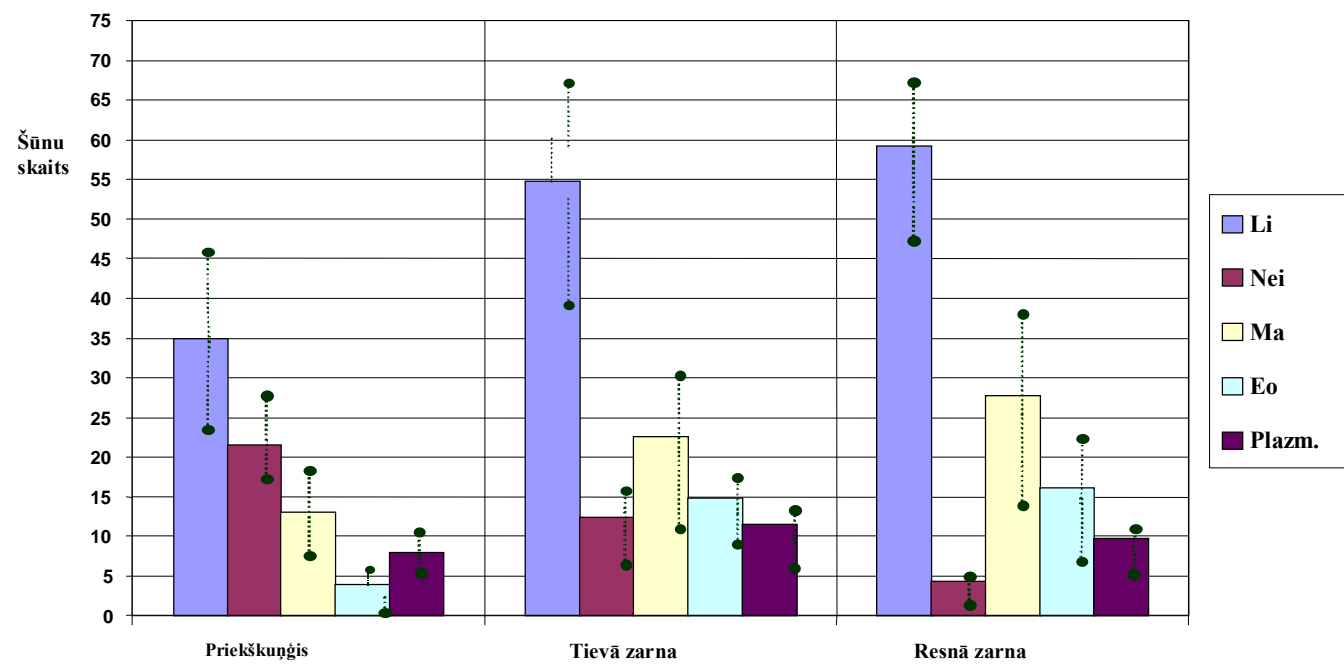
Veicot statistiskos aprēķinus par šūnu skaita izmaiņām audos, konstatējām sekojošas tendences: vidējam limfocītu skaitam redzes laukā bija tendence palielināties virzienā no kuņģa uz resno zarnu gļotādu. Līdzīga tendence bija arī makrofāgiem, eozinofīlajiem leukocītiem un plazmocītiem, kamēr neitrofīlo leukocītu visvairāk bija kuņģī, un samazināšanās tendence šīm šūnām bija vērojama tievajās un resnajās zarnās (1.tabula un 1.grafiks).

1.tabula

Vidējais iekaisuma šūnu skaits redzes laukā
liellopu priekškuņģa, tievo un resno zarnu sienās

	Priekškuņģis	Tievās zarnas	Resnās zarnas
Limfocīti	35.0±11.52	54.8±15.39	59.2±9.86
Neitrofīlie leukocīti	21.6±6.29	12.4±5.93	4.4±2.16
Makrofāgi	13.0±5.53	22.6±9.96	27.8±11.89
Eozinofīlie leukocīti	4.0±2.41	14.8±4.92	16.2±7.49
Plazmocīti	8.8±3.0	4.52±4.52	9.8±4.37

Vidējais šūnu skaits priekškuņģa, tievo un resno zarnu gļotādā



4. DISKUSIJA

Galvenās pārmaiņas mūsu pētītajiem dzīvniekiem skāra priekškuņģi (*saccus caecus ventralis* rajonā) un tievās zarnas. Priekškuņģī vērojām atrofiju, ko raksturoja bārktiņu reducēšanās, parakeratotisks epitēlijs un perēkļveida iekaisuma aina, norādot uz morfofunkcionālās aktivitātes samazināšanos skartajā vietā. Minētās pārmaiņas, šķiet, uzskatāmas par diezgan konstantām liellopiem ar vielu maiņas saslimšanām un parādās ne tikai ketozes gadījumā (M.Pilmane et al., 2000). Interesanti, ka nozīme ir pašām pārmaiņām struktūrā, nevis priekškuņģa rajonam, kurš tiek skarts. R.H.Greenwood et al. (1997) norāda, ka, piemēram, keratozes palielināšanās tad arī norāda uz metabolās aktivitātes samazināšanos konkrētā vietā. Joprojām diskutabls ir jautājums, kas izraisa priekškuņģa pārmaiņas; dažādu faktoru starpā kā galvenais tiek minēta rupja nesabalansēta dzīvnieka barība (K.V.F.Jubb et al., 1985; J.Trailinek, 2000). Autori norāda, ka šūnu hiperplāzija un hiperkeratoze neparādās, ja rupjās barības daļa pārtikā sastāda ne vairāk kā 15%. Tādējādi iespējams, ka mūsu pētītajiem dzīvniekiem priekškuņģa pārmaiņu izraisītājfaktoru vidū aktuāla ir gan saslimšana (ketoze), gan arī nesabalansēta barība. Savukārt, par epitēlija vēl saglabātu reģenerāciju liecina perēkļveida bazālo šūnu hiperplāzija.

Tievajās zarnās turpinās barības masu ķīmiskā pārstrāde, uzsūkšanās process, kā arī bioloģiski aktīvu vielu izstrāde. Ar peristaltiku zarnu saturs tiek pārvietots kaudālā virzienā.

Tievo zarnu bārktiņu daudzveidība: atrofiskas, izteikti garas, konglomerāti, masīva šūnu atslāņošanās, mūsaprāt, norāda uz traucētiem absorbcijas procesiem praktiski visiem ar ketozi slimojošiem dzīvniekiem. Vesela dzīvnieka tievo zarnu bārktiņu garums variē atbilstoši sugai, vecumam, zarnu mikroflorai un imūnajam statusam (M.Lipkin, 1981; P.J.Kilshaw and H.Slade, 1982). Saslimšana un imūnā satura pārmaiņas, uz ko norāda pastiprinātā iekaisuma šūnu infiltrācija, varētu būt pārmaiņu iemesls mūsu pētītajiem dzīvniekiem, kaut gan izslēdzami nav arī citi faktori. Interesanti, ka sivēniem, mainot barības veidu, novērota tievo zarnu bārktiņu garuma samazināšanās, kā arī šūnu funkcionālā tipa nomaiņa (D.J.Hampson and D.E.Kidder, 1986).

Būtiskas bija inervācijas pārmaiņas – tās samazināšanās, kā arī nervu elementu fragmentārais un vājais krāsojums ar mielīnu un neurofilamentiem, kas norādīja uz nervu struktūru kvalitātes samazināšanos praktiski viscaur gremošanas traktā. Līdzīgas pārmaiņas bijām jau konstatējuši savos iepriekšējos pētījumos (M.Pilmane et al., 2000). Tomēr interesanta ir ganglija šūnu “augšupvirzība” izteikta tuvāk iekaisuma skartām tievo zarnu bārkstīņām. Iekaisuma mediatoru ietekme uz nervu struktūrām ir jau pierādīta (P.Holzer, 1988), bet mūsu pētāmajiem dzīvniekiem augstākminētais atklājums, mūsuprāt, norāda uz imūnās un neuroendokrīnās sistēmas saistību. To pamato izteiktā plazmocītu un limfocītu klātbūtne un fakts, ka somatostatīnu saturošās šūnas (peptīdam zināma pretiekaisuma darbība) tika atrastas virsmas epitēlijā vietās, kur tuvu gļotādai novietojās zemgļotādas gangliju šūnas.

Kopumā iekaisuma šūnu analīze parādīja, ka neitrofilo leukocītu skaits samazinās audos virzienā no priekškuņģa uz resno zarnu, bet eozinofilo leukocītu, limfocītu un makrofāgu skaitam augstākminētajā virzienā ir tendence palielināties. Neitrofilo leukocītu izteikts daudzums priekškuņģa gļotādā tika aprakstīts jau agrāk veiktajos pētījumos (M.Pilmane et al., 2002) un, acīmredzot, saistāms ar barības sastāvu un vieglo gremošanas trakta traumatizācijas iespēju. Savukārt, tievo zarnu šūnu infiltrācijas sastāva maiņa liecina par izteiktu antigēno stimulāciju. Tas atbilst A.M.Mowat and A.Ferguson (1981) uzskatam par to, ka tieši tievo zarnu antigēnā stimulācija veicina iekaisuma infiltrāciju reizē ar šūnu proliferāciju un kopumā norāda uz tievo zarnu šūnu regulēto hipersensivitāti.

Kā liecina mūsu pētījumi, liellopu biežāk sastopamās nelipīgās sasilšanas – ketozes gadījumos zarnu sienīņās atrodamas izteiktas morfofunkcionālas pārmaiņas, no kurām daudzas (bārkstīņu izmaiņas) nav atgriezeniskas un saistītas ar gremošanas trakta funkcionālo spēju izmaiņām (barības šķelšanu un uzsūkšanos, vietējās imunitātes izmaiņas), kam varētu būt nozīme GSE izcelsmē un patogenēzē, jo zarnu sienīņas varētu būt vērti prionu iekļūšanai organismā. Iespējams, tas ir izskaidrojums patogēnā priona koncentrācijai tievās zarnas sienīņās, ko atraduši T.Maignica et al., 1999; M.Beekes, P.A.McBride, 2000, jo tievās zarnas ir būtiska barības uzsūkšanās daļa gremošanas traktā.

Latvijā bieži sastopamā liellopu nelipīga rakstura slimība – ketoze rada dziļas gremošanas trakta morfofunkcionālas izmaiņas, kas ir arī neatgriezeniskas un dzīvnieka veselību nopietni ietekmējošas. Mūsu pētījumu rezultāti, kas iegūti ar imunohistoķīmijas metodēm, parādīja nopietnas izmaiņas difūzajā neiroendokrīnajā sistēmā. Izmaiņas savukārt saistītas ar vietējās imunitātes izmaiņām, kas, mūsaprāt, varētu būt “atslēga” patogēnā priona iekļūšanai organismā.

Iespējams, ka Veibridžā patlaban veiktie pētījumi (ES projekts 1937), kas saistīti ar GSE slimiem dzīvniekiem, pielietojot ne tikai imunohistoķīmiju, bet arī elektronmikroskopiju, apstiprinās mūsu pieņēmumus.

5. SECINĀJUMI

1. Pārmaiņas tievajā zarnā (gūžas zarnā) liellopiem bija relatīvi līdzīgas:
 - bārkstiņas raksturoja izteikta morfofunkcionālā daudzveidība – bārkstiņas bija tievas, garas, dziļi iesniedzās zarnas lumenā;
 - bieži bārkstiņas saplūda, veidojot konglomerātus;
 - vienlaicīgi novērojām masīvu epitēlijšūnu atlobīšanos lumenā;
 - tievo zarnu sieniņu, īpaši gļotādu, infiltrēja bagātīgs daudzums iekaisuma šūnu. Vietās, kur iekaisuma šūnu konglomerātu bija visvairāk un veidojās pat limfatiskie mezgliņi un zemgļotādas nervu pinuma gangliji novietojās tuvu virsmas epitēlijam;
 - iekaisuma šūnas pārstāvēja limfocīti, neitrofilie un eozinofīlie leukocīti, makrofāgi un plazmocīti;
 - zemgļotādas nervu gangliju šūnas būtiskas struktūras pārmaiņas neuzrādīja, kamēr starpmuskuļu ganglijos nereti konstatējām kodolu vakuolizāciju.
2. Zarnu sieniņu nervšķiedras saturēja maz vai vidēji daudz NF un M saturošas nervšķiedras. Gangliju šūnas neuzrādīja nevienu no izmantoto antivielu imūnreaktivitātēm. SOM saturošas šūnas atradām nelielā skaitā, galvenokārt tievo zarnu virsmas epitēlijā, rajonos, kuru tuvumā bija izteikta iekaisuma šūnu infiltrācija.
3. Vājākās vietās (*Locus minoris resistencia*), kur iespējama patogēno prionu iekļūšana organismā varētu būt saistītas ar difūzās endokrīnās sistēmas izmaiņām, iekaisuma perēkļiem.
4. Ketoze pazemina organisma rezistenci, veicina gremošanas trakta gļotādas strukturālās izmaiņas, vietējās imunitātes izmaiņas tajā, kas varētu būt par cēloni patogēnā priona iekļūšanu organismā.
5. Ņemot vērā saspringto situāciju, attiecībā uz iespējamo GSE izcelsmi Latvijā, govju turēšanas tehnoloģijā jāievēro, ka ķēde: “dzīvnieks – nepareiza viņa ēdināšana (arī nepilnvērtīga) – ar to saistītās slimības – ketozes izcelsme saistīta ar morfofunkcionālām izmaiņām gremošanas traktā: bārkstiņu atrofiju, iekaisumu, vietējās imunitātes izmaiņām un ar to saistītās aizsargbarjeras samazināšanos vai zudumu, kas varētu būt par cēloni patogēnā priona iekļūšanai dzīvnieku organismā un iespējamu GSE izcelsmi.

6. PRIEKŠLIKUMI

1. Nepieciešams sekot liellopu ēdināšanai, nodrošināt tās pilnvērtību un sabalansētību, kategoriski izslēgt no barības devas dzīvnieku valsts izcelsmes proteīnu, aizstājot to ar augu valsts proteīnu, attiecīgi pārkarājot lopbarības sējumu struktūru.
2. Ēdināšanā liellopu barības devā jānodrošina enerģētiskā vērtība: NEL-MJ, proteīna vērtība – kopproteīns, cukuri un minerālvielas.
3. Uzmanība jāpievērš ketozes profilaksei, analizējot govju ēdināšanas jautājumus zemnieku saimniecībās, lielfermās un izglītojot dzīvnieku īpašniekus un kopējus, informējot par gremošanas trakta morfofunkcionālajām pārmaiņām saistībā ar šo slimību un GSE izcelsmes iespēju.
4. Ar ketozi saistītā dzīvnieku piespiedu likvidācijas gadījumā nepieciešams veikt jebkura vecuma dzīvnieka kautķermeņa izmeklējumus uz GSE, ņemot vērā, ka gremošanas trakts var būt GSE izraisītāja – patogēnā priona iekļūšanas vārti.
5. Veiktie pētījumi, saistībā ar GSE etiopatogēnēzes jautājumiem, jāturpina, atrodot un piesaistot līdzekļus to veikšanai.

2003.gada 10.novembrī

7. IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Jemeljanovs A. Iespējamā riska vērtējums sevišķi bīstamu infekcijas slimību izplatīšanās gadījumā Latvijas Republikā. Valsts pasūtījuma pētījums, 2002, ZM 2001-18 (17), 38.lpp.
2. Pilmane M., I.Zītare, A.Jemeljanovs. Latvijas liellopu priekškuņģa pārmaiņas un vielmaiņas slimības. Latvijas Ārstu Žurnāls, 2001, No4, 36-39.
3. Pilmane M., Jemeljanovs A., Zītare I. Liellopu gremošanas trakta morfofunkcionālās un histoķīmiskās pārmaiņas aktuālāko vielu maiņas slimību patoģenēzē. Starptautiskās zinātniskās konferences "Dzīvnieki. Veselība. Pārtikas higiēna." raksti, Jelgava, 2002.gada 14.novembrī. Veterinārmedicīnas raksti, Jelgava, 2002, 215.-218.lpp.
4. Pilmane M., Zītare I., Jemeljanovs A. Liellopu priekškuņģu difūzā neiroendokrīnā sistēma. LLU Veterinārmedicīnas raksti, 2000, 140-144.
5. Vētra J., Ķaune K. Par vielmaiņu slimību un aknu funkcionālās nepietiekamības farmakoterapiju grūsnām govīm. Veterinārmedicīnas raksti, 1998, pp.161-163.
6. Автандилов Г.Г. Медицинская норфометрия, 1990. М., Медицина, стр.233-246.
7. Andrews T. Ketosis and fatty liver in cattle. In Practice, United Kingdom, 1998, vol. 20(9), pp.509-513.
8. Beekes M., Mc Bride P.A. Early accumulation of pathological PhP in the nervous system and gut-associated lymphoid tissue of hamsters orally infected with scrapie, Neurosci. Lett., 2000., 278: 181-184.
9. Burgstaller G. "Metabolism derangements" of the high-performance cow due to feeding can be prevented. Information on mixed feed. Muehle+Mischofuttertechnik, 1998, vol. 135 (16), pp.543-544.
10. Ciaramella P., Oliva G. La sindrome chetosica del bovino. O & DV Obiettivi e Documenti Veterinari (Italy). Feb 1998. vol. 19(2), pp.31-42.
11. Fleisher P., Hoedemaker M., Metzner M., Slosarkova S., Skrivanek M. Clinical disorders in Holstein cows: incidence and associations among lactational risk factors. Acta Veterinaria (Czech Republic), 2001, vol. 70 (2), pp.157-165.

12. Greenwood R.H., Morrill J.L., Titgemeyer E.C., Kennedy G.A. A new method of measuring diet abrasion and its effect on the development of the forestomach. *Journal of dairy science*, 1997, vol. 80(10), pp.2534-2541.
13. Hampson D.J. and Kidder D.E. *Research in Veterinary Science*, 1986, vol. 40, pp. 24-31.
14. Holzer P. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: involvement of tachykinins, calcitonin gene related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience*, 1988, vol. 24, pp. 739-768.
15. Hsu S.M., Raine L., Fanger H. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin peroxidase complex in immunoperoxidase technics. *Am J Clin Pathol*, 1981, vol. 75, p. 816.
16. Jilg T., Riedel-Caspari G., Unglaub W. Early prevention of metabolic disorders. Ketosis – occupation disease of the dairy cow. *Rinderwelt*, 1997, vol. 22 (6), pp.16-17.
17. Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. *Pathology of Domestic Animals*. Academic Press, Inc., 1985, 3rd ed., vol. 2, p. 29.
18. Kilshaw P.J. and Slade H. Villus atrophy and crypt elongation in the small intestine of preruminant calves fed with heated soyabean flour or wheat gluten. *Res Vet Sci*, 1982, vol. 33, pp. 305-308.
19. Lipkin M. Proliferation and differentiation of gastrointestinal cells in normal and disease states. In *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, L.R.Johnson (ed.), New York, Raven Press, 1981, pp. 145-168.
20. Maignien T., Lasmezas C.J., Beringue V., Dormont D., Deslys J.P. Pathogenesis of the oral route of infection of mice with scrapie and bovine spongiform encephalopathy agents. *Journal of General Virology*, 1999., 80: 3035-3042.
21. Mallard B.A., Dekkers J.C., Ireland M.J., Leslie K.E, Sharif S., Vankampen C.L., Wagter L., Wilkie B.N. Ateration in immune pesponsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and claf health. *J.Dairy Sci.*, 1998; 81 (2): 585-595.
22. Mowat A.M. and Ferguson A. *Clinical and Experimental Immunology*, 1981, vol. 43, pp. 574-582.
23. Pilmane M., Zītare I. Liellopu spurekļa morfofunkcionālās pārmaiņas. *Veterinārmedicīnas Raksti 99/ Proceedings in Veterinary Medicine 99*, 1999; 263-269.

24. Rasmussen L.K., Nielsen B.L., Pryce J.E., Mottram T.T., Veerkamp R.F. Risk factors associated with the incidence of ketosis in dairy cows. *Animal Science*, 1999, vol. 68 (3), pp.379-386.
25. Rukkwamsuk T., Kruip T.A.M., Wensing T. Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the postparturient period. Review paper (Hungary). *Magyar Allatorvosok Lapja*, 2000, vol. 122 (1), pp.15-20.
26. Smith T.R., Hippen A.R., Beitz D.C., Young J.W. Metabolic characteristics of induced ketosis in normal and obese dairy cows. *Journal of dairy science*, 1997, vol. 80 (8), pp.1569-1581.
27. Trailnek J. Nutrition of high producing dairy cows as related to ketosis incidence. Breeding, nutritional and technological aspects of milk production and quality. Proceedings. Slechtitelske, vyzivarske a technologicke aspekty produkce a kvality mleka. Sbornik prispevku. Rapotin (Czech Republik). Svaz Vyrobcu Mleka (Czech Republic), 2000, 144 p. (UZLK D 89.078) pp.75-78.
28. Zabielski R., Kiela P., Onaga T., Mineo H., Gregory P.C., Kato S. Effect of neural blockades gastrointestinal regulatory peptides, and diversion of gastroduodenal contents preruminant calves. Effect of different sources of dietary. *Br.J.Nutr.*, 1998; 79 (3): 287-296.
29. Zucca E., Ferro E. Valutazione dei corpi chetonici nella bovina affetta da chetosi (vacche da lattel). *Obiettivi e Documenti Veterinari Italy*, 2000, vol. 21 (2), pp.22-26.