

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ТА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ВИСОКОПРОДУКТИВНИХ КОРІВ, ХВОРИХ НА КЕТОЗ, ЕНДОМЕТРИТ ТА ДИСФУНКЦІЮ ЯЄЧНИКІВ

М. Р. Сімонов, В. В. Влізло, І. М. Петрух, М. М. Шаран

Інститут біології тварин НААН

Розвиток внутрішньої патології у високопродуктивних корів може спричинити зміни функціонального стану печінки, внаслідок чого у сироватці крові підвищується рівень АЛТ, АСТ, ГГТ та γ -глобулінів і знижується вміст альбуміну та α -фракції глобуліну. У хворих тварин реєструється накопичення в тканинах токсичних продуктів окиснення внаслідок порушення балансу між інтенсивністю процесів пероксидного окиснення ліпідів та системою антиоксидантного захисту. Підвищення інтенсивності вільнорадикального окиснення, яке спостерігається у хворих тварин, супроводжується зниженням активності ензимів антиоксидантного захисту. Найвищий вміст первинних та вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів було зареєстровано у крові корів хворих на кетоз, що може пояснюватися значними порушеннями метаболізму та структури печінки.

В умовах сучасного ведення тваринництва одним із пріоритетних завдань є збільшення виробництва продукції. При збільшенні концентрації поголів'я та недотриманні ветеринарно-санітарних вимог виникає небезпека зростання захворювань різної етіології. Одними з найбільш поширених захворювань у високопродуктивних корів є метаболічні хвороби та патологія репродуктивних органів. Найчастіше дані захворювання реєструються після отелення корів та під час інтенсивної лактації [1, 2]. Основними причинами патології є неповноцінна годівля і порушення умов утримання [3]. Ці хвороби призводять до значних економічних збитків у тваринництві через зниження продуктивності, недоотримання телят, молока, підвищення собівартості продукції та зниження рентабельності молочного тваринництва.

Дослідження інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і активність ензимів антиоксидантного захисту є важливим при вивченні патогенезу захворювань, встановленні глибини патологічних процесів, інтенсивності розвитку хвороби. Відомо, що більшість захворювань, зокрема пов'язаних з порушенням обміну речовин, розвиваються на фоні посилення процесів пероксидації, зниження антиоксидантного захисту і накопичення в тканинах токсичних продуктів окиснення [3].

Метою нашої роботи було встановити активність аланінової, аспарагінової амінотрансфераз, γ -глутамілтрансферази, вміст загального білка, його фракційний склад, інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів і активність ензимів антиоксидантного захисту у крові корів, хворих на кетоз, ендометрит та гіпофункцію яєчників.

Матеріали і методи. Дослідження проведені на високопродуктивних коровах голштинської породи, віком 3–6 років, продуктивністю понад 5000 кг молока за лактацію. Тварини було поділено на чотири групи — контрольну та три дослідні, аналогів за породою, віком та продуктивністю. У контрольну групу входили клінічно здорові корови. У першу дослідну групу ввійшли корови хворі на кетоз, у другу — на ендометрити, у третю — з дисфункцією яєчників. Дослідження проводили на коровах, які були 2–4 тижні після отелення. Проводили клінічні дослідження, визначали вміст кетонових тіл у сечі за допомогою індикаторних смужок (Ketophan, Pliva).

Зразки крові відбирали з яремної вени до ранішньої годівлі. У сироватці крові визначали активність аланін- (АЛТ) та аспартатамінотрансфераз (АСТ) за методом Рейтмана-Френкеля, γ -глутамілтрансферази (ГГТ) з використанням тест-систем фірми "Філісіт-Діагностика", вміст загального білка (за Лоурі), фракційний склад білків сироватки крові методом електрофорезу у поліакриламідному гелі та вміст продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти) методом Є. Н. Коробейнікова. У цільній крові визначали активність супероксиддисмутази (СОД) методом Е. Е. Дубініної та глутатіонпероксидази (ГП) методом В. М. Моїна. Вміст гідропероксидів ліпідів визначали у плазмі крові методом В. В. Мирончика.

Одержані дані опрацьовували на комп'ютері в програмі Excel, визначаючи середню арифметичну величину (М), статистичну помилку середньої арифметичної величини (m), вірогідність різниці між середніми арифметичними двох варіаційних рядів (p<).

Результати й обговорення. При проведенні клінічного дослідження корів, хворих на кетоз, встановлено, що тварини більше лежали, у них швидко знижувалася жива маса тіла та надій, вони були пригніченими, рухи ставали повільні та обережні, у деяких реєструвалося м'язове тремтіння. У сечі реєстрували наявність кетонових тіл.

При клінічному дослідженні корів, хворих на ендометрити (катаральний та гнійно-катаральний), виявлено виділення із статевих органів катарального та гнійно-катарального ексудату, що засихав у виді кірочки на внутрішній поверхні хвоста і вульви. Кількість виділень особливо збільшувалася після нічного відпочинку тварини. Тривале протікання хвороби спричиняло зниження живої маси та молочної продуктивності корів. Ректально виявлялось збільшення матки та опускання її в черевну порожнину. Скорочення матки були слабкі або відсутні, стінка рогів рихла, у більшості випадків роги заповнені ексудатом.

Корови із дисфункцією яєчників характеризувалися неповноцінними статевими циклами та слабо вираженими ознаками течки і охоти. При ректальному дослідженні корів у них пальпували дрібні, щільні яєчники без фолікулів та жовтих тіл. У хворих корів відмічено знижену ригідність матки та потовщення її стінок. Канал шийки матки був закритий корком густого слизу.

Проведенні лабораторні дослідження сироватки крові здорових і хворих корів показали, що найвища активність досліджуваних ензимів реєструвалася у групі, хворих на кетоз (табл.1).

Таблиця 1

Активність ензимів у сироватці крові корів (М \pm m; n=5 - 6)

Групи корів	АСТ, нкат/л	АЛТ, нкат/л	ГГТ, нкат/л
Клінічно здорові	277,3 \pm 44,76	206,8 \pm 10,56	220,7 \pm 10,77
Хворі на: кетоз	605,5 \pm 43,46**	467,9 \pm 16,09***	422,3 \pm 44,57**
ендометрити	412,8 \pm 56,86	301,6 \pm 20,58**	250,5 \pm 14,41
дисфункцію яєчників	385,5 \pm 16,35	340,8 \pm 25,87**	231,0 \pm 14,38

Примітка: у цій та наступних таблицях: вірогідні різниці між показниками у хворих і клінічно здорових корів * — p<0,05; ** — p<0,01 та *** — p<0,001.

Так, у них активність АСТ у сироватці крові була на 52 (p<0,01), АЛТ — на 65,8 (p<0,001) та γ -глутамілтрансферази – на 47,8 % (p<0,01), порівняно зі здоровими тваринами. У крові корів, хворих на ендометрит та дисфункцію яєчників, реєстрували вірогідне (p<0,01 – 0,001) зростання активності лише аланінової амінотрансферази. Активність АСТ та ГГТ у сироватці крові корів цих двох дослідних груп мала тенденцію до зростання. Висока активність АЛТ, АСТ і ГГТ у сироватці крові корів, хворих на кетоз, свідчить про деструктивні процеси у печінці, де дані ензими мають найвищу активність, і при пошкодженні клітин швидко надходять у кров. У корів, хворих на ендометрит та дисфункцію

яєчників, елімінація ензимів у кров була менше вираженою і вірогідно вищою активність спостерігалася лише при дослідженні АЛТ.

Проведенні дослідження сироватки крові здорових і хворих на кетоз тварин показали, що у хворих зріс вміст загального білка на 13,2 % ($p < 0,01$) за рахунок β - та γ -глобулінових фракцій. Так, вміст білків β -глобулінового спектру зріс на 31,3 % ($p < 0,01$), а γ -глобулінового на 69,4 % ($p < 0,001$). При цьому, вміст альбумінів та альфа-глобулінів вірогідно ($p < 0,01 - 0,001$) знизився на 33,8 та 37,9 % відповідно, що свідчить, про розвиток у хворих корів вираженої диспротеїнемії внаслідок ураження печінки ендотоксинами. У хворих на ендометрит та дисфункцію яєчників, вміст загального білка був нижчим на 19,5 та 9,1 % відповідно, що можна пояснити зниженням білоксинтезувальної функції печінки внаслідок негативної дії на їх організм факторів, які лежать в основі вказаних патологій. Про це свідчить вірогідне зменшення вмісту альбумінів ($p < 0,001$) та α -глобулінів ($p < 0,05; 0,001$) у крові всіх досліджених хворих корів (табл. 2). Відомо, що ці білки синтезуються гепатоцитами, а зменшення інтенсивності їх синтезу приводить до гіпоальбумінемії та зниження рівня α -глобулінів у сироватці крові.

На відміну від альбумінів і α -фракції глобулінів кількість γ -глобулінів виявилася вищою у всіх хворих тварин (табл. 2). Так, у корів, хворих на ендометрит, вміст γ -глобулінової фракції зріс на 44,7 % ($p < 0,05$), а на гіпофункцію яєчників – на 54,0 % ($p < 0,001$), порівняно зі здоровими. Збільшення вмісту γ -глобулінів при зниженні альбумінів у сироватці крові є характерною ознакою хвороб печінки [4].

Таблиця 2

Вміст загального білка та його фракцій у крові корів ($M \pm m$; $n=6$)

Групи корів	Загальний білок, г/л	Білкові фракції, г/л			
		альбуміни	глобуліни		
			α -	β -	γ -
Клінічно здорові	77,3 \pm 2,06	38,5 \pm 2,55	15,3 \pm 0,39	12,5 \pm 1,18	11,0 \pm 1,57
Хворі на: кетоз	89,1 \pm 2,39**	25,5 \pm 1,22**	9,5 \pm 0,78***	18,2 \pm 0,83**	35,9 \pm 0,85***
ендометрити	62,2 \pm 6,90	18,0 \pm 2,10***	11,8 \pm 1,23*	12,5 \pm 1,75	19,9 \pm 2,82*
дисфункцію яєчників	70,3 \pm 3,01	21,7 \pm 1,25***	11,5 \pm 0,66***	13,2 \pm 0,54	23,9 \pm 0,93***

При проведенні досліджень продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) було встановлено їх підвищення у всіх групах хворих тварин (табл. 3). Так, вміст дієнових кон'югатів зріс на 52,9–68,8% ($p < 0,001$), гідропероксидів ліпідів — на 28–35,7 % ($p < 0,5 - 0,01$) та ТБК-активних продуктів на 26,5–58,3 % ($p < 0,5 - 0,001$). Найвищий вміст первинних та вторинних продуктів ПОЛ було зареєстровано у крові корів, хворих на кетоз. Очевидно, це пов'язано з тим, що при кетозі організм тварини зазнає глибших порушень метаболізму, ніж при ендометриті чи дисфункції яєчників. За даними деяких авторів [5, 6], фізіологічний стрес, пов'язаний із зростанням активності секреторних механізмів та обмінних процесів, у післяотельний період супроводжується високими потребами в енергії та відповідно кисню. При цьому, надмірне утворення активних форм кисню та/або зниження активності системи антиоксидантного захисту призводить до пошкодження клітинних мембран.

Таблиця 3

Вміст продуктів ПОЛ у крові корів ($M \pm m$; $n=5-6$)

Групи корів	Дієнові кон'югати, мкмоль/л	Гідропероксиди ліпідів, одЕ480/мл	ТБК-активні продукти, мкмоль/л
Клінічно здорові	2,4 \pm 0,26	1,8 \pm 0,21	2,5 \pm 0,21
Хворі на: кетоз	7,7 \pm 0,56***	2,5 \pm 0,22	6,0 \pm 0,14***
ендометрити	5,1 \pm 0,64***	2,8 \pm 0,23**	3,4 \pm 0,41
дисфункцію яєчників	5,3 \pm 0,33***	2,8 \pm 0,26*	3,7 \pm 0,49

Підвищення інтенсивності вільнорадикального окиснення, яке спостерігається у хворих тварин, супроводжується зниженням активності ензимів антиоксидантного захисту (табл. 4).

Таблиця 4

Активність супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у крові корів ($M \pm m$; $n=5-6$)

Групи корів	Супероксиддисмутаза, % блок. реак/1 г Нв	Глутатіонпероксидаза, мкмоль/хв./1 г Нв
Клінічно здорові	40,8±0,70	402,8±2,32
Хворі на: кетоз	27,6±1,66***	297,1±17,82***
ендометрити	32,9±1,83**	364,8±8,75**
дисфункцію яєчників	31,1±2,04***	373,4±15,28

Так, рівень активності СОД у крові хворих корів був нижчий на 19,4–32,6 % ($p < 0,01-0,001$), а глутатіонпероксидази — на 7,3–26,2 % ($p < 0,01-0,001$), порівняно з клінічно здоровими. Слід відзначити, що активність ензимів антиоксидантного захисту була найбільше зниженою ($p < 0,001$) у крові корів, хворих на кетоз. За активністю цих ензимів значною мірою визначається функціональна спроможність глутатіонової антиоксидантної системи. Глутатіонпероксидаза за допомогою глутатіону відновлює гідропероксиди жирних кислот і тим самим зменшує кількість токсичних продуктів окиснення [6]. При патологічних станах у тканинах активізується NO-синтетаза, що веде до накопичення надлишку оксиду азоту [7, 8]. Цей процес часто ініціюється вільними радикалами кисню, що нерідко спостерігається у патології різного генезу [8]. Отже, у хворих на кетоз корів патологічні процеси в організмі були найбільш вираженими.

ВИСНОВКИ

1. У високопродуктивних корів розвивається порушення функціонального стану та структури печінки внаслідок кетозу та гінекологічних захворювань (ендометрити, дисфункції яєчників).

2. У сироватці крові корів усіх дослідних груп було встановлено зростання активності індикаторних печінкових ензимів (АСТ, АЛТ, ГГТ). При цьому, найвищий рівень даних ензимів було зареєстровано у сироватці крові корів хворих на кетоз.

3. У сироватці крові високопродуктивних корів, хворих на кетоз, ендометрит та гіпофункцію яєчників, виявлено вірогідно нижчий вміст загального білка, альбумінів та альфа-глобулінів і збільшення гамма-глобулінів.

4. У всіх корів, хворих на кетоз, ендометрит і дисфункцію яєчників реєструється зростання вмісту продуктів ПОЛ (дієнових кон'югатів на 52,9–68,8 %, гідропероксидів ліпідів — 28–35,7 % та ТБК-активних продуктів — 26,5–58,3 %) і зниження активності антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази — на 19,4–32,6 % та глутатіонпероксидази — на 7,3–26,2 %).

Перспективи подальших досліджень. Будуть проведені дослідження гормонального стану організму корів, хворих на кетоз, ендометрит та дисфункцію яєчників, що разом із дослідженнями активності антиоксидантної системи та білкового обміну дозволить своєчасно встановити субклінічні форми прояву хвороб.

FUNCTIONAL STATE OF LIVER AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANTS IN HIGH-YIELD COWS WITH KETOSIS, ENDOMETRITIS AND OVARIAN DYSFUNCTION

M. R. Simonov, V. V. Vlizlo, I. M. Petruh, M. M. Sharan

Institute of Animal Biology of NAAS

S U M M A R Y

Such diseases in postpartum period as endometritis and ovary dysfunction in high yield cows leads to liver disturbances and, as result, to elevation of the levels of ALT, AST, GGT, γ -globulins and lowering of albumins and α -globulins concentration in blood serum. In affected animals the accumulation of toxic oxidation products in tissues is observed due to imbalance between intensity of peroxidation processes and antioxidative system. Increasing the intensity of free radical oxidation that occurs in diseased animals, accompanied by decreased activity of antioxidant defense enzymes. High content of primary and secondary products of lipid peroxidation was more pronounced in blood of affected with ketosis cows; that could be explained by significant abnormalities in metabolism and structure of liver.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ, БОЛЬНЫХ НА КЕТОЗ, ЭНДОМЕТРИТ И ДИСФУНКЦИЮ ЯИЧНИКОВ

М. Р. Симонов, В. В. Влизло, И. М. Петрух, М. М. Шаран,

Институт биологии животных НААН

А Н Н О Т А Ц И Я

Заболевание высокопродуктивных коров в послеродовом периоде кетозом, эндометритом и дисфункцией яичников ведет к нарушению функционального состояния печени, вследствие чего в сыворотке крови повышается активность АЛТ, АСТ и ГГТ, уровень γ -глобулинов, снижается содержание альбумина и α -фракции глобулинов. У больных животных регистрируется накопление в тканях токсичных продуктов окисления вследствие нарушения баланса между интенсивностью процессов перекисного окисления и системой антиоксидантной защиты. Повышение интенсивности свободнорадикального окисления, которое наблюдается у больных животных, сопровождается снижением активности ферментов антиоксидантной защиты. Высокое содержание первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов особенно проявлялось в крови коров, больных кетозом, что может объясняться значительными нарушениями метаболизма и структуры печени.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Влизло В. В.* Жировий гепатоз у корів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня док. вет. наук: спец. 16.00.01 / В. В. Влизло. — Київ, 1998. — 34 с.
2. The relationship between herd rBST-supplementation and other factors with risk for removal for cows in Minnesota Holstein dairy herds / [Godden S. M., Stewart S. C., Fetrow J. F. et al.]. — Proc. Four-State Nutr. Conf., LaCrosse, 2003. — P. 55–64.

3. Oxidative stress and antioxidant status during transition period in dairy cows / [Sharma N., Singh N.K., Singh O.P. et al.]. — Asian – Australasian Journal of Animal Sciences, 2011. — P. 241–248.
4. Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин / [В. І. Левченко, В. В. Влізло, І. П. Кондрахін та ін.]; за ред. В. І. Левченка. — Біла Церква, 2004. — 608 с.
5. Causes of oxidative stress in the pre- and perinatal period / [Gitto E, Reiter RJ, Karbownik M et al.]. — Biol Neonate, Vol.81. 2002. — P. 146–157.
6. Данчук В. В. Перекисне окислення у сільськогосподарських тварин і птиці / В. В. Данчук // Кам'янець-Подільський: Абетка, 2006. — 192 с.
7. Voevodskaya N. V., Vanin A. F. Gamma irradiation potentiation L-arginin dependent NO formation in mice // Bioch. and bioph. communic. — 1992. — V. 186, № 3. — P. 1423–1428.
8. Мельщикова Н. Б., Зенков Н. К., Реутов В. П. Оксид азота и NO-синтетазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях // Биохимия. — 2000. — Т.65, Вып.4. — С. 485–503.