

УДК: 636.034:619:612.018.

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ «РЕМІВІТАЛ» НА ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ ВУГЛЕВОДІВ У КОРІВ, ХВОРИХ НА КЕТОЗ

М. Р. Сімонов
msimonov@inenbiol.com.ua

Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

На сьогоднішній день існує багато схем лікування кетозу молочних корів, найбільш поширеною з яких є застосування глюкопластичних препаратів, наприклад, пропіленгліколю в поєднанні з внутрішньовенними введеннями розчину глюкози. Однак, використання такої схеми медикаментозної терапії ефективно лише при субклінічних формах захворювання, коли ще не реєструється ураження печінки. Виходячи з цього, метою роботи було встановити вплив препарату «Ремівітал» на обмін вуглеводів у високопродуктивних корів, хворих на клінічний кетоз. Препарат «Ремівітал» розроблений в Інституті біології тварин НААН та містить фруктозу, амінокислоти та вітаміни групи В. Матеріалом для досліджень були молочні корови голштинської породи, продуктивністю понад 8000 л молока за попередню лактацію, в яких було зареєстровано ознаки клінічного кетозу. Тварин було поділено на дві дослідні групи. Тваринам 1-ї дослідної групи протягом 5 діб застосовували традиційну схему медикаментозного лікування (згодували пропіленгліколь, внутрішньовенно вводили розчин глюкози та внутрішньом'язово — інсулін). Тваринам 2-ї дослідної групи протягом 5 діб згодували аналогічну з першою дослідною групою дозу пропіленгліколю та внутрішньовенно вводили препарат «Ремівітал». Після п'ятидобового застосування медикаментозної терапії, у корів дослідних груп було встановлене покращення загального стану, відсутність кетонурії та нормалізацію обміну вуглеводів, що проявлялося вірогідним збільшенням у плазмі крові вмісту глюкози, інсуліну, глікогенних амінокислот, зменшенням кетогенних пірувату та лактату. При проведенні порівняння ефективності двох застосованих схем лікування корів, хворих на кетоз, було встановлено, що препарат «Ремівітал» в поєднанні зі згодовуванням пропіленгліколю є більш ефективним, ніж розчин глюкози, інсулін та пропіленгліколь, що може бути пов'язано із гепатопротекторними властивостями «Ремівіталу».

Ключові слова: КОРОВИ, КЕТОЗ, ВУГЛЕВОДНЕВИЙ ОБМІН, РЕМІВІТАЛ, ГЛЮКОЗА, ІНСУЛІН, АМІНОКИСЛОТИ, ПРОВІНОГРДНА КИСЛОТА, МОЛОЧНА КИСЛОТА

EFFECT OF THE «REMIVITAL» ON PARAMETERS OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN COWS, AFFECTED WITH KETOSIS

M. Simonov
msimonov@inenbiol.com.ua

Institute of Animal Biology of the NAAS, V. Stusa str., 38, Lviv, 79034, Ukraine

At the present day there are many treatment regimens used in case of ketosis in dairy cows, the most widespread among them is the one with administration of glucoplastic preparations, for example, propylene glycol in combination with intravenous injections of glucose solutions. However, administration of such scheme of medicamentous therapy is most effective in case of subclinical forms of disease, when hepatic injury is not observed. Reasoning from this, our research objective was to establish the effect of the «Remivital» on carbohydrate metabolism in high-yielding dairy cows with clinical ketosis. The agent «Remivital» was developed in the Institute of Animal Biology of the NAAS, and contains fructose, amino acids and vitamin B complex. The study was conducted on cows of Holstein breed with milk yield above 8000 kg per previous lactation, which had signs of clinical ketosis. Animals were divided into two study

groups. Animals in the first study group for 5 days received conventional scheme of medicamentous therapy (including propylene glycol, intravenous administration of glucose solution and intramuscular insulin injections). Animals in the second group for 5 days received analogous with the first group dose of propylene glycol in combination with intravenous injections of «Remivital». After five days of medicamentous therapy in experimental animals following changes were observed: improvement of general condition, absence of ketonuria, and recovery of carbohydrate metabolism, which manifested through significant increase of plasma level of glucose, insulin, glycogenic amino acids, and decrease of the levels of ketogenic amino acids, pyruvic and lactic acids. Conducted comparison of the efficacy of two indicated regimens of therapy, has showed, that the agent «Remivital» in combination with oral administration of propylene glycol was more effective than combination of glucose, insulin and propylene glycol, which may be associated with hepatoprotective properties of «Remivital».

Keywords: COWS, KETOSIS, CARBOHYDRATE METABOLISM, REMIVITAL, GLUCOSE, INSULIN, AMINO ACIDS, PIRYVIC ACID, LACTIC ACID

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «РЕМИВИТАЛ» НА ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ У КОРОВ, БОЛЬНЫХ КЕТОЗОМ

М. Р. Симонов
msimonov@inenbiol.com.ua

Институт биологии животных НААН, ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина

На сегодняшний день существует много схем лечения кетоза молочных коров, наиболее распространенной из которых является применение глюкостатических препаратов, например, пропиленгликоля в сочетании с внутривенными введениями раствора глюкозы. Однако, использование такой схемы медикаментозной терапии эффективно только при субклинических формах заболевания, когда еще не регистрируется поражение печени. Исходя из этого, целью данной работы было установить влияние препарата «Ремивитал» на обмен углеводов у высокопродуктивных коров, больных клиническим кетозом. Препарат «Ремивитал» разработан в Институте биологии животных НААН и содержит фруктозу, аминокислоты и витамины группы В. Материалом для исследований были молочные коровы голштинской породы, продуктивностью более 8000 л молока за предыдущую лактацию, у которых были зарегистрированы признаки клинического кетоза. Животные были разделены на две опытные группы. Животным первой опытной группы в течение 5 суток применяли традиционную схему медикаментозного лечения (скармливали пропиленгликоль, внутривенно вводили раствор глюкозы и внутримышечно — инсулин). Животным второй опытной группы в течение 5 суток скармливали аналогичную первой опытной группе дозу пропиленгликоля и внутривенно вводили препарат «Ремивитал». После 5-суточного применения медикаментозной терапии, у коров опытных групп было установлено улучшение общего состояния, отсутствие кетонурии и нормализация обмена углеводов, что проявлялось достоверным увеличением в плазме крови содержания глюкозы, инсулина, гликогенных аминокислот, уменьшением кетогенных, пирувата и лактата. При проведении сравнения эффективности двух примененных схем лечения коров, больных кетозом, было установлено, что препарат «Ремивитал» в сочетании со скармливанием пропиленгликоля является более эффективным, чем раствор глюкозы, инсулин и пропиленгликоль, что может быть связано с гепатопротекторными свойствами «Ремивитала».

Ключевые слова: КОРОВЫ, КЕТОЗ, УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН, РЕМИВИТАЛ, ГЛЮКОЗА, ИНСУЛИН, АМИНОКИСЛОТЫ, ПИРОВИНОГРДНАЯ КИСЛОТА, МОЛОЧНАЯ КИСЛОТА

В усіх країнах з інтенсивним веденням молочного скотарства значною перешкодою на шляху збільшення продуктивності тварин є патології обміну речовин. Ці захворювання призводять до значних економічних збитків у

тваринництві через недоотримання приплоду, молока, підвищення собівартості продукції та зниження рентабельності молочного тваринництва [1]. Аналізуючи статистику деяких авторів [1, 2], можна відмітити, що у високопродуктивних стадах у 50 % корів після отелу реєструють одне-два, а інколи і більше захворювань. Серед найбільш частих метаболічних захворювань можна виділити кетоз молочних корів.

На сьогодні існує багато схем лікування кетозу молочних корів. При цьому, обов'язковим є ліквідація енергетичного дефіциту, зокрема використанням глюкопластичних препаратів, наприклад, пропіленгліколю в поєднанні з внутрішньовенними введеннями розчину глюкози [3, 4]. Пропіленгліколь вважається попередником глюкози, оскільки поглинається через стінку рубця та надходить в печінку, де включається в цикл трикарбонових кислот. Внутрішньовенне застосування розчину глюкози дозволяє на короткий час вирівняти енергетичний дефіцит. Після введення глюкози в кров її концентрація швидко збільшується, що спричиняє її виведення з організму разом із сечею [5]. Крім цього, на нашу думку, використання такої схеми медикаментозної терапії є ефективним лише при субклінічних формах захворювання, коли ще не реєструється ураження печінки.

Мета роботи встановити вплив препарату «Ремівітал» на обмін вуглеводів у високопродуктивних корів, хворих на кетоз.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень були молочні корови голштинської породи, 2–4 лактації, продуктивністю понад 8000 л молока за попередню лактацію. Клінічні дослідження корів проводили загальноприйнятими методами [6] через 2 тижні після отелення. Вміст кетонових тіл у сечі корів (ацетооцтова кислота) визначали за допомогою індикаторних смужок

(Ketophan, Pliva). За результатами клінічного огляду та експрес-діагностики вмісту кетонових тіл у сечі виявляли хворих на кетоз корів. При огляді тварин було встановлено, що частина корів (n=20) мали пригнічений вигляд, більше лежали, у них швидко знизилась маса тіла та надій, у деяких реєстрували м'язове тремтіння. При контакті індикаторних смужок із сечею забарвлення змінилось на фіолетове, що свідчить про наявність у сечі кетонових тіл. У лабораторних умовах було підтверджено діагноз кетозу та встановлена патологія печінки [7]. Тварини були поділені на дві дослідні групи. Тваринам 1-ї дослідної групи (n=10) протягом 5 діб згодовували пропіленгліколь з розрахунку 400 мл/гол/добу. Крім цього, їм внутрішньовенно вводили 20 % розчин глюкози (500 мл/гол/добу) та внутрішньом'язово — інсулін (200 ОД/гол/добу). Тваринам 2-ї дослідної групи (n=10) протягом п'яти діб згодовували аналогічну з першою дослідною групою дозу пропіленгліколю та внутрішньовенно вводили препарат «Ремівітал» з розрахунку 500 мл/гол/добу. Препарат «Ремівітал» розроблений у Інституті біології тварин НААН (ТУ У 21.2-30995014-001:2014), містить фруктозу, амінокислоти (L-карнітин, L-орнітин, L-аспарагін та L-лізин гідрохлорид) та вітаміни групи В (В₃ та В₁₂).

Кров у корів відбирали до початку лікування та на шосту добу після початку медикаментозної терапії. Кров отримували з яремної вени до ранішньої годівлі у стерильні пробірки з гепарином. Для отримання плазми кров відразу центрифугували при 3 тис. об./хв. Отриману плазму заморожували при -20 °С до проведення аналізів. У плазмі крові визначали вміст глюкози глюкозооксидазним методом, інсуліну — методом імуно-ферментного аналізу із використанням тест-наборів фірми «DRG» та вільних амінокислот — іонообмінним методом за допомогою амінокислотного аналізатора Biotronik LC 6001 (Німеччина). У цільній крові визначали вміст пірувату

модифікованим методом Умбрайта та лактату — за реакцією з параоксидифенілом.

Відбір проб проводили з урахуванням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001) та згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, 1985).

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

Результати й обговорення

Після закінчення медикаментозної терапії було встановлено покращення клінічного стану корів та відсутність у сечі кетонових тіл.

Проведені лабораторні дослідження показали (рис. 1, 2), що в організмі хворих

на кетоз корів існує значний енергетичний дефіцит, який полягає у гіпоглікемії (<1,95 ммоль/л) та гіпоінсулінемії (<6,3 мкМО/мл). Такі зміни слід розглядати, як результат невідповідності надходження енергії з кормом і витрат глюкози на метаболічні процеси та синтез молока. Молочна залоза під час лактації, особливо на її початку, потребує значної кількості глюкози, що використовується, в основному, на синтез лактози.

Як видно із наведених на рисунку 1 результатів, після проведення медикаментозної терапії було встановлено вірогідне зростання вмісту глюкози у плазмі крові корів. А саме, у I дослідній групі вміст глюкози зріс на 17,7 % (p<0,05), а у другій — на 35,9 % (p<0,001). При цьому, вміст інсуліну зріс у 2,7 та у 3,7 рази (p<0,001) відповідно (рис. 2). Слід звернути увагу на вірогідно вищий вміст глюкози (на 22 %; p<0,05) та інсуліну (на 26,6 %; p<0,01) у плазмі крові корів, яким застосовували «Ремівітал», порівняно із групою тварин після традиційної терапії.

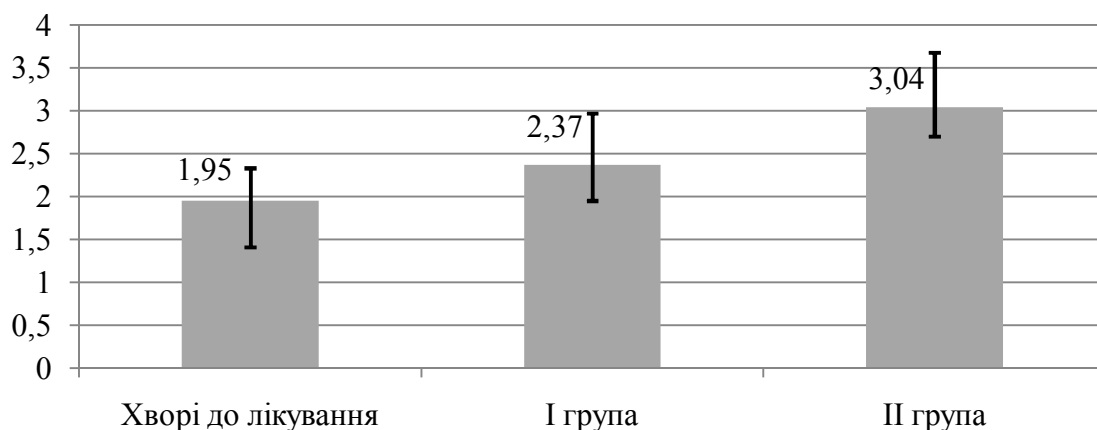


Рис. 1. Вміст глюкози у плазмі крові корів, хворих на кетоз, до та після лікування, ммоль/л (n = 10)

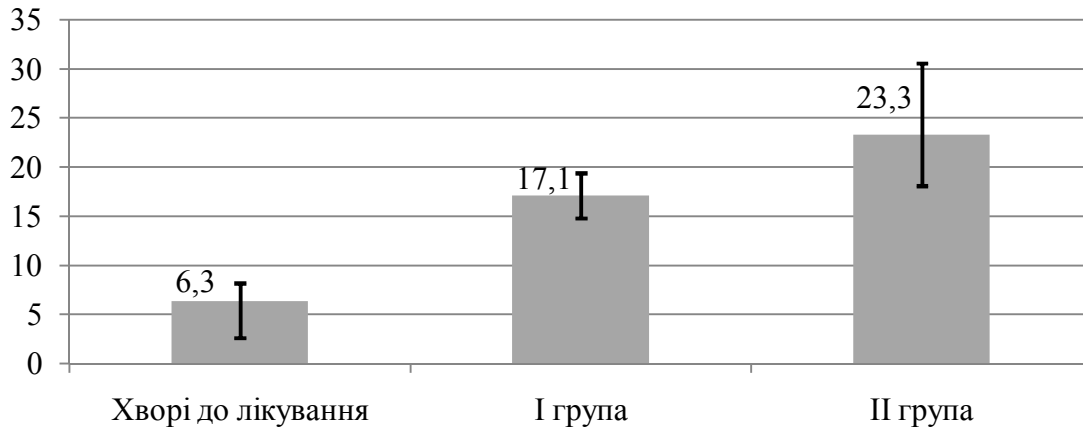


Рис. 2. Вміст інсуліну у плазмі крові корів, хворих на кетоз, до та після лікування, мкМО/мл (n = 10)

Важливу роль у забезпеченні метаболічною енергією організму відіграють амінокислоти, особливо у перші тижні лактації [7, 8]. За низького рівня глюкози на початку лактації, амінокислоти, що включаються в цитратний цикл або конвертуються у піруват, можуть безпосередньо перетворюватися в глюкозу. Таким чином, вуглеводний залишок амінокислот становить від 15 до 35 % глюконеогенезу [9]. Як видно з даних таблиці 1, вміст вільних амінокислот у плазмі крові до та після лікування хворих на кетоз тварин має ряд відмінностей. А саме, у плазмі крові корів, яким застосовували медикаментозну терапію, було зареєстровано зниження вмісту кетогенних амінокислот. Зокрема, вміст лейцину знизився на 25,4 % ($p < 0,05$) у групі корів, яким застосовували традиційну схему медикаментозної терапії та на 32,8 % ($p < 0,01$) при застосуванні — «Ремівіталу». Крім цього, застосування «Ремівіталу» спричинило вірогідне зниження (на 15,8 %; $p < 0,05$) вмісту фенілаланіну. Також було встановлено тенденцію до зниження вмісту тирозину як у першій, так і в другій дослідних групах. При цьому, концентрація глікогенних амінокислот у плазмі крові корів другої дослідної групи зростає. А саме, аланіну — на 28,1 % ($p < 0,01$), аргініну — на 24 % ($p < 0,01$), аспарагіну — на 35 % ($p < 0,001$). У плазмі крові корів I дослідної групи було встановлено вірогідне зростання лише аспарагіну (на 13,5 %; $p < 0,01$). Отримані результати свідчать про

позитивний вплив застосованої медикаментозної терапії на вирівнювання енергетичного дефіциту. У хворих на кетоз тварин знизилась активність компенсаторних механізмів, направлених на стимуляцію глюконеогенезу.

Проведені дослідження вмісту ароматичних і сірковмісних амінокислот показали зниження вмісту метіоніну (на 34,7 %; $p < 0,001$), тирозину (на 20,3 %) та триптофану (на 26,8 %; $p < 0,01$) у плазмі крові корів, яким застосовували «Ремівітал» (табл. 1). При цьому, при застосуванні традиційної схеми лікування вірогідних змін вмісту цих амінокислот у плазмі крові корів встановлено не було. Відомо, що ароматичні та сірковмісні амінокислоти розщеплюються тільки у печінці [9]. Відповідно, високий вміст цих амінокислот у плазмі крові корів до лікування може бути наслідком зниження концентрації ензимів, які знаходяться у гепатоцитах та інактивують ці амінокислоти [9]. Більш позитивна динаміка показників крові тварин II дослідної групи, порівняно з I, пояснюється яскраво вираженими гепатопротекторними властивостями складників препарату «Ремівітал». Зокрема, L-карнітин бере участь у транспорті жирних кислот через мітохондріальну мембрану та є важливим фактором підтримання рівня коензиму А [10]. L-орнітин стимулює синтез карбомілфосфатсинтетази — провідного ензиму синтезу сечовини у гепатоцитах [11]. L-аспарагін є сировиною для синтезу

інших життєво важливих амінокислот та аспарагінової кислоти, котра, в свою чергу, є незамінною в синтезі сечовини [9]. За нестачі вуглеводів L-лізин може метаболізуватися з утворенням глюкози,

цей процес є важливим джерелом енергії для організму. Нікотинамід та ціанокобаламін беруть участь у метаболізмі жирних кислот та виведенні кетонів тіл [12].

Таблиця 1

Вміст вільних амінокислот у плазмі крові корів, хворих на кетоз, до та після лікування (M±m, n = 10)

Амінокислота, мкмоль/л	Хворі до лікування	I група	p<, порівняно із хворими до лікування	II група	p<, порівняно із хворими до лікування
Аланін	118,4±3,29	123,9±6,38	0,5	164,6±16,96*	0,01
Аргінін	46,6±1,41	49,2±3,69	0,5	61,3±3,77*	0,01
Аспарагін	18,0±0,56	20,8±0,69	0,01	27,7±1,22***	0,001
Валін	101,5±3,09	153,3±7,83	0,001	136,6±13,32	0,01
Ізолейцин	66,7±9,68	101,4±5,80	0,01	81,4±4,39**	0,1
Лейцин	79,2±7,11	59,1±4,63	0,05	53,2±3,48	0,01
Метіонін	24,2±1,42	23,4±0,71	0,5	15,8±1,17***	0,001
Тирозин	31,1±5,64	30,3±0,81	1,0	24,8±0,86***	0,1
Триптофан	56,8±2,95	55,6±5,25	1,0	41,6±3,03*	0,01
Фенілаланін	29,8±2,64	27,2±0,60	0,1	25,1±0,32**	0,05

Примітка: Різниця вірогідні між I та II дослідними групами: * — p<0,05; ** — p<0,01; *** — p<0,001

Вміст амінокислот з розгалуженими ланцюгами (валін та ізолейцин), за винятком лейцину, зріс у плазмі крові корів обох дослідних груп. А саме, вміст валіну у тварин I дослідної групи зріс на 33,8 % (p<0,001), а у II — на 25,7 % (p<0,01). Зростання вмісту ізолейцину становило, відповідно, 34,2 % (p<0,01) та 18,1 %. Ці три незамінні амінокислоти розщеплюються, в основному, у м'язовій тканині та відіграють значну роль в енергетичному обміні, зокрема в утворенні та відкладанні глікогену [9]. Лейцин, крім того, що є амінокислотою з розгалуженими ланцюгами, відноситься також до групи кетогенних амінокислот. У результаті окиснення глюкози та амінокислот утворюється піруват. Його розпад залежить від доступу кисню в клітини. В анаеробних умовах метаболізується до лактату, а в аеробних піруват разом з іонами H⁺, що рухаються по протонному градієнту, проникає в мітохондрії, де відбувається його перетворення до оцтової кислоти, переносником якої є коензим А [13].

Проведені дослідження показали, що у крові хворих на кетоз корів вміст пірувату та лактату перевищував верхню межу фізіологічних коливань (табл. 2). Високий вміст пірувату та лактату з одного боку пов'язаний з ураженням печінки, де відбуваються основні етапи їх метаболізму, а з іншого — з активацією гліоконеогенезу. Після проведення медикаментозної терапії було встановлено вірогідне зниження вмісту лактату та пірувату в крові корів як першої, так і другої дослідних груп. У крові тварин, яким застосовували препарати глюкози та пропіленгліколю, вміст пірувату знизився на 22,2 % (p<0,01), а лактату — на 41,9 % (p<0,05). При цьому, у крові корів, яким застосовували «Ремівітал» в поєднанні з пропіленгліколем, вміст пірувату знизився на 25,9 % (p<0,05), а лактату — у 2,7 рази (p<0,01). Слід звернути увагу (табл. 2) на зниження лактат-піруватного співвідношення на 21,2 % у крові корів I дослідної групи та на 45,9 % (p<0,01) у другої, що свідчить про зниження активності анаеробних процесів та зростання аеробних.

Таблиця 2

Вміст пірувату та лактату у крові корів, хворих на кетоз, до та після лікування (M±m, n = 10)

Група тварин	Піруват, ммоль/л	Лактат, ммоль/л	Лактат/піруват
Хворі до лікування	0,27±0,020	6,2±1,09	22,2
Хворі після лікування:			
I гр.	0,21±0,007**	3,6±0,25*	17,5
II гр.	0,20±0,024*	2,3±0,29*##	12,0*##

Примітка: Різниця вірогідні: порівняно із хворими до початку лікування: * — p<0,05; ** — p<0,01, між тваринами I та II дослідних груп: ## — p<0,01

Висновки

У хворих на кетоз корів реєструється гіпоглікемія, гіпоінсулінемія, зростання активності глюконеогенезу та анаеробних процесів. Після 5-добового застосування медикаментозної терапії, встановлено покращення загального стану, відсутність кетонурії та нормалізацію обміну вуглеводів, що проявлялося вірогідним збільшенням у крові вмісту глюкози (на 17,7–35,9 %; p<0,05–0,001), інсуліну (у 2,7–3,7 рази; p<0,001), глікогенних амінокислот, зменшенням кетогенних, пірувату (на 22,2–25,9 %; p<0,05–0,01) та лактату (у 1,7–2,7 рази; p<0,05–0,01). Лактат-піруватне співвідношення знизилось на 21,2 % у крові корів за традиційної схеми лікування та на 45,9 % (p<0,01) при застосуванні «Ремівіталу». При проведенні порівняння ефективності двох застосованих схем лікування корів, хворих на кетоз, було встановлено, що препарат «Ремівітал» в поєднанні зі згодовуванням пропіленгліколю є більш ефективним, ніж розчин глюкози, інсулін та пропіленгліколь.

Перспективи подальших досліджень полягає у дослідженні впливу препарату «Ремівітал» на білковий, ліпідний і мінеральний обміни у корів, хворих на клінічний кетоз.

1. Ferguson J. D. Nutrition an reproduction in dairy herds. *Proc Intermountain Nutr Conf.* Salt Lake City, UT Utah State Univ, Logan., 2001. P.65–82.

2. Levchenko V. I., Sahniuk V. V. Ketosis highly productive cows: etiology and diagnosis. *Veterinary Medicine of Ukraine*, 2002, no. 2, p. 18 (in Ukranian).

3. Aschenbach J. R., Kristensen N. B., Donkin S. S., Hammon H. M., Penner G. B. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB Life*, 2010, vol.62, no. 12, pp. 869–877.

4. McArt J. A., Nydam D. V., Oetzel G. R. A field trial on the effect of propylene glycol on displaced abomasum, removal from herd, and reproduction in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *J. Dairy Sci.*, 2012, vol.95, no. 5, pp. 2505–2512.

5. Vlizlo V. V. Steatosis in cows. Dr. veterinary sci. diss. Kyiv, 1998. 491 p. (In Ukrainian).

6. Levchenko V. I., Vlizlo V. V., Kondrahin I. P. et al. *Clinical diagnostics of internal diseases in animals.* Bila Tserkva, 2004. 608 p. (In Ukrainian).

7. Simonov M. R., Vlizlo V. V. Content of free amino acids in plasma of healthy and ketotic dairy cows. *Folia Veterinaria*, 2013, vol. 57, no. 3–4, pp. 166–170.

8. Simonov M. R., Petruh I. M., Vlizlo V. V. Peculiarities of carbohydrate metabolism in high-producing dairy cows with ketosis. *Veterinary Medicine. Interdepartmental thematic research collection*, 2013, vol. 97, pp. 355–356 (in Ukrainian).

9. D'Mello J. P. F. *Amino Acids in Animal Nutrition.* Edinburgh UK: CABI Publishing, 2003. 526 p.

10. Akbar H., Bionaz M., Carlson D. Feed restriction, but not L-carnitine infusion, alters the liver transcriptome by inhibiting sterol synthesis and mitochondrial oxidative phosphorylation and increasing gluconeogenesis in mid-lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2013, vol. 96, no 4, pp. 2201–2213.

11. Gerok W., Haussinger D. Ammonia detoxication by the liver: New concepts of glutamin and urea synthesis. *H. Thaler Hepatology*, 1985, vol. 272, pp. 211–221.

12. Fürll M., Deniz A., Westphal B., Illing C., Constable P. D. Effect of multiple intravenous injections of butaphosphan and cyanocobalamin on the metabolism of periparturient dairy cows *J. Dairy Sci.*, 2010, vol. 93, no. 9, pp. 4155–4164.

13. Nelson D. L., Cox M. M. *Principle of Biochemistry, third edition.* New York: Worth Publishing, 2000. 1119 p.