

УДК 636.2:619:577.1  
© 2012

*В.В. Влізло,*  
*академік НААН*  
*М.Р. Сімонов,*  
*І.М. Петрух,*  
*кандидати*  
*ветеринарних наук*  
*Інститут біології*  
*тварин НААН*

## **ВМІСТ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ ТА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У КРОВІ ЗДОРОВИХ І ХВОРИХ НА КЕТОЗ ВИСОКОПРОДУКТИВНИХ КОРІВ**

*У високопродуктивних корів, хворих на кетоз, посилюються процеси пероксидації, що виявляється у підвищенні вмісту в сироватці крові гідроперекисів ліпідів, дієнових кон'югатів і продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою. Активація процесів пероксидації у корів, хворих на кетоз, призводить до зниження активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази — ключових ферментів антиоксидантного захисту. Посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів у хворих тварин спричиняє зміни вмісту амінокислот у крові, зокрема зниження аргініну, гістидину, гліцину, проліну, цистеїну, цитруліну та зростання метіоніну і таурину, а також збільшення активності  $\gamma$ -глутамілтранспептидази у плазмі крові.*

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 [1]. Серед хвороб, що характеризуються порушенням обміну речовин у високопродуктивних молочних корів, особливе місце належить кетозу. Внаслідок порушення вуглеводно-ліпідного та білкового обмінів і накопичення токсичних продуктів у корів, хворих на кетоз, настає ураження центральної нервової та гуморальної систем, печінки, серця, нирок та інших життєво важливих органів [3, 4].

**Мета досліджень** — визначення інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активності систем антиоксидантного захисту у корів, хворих на кетоз, що є важливим у вивченні патогенезу захворювання, встановленні глибини патологічних процесів, інтенсивності розвитку хвороби.

**Методи дослідження.** Дослідження проводили на коровах голштинської породи, 2- та 3-ї лактації, з продуктивністю понад 5200 л молока за лактацію. Проби крові відбирали через

2 тижні після отелення. Проводили клінічний огляд корів і за допомогою індикаторних смужок (Ketophan, Pliva) визначали вміст кетонових тіл у сечі. Тварин з позитивним результатом на вміст кетонових тіл у сечі виділяли в окрему групу. У корів із яремної вени відбирали кров, у якій визначали вміст продуктів ПОЛ (ТБК-активні продукти, гідроперекиси ліпідів, дієнові кон'югати), вільних амінокислот (хроматографічно на амінокислотному аналізаторі Biotronik LC 6001), активності ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза та глутатіонпероксидаза) та  $\gamma$ -глутамілтранспептидази (ГГТП) [2].

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

**Результати досліджень та обговорення.** У результаті проведених досліджень корів, хворих на кетоз, встановлено підвищення в їхньому організмі інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення. Так, уміст досліджуваних

### **1. Уміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові здорових і хворих на кетоз корів (M $\pm$ m, n=10)**

Група тварин	Гідроперекиси ліпідів, од. Е480/мл	Дієнові кон'югати, Мкмоль/л	ТБК-активні продукти, нмоль/мл
Клінічно здорові	1,4 $\pm$ 0,23	5,9 $\pm$ 0,83	3,8 $\pm$ 0,73
Хворі на кетоз	2,5 $\pm$ 0,22	7,7 $\pm$ 0,56	6,0 $\pm$ 0,14
P<	0,05	0,1	0,05

**2. Активність ферментів антиоксидантного захисту у здорових і хворих на кетоз корів (M±m, n=10)**

Група тварин	Супероксид-дисмутаза, ум.од. на 1 г Hb	Глутатіон-пероксидаза, мкМ/хв на 1г Hb
Клінічно здорові	42,3±0,74	452,70±7,96
Хворі на кетоз	39,8±0,39	332,7±14,49
P<	0,05	0,01

**3. Уміст вільних амінокислот у плазмі крові здорових і хворих на кетоз корів (M±m, n=10)**

Амінокислота, мкмоль/л	Клінічно здорові	Хворі на кетоз	P<
Аргінін	58,3±2,16	46,6±2,58	0,01
Гістидин	36,4±3,96	21,0±1,31	0,001
Гліцин	402,6±24,35	287,7±8,21	0,01
Метіонін	16,8±1,48	24,2±1,42	0,01
Пролін	135,5±5,21	114,5±22,76	0,1
Таурин	17,7±1,35	27,02±2,49	0,05
Цистеїн	6,64±0,37	1,67±0,73	0,001
Цитрулін	77,4±6,30	42,2±5,78	0,01

продуктів ПОЛ у сироватці крові хворих корів був значно вищим, ніж у клінічно здорових (табл. 1). Зокрема, встановлено, що у крові корів, хворих на кетоз, підвищувалася концентрація гідроперекисів ліпідів на 44% (P<0,05), дієнових кон'югатів — на 23,4 і ТБК-активних продуктів — на 36,7% (P<0,05).

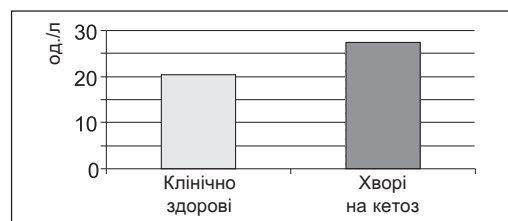
Проведені дослідження ферментативної ланки антиоксидантної системи свідчать, що рівень активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у крові корів, хворих на кетоз, нижчий на 6% (P<0,05) та 26,5% (P<0,01) відповідно порівняно з клінічно здоровими (табл. 2). З огляду на це можна зробити висновок, що у разі посилення процесів пероксидації активність супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у крові хворих корів знижується. За активністю цих ферментів значною мірою визначають функціональну спроможність глутатіонової антиоксидантної системи. Глутатіонпероксидаза за допомогою глутатіону відновлює гідроперексиди жирних кислот і тим самим зменшує кількість токсичних продуктів окиснення [1].

За умови підвищення інтенсивності вільнорадикального окиснення організм активує компенсаторні механізми, спрямовані на нейтралізацію окиснювальних ефектів кисню і його активних метаболітів. Деякі літературні дані свідчать про здатність окремих амінокислот до зниження пошкоджувальних і патологічних ефектів, зумовлених окиснювальним впливом різної природи [8, 10, 14]. Наприклад, показана здатність цитруліну та аргініну до знешкодження суперок-

сиду аніон-радикала, що за дії окисних чинників нормалізує роботу серцевого м'яза. За нашими даними, у плазмі крові хворих тварин порівняно зі здоровими вміст цитруліну знижується на 45,5% (P<0,01), аргініну — на 20,1% (P<0,01), що свідчить про велике використання цих амінокислот (табл. 3). Також є дані про те, що значну роль в антиоксидантному захисті організму відіграють пролін і гістидин [7]. Пролін є ефективним перехоплювачем синглетного кисню, запобігає ушкодженню клітин та їх загибелі у разі окисного стресу. Гістидин має здатність до перехоплення пероксильних радикалів, запобігає карбоксилуванню білків й утворенню білкових зшивок. Ці ефекти, ймовірно, зумовлені фізико-хімічними властивостями, пов'язаними з їх здатністю реагувати з активними формами кисню. За нашими даними, у хворих тварин порівняно із клінічно здоровими вміст проліну та гістидину є нижчим на 15,5 та на 42,3% (P<0,001) відповідно (див. табл. 3).

Значна роль у системі антиоксидантного захисту організму належить метіоніну, оскільки ця сірковмісна амінокислота забезпечує дезінтоксикаційні процеси, насамперед під час зв'язування важких металів, ендогенних та екзогенних токсинів. Крім цього, виражена антиоксидантна дія метіоніну пов'язана з тим, що він є добрим джерелом сірки, яка інактивує вільні радикали, посилює використання ліпідів, чим запобігає відкладанню їх у печінці та стінках судин. Від рівня метіоніну залежить синтез таурину, а також цистеїну, який є попередником глутатіону [9, 6, 11]. Установлено, що в плазмі крові хворих на кетоз корів зростає вміст метіоніну (P<0,01) й таурину (P<0,05), що, очевидно, пов'язано зі збільшенням активності компенсаторних механізмів організму тварин. При цьому вміст цистеїну у хворих тварин знижувався на 74,8% (P<0,001), а гліцину — на 28,5% (P<0,01), що може пояснюватися використанням цих амінокислот для синтезу глутатіону, який, у свою чергу, використовується для дезінтоксикації організму.

Глутатіон — це так званий міні-білок, що складається з трьох амінокислот: гліцину, цистеїну і глутамінової кислоти. Глутатіон плазми утилізується тканинами організму способом транспорту через клітинні мембрани і ресинте-



**Активність γ-глутамілтранспептидази у плазмі крові здорових і хворих на кетоз корів, n=10**

зу всередині клітини за допомогою глутамільного циклу. Надходження глутатіону з плазми крові в тканини контролюється активністю  $\gamma$ -глутамілтрансспептидази, а ферментом, що лімітує швидкість синтезу глутатіону, є  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетаза. У нормальних умовах 80–90% глутатіону захоплюється і розщеплюється нирками, в інших тканинах та органах (скелетні м'язи, серце) обмін глутатіону відбувається по-вільно [5, 13]. За інгібування синтезу глутатіону в печінці та організмі загалом зменшується і концентрація глутатіону в плазмі крові. Скелетні м'язи зберігають плазмовий глутатіон через зниження активності ГГТП, а в активніших

у метаболічному плані органах, зокрема серці і нирках, у відповідь на зниження постачання плазмового глутатіону, навпаки, збільшується активність  $\gamma$ -глутамілтрансспептидази [12]. Отримані нами результати досліджень свідчать про вірогідно вищу ( $P < 0,01$ ) активність ГГТП у плазмі крові корів (рисунок), хворих на кетоз ( $27,4 \pm 2,07$  од./л) порівняно зі здоровими ( $20,4 \pm 0,69$  од./л), що може бути пов'язано з низьким умістом глутатіону та високим — продуктів ПОЛ. Водночас зростання активності ГГТП у крові хворих корів свідчить про ураження внутрішньопечінкових жовчних протоків і розвиток холестазу.

### Висновки

У високопродуктивних корів, хворих на кетоз, посилюються процеси пероксидації, що виявляється у підвищенні вмісту в сироватці крові гідроперексидів ліпідів, дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів. Активація процесу пероксидації у хворих корів спричиняє зниження активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази — ключових ферментів антиоксидантного захисту. Водночас зростання процесів ПОЛ у хворих корів сприяє

посиленню компенсаторних механізмів, які знижують згубний вплив продуктів ПОЛ, що виявляється у зростанні вмісту метіоніну і таурину та зниженні аргініну, гістидину, гліцину, проліну, цистеїну та цитруліну. У плазмі крові хворих на кетоз корів реєструється вища активність  $\gamma$ -глутамілтрансспептидази, що є відповіддю на посилення процесів ПОЛ та ознакою ураження гепатобілярної системи.

### Бібліографія

1. Данчук В.В. Перекисне окислення у сільськогосподарських тварин і птиці/В.В. Данчук. — Кам'янець-Подільський: Абетка, 2006. — 192 с.
2. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник/В.В. Влізла, Р.С. Федорук, І.Б. Ратич та ін.; за ред. В.В. Влізла. — Львів: СПОЛОМ, 2012. — 764 с.
3. Левченко В.І. Ветеринарна клінічна біохімія/В.І. Левченко, В.В. Влізла, І.П. Кондрахін та ін.; за ред. В.І. Левченка і В.Л. Галяса. — Біла Церква, 2002. — 400 с.
4. Левченко В.І. Внутрішні хвороби тварин/В.І. Левченко, І.П. Кондрахін, В.В. Влізла та ін.; за ред. В.І. Левченка. — Біла Церква, 2001. — Ч. 2. — 544 с.
5. Akerboom T. Glutathione: metabolism and physiological functions/T. Akerboom, H. Sies//J. Vina GRG Press, 1990. — P. 46–52.
6. Charita K. Singal Effects of methionine on endogenous antioxidants in the heart/K. Charita, L. Timao, K. Neelam and al.//J. Heart and circulatory physiology. — 1999. — 277, № 6. — P. 124–128.
7. Chen C. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*/C. Chen, M.B. Dickman//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2005. — 102, № 9. — P. 3459–3464.
8. El-Hattab A. W. Citrulline and arginine utility in treating nitric oxide deficiency in mitochondrial disorders / A. W. El-Hattab, L. T. Emrick, W. J. Craigen and al.//J. Mol. Genet. Metab. — 2012. — № 6. — P. 399–406.
9. Erdmann K. L-Methionine Reduces Oxidant Stress in Endothelial Cells: Role of Heme Oxygenase-1, Ferritin, and Nitric Oxide/K. Erdmann, N. Grosser, H. Schrzder//The AAPS Journal. — 2005. — 7, № 1. — P. 18–19.
10. Gou L. Protective effect of L-citrulline against acute gastric mucosal lesions induced by ischemia-reperfusion in rats/L. Gou, L. Zhang, C. Yin and al.//J. Physiol. Pharmacol. — 2011. — 89, № 5. — P. 317–327.
11. Jung Chae L. Methionine sulfoxide reductase A is astereospecific methionine oxidase/L. Jung Chae, Y. Zheng, K. Geumsoo and al.//Proceedings of the National Academy of Sciences USA. — 2011. — 108, № 26. — P. 409–412.
12. Leeuwenburgh C. Glutathione depletion in rested and exercised mice: biochemical consequence and adaptation/C. Leeuwenburgh, L.L. Ji//Arch. Biochem. Biophys. — 1995. — 316, № 2. — P. 941–949.
13. Leeuwenburgh C. Glutathione and Glutathione Ethyl Ester Supplementation of Mice Alter Glutathione Homeostasis during Exercise/C. Leeuwenburgh, L.L. Ji//J. Nutr. — 1998. — 128, № 12. — P. 2420–2426.
14. Noris M. L-arginine depletion in preeclampsia orients nitric oxide synthase toward oxidant species/M. Noris, M. Todeschini, P. Cassis and al.//J. Hypertension. — 2004. — 43, № 3. — P. 614–622.