

Тваринництво, ветеринарна медицина

УДК 636.2:619:577.1

© 2014

М.Р. Сімонов,

*кандидат
ветеринарних
наук*

О.В. Гультяєва

А.З. Пилипець,

*кандидат
сільсько-
господарських
наук*

В.В. Влізло,

*академік НААН,
доктор
ветеринарних
наук*

*Інститут біології
тварин НААН*

ПОРУШЕННЯ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ У МОЛОЧНИХ КОРІВ, ХВОРИХ НА КЕТОЗ

Мета. Вивчити зміни вмісту нейтральних ліпідів і фосфоліпідів у крові, а також вмісту жиру та білка у молоці високопродуктивних корів, хворих на кетоз. **Методи.** Матеріалом для досліджень були молочні корови голштинської породи продуктивністю понад 8000 л молока, у яких виявлено ознаки клінічного кетозу. **Результати.** У крові корів, хворих на кетоз, встановлено зростання вмісту тригліцеролів, неетерифікованих жирних кислот, холестеролу і зниження фосфоліпідів та індексу етерифікований/загальний холестерол. У плазмі крові хворих корів знижується відносний вміст сфінгомієліну, фосфатидилетаноламіну, кардіоліпіну та зростає лізолецитину, фосфатидилсерину, фосфатидилхоліну, фосфатидилінозитолу та фосфатидної кислоти. У молоці хворих корів вірогідно зростає вміст жиру та співвідношення жир/білок. **Висновки.** Співвідношення жиру і білка у молоці є інформативним діагностичним тестом кетозу молочних корів.

Ключові слова: корови, ліпідний обмін, кетоз, тригліцероли, жирні кислоти, холестерол, фосфоліпіди, молоко.

Хвороби обміну речовин у тварин — одна з найважливіших проблем у сучасному тваринництві багатьох країн світу. Одним із метаболічних захворювань, що спричиняє значне зниження молочної продуктивності та передчасне вибраковування тварин, є кетоз корів [2]. Захворювання найчастіше виявляють у перші два місяці лактації, тобто у пік молочної продуктивності [3, 6]. У цей час відбувається втрата живої маси тіла тварини через природний

дефіцит енергії. Організм корови використовує внутрішні резерви, зокрема жирові депо. Утворюється велика кількість жирних кислот, які з кров'ю потрапляють у печінку і м'язи, де використовуються як джерела енергії, посилюється кетогенна функція печінки. У разі недостатньої кількості пропіонатів, які синтезуються в рубці з легкоперетравних вуглеводів, із жирних кислот активно утворюються кетонові тіла (ацетон, β -оксимасляна та ацетооцтова кислоти)

1. Вміст нейтральних жирів у сироватці крові здорових і хворих на кетоз корів ($M \pm m$)

Показник	Здорові	Хворі	P<
Тригліцероли, ммоль/л	0,22±0,031	0,67±0,11	0,001
Неетерифіковані жирні кислоти, ммоль/л	0,7±0,15	1,1±1,12	0,05
Загальний холестерол, ммоль/л	2,7±0,15	5,0±0,41	0,01
Етерифікований холестерол, ммоль/л	1,8±0,10	1,7±0,19	0,5
Індекс етерифікований/вільний холестерол	0,68±0,076	0,34±0,025	0,001

і виникає кетоз [3]. Отже, ліпідному обміну належить надзвичайно важлива роль у патогенезі кетозу.

Мета досліджень — вивчення змін вмісту нейтральних ліпідів і фосфоліпідів у крові, а також вмісту жиру та білка у молоці високопродуктивних корів, хворих на кетоз, що може бути важливим під час вивчення патогенезу захворювання, встановлення глибини патологічних процесів та інтенсивності розвитку хвороби.

Методи дослідження. Дослідження проводили у березні місяці на коровах голштинської породи, 2–4-ї лактації, продуктивністю понад 8 000 кг молока за попередню лактацію. Проводили клінічний огляд корів і за допомогою індикаторних смужок (Ketophan, Pliva) визначали вміст кетонів у сечі. Клінічно здорових і хворих на кетоз тварин утримували в аналогічних умовах та годували за однаковим раціоном. У здорових і хворих корів відбирали проби крові та молока. Кров відбирали із яремної вени перед ранішньою годівлею у стерильні пробірки. У сироватці крові за допомогою біохімічного аналізатора типу HumaLyzer 2000 визначали вміст загального та етерифікованого холестеролу. У плазмі крові визначали вміст тригліцеролів за кольоровою реакцією з хромотроповою кислотою, неетерифікованих жирних кислот — за кольоровою реакцією з 1,5-дифенілкарбазидом, фосфоліпіди та їх фракції — методом тонкошарової хроматографії [5]. Уміст жиру та білка у молоці визначали за допомогою аналізатора молока Ekomilk total.

Одержані дані опрацьовували на комп'ютері в програмі Excel, визначаючи середню арифметичну величину (M), статистичну помилку середньої арифметичної величини (m). Вірогідність різниць оцінювали за t -критерієм Стьюдента. Результати вважали вірогідними за $P < 0,05 - 0,001$.

Результати досліджень та обговорення.

Клінічними дослідженнями встановлено, що хворі корови були пригнічені, більше лежали, у деяких було м'язове тремтіння. Жива маса та молочна продуктивність у них знижувалися. Під час дослідження сечі за допомогою індикаторних смужок у хворих корів виявляли кетонові тіла.

Проведений аналіз вмісту нейтральних ліпідів у крові здорових і хворих на кетоз корів свідчить про ряд відмінностей (табл. 1). Зокрема, було встановлено вірогідне ($P < 0,001$) зростання втричі вмісту тригліцеролів та у 1,5 раза неетерифікованих жирних кислот. Відомо [8, 15, 17], що печінка відіграє головну роль у метаболізмі мобілізованих із жирових депо жирних кислот (у складі тригліцеролів). Лактація потребує посилення синтезу та секреції тригліцеролів печінкою, головним чином у ліпопротеїдах низької щільності, які активно використовуються молочною залозою. Вільні (неетерифіковані) жирні кислоти (ВЖК) вивільняються з тригліцеролів внаслідок ліполізу в жирових депо. Надлишкове утворення ВЖК активує утворення кетонів тіл і холестеролу. Їх концентрація у плазмі крові пов'язана з енергозабезпеченістю організму тварин і характеризує активність процесів ліполізу, мобілізації їх із жирового депо. Тому за недостатнього надходження енергетичних речовин в організмі посилюється ліполіз і зростає вміст тригліцеролів і ВЖК у плазмі крові.

У крові корів, хворих на кетоз, майже удвічі зростає вміст загального холестеролу ($P < 0,01$; табл. 1) та є тенденція до зниження вмісту етерифікованого холестеролу. Основними джерелами холестеролу є клітини печінки і кишечника (близько 80% холестеролу синтезується в печінці, 10% — у кишечника). Уміст холестеролу в сироватці крові залежить від функціонального стану

печінки. Підвищення концентрації холестеролу в сироватці крові (гіперхолестеролемія) пов'язане із гіперліпідемією, збільшенням у сироватці крові триацилгліцеролів, патологією печінки з порушенням процесів утворення жовчних кислот (гепатит, гепатодистрофія) та жовчовиділення [3, 10, 11, 18]. За кетозу гіперхолестеролемія може бути пов'язана зі зростанням ліпогенезу та гліюкогенезу, утворенням проміжних продуктів, що можуть використовуватися для синтезу ендogenous холестеролу [1, 13]. Водночас нами встановлено зниження співвідношення між етерифікованим і загальним холестеролом (індекс етерифікований/загальний холестерол) із $0,68 \pm 0,076$ у здорових тварин до $0,34 \pm 0,025$ — у хворих на кетоз. Зниження цього індексу є поганою прогностичною ознакою, оскільки свідчить про значне ураження гепатоцитів і зниження їх синтетичної функції.

Проведені дослідження вмісту фосфоліпідів у плазмі крові хворих на кетоз корів свідчать про його вірогідне ($P < 0,05$) зниження у 1,8 раза, порівняно із клінічно здоровими тваринами (рис. 1). Основною причиною порушення синтезу фосфоліпідів є жирова гепатодистрофія. Основна частина фосфоліпідів використовується самою печінкою для процесів фізіологічної регенерації, а частина з током крові постійно постачається в різні органи і тканини [1, 19]. Для синтезу фосфоліпідів необхідні ліпотропні речовини, які є донорами метильних груп, що беруть безпосередню участь у синтезі фосфоліпідів (холін, серин і метіонін), або речовини, які сприяють синтезу цих сполук (ціанокобаламін). Холін із тригліцеролами утворює холінфосфати (лецитин), що забезпечує постійний відтік ліпідів із печінки в кров'яне русло і запобігає небезпеці її жирової дистрофії. За нестачі ліпотропних речовин у печінці накопичуються нейтральні жири, а кількість глікогену зменшується.

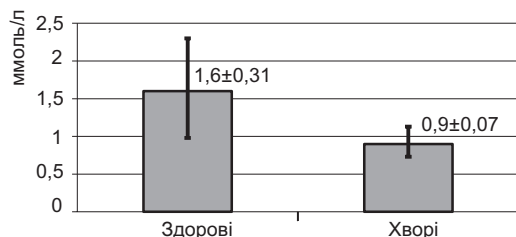


Рис. 1. Вміст фосфоліпідів у плазмі крові корів

Водночас збільшуються розміри гепатоцитів, їхні оболонки розриваються, і виникають великі жирові кісти. Якщо цей процес прогресує, то починає розвиватися сполучна тканина, яка поступово заміщає жир, у результаті чого настає дифузний фіброз. До порушення синтезу фосфоліпідів призводить також гіпоксія, яка розвивається за анемії, серцево-судинної чи легеневої недостатності, оскільки за гіпоксії виникає дефіцит енергії, потрібної для синтезу лецитину, і обмін ліпідів спрямовується на синтез триацилгліцеролів. Порушення синтезу фосфоліпідів за ураження гепатоцитів зумовлюється не лише дефіцитом ліпотропних речовин, а й недостатнім утворенням у клітинах печінки АТФ — джерела енергії для синтетичних процесів [4, 14].

Під час проведення лабораторного дослідження фракційного складу фосфоліпідів плазми крові здорових і хворих на кетоз корів було встановлено ряд відмінностей (табл. 2). Зокрема, у плазмі крові корів, хворих на кетоз, порівняно зі здоровими, встановлено вірогідне ($P < 0,05 - 0,001$) зростання вмісту лізолецитину (на 11%), фосфатидилсерину та фосфатидилхоліну (у 2,8 та 3,2 раза відповідно). Вважаємо, що основною причиною таких змін є активація компенсаторних механізмів у організмі хворих, спрямованих на репарацію гепатоцитів завдяки відновленню ліпідного бішару вбудовуванням молекул фосфоліпідів в ушкоджені мембрани печінкових клітин, заміщення дефектів і поновлення бар'єрної функції. Крім цього, виявлене нами вірогідне зростання вмісту фосфатидилхоліну у плазмі крові хворих на кетоз корів

2. Вміст фракцій фосфоліпідів у плазмі крові здорових і хворих на кетоз корів ($M \pm m$), %

Показник	Здорові	Хворі	P <
Лізолецитин	$15,3 \pm 1,97$	$17,2 \pm 2,00$	0,5
Сфінгомієлін	$25,0 \pm 1,61$	$21,5 \pm 2,05$	0,1
Фосфатидилсерин	$2,8 \pm 0,62$	$7,8 \pm 1,87$	0,05
Фосфатидилхолін	$1,9 \pm 0,45$	$6,1 \pm 0,80$	0,001
Фосфатидилінозитол	$11,5 \pm 3,29$	$12,5 \pm 4,55$	0,5
Фосфатидилетаноламін	$22,2 \pm 2,81$	$15,1 \pm 1,31$	0,05
Кардіоліпін	$12,0 \pm 3,09$	$9,1 \pm 3,36$	0,5
Фосфатидна кислота	$9,3 \pm 2,08$	$10,7 \pm 1,22$	0,5

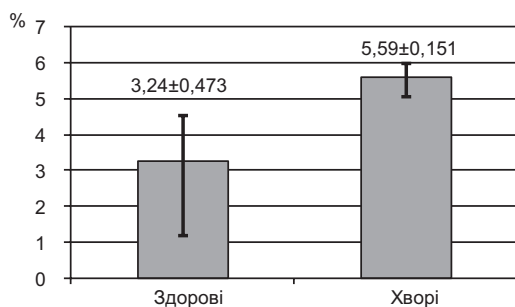


Рис. 2. Вміст жиру в молоці корів

свідчить про активацію фосфоліпази D — ензиму, що каталізує його гідроліз з утворенням фосфатидної кислоти [9, 12], вміст якої має тенденцію до зростання (табл. 2). Встановлене нами зростання вмісту фосфатидилхоліну також може бути зумовлене активацією його реакціювання.

У крові хворих корів вірогідно ($P < 0,05$) знижується вміст фосфатидилетаноламіну (на 32%). Це може бути пов'язано з тим, що цей фосфоліпід залучений до посилення фізіологічних процесів щодо дезінтоксикації, енергетичного обміну, активації ліпази та регуляції активності різних трансмембранних білків [20]. Крім цього, у плазмі крові корів, хворих на кетоз, є тенденція до зниження вмісту сфінгомієліну (на 14%) (див. табл. 2). Відомо [7], що фосфоінозитолі залучені у процеси

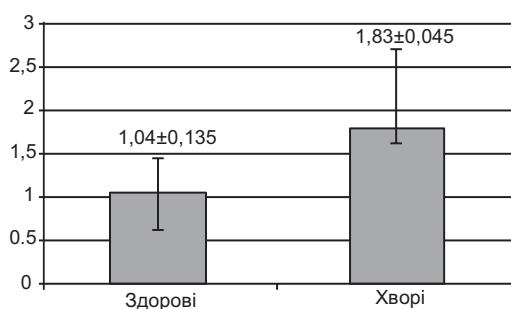


Рис. 3. Співвідношення жиру і білка у молоці корів

сигнальної трансдукції та є джерелом таких важливих месенджерів, як діацилгліцерол, інозитолфосфати та арахідонова кислота. Зниження вмісту сфінгомієліну може бути пов'язане з використанням сфінголіпідів як сигналізаторних посередників у біосинтезі кортизолу, який активно синтезується для посилення глюконеогенезу [16, 21].

Проведені нами дослідження молока, відібраного від корів, хворих на кетоз, свідчать про вірогідно ($P < 0,001$) вищий у 1,7 раза вміст жиру (рис. 2). Це призвело до зростання (на 43,2%; $P < 0,001$) співвідношення між жиром і білком у молоці хворих на кетоз корів (рис. 3). Високий вміст жиру у молоці свідчить про інтенсивну мобілізацію жиру в організмі хворих на кетоз корів і надходження його в молочну залозу.

Висновки

Розвиток кетозу у молочних корів призводить до значних змін показників ліпідного обміну, зокрема у крові зростає вміст тригліцеролів, неетерифікованих жирних кислот і загального холестеролу та знижується вміст фосфоліпідів та індекс етерифікований/загальний холестерол. У плазмі крові корів, хворих на кетоз, відбуваються зміни у складі фосфоліпідів, зниження відносного вмісту сфінгомієліну,

фосфатидилетаноламіну, кардіоліпіну та зростання лізолецитину, фосфатидилсерину, фосфатидилхоліну, фосфатидилінозиту та фосфатидної кислоти. У молоці корів, хворих на кетоз, вірогідно зростає вміст жиру та співвідношення жир/білок (із 1,04 до 1,83), що може ефективно використовуватися як ранній діагностичний тест розвитку активної ліпомобілізації та кетозу.

Бібліографія

1. Влізло В.В. Жировий гепатоз у корів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня. докт. вет. наук/ В.В. Влізло. — К., 1998. — 34 с.
2. Внутрішні хвороби тварин/В.І. Левченко, В.В. Влізло, І.П. Кондрахін та ін.; за ред. В.І. Левченка. — Біла Церква, 2001. — Ч. 2. — 544 с.

3. 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.
4. Кольман Я. Наглядная биохимия/Я. Кольман, К. Рем; пер. с нем. Л.В. Козлова, Е.С. Левиной, П.Д. Решетова; под ред. П.Д. Решетова, Т.И. Соркиной]. —

М.: Мир, 2000. — 469 с.

5. *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.

6. *Левченко В.І.* Кетоз високопродуктивних корів/В.І. Левченко, В.В. Сахнюк//Вісн. БДАУ. — Вип. 11. — Біла Церква, 2000. — С. 69–73.

7. *Bance J.E.* Phosphatidylserine and Phosphatidyl ethanolamine in mammalian cells: two metabolically related aminophospholipids syndrome/J.E. Bance// J. Lipid Res. — 2008. — 49. — P. 1377–1387.

8. *Cohen D.E.* Lipoprotein metabolism, dyslipidemia, and nonalcoholic fatty liver disease/D.E. Cohen, E.A. Fisher//Semin Liver Dis. — 2013. — 33, № 4. — P. 380–388.

9. *Dynamics and function of phospholipase D and phosphatidic acid during phagocytosis*/M. Corrotte, S. Chasserot-Golaz, P. Huang et al.//Traffic. — 2006. — № 7. — P. 365–377.

10. *Engle T.E.* Copper and lipid metabolism in beef cattle: a review/T.E. Engle//J. Anim Sci. — 2011. — 89, № 2. — P. 591–596.

11. *Hocquette J.F.* Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals/J.F. Hocquette, D. Bauchart//Reprod Nutr Dev. — 1999. — 39, № 1. — P. 27–48.

12. *Jenkins G.M.* Phospholipase D: a lipid centric review/G.M. Jenkins, M.A. Frohman//Cell Mol. Life Sci. — 2005. — № 6. — P. 2305–2316.

13. *Katoh N.* Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum

diseases in dairy cows/N. Katoh//J. Vet Med Sci. — 2002. — 64, № 4. — P. 293–307.

14. *Lieberman M.* Essentials of Medical Biochemistry, 2nd Edition/M. Lieberman, A. Marks, C. Smith// Maryland USA: Lippincott Williams and Wilkins, 2007. — 584 p.

15. *Nakamura M.T.* Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids/M.T. Nakamura, B.E. Yudell, J.J. Loo//Prog Lipid Res. — 2014. — № 53. — P. 124–144.

16. *Ozbay T.* ACTH regulates steroidogenic gene expression and cortisol biosynthesis in the human adrenal cortex via sphingolipid metabolism/T. Ozbay, A. H. Merrill, M. B. Sewer//Endocr Res. — 2004. — 30, № 4. — P. 787–794.

17. *Pathophysiology of NAsh/NAFLD associated with high levels of serum triglycerides*/Y. Ogawa, K. Imajo, M. Yoneda, A. Nakajima//Japanese journal of clinical medicine. — 2013. — 71, № 9. — P. 1623–1629.

18. *Rai A.K.* Molecular regulation of cholesterol metabolism: HDL-based intervention through drugs and diet/A.K. Rai, P. Debetto, F.D. Sala//Indian J. Exp Biol. — 2013. — 51, № 11. — P. 885–894.

19. *Regulation of VLDL synthesis and secretion in the liver*/D. Gruffat, D. Durand, B. Graulet, D. Bauchart//Reprod Nutr Dev. — 1996. — 36, № 4. — P. 375–389.

20. *Shukla S.D.* Metabolic turnover of ethanol into cellular lipids and platelet activating factor/S.D. Shukla//Alcohol Clin. Exp. Res. — 2001. — 25, № 5. — P. 33–39.

21. *Simonov M.R.* Some indicators of protein metabolism in blood of cows under ketosis/M.R. Simonov, V.V. Vlizlo//Біологія тварин. — 2013. — Т. 15, № 3. — С. 120–124.

Надійшла 18.08.2014.