

УДК 577.16:636.2:546.18.46

ВМІСТ 25-ГІДРОКСИВІТАМІНУ D₃ ТА ПОКАЗНИКІВ МІНЕРАЛЬНОГО ОБМІНУ В КРОВІ МОЛОДНЯКУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ

Юськів Л.Л., Влізло В.В.

Інститут біології тварин НААНУ, м. Львів

Дефіцит вітаміну D в організмі великої рогатої худоби спричиняє розвиток рахіту в молодняку, остеодистрофії у дорослих тварин, післяродової гіпокальцемії та інші патології [1-3].

До нестачі кальциферолу особливо чутливий молодняк, у якого сповільнюється ріст кісток і проходить їх деформація. В умовах круглорічного безвигульного утримання D-гіповітамінозу у молодняку великої рогатої худоби може бути в будь-яку пору року. Із розвитком D-гіповітамінозу та зменшенням рівня кальцію в організмі телят пов'язують зниження інтенсивності росту, порушення морфо-функціонального розвитку органів і тканин та різних ланок обміну речовин [4, 5].

Встановлено, що для проявлення фізіологічної дії в організмі тварин вітамін D₃ повинен пройти декілька послідовних реакцій гідроксилування, в результаті яких утворюються активні метаболіти вітаміну D₃: 25-гідроксихолекальциферол (25(OH)D₃), 24,25-дигідроксихолекальциферол (24,25(OH)₂D₃), 1α,25-дигідроксихолекальциферол (1,25(OH)₂D₃) і 1α,24,25-тригідроксихолекальциферол (1,24,25(OH)₃D₃). Таке перетворення регулюється не тільки кальцитоніном, паратеріоїдним гормоном, рівнем кальцію і фосфору в організмі, але й вмістом вітаміну D [4-6]. Механізм дії метаболітів вітаміну D₃ в основному подібний до дії інших стероїдних гормонів і здійснюється в органах-мішенях опосередковано через синтез специфічних білків, які виконують відповідні фізіологічні функції [2, 4, 6].

25-гідроксихолекальциферол є основною формою вітаміну D₃, що циркулює в крові та є попередником при синтезі інших активних метаболітів. Тому, концентрація 25-OHD₃ в крові великої рогатої худоби є критерієм оцінки їх D-вітамінного статусу [5, 7, 8].

Вміст 25-OHD₃ у плазмі крові великої рогатої худоби за даними одних авторів становить 30-70 нг/мл, а при рахіті – 7-12 нг/мл [3], а за даними інших – 20-50 нг/мл, якщо нижчий ніж 5 нг/мл, то це свідчить про розвиток D-гіповітамінозу [4]. Кількість 25-OHD₃ у сироватці крові корів залежить від віку, умов утримання і клінічного стану [5].

Отже, дослідження, скеровані на розробку ефективних способів забезпечення оптимальної потреби великої рогатої худоби вітаміном D₃ у різні періоди росту і розвитку є актуальними. У зв'язку з цим, метою даної роботи було дослідити вміст активного метаболіту вітаміну D₃ – 25-OHD₃, кальцію, фосфору, магнію й активність лужної фосфатази у крові молодняку великої рогатої худоби після парентерального введення різних доз холекальциферолу.

Матеріали і методи. Дослід проведено у зимово-весняний період на 3-х групах теличок чорно-рябої породи, 5-6-місячного віку, по 5 голів у кожній. Теличкам 1-ої групи (контрольної) вітамін D₃ не задавали; теличкам 2-ої групи 1 раз на тиждень протягом місяця парентерально вводили вітамін D₃ у дозі 31500 МО, а 3-ій групі – 63000 МО вітаміну D₃ на голову. Після введення холекальциферолу протягом місяця від тварин усіх груп відбирали кров для досліджень: через 1 тиждень, 1- і 2 місяці.

У сироватці крові телят визначали вміст активного метаболіту вітаміну D₃ – 25-OHD₃ методом імуноферментного аналізу шляхом використання тест-системи фірми Immundiagnostik (Німеччина). Для визначення вмісту кальцію, неорганічного фосфору і магнію та активності лужної фосфатази (ЛФ) використовували біотестнабори фірми Pliva Lachema (Чехія). Активність кісткової (термолабільної) фракції сироваткової лужної фосфатази визначали за різницею між активністю загальною та термостабільною (ЛФ) [9]. Статистичну обробку одержаних цифрових даних проводили за комп'ютерною програмою.

Результати роботи. До введення холекальциферолу вміст активного його метаболіту – 25-OHD₃ в сироватці крові теличок 5-6 місячного віку був у межах 15,02 – 18,56 нмоль/л (табл. 1). Ці дані свідчать про те, що вміст – 25-OHD₃ у сироватці крові досліджуваних теличок був на нижній межі фізіологічних коливань. У сироватці крові молодняку був знижений вміст загального кальцію, в якому частка ультрафільтрувальної фракції дорівнювала 62-63 %. Поряд з цим рівень неорганічного фосфору коливався в межах від 1,58 до 1,65 ммоль/л.

Таблиця 1 – Вміст 25-OHD₃ та мінеральних компонентів у сироватці крові молодняку великої рогатої худоби (M±m, n=5)

Досліджувані показники	Групи тварин		
	1	2	3
25-OHD ₃ , нмоль/л	15,0±1,22	18,6±1,33	17,0±1,46
Кальцій загальний, ммоль/л	2,17±0,07	2,26±0,06	2,19±0,05
Білок-зв'язаний кальцій, ммоль/л	0,83±0,034	0,86±0,036	0,83±0,035
Ультрафільтрувальний кальцій, ммоль/л	1,35±0,051	1,40±0,048	1,37±0,054
Фосфор неорганічний, ммоль/л	1,58±0,06	1,65±0,05	1,60±0,05
Магній, ммоль/л	0,83±0,004	0,82±0,005	0,83±0,005
Лужна фосфатаза загальна, Од/л	157,1±8,41	143,3±9,06	149,9±7,78
Кістковий ізофермент ЛФ, Од/л	123,5±5,12	113,8±6,22	118,7±6,84

Після парентерального введення теличкам протягом місяця холекальциферолу вміст 25-OHD₃ у сироватці крові тварин дослідних груп збільшувався порівняно з контрольними (табл. 2). Так, через 1 тиждень після введення вітаміну D₃ у сироватці крові теличок 2-ої і 3-ої дослідних груп вміст 25-OHD₃ був вищим відповідно на 50 % (p<0,01) і 83 % (p<0,001), через 1 місяць — на 47 % (p<0,05) і 75 % (p<0,001), через 2 місяці — на 48 % (p<0,05) і 70 % (p<0,01). Ці дані свідчать про дозозалежне збільшення вмісту 25-OH-D₃ у сироватці крові теличок при парентеральному введенні їм вітаміну D₃.

Таблиця 2 – Вміст 25ОНD₃ та мінеральних компонентів у сироватці крові молодняка ВРХ за введення вітаміну D₃ (M±m, n=5)

Досліджувані показники	Групи тварин		
	1	2	3
Через 1 тиждень після введення			
25-ОНD ₃ , нмоль/л	18,1±1,54	27,2±1,66**	33,1±2,24***
Кальцій загальний, ммоль/л	2,21±0,10	2,54±0,08*	2,62±0,08**
Білок-зв'язаний кальцій, ммоль/л	0,93±0,036	1,04±0,038	1,06±0,037*
Ультрафільтрувальний кальцій, ммоль/л	1,28±0,063	1,50±0,056*	1,56±0,051
Фосфор неорганічний, ммоль/л	1,63±0,05	1,85±0,06*	1,94±0,07**
Магній, ммоль/л	0,84±0,003	0,85±0,005	0,88±0,006***
Лужна фосфатаза загальна, Од/л	153,2±4,12	140,8±3,45*	145,3±5,06
Кістковий ізофермент ЛФ, Од/л	121,0±5,25	107,0±5,64	101,6±6,02*
Через 1 місяць після введення			
25ОНD ₃ , нмоль/л	20,4±1,78	30,0±2,62*	35,8±2,54***
Кальцій загальний, ммоль/л	2,26±0,06	2,58±0,07*	2,67±0,08**
Білок-зв'язаний кальцій, ммоль/л	0,99±0,025	1,12±0,027**	1,13±0,027**
Ультрафільтрувальний кальцій, ммоль/л	1,27±0,056	1,46±0,057*	1,54±0,061*
Фосфор неорганічний, ммоль/л	1,70±0,06	1,91±0,07	1,97±0,07*
Магній, ммоль/л	0,84±0,005	0,87±0,006**	0,89±0,007***
Лужна фосфатаза загальна, Од/л	128,5±5,32	130,8±6,15	134,3±5,72
Кістковий ізофермент ЛФ, Од/л	101,5±4,61	102,7±5,08	104,7±4,45
Через 2 місяці після введення			
25-ОНD ₃ , нмоль/л	21,8±1,83	32,2±2,58*	37,0±2,43**
Кальцій загальний, ммоль/л	2,34±0,07	2,65±0,08*	2,68±0,10*
Білок-зв'язаний кальцій, ммоль/л	1,10±0,032	1,20±0,028*	1,25±0,029**
Ультрафільтрувальний кальцій, ммоль/л	1,24±0,058	1,45±0,060*	1,43±0,063
Фосфор неорганічний, ммоль/л	1,76±0,06	1,94±0,07	1,96±0,07
Магній, ммоль/л	0,87±0,006	0,88±0,007	0,91±0,007**
Лужна фосфатаза загальна, Од/л	109,1±4,78	112,3±5,22	116,5±5,06
Кістковий ізофермент ЛФ, Од/л	85,94±4,65	87,20±5,28	89,88±4,12

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ та *** – $p < 0,001$, порівняно до теличок контрольної групи.

При внутрішньом'язовому введенні теличкам холекальциферолу виявлено значні різниці між вмістом загального, ультрафільтрувального та зв'язаного з білками крові кальцію у сироватці крові теличок дослідних груп, порівняно з контрольними. Відомо, що кальцій у сироватці крові знаходиться в різних формах. Деяка частина його зв'язана з білками сироватки крові – альбумінами та глобулінами. Це біологічно неактивна частина кальцію, яка є його запасною формою. Більша кількість кальцію у крові знаходиться у вигляді ультрафільтрувальної фракції, яка легко транспортується через мембрани. До її складу входить іонізований кальцій та кальцій, зв'язаний з лимонною, фосфорною та вугільною кислотами.

Через тиждень після введення вітаміну D₃ у сироватці крові теличок другої групи вміст загального кальцію був вищим на 15 % ($p < 0,05$), у теличок третьої групи – на 19 % ($p < 0,01$), а частка його ультрафільтрувальної фракції – відповідно на 17 % ($p < 0,05$) і 22 % ($p < 0,01$), ніж у 1-й групі (табл. 2). Через 2 місяці після введення вітаміну D₃ вміст кальцію у сироватці крові теличок 2-ої і 3-ої дослідних груп був майже на однаковому рівні та був вірогідно ($p < 0,05$) вищим, порівняно з контрольною групою.

Рівень неорганічного фосфору і магнію у крові теличок 2-ої, і особливо 3-ої, дослідних груп суттєво відрізнявся від їх рівня у контрольній групі на всіх стадіях досліджень після введення препарату. Вірогідне збільшення вмісту неорганічного фосфору у крові теличок дослідних груп зумовлено впливом вітаміну D₃ на активність кишкового ізоферменту лужної фосфатази, що призводить до посилення транспорту іонів фосфату через апікальну мембрану ентероцитів.

Активність загальної лужної фосфатази у крові теличок другої дослідної групи через тиждень після введення препарату була нижчою на 8 % ($p < 0,05$), кісткового ізоферменту на 12 %. Ще більшою мірою були виражені аналогічні зміни в активності кісткового ізоферменту у сироватці крові теличок третьої дослідної групи. Протягом всього дослідження в сироватці крові теличок 2-ої, і особливо 3-ої, дослідних груп спостерігалось зниження загальної активності лужної фосфатази внаслідок зменшення активності кісткового ізоферменту. Отже, загальне зниження активності лужної фосфатази у сироватці крові теличок 2-ї і 3-ї груп вказує, що під впливом вітаміну D₃ ступінь резорбції кальцію з кісткової тканини зменшується.

Одержані результати свідчать про пряму дію вітаміну D₃ на процеси засвоєння кальцію та фосфору в кишечнику, реабсорбцію цих катіонів із ниркових канальців і мобілізацію їх з кісткової тканини [2, 6-8], а також про вплив 1,25 (ОН)₂D₃ на регуляцію синтезу кальційзв'язуючих білків і проникність плазматичних мембран або його вплив на кальцієві канали [6].

Висновки. Парентеральне введення теличкам 5-6-місячного віку вітаміну D₃ у дозах 31500 МО та 63000 МО на голову раз у тиждень протягом місяця в зимово-весняний стійловий період призводить до вірогідного підвищення в сироватці крові рівня його активного метаболіту – 25-ОН-D₃, концентрації кальцію, фосфору, магнію та зниження активності лужної фосфатази, що свідчить про тривалу регуляторну дію вітаміну D₃ на мінеральний обмін великої рогатої худоби.

Список літератури

1. Куртяк, Б. М. Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині і тваринництві / Б.М. Куртяк, В.Г. Янович. – Львів: Тріада Плюс, 2004. – 426 с.
2. Horst, R. L. Vitamin D metabolism in ruminants and its relevance to the periparturient cow / R. L. Horst, T. A Reinhardt // J. Dairy Sci. – 1983. – Vol. 66. – P. 661-678.
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. Horst, R. L. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow / R. L. Horst, J. P. Goff, T. A. Reinhardt // J. Dairy Sci. – 1994. – Vol. 77. – P. 1936-1951.
5. Spakauskas, V. Variation of 25-hydroxyvitamin D in sera of healthy and sick cows / V. Spakauskas, I. Klimiene, M. Ruzauskas, V. Bandzaite // Biologia. – 2006. – № 4. – P. 80-86.
6. Вітаміни D и его роль в обеспечении здоровья детей и беременных женщин / [Луцькінова Е.М., Антипкін Ю.Г., Омельченко Л.И., Апуховская Л.И.]. – К.: Експерт Б, 2005. – 230 с.
7. Hidioglou, M. 25-hydroxyvitamin D in plasma of cattle / M. Hidioglou, J. Proulx, G. Roubos // J. Dairy Sci. – 1979. – Vol. 62. – P. 1076-1080.
8. Tamura, M. The study on vitamin D₃ metabolism in dairy cows with special reference to serum levels of vitamin D₃ metabolites / M. Tamura, K. Sugiura // Jap. J. Vet. Sci. – 1979. – Vol. 41. – P. 377-384.
9. Вагнер, В. К. Методы и результаты исследования изоферментов (кишечной и печеночной фракций) сывороточной щелочной фосфатазы при острых хирургических заболеваниях органов брюшной полости / В.К. Вагнер, В.М. Путилин, Г.Г. Харабуга // Вопр. мед. химии. – 1981. – Т. 27, № 6. – С. 752-754.

THE MAINTANCE OF 25-HYDROXYVITAMIN D₃ AND INDEX OF MINERAL EXCHANGE IN BLOOD OF SAMPLING OF CATTLE AFTER PARENTERAL ADMINISTRATION OF CHOLECALCIFEROL

Yuskiv L.L., Vlizlo V.V.

Institute of Animal Biology UAAS, Lviv, Ukraine

The data about the dynamics of active metabolites of vitamin D – 25-OHD₃, calcium, phosphorus, magnesium and the activity of alkaline phosphatase of exchange in blood of calves of 5-6-months old age, after intramuscular injection of different doses of cholecalciferol are presented in the article. The probably higher of level of 25-OH Vit D₃ concentration of calcium of total, inorganic phosphorus, magnesium and lower the activity of alkaline phosphatase in blood of calves after injection of cholecalciferol in doses 31500 MO and 63000 MO on animal during the mounts after one week, one and two months after injection was established.