

УДК 619:616–098:636.2.034:612.015.6/.392.4

ПЕТРЕНКО О.С., магістрант

Наукові керівники: д-р вет. наук В.І. ЛЕВЧЕНКО; канд. вет. наук В.М. БЕЗУХ

СТАН ФОСФОРНО-КАЛЬЦІЄВОГО І D-ВІТАМІННОГО ОБМІНУ У ВИСОКОПРОДУКТИВНИХ КОРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ ЖИРОРОЗЧИННИХ ВІТАМІНІВ

Інтенсивне використання потенціалу організму створює передумови для виникнення хвороб обміну речовин, а саме А- і D-гіповітамінозів. Дослідження проводилися з метою вивчення впливу вітамінів А, D і Е на мінеральний обмін у високопродуктивних корів чорно-рябої породи. Було сформовано 2 групи по 10 і 5 корів. Тваринам першої групи внутрішньом'язово вводили 12 мл вітамінного препарату ВІТАФАРМ АДЕ і 5 мл 3,44%-ного розчину ретинолу ацетату, другої групи вводили тільки ВІТАФАРМ АДЕ (12 мл).

У сироватці крові визначали вміст загального та іонізованого (з використанням обмінної адсорбції по Д.Т. Волкову) кальцію в реакції з кальційарсеназо III; ультрафільтрований і пов'язаний з білками крові кальцій в реакції з гліоксаль-біс-2-оксіанілом; неорганічного фосфору за методом УФ-детекції фосфомолібдатного комплексу; активність загальної лужної фосфатази і її ізоферментів за методом Вагнера, Путіліна і Харабуга; кислій фосфатази – в реакції з 4-нітрофенілфосфатом; вміст вітаміну А і каротину в сироватці крові визначали за методом О. Бессея в модифікації В.І. Левченко з співавт.

Після введення коровам вітамінів в сироватці крові підвищився вміст вітаміну А і неорганічного фосфору, відбувся перерозподіл активності ізоферментів лужної фосфатази, а рівень загального кальцію не змінився.

Ключові слова: кальцій загальний, іонізований та ультрафільтрований, фосфор неорганічний, вітаміни, мінеральний обмін, ретинолу ацетат, лужна фосфатаза, каротин.

Світові стандарти ведення тваринництва передбачають отримання від тварин максимально можливої продуктивності. Інтенсивне використання потенціалу організму створює передумови виникнення хвороб, зокрема метаболічних, профілактика і лікування яких неможливі без збалансування годівлі, використання вітамінів, макро- та мікроелементів [1]. Характерною особливістю більшості хвороб, спричинених порушенням обміну речовин, є те, що вони мають прихований перебіг. До них належать А- і D-гіповітамінози [2, 3]. Постановка діагнозу на субклінічній стадії перебігу хвороби можлива лише за допомогою спеціальних, зокрема лабораторних, методів дослідження.

Незважаючи на те, що на ринку ветеринарних засобів існує велика кількість препаратів з різними комбінаціями та співвідношеннями біологічно активних речовин (БАР), вони мають досить високу вартість, і тому перед практичним лікарем постає питання щодо визначення потреби тварин у забезпеченні вітамінами і мінеральними речовинами, які відповідали б реальним можливостям господарства, були максимально доцільними та ефективними [4].

Забезпечення організму тварин вітаміном D можливе двома шляхами: за рахунок асиміляції екзогенного ергокальциферолу і, меншою мірою, холекальциферолу з кормів (важлива роль у абсорбції належить функціональному стану травної і гепатобіліарної систем) та ендогенного синтезу холекальциферолу в шкірі під дією УФ-променів [5]. Після засвоєння чи безпосереднього утворення в організмі ці речовини є біологічно інертними, тому повинні перетворитися в гормонально активні метаболіти вітаміну D шляхом гідроксилювання в печінці ($25\text{OH}\text{D}_3$) та нирках ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ і $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) [6–8]. Внаслідок гепато- і нефропатій синтез метаболітів порушується і розвивається D-гіповітаміноз [9–11].

Найбільш виражений вплив метаболітів вітаміну D на фосфорно-кальцієвий обмін, процеси остеогенезу і мінералізації кісток. Але, згідно з даними сучасних наукових досліджень, фізіологічна роль вітаміну D₃ значно ширша, вона полягає в регулюванні проліферації та диференціації клітин органів і тканин, обміну ліпідів, білків, гормонів, ферментів, модуляції імунної відповіді, репродуктивної функції, активності серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту, печінки, нирок [12].

Мета роботи – вивчити вплив жиророзчинних вітамінів на мінеральний обмін у високопродуктивних корів на початку лактації.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження проводили на коровах чорно-рябої породи масою 550–600 кг віком 3–4 роки. Було сформовано 2 групи по 10 і 5 корів, у яких на початку досліду брали кров для біохімічних досліджень. Всі тварини утримувалися в умовах типового чотирирядного корівника. Аналіз раціону показав, що він задовольняє енергетичні потреби на 95,5 %, але відмічається дефіцит крохмалю – 17,2 і цукру – 31%, забезпеченість корів кальцієм становила 87%, фосфором – 90,1, перетравним протеїном – 132 %. Тваринам першої групи внутрішньом'язово вводили 12 мл вітамінного препарату вітафарм АДЕ (в 1 мл міститься 10 тис. МО вітаміну А, 15 тис. МО вітаміну D₃, 20 мг – Е; 6 введень) та 5 мл 3,44 %-ного розчину ретинолу ацетату (в 1 мл 100000 МО; 4 введення з інтервалом 5 днів). Тваринам другої групи внутрішньом'язово вводили лише вітафарм АДЕ (12 мл з інтервалом 5 днів; 6 введень). Отже, добова доза

вітамінів для корів становила: ретинолу 124 і 24 тис. МО на тварину, холекальциферолу – по 36 тис. МО відповідно у першій і другій дослідних групах.

У сироватці крові визначали вміст загального (в реакції з кальційарсеназо III) та іонізованого (з використанням обмінної адсорбції за Д.Т. Волковим) кальцію; ультрафільтрованого та зв'язаного з білками крові кальцію в реакції з гліоксаль-біс-2-оксіанілом; неорганічного фосфору за методом УФ-детекції фосфомолібдатного комплексу; активність загальної лужної фосфатази (ЛФ) та її кісткового і кишкового ізоферментів досліджували за методом Вагнера, Путиліна та Харабуги; кислій фосфатази (КФ) – у реакції з 4-нітрофенілфосфатом; вміст вітаміну А та каротину в сироватці крові визначали за методом О. Бессея в модифікації В.І. Левченка зі співавт. [13].

Результати дослідження та їх обговорення. Клінічним дослідженням корів на початку досліду було встановлено, що у них втрачений блиск волосяного покриву та глазури копитного рогу, погіршений апетит, знижена продуктивність, у деяких тварин – розсмоктування останніх пар ребер та хвостових хребців, м'якість хвоста. Перкусією печінки майже у всіх тварин було встановлено збільшення розмірів печінкового притуплення. Зокрема, у 12- та 11-му міжреберних проміжках нижній край печінкового притуплення знаходився на кілька сантиметрів нижче лінії маклака та середини лопатки відповідно.

Вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів у дослідних тварин на початку досліду відповідає фізіологічним величинам (табл. 1). Після завершення досліду кількість еритроцитів у корів першої групи вірогідно ($p < 0,05$) зменшувалась, а вміст гемоглобіну у корів обох груп мав виражену тенденцію до зменшення (на 9,6 і 5,1 % відповідно). Водночас насиченість еритроцитів гемоглобіном та колірний показник залишалися стабільними.

На початку досліду у 70 % тварин встановлений низький вміст загального кальцію – $2,13 \pm 0,03$ ммоль/л, фракції якого склали: ультрафільтрований – 84 %, у тому числі іонізований – 29, зв'язаний з білком – 16 %. У 30 % корів (5 гол.) вміст загального кальцію був дещо вищим і становив $2,22 \pm 0,02$ ммоль/л, фракційний склад – 81,3; 25,8 і 18,7 % відповідно.

Після застосування вітамінних препаратів вміст загального кальцію у сироватці крові залишився без змін, іонізованого, навпаки, зменшився у корів обох груп на 25,8 %, що є негативним результатом, оскільки іонізований кальцій бере активну участь у метаболічних процесах. Кількість кальцію, зв'язаного з білком, зменшилась удвічі. Натомість, вміст ультрафільтрованого кальцію, до складу якого входить іонізований, зросла у першій групі на 8,7 % і становила $1,96 \pm 0,07$ ммоль/л ($1,79 \pm 0,06$ – на початку досліду), у другій – на 16,7 % ($2,04 \pm 0,09$ проти $1,7 \pm 0,02$ ммоль/л). Частка ультрафільтрованого кальцію у загальній кількості макроелемента зросла у першій групі з 84 ($1,79 \pm 0,06$) до 92,5 % ($1,96 \pm 0,07$ ммоль/л), у другій – з 80,2 до 92,3 % ($1,70 \pm 0,02$ проти $2,04 \pm 0,09$ ммоль/л).

Таблиця 1 – Морфологічні і біохімічні показники крові корів дослідних груп, $M \pm m$

Показник	Перша група, n=10		Друга група, n=5	
	до введення	після введення	до введення	після введення
Гемоглобін, г/л	109,6±3,93	99,1±4,47	98,3±3,42	93,3±3,95
Еритроцити, Т/л	5,84±0,19	5,21±0,18 *	5,10±0,18	5,04±0,42
ВГЕ, пг	18,9±0,76	19,1±0,82	19,3±0,89	18,8±0,94
Колірний показник	1,04±0,05	1,1±0,05	1,1±0,05	1,07±0,05
Лейкоцити, Г/л	7,7±0,77	7,3±0,49	7,7±0,58	9,11±0,85
Загальний Са, ммоль/л	2,13±0,03	2,12±0,04	2,12±0,06	2,21±0,08
Іонізований Са, ммоль/л	0,62±0,04	0,46±0,03 *	0,62±0,08	0,46±0,05
Са, зв'язаний з білком, ммоль/л	0,33±0,05	0,17±0,06	0,41±0,06	0,17±0,04 **
Ультрафільтрований Са, ммоль/л	1,79±0,06	1,96±0,07	1,70±0,02	2,04±0,09 **
Неорганічний фосфор, ммоль/л	1,48±0,09	1,93±0,06 **	1,63±0,11	2,02±0,11 *
Загальна лужна фосфатаза (ЛФ), од/л	35±5,28	29,2±3,50	27,5±6,29	21,1±1,70
Кишковий ізофермент ЛФ, од/л	3,9±1,08	5,4±1,54	3,3±1,74	3,6±0,65
Кістковий ізофермент ЛФ, од/л	29,7±5,19	26,2±3,55	22,8±4,7	18,2±1,85
Кисла фосфатаза, од/л	4,3±0,60	3,05±0,26	5,23±1,61	3,09±0,28
Вітамін А, мкг/100 мл	31,3±3,88	60,2±4,04 ***	26,5±12,02	65,4±4,57 *
Каротин, мкг/100 мл	277,2±49,05	329±50,28	262,8±54,07	270,4±34,39

Примітка. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, порівняно з показниками до введення препаратів у першій і другій групах.

На відміну від кальцію, вміст неорганічного фосфору у корів першої групи збільшився на 23,3 % і становив $1,93 \pm 0,06$ ммоль/л, у другій – на 19,3 % ($2,02 \pm 0,11$ проти $1,63 \pm 0,11$ ммоль/л – на початку досліду). Різниця між показниками у корів обох груп по закінченні досліду була невірогідною. Ймовірно, причиною помітного зростання вмісту неорганічного фосфору, порівняно із невірогідними змінами вмісту загального

кальцію у сироватці крові корів обох груп, є позитивний вплив вітамінних препаратів на абсорбцію саме фосфору в кишечнику тварин. Про посилену абсорбцію фосфору ентероцитами кишечника свідчить підвищення активності кишкового ізоферменту лужної фосфатази після застосування препаратів, особливо у корів першої дослідної групи. Зокрема, у тварин цієї групи активність кишкового ізоферменту становила $5,4 \pm 1,54$ од/л, що в 1,4 раза більше, ніж на початку досліду ($3,89 \pm 1,08$ од/л). Водночас у тварин другої дослідної групи активність кишкового ізоферменту зросла лише на 7,3% ($3,56 \pm 0,65$ од/л), порівняно з початковим показником ($3,3 \pm 1,74$ од/л).

У всіх дослідних тварин спостерігали підвищення вмісту вітаміну А в сироватці крові. У тварин першої групи, яким вводили ретинол із розрахунку 124 тис. МО на добу, рівень вітаміну А збільшився з $31,3 \pm 3,88$ до $60,2 \pm 4,04$ мкг/100 мл, а в тварин другої групи – з $26,5 \pm 12,02$ до $65,4 \pm 4,57$, хоча вони отримали вітаміну А значно менше (24 тис. МО на добу). Незрозумілим залишається те, чому рівень загального кальцію у сироватці крові корів після введення вітамінних препаратів залишився незмінним. Щоб з'ясувати суть цього явища, на нашу думку, необхідно враховувати синтез метаболітів вітаміну D в печінці та нирках, гормональну активність щитоподібної та прищитоподібних залоз, гідроксилазних ферментів печінки й нирок.

Висновки. 1. Після введення коровам жиророзчинних вітамінів у сироватці крові підвищився вміст вітаміну А та неорганічного фосфору, відбувся перерозподіл активності ізоферментів лужної фосфатази.

2. Рівень загального кальцію не змінився, проте зростав уміст ультрафільтрованої фракції.

3. Вивчення причин цього явища є перспективою для наступних досліджень, які повинні ґрунтуватися на визначенні гормонального (паратгормон, кальцитонін) статусу високопродуктивних корів і вмісту метаболітів вітаміну D. Можливо, що вітамін D у препараті вітафарм ADE є малоактивним.

Список літератури

1. Лігоміна І.П. Стан мінерального обміну і природної резистентності корів та їх корекція у господарствах Житомирського Полісся: Автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.01. – Біла Церква, 2003. – 21 с.
2. Левченко В.І., Безух В.М., Сахнюк В.В. Доклінічний перебіг метаболічних хвороб // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун – ту. – Вип. 16. – Біла Церква, 2001. – С. 115 – 120.
3. Гарькавий В.О. А- і D-гіповітамінози у телят (поширення, діагностика, лікування і профілактика): Автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Біла Церква, 2002. – 18 с.
4. Куртяк Б.М., Янович В.Г. Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині і тваринництві. – Львів: Тріада плюс, 2004. – 426 с.
5. Edelman A., Garabedian M., Ananostopolas T. Mechanism of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -induced rapid changer of membrane potential in proximal tubules: role of Ca^{2+} – dependent K^+ chanel // J. Membrane Biol. – 1986. – Vol. 90, № 2. – P. 145–158.
6. De Luca H. Metabolism and molecular mechanism of action of vitamin D // Biochem. Soc. From. – 1982. – Vol. 10, № 3. – P. 147 – 158.
7. De Luca H., Sohones H. Vitamin D: metabolism and mechanism of action // Annu. Rept. Med. Chem. – 1984. – Vol. 19. – P. 179 – 190.
8. Effect of $24,25$ – dihydroxyvitamin D_3 on $1,25$ – dihydroxyvitamin D_3 metabolism in calciumdeficient rats / T. Matsumoto, K. Ikeda, H. Yamato et al. // Biochem. Soc. From – 1988. – Vol. 250, № 3. – P. 671 – 677.
9. Мінерально-вітамінний обмін при болезнях печени / В.И. Левченко, Г.А. Щуревич, Т.И. Чадюк и др. // Ветеринария. – 1984. – № 9. – С. 52 – 54.
10. Serum 25 – hydroxyvitamin D and $1,25$ – hydroxyvitamin D_3 in chronic renal failure / H. Franck, E. Keks, S. Issa et al. // Exp. and Clin. Endocrinol. – 1988. – Vol. 91, № 2. – P. 202 – 206.
11. Метаболізм вітаміну D_3 при експериментальній нирковій недостатності та його вплив на обмін речовин у новонароджених / Л.І. Апуховська, Л.В. Антоненко, В.М. Василевська та ін. // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун – ту. – Вип. 21. – Біла Церква, 2002. – С. 9 – 16.
12. Вітамін D и его роль в обеспечении здоровья детей и беременных женщин / Е.М. Лукьянова, Ю.Г. Антипкин, Л.И. Омельченко, Л.И. Апуховская. – К., 2005. – 230 с.
13. Біохімічні методи дослідження крові тварин: Методичні рекомендації для лікарів хіміко-токсикологічних відділів державних лабораторій ветеринарної медицини України, слухачів факультетів підвищення кваліфікації та студентів факультету ветеринарної медицини / В.І. Левченко, Ю.М. Новожицька, В.В. Сахнюк та ін. – К., 2004. – 104 с.

Состояние фосфорно-кальциевого и D-витаминного обмена у высокопродуктивных коров при введении жирорастворимых витаминов

А.С. Петренко, В.І. Левченко, В.М. Безух

Интенсивное использование потенциала организма создает предпосылки для возникновения болезней обмена веществ, а именно А- и D-гиповитаминозов. Исследования проводились с целью изучения влияния витаминов А, D и Е на минеральный обмен у высокопродуктивных коров черно-пестрой породы. Было сформировано 2 группы по 10 и 5 коров. Животным первой группы внутримышечно вводили 12 мл витаминного препарата витафарм ADE и 5 мл 3,44%-ного раствора ретинола ацетата, второй группе вводили только витафарм ADE (12 мл).

В сыворотке крови определяли содержание общего и ионизированного (с использованием обменной адсорбции по Д.Т. Волкову) кальция в реакции с кальцийарсенатом III; ультрафильтрованный и связанный с белками крови кальций в реакции с глиоксаль-бис-2-оксанилом; неорганического фосфора по методу УФ-детекции фосфомолибдатного комплекса; активность общей щелочной фосфатазы и ее изоферментов по методу Вагнера, Путилина и Харабуги; кислой фосфатазы – в реакции с 4-нитрофенилфосфатом; содержание витамина А и каротина в сыворотке крови определяли по методу О. Бессея в модификации В.И. Левченко с соавт.

После введения коровам витаминов в сыворотке крови повысилось содержание витамина А и неорганического фосфора, произошло перераспределение активности изоферментов щелочной фосфатазы, а уровень общего кальция не изменился.

Ключевые слова: кальций общий, ионизированный и ультрафильтрованного, фосфор неорганический, витамины, минеральный обмен, ретинола ацетат, ЩФ, каротин.

State of phosphoric-calcium and D vitamin exchange at highly productive cows at introduction of oil soluble vitamins

A. Petrenko, V. Levchenko, V. Bezukh

The intensive use of potential of organism creates pre-conditions for the origin of metabolic diseases, namely A- and D-hypovitaminosis. Researches were conducted with the purpose of study of influencing of the A, D and E vitamins on a mineral exchange at the highly productive cows of black-pock-marked breed. 2 groups were formed: for 10 and 5 cows. By the animal of the first group intramuscular entered a 12 ml vitamin preparation Vitafarm ADE and 5ml 3,44% solution of retinol's acetate, to the second group entered Vitafarm ADE only (12 ml).

In a serum blood determined maintenance of general and ionized (with the use of exchange adsorption on D. Volkov) calcium in the reaction with calcium-arsenazo III; ultrafiltrated and related with albumen of blood calcium in the reaction with glyoxal'-bys-2-oxanylum; inorganic phosphorus on the method of UF-detection phosphomolibdate complex; activity of general alkaline phosphatase and their isoenzymes on the method of Vagner, Putylyn and Kharabuga; sour phosphatase in the reaction with 4-nitrophenylphosphatum; the table of contents of the A vitamin and carotin in the serum blood was determined on the method of O. Bessey in the V. Levchenko modification.

After introduction to the cows of vitamins maintenance of the A vitamin and inorganic phosphorus rose in the serum blood, the redistribution of activity of isoenzymes alkaline phosphatase happened. In also time, the level of general calcium did not change.

Key words: total calcium, ionized and ultrafiltered, inorganic phosphorus, vitamins, mineral metabolism, retinol acetate, alkaline phosphatase, carotene.