УДК 619:616.15:619.612.015.3:636.2

Вплив комплексного лікування телят на обмін металопротеїнів та активність ферментів системи антиоксидантного захисту за гіпопластичної анемії

І.К. Жуковський¹, Л.Г. Слівінська¹, В.І. Левченко²
ua-andrea@ukr.net

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна;

²Білоцерківський національний аграрний університет,
пл. Соборна, 8/1, м. Біла Церква, 09111, Україна

У статті наведено результати досліджень телят, хворих гіпопластичною анемією на вміст феруму, активності ферментів системи антиоксидантного захисту (АОЗ) та обміну металопротеїнів.

Мікроелементне коригування раціонів телят здійснювали шляхом включення до них преміксів дефіцитних мікроелементів (МЕ), які задавали у формі сульфатів МЕ (перша дослідна група) і хелатних сполук з метіоніном (друга дослідна група). Встановлено, що комплексне лікування телят усуває основні клінічні симптоми, дефіцит феруму, нормалізує активність металоферментів різних ланок системи АОЗ. Зокрема по закінченню дослідження концентрація феруму вірогідно ($p < 0,001$) підвищувалась в 1,9 та 2,2 рази, рівень гаптоглобіну був вищий відповідно на 47,1% і 49,3% у першій і другій групах порівняно з початком дослідження. У сироватці крові телят першої групи концентрація малонового альдегіду (МДА) знижувалась на 20,3% ($p < 0,001$), другої – на 29,8% ($p < 0,001$).

У результаті проведеного лікування підвищувалась активність гемовмісних ферментів: каталази на 31,2% і 36,8% ($p < 0,001$), пероксидази на 37,6% ($p < 0,01$) і 49,2% ($p < 0,001$) та цитохромоксидази (ЦХО) на 54,7% ($p < 0,01$) і 86,5% ($p < 0,001$). Визначення активності досліджуваних металопротеїнів можуть бути інформативними діагностичними критеріями метаболічних порушень за гіпопластичної анемії (ГПА) телят.

Кращі терапевтичний ефект встановлено у лікуванні телят другої групи, що утримували МЕ у формі хелатних сполук.

Ключові слова: телята, анемія, ферум, метаболізм, металопротеїни, гаптоглобін, церулоплазмін, малоновий дильдегід, каталаза, пероксидаза, цитохромоксидаза, супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, метіонати.

Влияние комплексного лечения телят на обмен металлопротеинов и активность ферментов системы антиоксидантной защиты при гипопластической анемии

И.К. Жуковский¹, Л.Г. Сливинская¹, В.И. Левченко²
ua-andrea@ukr.net

¹Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого,
ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина;

²Белоцерковский национальный аграрный университет,
пл. Соборная, 8/1, г. Белая Церковь, 09111, Украина

Citation:

Zhukovsky, I.K., Slivinska, L.G., Levchenko, V.I. (2016). Influence of complex treatment of calves suffering from hipoplastic anemia for metabolism of metalloproteins and enzyme activity of antioxidant defense system. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhyskyj*, 18, 3(71), 158–162.

В статье приведены результаты исследований телят, больных, гипопластической анемией на содержание ферума, активности ферментов системы антиоксидантной защите (АОЗ) и обмена металлопротеинов.

Микроэлементную коррекцию рационов телят осуществляли путем включения к ним премиксов дефицитных микроэлементов (МЕ), которые задавали в форме сульфатов МЕ (первая опытная группа) и хелатных соединений с метионином (вторая опытная группа).

Установлено, что комплексное лечение телят устраняет основные клинические симптомы, дефицит ферума, нормализует активность металлоферментов разных ланок системы АОЗ.

В частности по окончании опыта концентрация железа достоверно ($p < 0,001$) повышалась в 1,9 и 2,2 раза, уровень гемоглобина был выше соответственно на 47,1% и 49,3% по сравнению с началом опыта. В сыворотке крови телят первой группы концентрация малонового альдегида (МДА) снижалась на 20,3% ($p < 0,001$), второй – на 29,8% ($p < 0,001$).

В результате проведенного лечения повышалась активность гемосодержащих ферментов: каталазы на 31,2% и 36,8% ($p < 0,001$), пероксидазы на 37,6% ($p < 0,01$) и 49,2% ($p < 0,001$) и цитохромоксидазы (ЦХО) на 54,7% ($p < 0,01$) и 86,5% ($p < 0,001$).

Определения активности исследуемых металлопротеинов могут быть информативными диагностическими критериями метаболических нарушений за гипопластической анемии (ГПА) телят.

Лучший терапевтический эффект установлено в лечении телят второй группы, что получали МЕ в форме хелатных соединений.

Ключевые слова: телята, анемия, ферум, метаболизм, металлопротеины, гемоглобин, церулоплазмин, малоновый диальдегид, каталаза, пероксидаза, цитохромоксидаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, метионаты.

Influence of complex treatment of calves suffering from hipoplastic anemia for metabolism of metalloproteins and enzyme activity of antioxidant defense system

I.K. Zhukovskyy¹, L.G. Slivinska¹, V.I. Levchenko²
ua-andrea@ukr.net

Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies named after S. Gzhytskyj,
Pekarska Str., 50, Lviv, 79010, Ukraine;
Bila Tserkva National Agrarian University,
Soborna sq., 8/1, Bila Tserkva, 09111, Ukraine

The research results of calves suffering from hypo plastic anemia of iron content, enzyme activity of antioxidant protection (AOP) and the exchange metal protein are listed in the paper.

Trace element ration adjustments of calves were performed by including premixes scarce trace elements, which were in the form of sulphates ME (the first experimental group) and methionine chelate compounds (the second experimental group).

It is established that the complex treatment of calves eliminates the major clinical symptoms of iron deficiency, normalizes metal enzyme activity of various components of the system AOP. In particular at the end of the experiment, the concentration of iron significantly ($p < 0,001$) was increased at 1.9 and 2.2 times, the haptoglobin level of was respectively higher at 47.1% and 49.3% compared to the beginning of the experiment.

The malonic dialdehyde concentration in serum of calves of the first group decreased by 20.3% ($p < 0.001$) in the second group, where chelate compounds were applied – by 29.8% ($p < 0.001$).

As a result of the treatment the hemoenzyme activity increased: catalases by 31.2% and 36.8% ($p < 0,001$), peroxidase by 37,6% ($p < 0.01$) and 49.2% ($p < 0.001$) and cytochrome oxidase by 54.7% ($p < 0.01$) and 86.5% ($p < 0.001$).

Determination of investigated metal protein can be informative diagnostic criteria for metabolic disorders of calves suffering from hypo plastic anemia. The best therapeutic effect in the treatment of calves of the second group is made, which got minerals in the form of chelate compounds.

Key words: calves, anemia, iron metabolism, metal protein, haptoglobin, ceruloplasmin, malonic dialdehyde, catalase, peroxidase, cytochrome oxidase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, metionaty.

Вступ

В основі патогенезу гіпопластичної анемії (ГПА) є дефіцит і дисбаланс багатьох біоелементів, передусім феруму, кобальту, купруму, мангану в організмі, і як наслідок цього, порушення метаболічних процесів, зниження біосинтезу гемоглобіну та інших металлопротеїнів (Völker and Rotermund, 2000; Slivinska, 2006; Ježek et al., 2009). Метаболізм феруму в організмі, підтримка його гомеостазу, абсорбція, транспорт до тканин, депонування і використання у синтезі ферумвмісних сполук відбувається за посере-

дництвом металоглікопротеїнів крові (Vladimirov et al., 1991; Rajkhowa et al., 2000).

Гіпоксичний стан, що виникає за ГПА зумовлює розвиток ряду метаболічних порушень, зокрема, посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) (Kazimirko et al., 2008; Gaál et al., 2006). Пошкоджуючий ефект вільнорадикального окиснення обмежується і регулюється системою антиоксидантного захисту (АОЗ), головним чином антиоксидантними металоферментами (Bobyrev et al., 1994; Kazimirko et al., 2004; Nayajneh, 2014). Активність окремих ланок антиоксидантного захисту в організмі

телят та механізми її регуляції в літературі висвітлено недостатньо.

Мета роботи – вивчити зміни вільнорадикального окиснення ліпідів та активності ферментів системи АОЗ, обміну металопротеїнів у телят, хворих ГПА і вплив на ці процеси комплексного лікування (Kravtsov et al., 2001).

Матеріал і методи досліджень

Досліди проводили у господарствах Львівської області на телятах здорових та хворих гіпопластичною анемією чорно-рябої породи 3– міс. віку, що знаходилися в однакових умовах утримання та годівлі.

За принципом аналогів (вік, маса тіла, стать) підібрано три групи телят: контрольна група – 10 клінічно здорових телят та дві дослідні групи – по 10 телят, хворих ГПА.

Хворим телятам з лікувальною метою згодовували МЕ, що беруть участь в гемопоезі та входять до складу металопротеїнів і металоензимів, а саме: ферум, купрум, цинк, манган, кобальт, йод та селен.

МЕ корекцію раціонів телят здійснювали шляхом включення до них преміксу у формі сульфатів Fe, Co, Cu, Mn, Zn, селеніту натрію і йодиду калію (перша дослідна група) і хелатних сполук з метіоніном (друга дослідна група) в дозах: 0,3 мг/кг; 0,06 мг/кг; 0,15 мг/кг; 0,20 мг/кг; 0,25 мг/кг; 0,1 мг/кг і 0,05 мг/кг живої маси протягом одного місяця.

Хворим тваринам дослідних груп вводили підшкірно вітамінний препарат “Тривіт” в дозі 1,5 мл кожних 7 днів.

Кров для досліджень відбирали на 1–у та 30–у добу експерименту. Для досліджень зразки крові від телят одержували в один і той же час зранку з яремної вени, використовуючи ін'єкційні голки розміром 1,2 × 40 мм, у скляні пробірки (10 мл), як антикоагулянт використовували гепарин. Сироватку крові одержували після центрифугування з паралельних проб при 3000 об./хв. протягом 10 хв.

У сироватці крові визначали ферум з батофенантроліном; церулоплазмін – з *n*-фенілендіаміном дигідрохлоридом (Ravin H. J., 1961); гаптоглобін (Korinek J., 1963, в модифікації Прохуровської З.Я., Мовшович Б.Л., 1972); малоновый диальдегид (МДА) з тіобарбітуровою кислотою (Uchiyama M., Michara M., 1978, в модифікації Андреевої Л. І. та ін., 1988); активність каталази (Королюк М.А. та ін., 1988); пероксидази (Попов Т., Нейковська Л., 1971); активність глутатіонпероксидази (ГПО) – за швидкістю окиснення відновленого глутатіону за наявності гідроперекису третбутилу (Моин В.М., 1986); супероксиддисмутази (СОД) – (Дубинина Е.Е., (1983); цитохромоксидазу (ЦХО) за W.Straus (1954) в модифікації В.А. Кетлинського, Е.Н. Михайлової (1968).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за ліцензованою програмою MS Excel. Оцінку вірогідності здійснювали за критерієм Стьюдента (*t*). Вірогідною вважали різницю при $p < 0,05 - 0,001$ у порівнянні з контрольною групою тварин. Результати

середніх значень вважали статистично вірогідними при $p < 0,05 - *$, $p < 0,01 - **$ та $p < 0,001 - ***$.

Результати та їх обговорення

При клінічному дослідженні телят, хворих ГПА відмічали – загальне пригнічення, відсутність апетиту, сухість шкіри, тьмяність волосяного покриву, блідість видимих слизових оболонок і кон'юнктиви.

У телят, хворих ГПА концентрація феруму в сироватці крові була в межах від 8,6 до 13,6 мкмоль/л і в середньому становила $11,3 \pm 0,63$ мкмоль/л. Подібна картина спостерігалась у хворих телят другої групи, де концентрація феруму становила в середньому $11,1 \pm 0,69$ мкмоль/л ($8,5 - 14,0$ мкмоль/л). Низький вміст даного мікроелемента у сироватці крові вказує на розвиток ферумдефіцитної анемії.

По закінченню дослідів концентрація феруму вірогідно ($p < 0,001$) підвищувалась в 1,9 та 2,2 рази порівняно з початком дослідів і в середньому становила $21,7 \pm 0,38$ та $23,6 \pm 0,23$ мкмоль/л відповідно. Проте концентрація феруму у сироватці крові тварин другої групи, де застосовували хелатні сполуки мікроелементів була вищою на 8,7% порівняно з першою.

У хворих тварин дослідних груп рівень гаптоглобіну у сироватці крові був низьким, що пов'язано з вивільненням вільного гемоглобіну у крові хворих телят і утворенням з гаптоглобіном комплексу (Hr–Hb–комплекс). Останній попереджує втрати гемінового феруму, оскільки через велику молекулярну масу Hr–Hb–комплекс не проходить через фільтри ниркових клубочків. Після проведеного лікування рівень гаптоглобіну був відповідно вищий на 47,1% і 49,3% порівняно з початком дослідів (рис.1).

Концентрація МДА у сироватці крові хворих телят підвищується, що вказує на зростання процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) (рис. 2). У результаті проведеного лікування у сироватці крові телят першої групи концентрація МДА знижується на 20,3% ($p < 0,001$), у другій групі, де застосовували хелатні сполуки – на 29,8% ($p < 0,001$).

Церулоплазмін (купрумвмісний) білок плазми крові вважається основним антиоксидантом плазми крові, відновлює в крові супероксидні радикали до молекулярного Оксигену і води та захищає від пошкодження ліпідні структури мембран, а також мобілізуючи ферум з депо, вбудовує Fe^{3+} в структуру трансферину.

У телят хворих ГПА вміст церулоплазміну у сироватці крові підвищується до 0,17 – 0,18 г/л. Через 30 днів відмічено вірогідне зниження даного показника до $0,09 \pm 0,003$ г/л у першій групі та $0,07 \pm 0,002$ г/л ($p < 0,001$) – другій (рис. 3).

Активність супероксиддисмутази (СОД) у клінічно здорових тварин в середньому становила $0,39 \pm 0,007$ ($0,34 - 0,42$)% блок. реак./1г Hb. Нами встановлено низьку активність ферментів АОЗ – СОД і ГПО у хворих телят ГПА (рис. 4, 5). Активність СОД і ГПО за згодовування МЕ у формі неорганічних со-

лей (перша група) збільшилась на 33,3% ($p < 0,001$) і 26,6% ($p < 0,01$) відповідно, порівняно з початком лікування. Кращі показники активності СОД та ГПО встановили за згодовування МЕ у формі хелатних комплексів.

До сполук, що містяться в плазмі крові і володіють антиоксидантною активністю, відносять гемвісні ферменти: каталаза, пероксидаза та цитохромоксидаза, вміст яких у хворих телят був низьким (рис. 6 – 8).

Рис. 1. Концентрація гаптоглобіну в сироватці крові телят

Рис. 2. Концентрація малонового діальдегіду в сироватці крові телят

Рис. 3. Концентрація церулоплазміну в сироватці крові телят

Рис. 4. Активність супероксиддисмутаз в крові телят

Рис. 5. Активність глутатіонпероксидази в крові телят

Рис. 6. Активність каталази в крові телят

Рис. 7. Активність пероксидази в крові телят

Рис. 8. Активність цитохромоксидази в крові телят

У результаті проведеного лікування активність даних ферментів підвищилася: каталази на 31,2% і 36,8% ($p < 0,001$), пероксидази на 37,5% ($p < 0,01$), 49,2% ($p < 0,001$) та цитохромоксидази (ЦХО) на 54,7% ($p < 0,01$), 86,5% ($p < 0,001$) відповідно у першій і другій групах.

Висновки

1. Лікування телят, хворих ГПА сприяло покращенню клінічного стану хворих тварин, підвищенню вмісту феруму в сироватці крові, показників ензимної системи антиоксидантного захисту: активності каталази, пероксидази, ЦХО, СОД і ГПО.

2. Інформативними критеріями для діагностики метаболічних порушень за ГПА телят є визначення активності ензимів АОЗ.

3. Кращий терапевтичний ефект установлено у лікуванні телят другої групи, яким застосовували МЕ у формі хелатних сполук.

Перспективи подальших досліджень. На основі отриманих результатів досліджень будуть розроблені рекомендації щодо використання тестів в ранній діагностиці метаболічних порушень та застосування хелатних комплексів МЕ за лікування телят, хворих ГПА.

Бібліографічні посилання

- Slivinska, L.H. (2006). Erytrotsytopenoz ta obmin zaliza u tilnykh koriv. Visnyk Bilotserkiv. derzh. ahrar. un-tu: Zb. nauk. prats. Bila Tserkva. 40, 182–188 (in Ukrainian).
- Völker, H., Rotermund, L. (2000). The possibilities of oral iron supply in calves to maintain their health status. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 107, 16–22.
- Ježek, J., Starič, J., Nemec, M., Zadnik, T., Klinkon, M. (2009). Relationship between blood haemoglobin and serum iron concentrations and heart girth in pre-weaned dairy calves. Italian Journal of Animal Science. 8, 151–153.

Vladimirov, Yu.A., Azizova, O.A., Deev, A.I., Kozlov, A.V., Osipov, A.N. (1991). Svobodnyie radikalyi v zhivyyih sistemah. Biofizika. Itogi nauki i tehniki, VINITI. M. 29, 252 (in Russian).

Rajkhova, S., Dutta, G.N., Hazarika, G. (2000). Comparative study on the efficacy of iron dextran chelated iron and E Hb a herbo-mineral product for treatment and prevention anaemia in calves and kids. Phytomedica. 1(1,2), 29–36.

Kravtsiv, R.Y., Stadnik, A.M., Zhukovskiy, I.K. (2004). Mikroelementnaya korrektsiya aktivnosti metallofermentov antioksidantnoy zaschityi pri gipoplasticheskoy anemii telyat. Svobodnyie radikalyi, antioksidanty i zdorove zhivotnyih. Mater. mezhd. n.-p. konf. Voronezh, VNIVIPFiT. Voronezh, 215–219 (in Ukrainian).

Gaál T., Ribiczeyne-Szabo, P., Stadler, K. (2006). Free radicals, lipid peroxidation and the antioxidant system in the blood of cows and newborn calves around calving. Biochem Physiol B Biochem Mol. 143, 391–396.

Kazimirko, V.K., Maltsev, V.I., Butylin, V.Yu., Gorobets, N.I. (2004). Svobodnoradikalnoe okislenie i antioksidantnaya terapiya. K.: Morion.

Bobyrev, V.N., Pochernyava, V.F., Starodubtsev, S.G. i dr. (1994). Spetsifichnost sistem antioksidantnoy zaschityi organov i tkaney – osnova differentsirovannoy farmakoterapii antioksidantami. Eksperim. i klin. Farmakologiya. 57(1), 47–54.

Hayajneh, F.M.F. (2014). Antioxidants in dairy cattle health and disease. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine. 71, 104–109.

Kazimirko, V.K., Maltsev, V.I., Butylin, V.Yu., Gorobets, N.I. (2004). Svobodnoradikalnoe okislenie i antioksidantnaya terapiya. K.: Morion (in Russian).

Kravtsiv, R.I., Novikov, V.P., Stadnyk, A.M. (2001). Syntez, metaboličniy ta produktyvnyy vklad koordynatsiynykh spolk mikroelementiv z metioninom u koriv i bychkiv. Naukovo-tekhničniy biuleten instytutu biolohii tvaryn. Lviv. 1–2, 87–92 (in Ukrainian).

Стаття надійшла до редакції 5.10.2016