



на правах реклами

## МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ: КОМПЛЕКСНІ РІШЕННЯ У БІОХІМІЧНІЙ ДІАГНОСТИЦІ

### ДОСЛІДЖЕННЯ:

- оцінка стану білкового і вуглеводно-ліпідного обмінів
- підтвердження і виявлення передумов розвитку кетозів
- визначення функціонального стану печінки та нирок
- встановлення гіпоелементозів та гіповітамінозів



biosafety-center.com  
phone +38 (095) 063-05-31;  
+38 (096) 093-03-76  
plppm@ua.fm

# БІОХІМІЧНА ДІАГНОСТИКА ПОРУШЕНЬ ОБМІНУ РЕЧОВИН У КОРІВ У ПІСЛЯОТІЛЬНИЙ ПЕРІОД

Валентин Єфімов, Ірина Мішина, Дмитро Масюк,

Biosafety-Center, Дніпровський ДАЕУ

### Особливості біохімічних процесів у лактуючих і нелактуючих корів

Велика рогата худоба, на відміну від моногастричних тварин, має низку фізіологічних і біохімічних особливостей. Вони дають змогу перетравлювати значну кількість клітковини та забезпечувати свою життєдіяльність і продуктивність за рахунок грубих кормів. Водночас, спрямована селекційна робота призвела до високих показників продуктивності, а відтак — до обмінних порушень. В основі цього лежать біохімічні процеси, на яких варто зупинитися окремо.

У **нелактуючих корів** клітковина, легкоперетравні вуглеводи і протеїни зброджуються в рубці під впливом мікроорганізмів з утворенням летких жирних кислот (ЛЖК). Основними ЛЖК є ацетат і бутират, які розкладаються на фрагменти, що містять два атоми вуглецю ( $C_2$ ) і є ліпогенними, а також пропіонат, що являє собою тривуглецевий фрагмент ( $C_3$ ) і який є глікогенним. Неперетравні компоненти в рубці раціону можуть розщеплюватися в подальших відділах травного каналу і поглинаються в кишечнику у вигляді  $C_2$  і  $C_3$  сполук.

На кінцевому етапі загальне окислення відбувається у вигляді окислення  $C_2$ - (через ацетил-КоА) і  $C_3$ -фрагментів (через оксалоацетат) з утворенням лимонної кислоти у моллярному співвідношенні 1:1. Цитрат перетворюється через низку проміжних реакцій циклу Кребса на АТР, NADH та FADH<sub>2</sub>. Унаслідок взаємодії з киснем в реакціях біологічного окиснення, що перебігають в дихальному ланцюзі мітохондрій, із утворення NADH та FADH<sub>2</sub> може утворюватися 11 молекул АТФ.

У **корів під час лактації** енергетичні витрати суттєво зростають, що на фоні зниженого споживання сухої речовини раціону веде до розвитку негативного енергетичного балансу. Це призводить до мобілізації запасів тіла, які знаходяться, переважно, у вигляді жиру ( $C_2$ -сполуки) і, в незначній мірі, білків (частково  $C_2$ -, частково  $C_3$ -сполуки). Мобілізація жирів із депо призводить до підвищеної концентрації в крові неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК).

Надходження НЕЖК в кров забезпечує рознесення енергії до тканин по всьому організму. Однак, їх надлишок може спричинювати розвиток метаболічних розладів. Зокрема, печінка великої рогатої худоби має обмежену здатність до перетворення НЕЖК. Вони можуть бути окислені або ж виводяться з гепатоцитів у складі ліпопротеїнів дуже низької щільності. Коли досягається ліміт функціональних можливостей печінки, в ній починають накопичуватися триацилгліцероли (ТАГ), а також ацетил-КоА (в результаті β-окислення жирних кислот), що не використовується в циклі трикарбонових кислот.

Синтез та накопичення ТАГ у печінці безпосередньо пов'язане з концентрацією НЕЖК у крові корів, що пояснює високий ризик розвитку жирового синдрому печінки у корів з розвитком синдрому ліполізу. Крім того, розвиток жирової гепатодистрофії знижує інтенсивність гліоконеогенезу в печінці, що зумовлює зниження рівня глюкози в крові і зменшення секреції інсуліну. Внаслідок цього посилюється мобілізація ліпідів у тканинах, відбувається жирова інфільтрація печінки та посилюється кетогенез.

β-окислення НЕЖК в мітохондріях є одним із центральних шляхів в забезпеченні енергією тканин організму, що має особливе значення в діяльності міокарду і скелетних м'язів. Проте, ряд інших тканин, перш за все печінка, а також нирки, тонкий кишечник і біла жирова тканина можуть використовувати продукти β-окислення для утворення кетонових тіл.

Окислення НЕЖК призводить до утворення ацетил-КоА, які можуть бути використані для отримання енергії шляхом окислення в циклі Кребса. Неповне окислення зумовлює накопичення кетонових тіл, у першу чергу, ацетоацетату і β-гідроксибутирату, як додаткових енергетичних субстратів, які можуть компенсувати недостатнє споживання попередників глюкози.

Висока молочна продуктивність на ранній стадії лактації вимагає значного синтезу лактози ( $C_3$ -сполуки), що призводить до зменшення в крові рівня глюкози та інсуліну. В результаті, інтенсивність утворення ацетил-КоА з ацетату, бутирату та жирних кислот, що мобілізуються з депо, є високою. В той же час,  $C_3$ -сполуки, які утворюються з глюкози і глікогенних попередників, у тому числі глікогенних амінокислот, переважно утилізуються для синтезу лактози.

Таким чином, у результаті перебудови метаболічних процесів в організмі корів порушується співвідношення оксалоацетату до ацетил-КоА, внаслідок чого зменшується субстратна забезпеченість для синтезу АТФ в циклі трикарбонових кислот (ЦТК). Утворений ацетил-КоА перетворюється на кетонів тіла — ацетон, ацетоацетат і β-гідроксибутират, накопичення яких призводить до кетозу.

Зважаючи на це, **перехідний період** від пізніх термінів тільності до початку лактації в молочних корів виділяється як 3 тижні до і 3 тижні після отелення. Саме цей період є найбільш критичним у життєвому циклі молочних корів, з найбільшою частотою прояву метаболічних та інфекційних захворювань.

### Діагностика порушень обміну речовин

У діагностиці захворювань печінки та метаболічних порушень використовуються анамnestичні та клінічні дані, результати інструментальних (УЗД) і біологічних (біопсія)



методів. Водночас, на ранніх стадіях патології обміну речовин не можливо провести діагностику без використання лабораторних досліджень, у першу чергу—біохімічних.

Центральним органом обміну речовин в організмі є печінка, і саме вона зазнає найбільшого негативного впливу в процесі розвитку метаболічних порушень. Основними патолого-біохімічними синдромами, на яких ґрунтується лабораторна діагностика захворювань печінки, є синдроми цитолізу, холестази і недостатності синтетичних процесів в гепатоцитах. Найбільшу діагностичну цінність для оцінки цих синдромів відіграють різноманітні ферменти.

Розвиток синдрому цитолізу зумовлений анатомічними особливостями печінки: виражена гіперферментемія цитозольних ферментів розвивається відразу після ушкодження плазматичної мембрани гепатоцитів і швидко досягає високого рівня. При цьому висока активність амінотрансфераз (АСТ і АЛТ) є раннім тестом безжовтячного гепатиту. Широкого поширення в клініко-біохімічній діагностиці хвороб печінки набула біваріабельна оцінка зміни ферментативної активності сироватки крові. З цієї метою співставляється ступінь підвищення активності ферментів з урахуванням їх різної локалізації, що відображає різні сторони метаболічної активності гепатоцитів. Для оцінки явища цитолізу часто використовується коефіцієнт де Рітіса (співвідношення активності АСТ/АЛТ).

Найбільше зростання активності АСТ спостерігається за гострих гепатитів, тоді як за хронічних—гіперферментемія виражена в меншій мірі. Розвиток гепатодистрофії у корів супроводжується зниженням білоксинтетичної (гіпоальбумінемія) і сечовиноутворювальної (в крові знижена концентрація сечовини) функцій печінки на тлі суттєво низького вмісту глюкози. Такі зміни ведуть до деструктивних процесів в організмі і активації перекисного окислення ліпідів, руйнування клітинних мембран. Саме за рахунок

вивільнення зі складу фосфоліпідів мембран, як припускають дослідники, в сироватці крові накопичується фосфор.

У сироватці крові корів, в яких діагностовано жирову дистрофію печінки, починає зростати концентрація жовчних кислот. Крім того, зростає рівень як загального, так і зв'язаного білірубину, а також активність ГГТ, на фоні чого знижується концентрація холестеролу, що свідчить про порушення жовчоутворення та жовчовиділення.

Для об'єктивності, варто відзначити, що чутливість та специфічність окремих біохімічних показників далеко не є 100-процентною і може коливатися в діапазоні 25-90%, що пов'язано зі стабільністю патологічних процесів, ураженням окремих клітинних і субклітинних структур, тривалістю напівжиття ферментів тощо.

Саме тому потрібно правильно спланувати групи для відбору проб, а також відібрати достатню кількість зразків. Лише в цьому разі можна «спіймати» патологію, визначитися з її характером та поширеністю у стаді.

У великої рогатої худоби характерні клініко-біохімічні зміни часто не є характерними для окремих порушень: наприклад, розвиток жирової гепатодистрофії супроводжується кетоацидотичним станом, а також розвитком пов'язаних з ними синдромів—гепаторенального, гепато-остеодистрофічного та ін. Це носить назву поліморбідної (множинної) патології. Діагностичними критеріями для гепато-остеодистрофічного синдрому є гіперпротеїнемія, зростання активності АСТ, інколи АЛТ і ГГТ, також диспротеїнемія, знижений вміст загального кальцію в сироватці крові та підвищена активність лужної фосфатази.

### Практичне застосування біохімічних досліджень

Розглянемо один з випадків використання біохімічних досліджень у діагностиці метаболічних порушень. У госпо-

таблиця 1

### Біохімічні показники крові первісток

Показники	5-7 дів до отелення	2-3 доби після отелення	7-10 дів після отелення
Бета-гідроксибутират, ммоль/л	0,43-0,59	0,48-1,15	0,30-3,41
Неестерифіковані жирні кислоти, ммоль/л	0,07-0,22	0,12-0,20	0,07-0,26
ГГТ, Од/л	13-17	15-18	14-24
Загальний білірубін, мкмоль/л	1,7-6,1	10,5-18,2	8,6-13,2
Загальний білок, г/л	45-60	42-52	47-64
Альбуміни, г/л	30-35	21-28	24-32
Глобуліни, г/л	13-25	18-22	17-34
Сечовина, ммоль/л	3,3-6,6	4,0-6,8	3,6-6,9
Креатинін, мкмоль/л	101-113	76-108	64-92
АСТ, Од/л	66-162	82-188	88-165
АЛТ, Од/л	8-14	7-17	8-19
Лужна фосфатаза, Од/л	81,7-143,8	54,4-85,2	57,5-112,0
Глюкоза, ммоль/л	2,0-2,4	2,0-2,3	2,0-2,3
Кальцій загальний, ммоль/л	1,8-2,0	1,8-2,1	1,8-2,1
Фосфор неорганічний, ммоль/л	1,5-1,8	1,1-1,6	1,3-1,7
Каротин, мкг%	137-178	156-271	105-257
Тимолова проба, од. S-N	1,3-2,0	1,2-2,3	1,2-3,2
Магній, ммоль/л	1,0-1,2	1,0-1,1	1,0-1,2

таблиця 2

### Біохімічні показники сироватки крові корів 2-3 лактації до та після отелення

Показники	5-7 дів до отелення	2-3 доби після отелення	7-10 дів після отелення
Бета-гідроксибутират, ммоль/л	0,29-1,43	0,87-3,51	0,30-1,03
Неестерифіковані жирні кислоти, ммоль/л	0,22-0,43	0,16-0,37	0,16-0,30
ГГТ, Од/л	13-23	10-21	18-22
Загальний білірубін, мкмоль/л	4,2-14,8	8,1-23,8	7,5-18,4
Загальний білок, г/л	45-65	47-60	49-60
Альбуміни, г/л	31-37	25-37	29-34
Глобуліни, г/л	13-32	20-23	18-31
Сечовина, ммоль/л	4,0-4,9	4,3-7,3	3,7-7,4
Креатинін, мкмоль/л	85-129	61-129	53-77
АСТ, Од/л	62-189	77-191	79-123
АЛТ, Од/л	7-22	2-16	2-36
Лужна фосфатаза, Од/л	46,7-112,5	52,6-72,0	41,9-232,2
Глюкоза, ммоль/л	2,0-2,4	2,0-2,2	2,0-2,1
Кальцій загальний, ммоль/л	1,8-2,3	1,8-2,1	1,9-2,2
Фосфор неорганічний, ммоль/л	1,3-1,6	0,8-1,5	1,0-1,5
Каротин, мкг%	105-360	89-337	145-518
Тимолова проба, од. S-N	2,0-5,7	1,8-2,6	1,6-2,6
Магній, ммоль/л	0,9-1,1	0,9-1,2	1,0-1,2

дарстві спостерігався високий рівень вибуття корів зі стада у перші два місяці лактації. Кетонетрія підтверджувала наявність кетозу у понад 30% корів. Передумовою для цього стало підвищення молочної продуктивності тварин на 1500-2000 кг за лактацію без суттєвих змін у підході до лікувально-профілактичних заходів, спрямованих на попередження метаболічних порушень у транзитний період. З метою підтвердження діагнозу, встановлення механізмів розвитку метаболічних порушень та їх глибини було розроблено схему біохімічних досліджень, яка включала в себе відбір проб сироватки крові від 5 нетелей та корів за 5-7 дів до отелення та через 2-3 і 7-10 дів після нього. В таблицях наведено діапазон коливань окремих показників у межах кожної групи.

У сироватці крові нетелей/первісток було встановлено незначні ознаки розвитку ліпомобілізаційного синдрому за 5-7 дів до отелення, які супроводжувалися невисоким рівнем кетонових тіл (табл. 1).

На 2-3 і 7-10 добу після отелення у двох тварин (40%) вміст кетонових тіл вказував на наявність кетозу. Поступовий розвиток ліпомобілізаційного синдрому характеризувався жировою інфільтрацією печінки з розвитком гепатозу з підгострим та гострим перебігом (це було встановлено за рівнем АСТ та альбумінів). Такий стан у первісток реєструвався у 20% тварин до отелення та у 40% через 2-3 та 7-10 дів після отелення. Крім того, було виявлено незначно підвищений рівень сечовини у тварин перед отеленням та через 2-3 доби після нього, що може супроводжувати як високе надходження протеїну, так і недостатність глікогенних компонентів раціону.

Водночас у сироватці крові корів основного стада спостерігалися виражені ознаки розвитку ліпомобілізації

в передотільний період, що у 20% мали суттєві значення і супроводжувалися розвитком субклінічного кетозу (табл. 2).

На 2-3 добу після отелення у 60% корів відзначено кетонемію, з яких у 20%—характерну для гострого кетозу. На 7-10 добу рівень кетонових тіл не перевищував допустимих значень. У 20% корів у передотільний період було встановлено ознаки розвитку гострого гепатозу, що через 2-3 доби після отелення доповнюється ще у 20% тварин та супроводжується проявом підгострих патологічних процесів у печінці. Через 7-10 дів після отелення спостерігається тенденція до хронізації структурно-функціональних змін органу. Підвищений рівень сечовини на 2-3 добу після отелення у корів може бути чинником, що сприяє розвитку кетозу.

Проведені дослідження дозволили встановити в різних групах початок, вираженість і характер перебігу метаболічних порушень, спричинених ліпомобілізацією. Це дало можливість розробити ефективні засоби корекції виявлених змін обміну речовин з урахуванням часу їх настання та економічної обґрунтованості.

Наведений приклад показує, що роль біохімічної лабораторної діагностики порушень обмінних процесів є суттєвою у правильному плануванні та реалізації програм здорового стада. Накопичений нами багаторічний практичний досвід водночас вказує на недооцінення цього методу через низку об'єктивних і суб'єктивних чинників, зокрема—нерозуміння доцільності проведення біохімічних досліджень. Проте, розглядаючи цей випадок, напевне, варто задатися питанням: яку кількість корів вдалося б зберегти, завчасно розуміючи необхідність проведення коригувальних заходів? ●