

МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ
ПОЛІТИКИ УКРАЇНИ



НАУКОВИЙ ВІСНИК
ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ ВЕТЕРИНАРНОЇ
МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ
імені С.З. ГЖИЦЬКОГО
заснований у 1998 році

Scientific Messenger
of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies
named after S.Z. Gzhytskyj

Том 9, № 3 (34)
Частина 1

Львів – 2007

УДК 619:616.391:636.2

Кравців Р.Й., академік УААН, професор,
Стадник А.М., канд. біол. наук, професор,
Личук М.Г., канд. вет наук, доцент,
Паска М.З., канд. вет наук, ст. викладач

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З.Гюсцицького*

РОЗРОБКА СПОСОБІВ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ І ПРОФІЛАКТИКИ ДЕФІЦИТУ СЕЛЕНУ, КОБАЛЬТУ ТА ЗАЛІЗА У МОЛОДНЯКА ХУДОБИ

Представлено результати дослідження селену, кобальту й заліза у молодняка великої рогатої худоби. Описано основні симптоми мікроелементозів (Se, Co, Fe), розкриті нові ланки патогенезу та метаболізму глікокон'югатів крові й еритроцитарних мембран. Удосконалено більш доступні альтернативні методи доклінічної діагностики дефіциту селену, шляхом визначення глутатіонпероксидази, малонового діальдегіду, кобальту – вітаміну B₁₂, метилмалонату й заліза – трансферину, сироваткового заліза, ЗЗЗС крові порівняно з атомно-абсорбційним аналізом. Розроблено та впроваджено ефективні способи профілактики цих мікроелементозів з використанням сульфатів дефіцитних МЕ або їхніх хелатних сполук із метіоніном і цистеїном.

Ключові слова: селен, кобальт, залізо, глутатіонпероксидаза, малоновий діальдегід, вітамін B₁₂, метилмалонова кислота, глікокон'югати, залізов'язуюча здатність, телята, молодняк худоби.

Вступ. Великих збитків тваринництву завдають мікроелементози (МЕози) молодняка худоби, спричинені нестачею селену, кобальту та заліза [4, 8, 9, 11]. Характерні клінічні ознаки для цих МЕозів виступають за значної нестачі мікроелементів (МЕ) [7, 13]. Субклінічний перебіг МЕозів у біогеохімічних зонах західного регіону України проявляється неспецифічними і навіть типовими, але часто не патогномонічними ознаками, що ускладнює ранню їхню діагностику [5, 10, 13].

Виходячи з цього, метою роботи було вивчити характер метаболічних порушень у молодняка худоби за нестачі селену, кобальту та заліза, розробити критерії донозологічної діагностики і профілактики.

Матеріали і методи. Роботу з вивчення статусу і обміну Se та Co у телят виконано на кафедрі внутрішніх хвороб тварин і в господарствах “Обрій” та “Колос” Любомльського району Волині (15 голів) та ННВЦ університету “Давидівський” (11 голів) – як контрольна група.

У крові визначали: селен – флуориметрично (Bayfield R.F., Romalis L.F., 1985); активність глутатіонпероксидази (ГПО) еритроцитів (Моин В.М., 1986); вітамін B₁₂ (Канопкайте С.И., 1978); залізо та кобальт – за В. Прайс (1976). У сироватці – вміст малонового діальдегіду (МДА; Андреева Л.И. и др., 1988); залізо, загальну та латентну залізов'язуючу здатність сироватки, насиченість

трансферину залізом і трансферин (Ченуша В.П., Воронка Г.Ш., 1978)

Визначення сіалоглікопротеїнів, глікозаміногліканів і гангліозидів сироватки крові та мембран еритроцитів проводили за описаними методами [12]. Метилмалонову кислоту (ММК) сечі – (Снегирева Л.В., Арешкина Л.Я., 1972, Oase S.M., Chen S.C., 1975)

Обмін заліза вивчали на 5 групах бугайців на відгодівлі у ТзОВ “Галичина” Жовківського району (чотири дослідні і контрольна – по 10 голів).

Тварини контрольної групи отримували основний раціон; I дослідної – сульфати Fe, Mn і Cu по 0,05, Co – 0,03 мг/кг маси тіла, II – амінокислоту цистеїн у дозі 0,2 мг/кг м. т.; III – сульфати Fe, Mn і Cu – 0,05, Co – 0,03 та цистеїн – 0,2 мг/кг; IV – суміш з хелатних сполук ME: цистеїнати Cu, Mn і Fe – 0,02, Co – 0,01 мг/кг м. т.

Результати. При біохімічному аналізі крові у клінічно здорових тварин вміст селену був у межах 65,1 – 87,2 нг/мл (у середньому 73,4±3,8). У телят за білом’язової хвороби концентрація його була вірогідно ($p < 0,001$) у 2,2 раза нижчою – від 25,0 до 36,2 нг/мл.

За нестачі селену у телят виявлено низьку активність ГПО еритроцитів (172,4 – 238,1 мкмоль/хв GSH на 1г Hb). Активність ГПО можна використовувати як показник селенового статусу організму [8,11,16]. У здорових тварин активність ГПО становила 359,9±13,2 мкмоль/хв GSH на 1г Hb.

Зниження активності ГПО спричиняє посилення процесів ПОЛ [1,8,16,17] за підвищення кінцевого продукту ПОЛ – МДА у сироватці хворих телят до 4,86±0,13 мкмоль/л. Концентрація МДА у здорових телят була вірогідно ($p < 0,001$) нижчою (на 65,3%) і була від 2,44 до 3,31 мкмоль/л.

Вміст кобальту (табл. 2) в крові здорових телят становив 0,614 ± 0,035 мкмоль/л, тоді як у хворих тварин – 0,225 ± 0,014 мкмоль/л, тобто у 2,7 раза менше ($p < 0,001$), що пов’язане з нестачею кобальту в раціоні [6, 7].

Оскільки кобальт необхідний для синтезу мікробного білка та ціанкобаламіну під впливом мікроорганізмів рубця, то недостатнє надходження його з кормом зумовлює порушення мікробного синтезу ціанкобаламіну в передшлунках та дефіцит його в організмі [8,13], що спричинило низьку концентрацію вітаміну B₁₂ в крові хворих телят (на 46,3 % менше, ніж у здорових, відповідно, 7,2±0,3 та 13,4±1,1 нг/100мл).

Характерними симптомами гіпокобальтозу у телят була анорексія, виснаження, лизуха, анемія та загибель. Обґрунтований діагноз підтверджують гематологічними, біохімічними дослідженнями та аналізом ME раціону [8,9,13,15]. Патогномонічні симптоми гіпокобальтозу проявляються лише при значному дефіциті ME [8,13].

Вивчення механізмів перетворення Co, вітаміну B₁₂, метилмалоніл- і сукциніл-КоА у телят за дефіциту кобальту дозволило теоретично обґрунтувати і запропонувати високоінформативний метод визначення в сечі концентрації проміжного і токсичного метаболіту – ММК [6, 8], як раннього показника (теста) субклінічного перебігу гіпокобальтозу [11, 12, 15].

При визначенні концентрації ММК у сечі встановлена чітка лінійна залежність оптичної густини від вмісту ММК в стандартах (свідках, фірма Aldrich) 0–10 мкг/мл. Так, екстинція її стандарту (10 мкг/мл) становила 0,350 ± 0,006. Виявлено, що вміст ММК у сечі хворих гіпокобальтозом телят зростає і становить 8,23 ± 1,03 мкмоль/л порівняно з 2,9 ± 0,73 мкмоль/л у здорових.

Максимальний терапевтичний ефект та нормалізацію метаболічних порушень в організмі телят за нестачі селену та кобальту забезпечувало коригування раціонів сумішшю: метіонатів селену – 2,4 і кобальту – 8,5 мг на голову в день протягом 30-ти днів та введенні препарату “Урсовіт” у дозі 3 мл внутрішньом’язово дворазово з інтервалом 14 днів.

У молодняка на відгодівлі до початку експерименту виявлено низький вміст у крові Fe, Mn, Cu, Co, гемоглобіну і еритроцитів усіх 5-ти піддослідних груп, передусім Fe (5,25 – 5,29 ммоль/л), що свідчить про субклінічний перебіг гіпопластичної анемії. У молодняка контрольної і II груп по закінченні дослідження концентрація заліза в крові знаходилася на рівні $5,40 \pm 0,17$ ммоль/л. У бугайців I і III груп вміст заліза у крові відповідно становив $6,05 \pm 0,18$ і $6,45 \pm 0,23$ ммоль/л, що на 12,0 % ($p_1 < 0,01$) і 19,4 % ($p_1 < 0,001$) вірогідно вище, порівняно з контролем.

При цьому найвищою була концентрація заліза у крові тварин IV дослідної групи, які отримували МЕ підгодівлю у вигляді цистеїнатів дефіцитних елементів та становила $6,79 \pm 0,28$ ммоль/л, що на 25,7 % ($p_1 < 0,001$) вище, порівняно з контролем і на 28,4 % ($p < 0,001$) – з початком дослідження, а також вищою порівняно з I (на 12,2 %; $p < 0,05$) та II (на 23,5 %; $p < 0,001$) дослідними групами.

Вміст заліза в сироватці крові бугайців по закінченні експерименту контрольної і II груп залишався на одному рівні ($16,90 \pm 0,71$ мкмоль/л), а у тварин I, III та IV груп був відповідно вищим відносно контролю на 22,6 ($p_1 < 0,01$), 24,6 ($p_1 < 0,01$) та 36,3% ($p_1 < 0,001$).

Аналіз показників ЗЗЗС, ЛЗЗС, насиченість трансферину залізом та трансферин дозволив охарактеризувати порушення обміну заліза [2,10,14].

Так, після закінчення дослідження у I, III та IV групах відзначено значне зниження ЗЗЗС відповідно до $51,91 \pm 1,45$; $50,34 \pm 1,38$ та $48,28 \pm 1,31$ мкмоль/л, що було нижче, порівняно з контролем на 9,8 ($p_1 < 0,05$), 12,5 ($p_1 < 0,01$) та 16,1 % ($p_1 < 0,001$). У тварин II групи ЗЗЗС становила $57,22 \pm 1,37$ мкмоль/л, що знаходилося практично на рівні контролю.

Підвищення вмісту заліза у сироватці крові дослідних тварин та зменшення ЗЗЗС сприяли значному зниженню ЛЗЗС. У той час, як у молодняку II групи ЛЗЗС знаходилася на рівні контролю і становила $40,32 \pm 1,24$ мкмоль/л, то у тварин I групи ЛЗЗС була на 23,6 % ($p_1 < 0,001$) нижчою, як у контролі та становила $30,81 \pm 1,05$ мкмоль/л, III групи відповідно ($28,90 \pm 0,98$ мкмоль/л) – на 28,3 % ($p_1 < 0,001$), і у бугайців IV групи ($24,83 \pm 0,91$ мкмоль/л) – 38,4 % ($p_1 < 0,001$) та на 44,6 % ($p < 0,001$) – порівняно з початком дослідження.

Насичення трансферину залізом у сироватці крові дослідних тварин по закінченні дослідження у бугайців I групи показник був на 10,74 % ($p_1 < 0,001$) вищим, ніж у контролі ($40,65 \pm 2,15$ %), а у II групі вона залишалась на рівні контролю ($29,53 \pm 1,53$ %), у III – складала $42,59 \pm 2,45$ %, що на 12,68 % ($p_1 < 0,001$) більше, порівняно з контролем. Найвищою вона була у тварин IV групи ($48,57 \pm 2,74$ %).

Трансферин – глікопротеїн з фракції бета-глобулінів, основною функцією якого є зв’язування Fe^{2+} і його транспорт до місць делонування або використання для забезпечення синтетичних потреб організму [3,8].

Вміст трансферину по закінченні дослідження у тварин I групи становив $2,31 \pm 0,10$ г/л, що на 10,1 % нижче від контролю, у тварин II групи він залишався на рівні

контролю ($2,56 \pm 0,12$ г/л), а III групи його вміст становив $2,25 \pm 0,12$ г/л. Суттєве зниження вмісту трансферину виявлено в IV групі – до $2,16 \pm 0,08$ г/л.

Висновки. Характерні клінічні ознаки за нестачі селену, кобальту та заліза проявляються, в основному, при тривалих і значних дефіцитах МЕ. Субклінічний перебіг мікроелементозів значно поширений у господарствах біогеохімічних зон західного регіону і проявляється за незначної нестачі ряду МЕ у кормах, воді.

Встановлено, що низький рівень селену в крові хворих телят ($25,0 - 36,2$ нг/мл) спричиняє розвиток білом'язової хвороби. Нестача селену позитивно корелює ($r=+0,89$) з активністю ГПО. Низька активність ГПО спричиняє посилення процесів ПОЛ, що призводить до зростання концентрації в сироватці крові МДА.

Уміст кобальту за гіпокобальтозу в крові телят знижується до $0,194 - 0,357$ мкмоль/л, а ціанокобаламіну – на $46,3\%$ ($p < 0,001$) є менше, ніж у здорових тварин. За їхньої нестачі знижується активність метилмалоніл-КоА-мутази, що спричинює нагромадження у крові і сечі тварин ММК. Визначення в сечі ММК може слугувати раннім доклінічним діагностичним тестом субклінічного перебігу гіпокобальтозу та дефіциту вітаміну B_{12} в організмі тварин.

Коригування раціонів телят метіонатами селену – $2,4$ і кобальту – $8,5$ мг на 1 гол в день протягом місяця та введення „Урзовіту” профілактує ці МЕози

Нестача Fe, Co, Cu і Mn у молодняка худоби на відгодівлі спричиняє субклінічний перебіг гіпопластичної анемії. Більш простішим та інформативним показником обміну заліза, порівняно з атомно-абсорбційною спектрофотометрією доцільним є визначення в крові заліза, ЗЗЗС, трансферину. Коригування раціонів бугайців МЕ (Fe, Co, Cu і Mn) сприяє підвищенню вмісту заліза в сироватці крові тварин усіх дослідних груп, зниженню трансферину і ЗЗЗС. Підгодівля цистеїнатами МЕ унормовує обмін заліза, профілактує гіпопластичну анемію, інші МЕози та підвищує продуктивність бугайців та якість їхньої продукції краще, ніж неорганічні солі цих МЕ.

Література

1. Антоняк Г.Л., Бабич Н.О., Сологуб Л.І. Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин // Біологія тварин. - 2000. - Т.72, № 2. - С. 34-43.
2. Бучко О.М., Іскра Р.Я. Роль заліза в життєдіяльності тварин// Біологія тварин. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 25 –34.
3. Видиборець С.В. Трансферин: клінічне значення та лабораторна діагностика порушень// Лабораторна діагностика. – 2000. – № 2. – С. 30 – 33.
4. Кравців Р.И. Обмен веществ и мясные качества молодняка крупного рогатого скота при оптимизации системы микроэлементного питания: Дис. в форме научн. доклада... докт. биол. наук 03.00.13, 16.00.06. -Львов, 1992. - 87 с.
5. Кравців Р.Й, Стадник А.М., Личук М.Г., Паска М.З Критерії діагностики, профілактики та лікування телят за нестачі селену і кобальту // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З.Гжицького. – Львів, 2005.– Т.7, № 4 (27)- Ч.2. – С. 31-35.
6. Кравців Р.Й., Стадник А.М., Личук М.Г. Метилмалонова кислота сечі, як ранній показник субклінічного дефіциту кобальту та вітаміну B_{12} в організмі телят //Науковий вісник ЛДАВМ імені С.З.Гжицького. – Львів. – 2000. – Т.2, № 3 – 4. – С. 57 – 60.

7. Личук М.Г. Роль нестачі селену та кобальту в кормах Полісся у виникненні мікроелементозів у телят: діагностика та лікування // Наук. вісник Львів. держ. акад. вет. мед. ім. С.З.Гжицького. 2001. – Т. 3, № 2. – Львів, – С.91–95.

8. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А.П.Авцын, А.А.Жаворонков, М.А.Риш, Л.С.Строчкова - М.:Медицина, 1991. - 496 с.

9. Миллз С.Ф. Потребность в кобальте и дефицит его у жвачных животных / Новейшие исследования питания животных: Пер с англ. -М.:Колос,1984.- вып.3-С. 158-176

10.Паска М.З., Личук М.Г. Обмін заліза та еритроцитопоез за мікроелементної корекції раціону відгодівельних бугайців //Наук. вісник Львів. держ. акад. вет. мед. ім. С.З.Гжицького. 2003. – Т. 5 (№ 2), ч. 2. – Львів, – С. 93–97.

11.Рикеби С.Д. Потребность в селене у жвачных животных // Новейшие исследования питания животных: Пер с англ. - М.: Колос. - 1984 - вып. 3. - С. 145 - 157.

12.Мікроелементози худоби: альтернативні методи діагностики, профілактика / СтадникА.М., КравцівР.Й., Личук М.Г. та ін. // Вісник Білоцерківського ДАУ – Біла Церква –2005.- Випуск 33. – С.239-248.

13.Судаков М.О. Мікроелементози сільськогосподарських тварин. - 2-е вид.-К.: Урожай. 1991.

14. Творогова М.Г., Титов В.Н. Железо сыворотки крови: диагностическое значение и методы исследования (обзор литературы)// Лаб. дело. – 1991. – №9. – С. 4 – 10.

15.Quirk M.F., Norton B.W. Detection of cobalt deficiency in lactating heifers and their calves // J. Agr. Sci. - 1988.- 110, #3. P 465-470.

16.Veling J., Counotte G.H. Seleendeficientie zonder klinische symptomen bij yongvee oopen melkveebedrijf //Tijdschrift voor Diergeneeskunde. - 1995. - Vol. 120, № 16. - P. 464-465.

17.Vitamin E and selenium deficiencies increase indices of lipid peroxidation in muscle tissue of ruminant calves /D.M. Walsh, S. Kennedy, W.J. Blanchflower, et al. //Int. J. Vitamin & Nutr. Res. - 1993. - Vol. 63, № 3. - P. 188-194.

Summary

Kravtsiv R.J., Stadnyk A.M., Lychuk M.G., Paska M.Z.

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named after S.Z. Gzhytskyj

The results of researches of selenium, cobalt and iron are presented at the young cattle. The main symptoms of trace elementoses are described, the new links of pathogenesis and metabolism of glucoconjugate of blood and membranes of erythrocytes are exposed. Offered and improved more accessible alternative methods of pre-clinical diagnostics as deficit of selenium by determination of glutathione peroxidase of erythrocytes and malonaldehyde; cobalt by determination of vitamin B₁₂ and methylmalonic acid and iron by determination of transferrin, serum iron, general iron-binding ability of serum of blood as compared to an atomic-adsorption analysis. Developed and introduced effective methods of prophylaxis of these trace elementoses with the use of sulfates of deficit trace elements or their chelate compounds with a methionine and cysteine.

Стаття надійшла до редакції 5 07 2007