

УДК 636.2.456.22 – 056.24: 577.112

## ПОКАЗНИКИ БІЛКОВОГО ОБМІНУ У КОРІВ, ХВОРИХ НА КЕТОЗ

I. M. Petrukh  
i\_petruh@inenbiol.com.ua

Інститут біології тварин НААН, м. Львів, 79034, вул. Стуса, 38

У роботі представлено аналіз показників білкового обміну клінічно здорових та хворих на кетоз корів. Дослідження проведено на високопродуктивних (понад 8000л молока за лактацію) коровах молочної чорно-рябої породи, віком 2-5 років. На основі клінічного огляду корів та експрес-діагностики на вміст кетонових тіл у їх сечі, формували дві групи: клінічно здорові та хворі на кетоз. У крові усіх піддослідних корів визначали вміст загального білка, білкових фракцій, сечовини та концентрацію вільних амінокислот.

Встановлено, що при кетозі у крові тварин зростає ( $p<0,001$ ) вміст загального білка,  $\beta$ - та  $\gamma$ -глобулінів і знижується ( $p<0,001$ ) кількість альбумінів. Збільшення вмісту загального білка та  $\beta$ - і  $\gamma$ -глобулінів разом із зменшенням альбумінів у хворих корів спричиняє диспротеїнемію, яка характеризується зниженням білкового коефіцієнта до критичних величин. Одночасно, у хворих тварин підвищується

( $p<0,01$ ,  $p<0,05$ ) використання кетогенних амінокислот (лейцин, лізин, фенілаланін, триптофан, тирозин), знижується ( $p<0,01$ ) глікогенних (валін ізолейцин) та зростає ( $p<0,05$ ) вміст сечовини.

Ключова роль у регулюванні обміну речовин і енергії в тваринному організмі належить печінці. Зміни у білковому обміні хворих тварин вказують на ураження печінки із посиленням її детоксикаційної функції, а саме, нейтралізація надмірно утвореного аміаку, про що свідчить високий ( $7,04\pm 0,42$  ммоль/л) вміст сечовини у їх крові.

Встановлені показники амінокислотного обміну можуть бути додатковими тестами діагнозу субклінічного кетозу у корів.

**Ключові слова:** КОРОВИ, ПЕЧІНКА, КЕТОЗ, ЗАГАЛЬНИЙ БІЛОК, ФРАКЦІЇ БІЛКІВ, АМІНОКИСЛОТИ, СЕЧОВИНА

## PROTEIN METABOLISM AT KETOSIS IN COWS

I. M. Petrukh  
i\_petruh@inenbiol.com.ua

Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, 79034, V. Stus st., 38

The analysis of protein metabolism in clinically healthy and suffering from ketosis cows is presented in this article. The research was conducted on highly productive cows (more than 8000 l of milk per lactation) of dairy black and white breed, 2–5 years age. Two groups were formed on the basis of clinical cows' examination and rapid diagnosis of the ketone bodies content in urine: clinically healthy and with signs of ketosis animals. Content of total protein, protein fractions, urea and concentration of free amino acids were determined in the blood of all experimental cows.

It was established that at ketosis ( $p<0.001$ ) total protein,  $\beta$ - and  $\gamma$ -globulins content increases and albumin content decreases in the blood of animals. The increase of total proteins and  $\beta$ - and  $\gamma$ -globulins and decrease of albumin in sick cows causes dysproteinemia, characterized by the decrease of protein coefficient to the critical value. Simultaneously, the usage of ketogenic amino acids (leucine, lysine, phenylalanine, tryptophan, tyrosine) increases ( $p<0.01$ ,  $p<0.05$ ) in the sick animals and the usage of glucogenic amino acids (isoleucine

valine) decreases ( $p < 0.01$ ). The content of urea increases ( $p < 0.05$ ).

Key role in regulating of metabolism and energy in the animal organism belongs to the liver. Changes in protein metabolism in sick animals indicate liver damage with increasing of its detoxification function, namely neutralization of ammonia excess, as evidenced by the high ( $7,04 \pm 0,42$  mmol/l) urea in their blood.

The established indices of amino acid metabolism may be additional tests for the diagnosis of subclinical ketosis in cows.

**Keywords:** COWS, LIVER, KETOSIS, TOTAL PROTEIN, PROTEIN FRACTION, AMINO ACIDS, UREA

## ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА У КОРОВ ПРИ КЕТОЗЕ

*И. М. Петрух*

*i\_petruh@inenbiol.com.ua*

Институт биологии животных НААН, ул. В. Стуса, 38; г. Львов, 79034, Украина

В работе представлен анализ показателей белкового обмена клинически здоровых и больных кетозом коров. Исследования проведено на высокопродуктивных (более 8000 кг молока за лактацию) коровах молочной черно-пестрой породы, в возрасте 2-5 лет. Исходя из клинического осмотра и экспресс-диагностики на наличие кетонных тел в моче, было сформировано две группы коров: клинически здоровые и больные кетозом. В крови всех исследуемых коров определяли содержание общего белка, белковых фракций, мочевины и концентрацию свободных аминокислот.

У крови животных, которые болели кетозом, установлено увеличение ( $p < 0,001$ ) общего белка,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулинов и снижение ( $p < 0,001$ ) количества альбуминов. Увеличение общего белка,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулинов вместе с снижением количества альбуминов создает протемнеию, которая характеризуется снижением белкового коэффициента до критических единиц. Одновременно, у больных животных повышается ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$ ) использование кетогенных аминокислот (лейцин, лизин, фенилаланин, триптофан и тирозин), снижается ( $p < 0,01$ ) глюкогенных (валин, изолейцин) и возрастает ( $p < 0,05$ ) содержание мочевины.

Ключевая роль в регулировании обмена веществ и энергии в организме животных принадлежит печени. Изменения белкового обмена у больных животных указывает на поражение печени и усиление ее детоксикационной функции, а именно, нейтрализации излишне образованного аммиака, о чем свидетельствует высокое

( $7,04 \pm 0,42$  ммоль/л) содержание мочевины в их крови.

Исследуемые показатели аминокислотного обмена могут быть дополнительными тестами диагноза субклинического кетоза у коров.

**Ключевые слова:** КОРОВЫ, ПЕЧЕНЬ, КЕТОЗ, ОБЩИЙ БЕЛОК, ФРАКЦИИ БЕЛКОВ, АМИНОКИСЛОТЫ, МОЧЕВИНА

Кетоз корів — хвороба з поліморбідною патологією, за якої, крім серцево-судинної та ендокринної систем, уражається печінка [1]. Печінка є центральний орган гомеостазу, де відбувається обмін білків, ліпідів, вуглеводів, мінеральних речовин, вітамінів, гормонів. Виконуючи головну роль в обміні речовин та зв'язуючи порталне і загальне кола кровообігу, вона знешкоджує токсичні продукти, які надходять та утворюються в процесі травлення в організмі, реагує на дію зовнішніх і внутрішніх несприятливих факторів, включається в загальний патологічний процес при різноманітних внутрішніх незаразних, інфекційних та паразитарних хворобах [2, 3]. Ураження печінки спричиняє порушення її основних функцій, зокрема, білоксинтезувальної та детоксикаційної [4]. Своєю чергою, синтез білка тісно пов'язаний з обміном

нуклеїнових кислот. Усі альбуміни плазми, 75–90 %  $\alpha$ -глобулінів і 50 %  $\beta$ -глобулінів синтезуються гепатоцитами, а  $\gamma$ -глобуліни — клітинами Купфера. Тому вивчення показників білкового обміну та вмісту вільних амінокислот є важливою ланкою в дослідженні метаболічних порушень, що відбуваються в організмі корів при кетозі.

Мета роботи — вивчити обмін білків у печінці та вміст вільних амінокислот у крові високопродуктивних корів клінічно здорових та хворих на кетоз.

### Матеріали і методи

Для досліджень було підбрано корови чорно-рябої молочної породи, у віці від 2 до 5 років, продуктивністю понад 8000 л молока за лактацію. Клінічне обстеження корів, відбір сечі та крові для біохімічного аналізу проводили через два-три тижні після отелення. З піддослідних тварин, на основі клінічного огляду та експрес-діагностики на вміст кетонових тіл у сечі, формували дві групи: клінічно здорові та хворі на кетоз. У крові усіх піддослідних корів визначали вміст загального білка методом Лоурі, білкових фракцій — електрофорезом у поліакриламідному гелі (7,5 % ПААГ), сечовини — з діацилмонооксимом та концентрацію вільних амінокислот амінокислотним аналізатором Biotronik LC 6001 [5].

### Результати й обговорення

У крові корів, хворих на кетоз, вміст загального білка на 20,5 % ( $p < 0,001$ ) переважав показник клінічно здорових корів (табл. 1). Одержані результати свідчать, що гіперпротеїнемія у хворих корів виникає на фоні порушення білоксинтезувальної функції печінки. При вивченні характеру патологічних змін у печінці встановлено, що вміст альбуміну у крові хворих корів нижчий на 35,7 % ( $p < 0,001$ ), ніж у клінічно здорових. Оскільки альбуміни синтезуються в гепатоцитах, то гіпоальбумінемія у хворих корів, є ознакою порушення функції печінки, зокрема, здатності до синтезу альбумінів. При цьому, встановлено, що кетоз протікає зі збільшенням кількості грубодисперсних білків. Так, вміст  $\beta$ - та  $\gamma$ -глобулінів у хворих корів зростав на 20,3 % ( $p < 0,001$ ) та 37,4 % ( $p < 0,001$ ), відповідно, порівно до показників клінічно здорових. Очевидно, що зміни складу білків у хворих корів спричинені утворенням токсинів, які подразнюють клітинні елементи системи фагоцитуючих мононуклеарів, де синтезуються  $\gamma$ - та  $\beta$ -глобуліни. Одночасно, зростання кількості глобулінів і зниження альбумінів при хворобі, характеризується зниженням білкового коефіцієнта до критичних величин (0,4).

Таблиця 1

Білки та їх фракції у сироватці крові корів ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Корови	Вміст загального білка (г/л)	Фракції білків (%):				Білковий коефіцієнт
		альбуміни	глобуліни			
			$\alpha$ -	$\beta$ -	$\gamma$ -	
Здорові	70,96 $\pm$ 1,23	44,44 $\pm$ 1,47	14,86 $\pm$ 1,21	16,26 $\pm$ 0,23	24,44 $\pm$ 0,43	0,8
Хворі на кетоз	89,30 $\pm$ 2,39***	28,57 $\pm$ 0,62***	12,00 $\pm$ 1,23	20,40 $\pm$ 0,59***	39,03 $\pm$ 1,95***	0,4

Примітка: \*\*\*—  $p < 0,001$  порівняно до клінічно здорових корів

Окрім синтезу білків, печінка виконує важливу роль у їх розпаді. Амінокислоти, що утворюються в результаті протеолізу білків, зазнають дезамінування, яке відбувається переважно

у печінці. При аналізі складу вільних амінокислот плазми крові корів, хворих на кетоз, встановлено на 18 % ( $p < 0,05$  та  $p < 0,01$ ) вищий вміст фенілаланіну та тирозину, а триптофану та метіоніну — на

32 % ( $p < 0,05$ ) та 30,7 % ( $p < 0,01$ ), відповідно (табл. 2). Виявлені зміни амінокислотного складу крові хворих

корів, очевидно, зумовлені збільшенням активності компенсаторних механізмів організму.

Таблиця 2

Вміст вільних амінокислот плазми крові корів ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Амінокислоти (нмоль/мл)	Здорові тварини	Хворі на кетоз
<i>Ароматичні амінокислоти</i>		
Фенілаланін	24,34±0,53	29,79±2,64*
Триптофан	38,62±2,95	56,81±4,40*
Тирозин	29,61±0,52	36,08±1,97**
Метіонін	16,76±1,48	24,18±1,42**
<i>Амінокислоти з розгалуженим ланцюгом</i>		
Валін	120,06±4,58	101,51±5,42**
Ізолейцин	70,46±6,22	66,71±9,68
Лейцин	48,62±30	79,19±12,01*
Лізин	49,76±1,35	59,84±6,04

Примітка: \*—  $p < 0,05$ ; \*\*—  $p < 0,01$ ; \*\*\*—  $p < 0,001$  порівняно до клінічно здорових корів

Порушення розщеплення ароматичних і сірковмісних амінокислот спричиняє надмірне утворення ендотоксинів — фенолу, меркаптанів, індолу [6], які ще більше посилюють патологічний процес. Сірковмісні амінокислоти, в тому числі, метіонін, мають важливу структурну роль — утворення дисульфідних зв'язків у білках, а в складі біологічно активних сполук вони інактивують вільні радикали і посилюють використання ліпідів, що попереджує відкладання їх у печінці та на стінках судин [7–9].

Разом з тим, вміст глюкогенних амінокислот з розгалуженими ланцюгами знижувався на 15,5 % ( $p < 0,01$ ) валін та 5,4 % — ізолейцин і зростав на 38,6 % ( $p < 0,05$ ) та 16,8 % вміст кетогенних — лейцин та лізин, відповідно. Таким чином,

в організмі корів, хворих на кетоз, виникає дисбаланс у складі амінокислот, що є несприятливим фактором перебігу захворювання. Оскільки лейцин і лізин включаються в катаболізм тільки через ацетоацетил-КоА, який є попередником кетонових тіл, то їх посилене утворення супроводжується накопиченням у крові тварин кетонових тіл.

Особливістю обміну речовин у жуйних є утворення у рубці аміаку, частина якого потрапляє у кров і нейтралізується печінкою шляхом перетворення у сечовину. Надмірне утворення аміаку спричиняє посилення детоксикаційної функції печінки та характеризується зростанням концентрації сечовини у сироватці крові хворих корів до  $7,04 \pm 0,42$  ммоль/л (рис. 1).



Рис. 1. Концентрація сечовини у крові здорових та хворих на кетоз корів ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Отже, для кетозу корів характерним є збільшення екскреції сечовини — основного кінцевого продукту азотистого обміну, що утворюється при окиснювальній деградації амінокислот. Кількість сечовини, яка виділяється, служить мірою загальної кількості амінокислот, що розпадаються шляхом окиснення, що своєю чергою відображає ступінь потреби і розпаду білків [10].

### Висновки

У корів, хворих на кетоз, збільшення вмісту загального білка,  $\beta$ - та  $\gamma$ -глобулінів і зменшення альбумінів спричиняє диспротеїнемію, яка характеризується зниженням білкового коефіцієнта до критичних величин. У результаті пригнічення білоксинтетичних процесів у крові хворих корів зростає вміст ароматичних, сірковмісних та кетогенних з розгалуженим ланцюгом амінокислот і знижується глюкогенних, що очевидно пов'язано з посиленням розпадом білка та порушенням метаболізму вільних амінокислот. Порушення у білковому обміні хворих тварин, спричинене ураженням печінки та посиленням її детоксикаційної функції, а саме, нейтралізація надмірно утвореного аміаку.

**Перспективи подальших досліджень** Перспективним напрямком подальших досліджень є встановлення особливостей співвідношення концентрації різних амінокислот у крові корів, хворих на кетоз, що може бути додатковими тестами діагнозу субклінічного кетозу.

1. Levchenko V. I. Ketoz vysokoproduktyvnyh koriv: etiologija, diahnozyka i likuvannja [Ketosis in highly productive cows: etiology, diagnosis and treatment]. *Zdorovya tvaryn i liky — Animal health and medicine*, 2009, no. 2, pp. 14–15 (in Ukrainian).

2. Levchenko V. I., Vlizlo V. V., Kondraxin I. P., ta in.; Za red. Levchenka V. I. i Haljasa V. L. *Veterynarna klinična bioximija* [Veterinary clinical biochemistry]. Bila Tserkva, 2002. 400 p. (in Ukrainian).

3. Levchenko V. I., Vlizlo V. V., Kondraxin I. P., ta in.; Za red. V. I. Levchenka *Vnutrišni xvoroby tvaryn* [Internal Diseases of Animals]. Bila Tserkva, 2001. Part 2. 544 p. (in Ukrainian).

4. Vlizlo V. V. *Žyrovyy hepatoz u vysokoproduktyvnyh koriv: avtoref. dys..do-ra. vet. nauk: spec. 16.00.01 «Diahnozyka ta terapija tvaryn»* [Steatosis in highly productive cows: Abstract of veterinary sciences doctor's degree thesis, specialty 16.00.01 «Diagnosis and treatment of animals»] Kyiv, 1998. 34 p. (in Ukrainian).

5. Vlizlo V. V., Fedoruk R. S., Ratych I. B., Vishchur O. I., Sharan M. M., Vudmaska I. V. ta in.; Za red. Vlizla V. V. *Laboratorni metody doslidzen u biologiyi, tvarynnytstvi ta veterynarniy medytsyni: Dovidnyk* [Laboratory methods of research in biology, stockbreeding and veterinary medicine : Handbook]. Lviv, SPOLOM, 2012. 764 p. (in Ukrainian).

6. Vlizlo V. V. Hepatotserebralnyy syndrom u velykoyi rohatoyi khudoby [Hepatocerebral syndrome in cattle]. *Visnyk ahrarnoyi nauky — Bulletin of Agricultural Science*, 1999, no. 8, pp. 29–33 (in Ukrainian).

7. Charita K., Timao L., Neelamandal K. Singal Effects of methionine on endogenous antioxidants in the heart. *J. Heart and circulatory physiology*, 1999, 277 (6), pp. 124–128.

8. Erdmann K., Grosser N., Schrzder H. L-Methionine Reduces Oxidant Stress in Endothelial Cells: Role of Heme Oxygenase-1, Ferritin, and Nitric Oxide. *The AAPS Journal*, 2005, 7, (1), pp. 18–19.

9. Jung Chae L., Zheng Y., Geumsoo K. and al. Methionine sulfoxidereductase A is astereospecific methionine oxidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2011, 108, (26) pp. 409–412.

10. Lehninger A. *Principles of Biochemistry*. in 3 parts. Translation from English, Moscow, Mir 1985. 367 p.