

ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕПАРАТУ «ИНВОЛЮТИН» ПРИ ЗНИЖЕННІ РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ У КОРІВ

I. I. Гевкан, Ю. I. Сливчук, С. В. Федорова, О. Я. Юрків

Інститут біології тварин НААН

Досліджено комплексний вплив амінокислотно-вітамінного препарату пролонгованої дії «Інволютин» на стимуляцію обмінних процесів і запліднення корів з субінволюцією матки. Доведено, що тривале застосування ліпосомального препарату «Інволютин» призводить до підвищення рівня метаболічних процесів в організмі на тлі яких покращуються обмінні, антиоксидантні та імунні процеси в органах статеві системи, що забезпечує прискорення інволютивних процесів в ендометрії тварин, відновлення статевої циклічності, стимулює ембріонально-матковий сигнал і підвищує рівень запліднення корів. Застосування препарату в комплексі з гонадотропін-релізінг гормоном забезпечує ефективну дію гормональних і вітамінних компонентів та дозволяє знизити вартість затрат на лікування субінволюції матки у корів.

Ключові слова: КОРОВИ, ПРЕПАРАТИ, СУБИНВОЛЮЦІЯ МАТКИ, БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ, СИРОВАТКА КРОВІ

Серед акушерських захворювань, що реєструються у тварин в післяпологовий період, найбільш поширеною є субінволюція матки, яка виникає при зниженні скорочувальної функції матки і супроводжується розвитком післяпологових запальних ускладнень у результаті зниження обмінних процесів, антиоксидантного та імунного статусу у тварин і реєструється найчастіше в зимово-весняний період [1–3].

Вільнорадикальне окиснення і система оксиду азоту є універсальними факторами регуляції стресових і адаптивних відповідей організму [4], обмежуючи її надмірну активацію, і руйнівні ефекти, як на центральному, так і на периферичному рівні за рахунок існування лімітуючої NO-ергічної стрес системи [5]. При цьому захисний ефект NO при стресі виявляється в його здатності збільшувати активність антиоксидантних ферментів і експресії їх кодуючих генів [6, 7]. Лікування корів з субінволюцією матки скеровано на відновлення статевого циклу, інтенсивності дозрівання фолікулів і числа овуляцій, тонусу і скоротливої функції міометрію, стимуляцію процесів регенерації епітеліальних тканин в матці, підвищення загальної резистентності організму та недопущення ендометритів. Застосовують комплексне лікування, в основі якого використання щоденного активного моціону, повноцінної годівлі і догляду [8]. Однак, у розроблених і застосовуваних способах лікування субінволюції матки недостатньо використовуються нові форми лікарських препаратів і, зокрема такі як ліпосомальні емульсії, що забезпечує пролонгований вплив біологічно-активних речовин на репродуктивні органи.

Отже, регулювання міжклітинних і системних взаємодій, пов'язаних зі зміною продукції NO та змінами антиоксидантного статусу організму, при використанні комплексних ліпосомальних препаратів може бути ефективним способом активації обмінних, антиоксидантних і імунних процесів для лікування субінволюції матки.

Розроблено комплексний препарат пролонгованої дії «Інволютин» у формі ліпосомальної емульсії, який забезпечує підвищення інтенсивності обмінних процесів в репродуктивних органах корів з субінволюцією матки. До складу ліпосомального препарату «Інволютин» входили: — синестрол, прозерін, L-аргінін, вітаміни А, Е, К, β-каротин, алое для ін'єкцій та сукцинат натрію.

Матеріали і методи

Для досліджень, після ректальної діагностики, було підібрано 10 корів голштинської породи, живою масою 400–450 кг, віком 5–7 років, 3–6 лактації з порушеними функціями органів репродуктивної системи, які за анамнестичними даними не приходили в охоту більше 2 місяців та були розділені на 2 групи по 5 голів у кожній. Тваринам контрольної групи вводили фізрозчин, дослідної — препарат «Інволютин». Препарати вводили у хвостову складку один раз на добу через кожних три доби у кількості трьох ін'єкцій по 20 мл — на 1, 4 та 7-й день. На 10-й день з початку досліді коровам, які не прийшли в охоту в усіх групах було застосовано внутрішньом'язові ін'єкції гонадотропін-релізінг гормону препарат «Сурфагон». Осіменіння корів проводили двохразово з інтервалом 12 годин.

До введення препарату 5-у та 11 добу після введення препарату з яремної вени корів відбирали зразки крові в яких визначали: вміст загального білка за методом описаним Лоурі з співавторами 1951, відсоткове співвідношення білкових фракцій методом електрофорезу на ацетатцелюлозних пластинках, активність ферментів крові — АСТ, АЛТ, АЛФ, ЛДГ, вміст загального холестерину, кальцію та фосфору, сечовини та сечової кислоти за допомогою тест-систем на біохімічному аналізаторі, активність каталази за

методом Корольок М. А., 1988, глутатіонпероксидази за методом Моін В. М., 1986 і відновленого глутатіону за методом Pinto R. E., Bartley V., 1969, ТБК-активних продуктів: малонового діальдегіду за методом Коробейнікова Н., 1989 і гідроперекисів ліпідів за методом Мірончик В. В., 1984; ЦВК (циркулюючих імунних комплексів) за методом Чернушенко Е. Ф., Когосов В. С., 1981; КАСКО (комплементарної активності сироватки крові) за методом Желтова В. А., Черкопіго В. І., 1978; фагоцитарної активності нейтрофілів (НСТ-тест) за методом Маслянко Р. П., 1987.

Результати й обговорення

При аналізі біохімічних показників сироватки крові корів дослідної групи в динаміці виявлено підвищення вмісту загального білка на 3–7 % (табл. 1). Вірогідне збільшення кількості загального білка після третьої ін'єкції препарату «Інволютин» виявлено в дослідній групі у порівнянні з контрольною так і з відповідним показником до застосування препарату.

Таблиця 1

Динаміка білкового обміну за умов введення препарату «Інволютин» ($M \pm m$), $n=5$

Групи тварин	Фракції електрофоретичного розділення білків		Процентне співвідношення окремих фракцій білка сироватки крові		
			До введення препарату	5-й день після введення препарату	11-й день після введення препарату
Контрольна	Загальний білок, г/л		72.4±4.10	72.67±1.40	75.55±1.45
	Альбуміни, %		44.91±3.30	47.39±1.56	44.35±2.86
	Глобуліни %	α_1	3.01±0.2	2.9±0.2	2.99±0.18
		α_2	11.02±0.48	11.01±0.	11.08±0.29
		β	11.51±0.52	11.23±0.28	11.33±0.13
		γ	29.54±3.56	27.47±1.60	30.24±3.16
Дослідна	Загальний білок, г/л		70.4±1.20	73.99±1.60	78.86±1.41 ^{xx,x}
	Альбуміни, %		46.19±0.20	48.36±1.59	49.99±0.40 ^{xxx}
	Глобуліни %	α_1	3.06±0.28	3.15±0.4	3.05±0.4
		α_2	11.38±0.44	11.42±0.33	11.55±0.27
		β	11.33±0.54	11.69±0.24	11.57±0.29
		γ	28.01±0.97	25.48±2.10	23.85±0.88 ^{xx}

Також, виявлено перерозподіл відносного вмісту окремих фракцій білка сироватки крові: зокрема, у дослідній групі спостерігається вірогідне підвищення вмісту фракції альбумінів з одночасним зниженням вмісту гама-глобулінів тоді, як у контрольній групі тварин вміст альбумінів та гамаглобулінів знаходився на одному рівні впродовж досліді. Зниження рівня γ -глобулінів у сироватці крові під час нідації ембріонів можна вважати позитивним впливом препарату «Інволютин» на зниження активності імунної системи материнського організму та унеможливлення відторгнення ембріонів ендометрієм матки.

На 7-й день після початку застосування препарату «Інволютин» у сироватці крові корів дослідної групи виявлено підвищення активності АлАТ і АсАТ, лужної фосфатази та лактатдегідрогенази (табл. 2).

Вірогідні різниці у динаміці змін показників виявлені у тварин дослідної групи після другої та третьої ін'єкції при визначенні аланінамінотрансферази та лужної фосфатази у порівнянні з контрольною групою та з відповідним показником до введення препарату. Активність АсАТ та лактатдегідрогенази впродовж досліджень була на одному рівні.

Таблиця 2

Динаміка активності окремих ферментів сироватки крові за умов введення препарату «Інволютин» ($M \pm m$), $n=5$

Групи тварин	Біохімічні показники		Зразки крові		
			До введення препарату	5-й день після введення препарату	11-й день після введення препарату
Контрольна	ALT	Од/Л	30.23±3.2	33.85±3.60	34.35±3.77
	AST	Од/Л	81.67±4.69	76.02±3.60	81.17±4.34
	ALP	Од/Л	41.65±6.70	44.3±5.35	2.33±0.06
	LDH	Од/Л	1047.7±37.30	1072.15±36.12	1069.02±28.77
Дослідна	ALT	Од/Л	29.62±2.12	33.97±3.70	39.65±2.62

	AST	Од/Л	87.32±3.84	88.62±10.82	92.92±12.37
	ALP	Од/Л	42.0±4.60	52.07±6.86	56.18±5.24 ^x
	LDH	Од/Л	1006.15±85.85	1098.37±30.32	1116.67±79.04

Проведений аналіз інших біохімічних показників у сироватці крові корів дослідної групи у порівнянні з контрольною і в динаміці змін виявив вірогідні різниці при визначенні сечовини. Кількість сечовини в дослідній групі підвищувалась в порівнянні з контрольною групою, що очевидно пов'язано з посиленням білкового обміну. Вірогідні відмінності виявлені у дослідній групі після 2 та 3-ої ін'єкції препарату при дослідженні загального вмісту холестерину, що пов'язано з посиленням синтезом стероїдних гормонів (табл. 3).

Таблиця 3

Динаміка активності окремих показників біохімічних досліджень сироватки крові за умов введення препарату «Інволютин» ($M \pm m$), $n=5$

Групи тварин	Біохімічні показники		Зразки крові		
			До введення препарату	5-й день після введення препарату	11-й день після введення препарату
Контрольна	Chol	ммоль/Л	4.03±0.39	4.5±0.47	4.61±0.76
	Urea	ммоль/Л	2.87±0.39	2.87±0.14	2.81±0.25
	Ca	ммоль/Л	2.44±0.15	2.45±0.10	2.33±0.06
	P	ммоль/Л	1.83±0.20	1.87±0.14	1.85±0.05
	Mg	ммоль/Л	1.00±0.07	1.06±0.04	1.04±0.04
Дослідна	Chol	ммоль/Л	4.45±0.63	4.87±0.42 ^x	5.58±0.14
	Urea	ммоль/Л	2.26±0.69	3.34±0.19	4.54±0.35 ^{***,x}
	Ca	ммоль/Л	2.37±0.08	2.34±0.005	2.33±0.04
	P	ммоль/Л	1.68±0.15	1.68±0.13	1.83±0.11
	Mg	ммоль/Л	0.95±0.05	1.00±0.03	1.0±0.06

При дослідженні активності ферментів антиоксидантного статусу та продуктів перекисного окиснення ліпідів встановлено, що активність глутатіонпероксидази була найвищою у дослідній групі при введенні коровам препарату «Інволютин». Активність каталази була на рівні контролю (табл. 4).

За кількістю відновленого глутатіону встановлено тенденцію до підвищення у всіх групах впродовж експерименту. Виявлено, що вміст гідропероксидів ліпідів у дослідній групі зменшується починаючи з другого взяття крові, що вказує на позитивний вплив препарату «Інволютин» щодо антиоксидантного захисту організму (табл. 5). У крові тварин дослідної групи встановлено вірогідне зниження вмісту ТБК-активних продуктів.

Таблиця 4

Активність ферментів антиоксидантного захисту та вмісту відновленого глутатіону у крові корів при введенні препарату «Інволютин» ($M \pm n$), $n=5$

Групи тварин	До введення	Після 2-ї ін'єкції	Після третьої ін'єкції
<i>Глутатіонпероксидази (мкМоль GSH / мл / хв)</i>			
Контроль	25,98±2,1	31,84±2,79	24,38±2,02
Інволютин	33,31±5,15	39,99±6,05	23,63±1,85
<i>Каталаза (мМоль H₂O₂/мл/с x 10⁻⁶)</i>			
Контроль	2,09±0,05	2,03±0,12	2,1±0,06
Інволютин	2,9±0,04	2,0±0,04	2,08±0,09
<i>Відновлений глутатіон (ммоль / мл)</i>			
Контроль	0,087±0,03	0,142±0,013	0,217±0,015
Інволютин	0,093±0,036	0,144±0,02	0,182±0,024

Таблиця 5

Вміст ТБК-активних продуктів і гідропероксидів ліпідів у крові корів в умовах введення препаратів «Інволютин» ($M \pm n$), $n=5$

Групи тварин	До введення	Після 2-ї ін'єкції	Після третьої ін'єкції
<i>ТБК-активний продукт (мкМоль / мл)</i>			
Контроль	11,12±0,4	10,77±0,42	10,52±0,48
Інволютин	9,96±0,64	9,15±0,4*	7,94±0,25**
<i>Гідропероксиди ліпідів (од E / г)</i>			
Контроль	5,18±0,33	5,82±0,68	4,36±0,51

Інволютин	5,21±0,24	5,78±0,24	3,45±0,3
-----------	-----------	-----------	----------

Враховуючи, що гідропероксиди ліпідів є проміжним продуктом перекисного окислення ліпідів, а вміст ТБК-активних продуктів вірогідно знижується в крові корів дослідної групи, отримані дані вказують на те, що препарат «Інволютин» позитивно впливає на гальмування процесів ПОЛ і активацію ферментів антиоксидантного захисту у тварин з субінволюцією матки, що підтверджується високою активністю глутатіонпероксидази у тварин цієї групи.

Фагоцитарна активність нейтрофілів у корів дослідної групи була вірогідно вищою на 12,66 і 17,65 % ($p < 0,01$) відповідного показника контрольної групи після третьої ін'єкції препаратів. Безпосередню участь в резистентності та специфічних реакціях імунітету приймає система комплементу (табл. 6).

Таблиця 6

Фагоцитарна активність нейтрофілів (НСТ-тест) при введенні препарату «Інволютин», % ($M \pm m$, $n = 5$)

Групи тварин	Контрольна	Дослідна
Перед введенням ін'єкції	10,75±0,48	12,00±0,41
Після другої ін'єкції	11,25±0,63	12,25±0,25
Після третьої ін'єкції	11,05±0,29	13,00±0,41**

Досліджуючи комплементарну активність у корів дослідних груп, встановили тенденцію до її збільшення на всіх етапах досліджень щодо контролю (табл. 7).

Таблиця 7

Комплементарна активність сироватки крові при введенні препарату «Інволютин», у.о. ($M \pm m$, $n = 5$)

Групи тварин	Контрольна	Дослідна
Перед введенням	0,037±0,0047	0,040±0,0071
Після другої ін'єкції	0,042±0,0085	0,043±0,0029
Після третьої ін'єкції	0,040±0,0048	0,047±0,0075

Кінцевим результатом імунної відповіді в організмі тварин є утворення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Введення тваринам комплексного препарату «Інволютин» обумовлює підвищення вмісту в крові циркулюючих імунних комплексів (табл. 8). Вірогідно вищий вміст ЦІК був виявлений у крові корів експериментальної групи після другої ін'єкції препарату «Інволютин» на 3,55% ($p < 0,025$) відносно контролю. Крім того, спостерігається достовірне підвищення в їх крові кількості циркулюючих імунних комплексів на 4,48 % ($p < 0,01$), а після третьої ін'єкції — на 6,87 % ($p < 0,01$) в порівнянні з їх кількістю до введення препарату. Така динаміка ЦІК у крові тварин дослідної групи вказує на формування високого рівня імунобіологічної реактивності.

Таблиця 8

Циркулюючі імунні комплекси при введенні препарату «Інволютин», ммоль / мл ($M \pm m$, $n = 5$)

Групи тварин	Контрольна	Дослідна
Перед введенням	82,50±0,64	83,75±0,63
Після другої ін'єкції	84,50±0,64	87,50±0,65**
Після третьої ін'єкції	86,75±0,63	89,50±1,04

При аналізі лейкограми крові (табл. 9) встановлено, що в крові тварин усіх груп кількість лімфоцитів переважає над кількістю інших клітинних елементів. Введення препарату «Інволютин» зумовило достовірне збільшення кількості лімфоцитів і зменшення кількості сегментоядерних нейтрофілів в крові експериментальних тварин.

Таблиця 9

Лейкоцитарна формула крові корів при введенні препарату «Інволютин», % ($M \pm m$; $n = 5$)

Групи тварин	Л	Б	Е	М	Нейтрофіли		
					ю	п/я	с/я
Перед введенням ін'єкції							
Контрольна	65,25±2,95	1,00	2,00±0,41	0,75	—	1,75	29,75±2,78
Дослідна	68,00±1,58	—	2,25±0,63	0,25	—	0,50	28,75±1,89
Після введення другої ін'єкції							
Контрольна	61,25±4,38	0,25	2,50±0,50	—	0,75	0,75	31,75±3,50
Дослідна	70,00±2,65	0,50	2,25±0,48	—	0,50	1,00	28,25±2,25

Після введення третьої ін'єкції							
Контрольна	63,75±0,87	—	3,75±0,95	—	—	0,25	32,25±2,17
Дослідна	70,50±1,25**	1,00	3,75±0,85	0,25	—	1,25	24,75±1,01**

Поряд з підвищенням кількості лімфоцитів знижується кількість сегментоядерних нейтрофілів у дослідній групі корів після третьої ін'єкції «Інволютину» на 23,26 % відносно контролю. Ймовірне підвищення кількості лімфоцитів і зменшення кількості нейтрофілів у крові корів експериментальної групи вказує на стимулюючу дію «Інволютину» на гуморальну систему імунітету в їх організмі.

Висновки

1. Препарат «Інволютин» зумовлює посилення біохімічних процесів в організмі корів з гіпофункцією яєчників, які проявляються підвищенням активності ферментів та кількості загального білка, альбумінів, холестеролу, сечовини, фосфору, що супроводжується відновленням статевої циклічності корів та підвищенням їх репродуктивної здатності.
2. Препарат «Інволютин» викликає гальмування процесів ПОЛ і підвищує активність ферментів антиоксидантного захисту корів з субінволюцією матки і гіпофункції яєчників та призводить до посилення фагоцитарної активності нейтрофілів, збільшення вмісту циркулюючих імунних комплексів і комплементарної активності сироватки крові та позитивно впливає на лімфоцитарний профіль, викликаючи збільшення кількості лімфоцитів і зменшення кількості сегментоядерних нейтрофілів.

Перспективи подальших досліджень. Продовження робіт з удосконалення комплексних препаратів пролонгованої дії у формі ліпосомальних емульсій.

I. I. Hevkan, Y. I. Slyvchuk, S. V. Fedorova, A. Ya. Yurkiv

APPLICATION OF PREPARATION «INVOLYUTYN» TO COWS WITH DECREASED REPRODUCTIVE FUNCTION

Summary

Complex effect of amino acids-vitamins drug with prolonged actions «Involutyn» on the stimulation and insemination of metabolic processes in cows with destroyed reproductive function were investigated. It has been hjointed that long term application of liposomal drug «Involutyn» improved the metabolic processes and stimulated antioxidant and immune function in the organism that provided to acceleration of uterus subinvolution, restored sexual ceclts, stimulated embryo-uterine signal and increased cows insemination level. Application the drug in combination with gonadotropin-releasing hormone provided effective usage of hormonal and vitamins components and lowered the cost of cows uterus subinvolution treatment.

И. И. Гевкан, Ю. И. Слывчук, С. В. Федорова, О. Я. Юркив

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ИНВОЛЮТИН» ПРИ СНИЖЕНИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У КОРОВ

Аннотация

Исследовано комплексное влияние аминокислотно-витаминного препарата пролонгированного действия «Инволютин» на стимуляцию обменных процессов и осеменение коров с нарушением репродуктивной функции. Доказано, что длительное применение липосомального препарата «Инволютин» приводит к повышению уровня метаболических процессов в организме на фоне которых улучшаются обменные, антиоксидантные и иммунные процессы в организме животных, обеспечивающие ускорение инволюции матки, восстановление половой цикличности, стимуляцию эмбрионально-маточного сигнала и повышение количества оплодотворенных коров. Применение препарата в комплексе с гонадотропин-рилизинг гормоном обеспечивает эффективное применение гормональных и витаминных компонентов и позволяет снизить стоимость затрат на лечение субинволюции матки у коров.

1. Іваняк Я. І. Окремі аспекти патогенезу післяродового ендометриту та лікування хворих корів / Я. І. Іваняк, В. Ю. Стефанік, В. І. Міщенко та ін. // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького — Львів, 2001. — Т. 3 (№ 2) — С. 46–49.
2. Мельник П. Г. Симптоматичне безпліддя корів і телиць та ефективність мікроелементів при її лікуванні / П. Г. Мельник // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького. — Львів, 2000. — Т. 2 № 3–4 — С. 130–135.
3. Мельник П. Г. Рекомендації з питань профілактики безпліддя лікування запальних процесів та стимуляції функції статевих органів корів і телиць в господарствах Чернівецької області / П. Г. Мельник, Г. В. Гараздюк, В. І. Завірюха та ін. — Чернівці, 2001. — 21 с.

4. *Шахов А. Г.* Значение оксида азота и половых стероидов в развитии субинволюции матки коров : доклады Российской академии сельскохозяйственных наук / А. Г. Шахов В. И. Михалев, М. И. Рецкий и др. — 2006. — № 6. — С.49–51.
5. *Манухина Е. Б.* Стресс-лимитирующая система оксида азота / Е. Б. Манухин, И. Ю. Малышев // Росс. физиол. журнал. — 2000. — Т. 86, № 10. — С. 1283–1292.
6. *Ulker S.* Vitamins reverse endothelial dysfunction via regulation of eNOS and NAD (P) H oxidase activities. / S. Ulker, P. P. McKeown, U. Bayraktutan / Hypertension. — 2003. — 41. — P. 534–539.
7. *Bartle L.* Influence of Injected Selnium in Dairy Bulls on Blood Semen Selenium, Glutatione Peroxidase and Seminal Quality: [Электронный ресурс] / L. Bartle, P. L. Senger, J. K. Hillers // Biology of Reproduction. — 1980. — Vol. 23. — P. 1007–1013. — [Режим доступа до журн. & Pubdate_year = & volume = & firstpage =].
8. *Гончаров В. П.* Профилактика и лечение гинекологических заболеваний коров / В. П. Гончаров, В. А. Карпов // М. : Россельхозиздат, 1981. — С. 99–104.

Рецензент: завідувач лабораторії фізіології та патології відтворення тварин, доктор ветеринарних наук, с. н. с. Шаран М. М.