

Громова Л.Н. [и др.]. - Витебск: ВГАВМ, 2001. - С. 58. 5. Громова, Л.Н., Холод В.М. Активность лактатдегидрогеназы в печени утят, вакцинированных против ЭВГУ: Ученые записки / Громова Л.Н., В.М. Холод. - Витебск, 2003. - Т.39, ч.2 - С. 20-23. 6. Задачи ветеринарной службы в повышении продуктивности и сохранности птиц / Ученые записки ВГАВМ; В.С.Прудников [и др.]. - Витебск, 1999. - Т. 35. - Ч. 1. - С. 119-120. 7. Князев, В.П. Инфекционные болезни уток: Монография / В.П. Князев. - Покров: 1998. - С. 14-19. 8. Придыбайло, Н.Д. Иммунодефициты у сельскохозяйственных животных и птиц, профилактика и лечение их иммуномодуляторами / Н.Д. Придыбайло. - М.: 1991. - 44 с.

ПОСТУПИЛА 21 мая 2007 г

УДК 619:616.391:636.2

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА НЕДОСТАТОЧНОСТИ СЕЛЕНА, КОБАЛЬТА И ЖЕЛЕЗА У МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Стадник А.М., Лычук Н.Г.

Львовская национальная академия ветеринарной медицины имени С.З.Гжицкого, Украина

Львовская национальная академия ветеринарной медицины имени С.З.Гжицкого, Украина

Представлены результаты исследований селена, кобальта и железа у молодняка крупного рогатого скота. Описаны основные симптомы микроэлементозов, раскрыты новые звенья патогенеза и метаболизма гликоконъюгатов крови и эритроцитарных мембран. Предложены и усовершенствованы более доступные альтернативные методы доклинической диагностики: дефицита селена, путем определения глутатионпероксидазы, малонового диальдегида; кобальта – витамина B_{12} , метилмалоната и железа – трансферрина, сывороточного железа, ОЖСС крови по сравнению с атомно-адсорбционным анализом. Разработаны и внедрены эффективные способы профилактики этих МЭозов с использованием сульфатов дефицитных МЭ или их хелатных соединений с метионином и цистеином.

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 glycoconjugate 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 B_{12} 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.

Введение. Больших убытков животноводству наносят микроэлементозы (МЭозы) молодняка крупного рогатого скота, вызванные недостатком селена, кобальта и железа [4, 8, 9, 11].

Характерные клинические симптомы для этих МЭозов выступают только при значительном недостатке МЭ [7, 13]. Субклиническое течение их в биогеохимических зонах западного региона Украины проявляется неспецифичными и даже типичными, но часто не патогномоническими признаками, что усложняет раннюю их диагностику [5, 10, 13].

Исходя из этого, целью работы было изучение характера метаболических нарушений у молодняка крупного рогатого скота при нехватке селена, кобальта и железа, разработать критерии донозологической диагностики и их профилактики.

Материалы и методы. Опыты по изучению статуса и обмена Se и Co у телят выполнены на кафедре внутренних болезней животных и в хозяйствах "Обрий" и "Колос" Любомльского района Волыни (15 голов) и ННПЦ академии "Давыдовский" (11 голов) - как контрольная группа.

В крови определяли: селен – флуорометрически (Bayfield R.F., Romalis L.F., 1985); активность глутатионпероксидазы (ГПО) эритроцитов (Моин В.М., 1986); витамин B_{12} (Канопкайте С.И., 1978); железо и кобальт – за В. Прайс (1976). В сыворотке – содержание малонового диальдегида (МДА; Андреева Л.И. и др., 1988); железо, общую и латентную железосвязывающую способность сыворотки, насыщенность трансферрина железом и трансферрин (Ченуша В.П., Воронка Г.Ш., 1978).

Определение сиалогликопротеинов, гликозаминогликанов и ганглиозидов сыворотки крови и мембран эритроцитов проводили по описанным методам [12]. Метилмалоновую кислоту (ММК) мочи – (Снегирева Л.В., Арешкина Л.Я., 1972; Оасе S.M., Chen S.C., 1975).

Обмен железа изучали на 5 группах откормочных бычков в ТзОВ "Гальчина" Жовковського района (четыре опытных и контрольная – по 10 голов).

Животные контрольной группы получали основной рацион; I опытной – сульфаты Fe, Mn и Cu по 0,05, Co – 0,03 мг/кг массы тела; II – аминокислоту цистеин в дозе 0,2 мг/кг м.т.; III – сульфаты Fe, Mn и Cu – 0,05, Co – 0,03 и цистеин – 0,2 мг/кг; IV – смесь с хелатных соединений ME: цистеинаты Cu, Mn и Fe - 0,02, Co – 0,01 мг/кг г. т.

Результаты. При биохимическом анализе крови (табл. 1) у клинически здоровых животных содержание селена находилось в пределах 65,1-87,2 нг/мл (в среднем 73,4±3,8). У телят при беломышечной болезни концентрация его была достоверно ($p<0,001$) в 2,2 раза ниже – от 25,0 до 36,2 нг/мл.

При недостатке селена у телят выявлено низкую активность ГПО эритроцитов (172,4 - 238,1 мкмоль/мин GSH на 1г Hb). Активность ГПО можно использовать как показатель селенового статуса организма [8,11]. У здоровых животных активность ГПО составляла 359,9±13,2 мкмоль/мин GSH на 1г Hb.

Снижение активности ГПО вызывает усиление процессов ПОЛ [1,8,16] и повышение конечного продукта ПОЛ - МДА в сыворотке больных телят до 4,86±0,13 мкмоль/л. Концентрация МДА у здоровых телят была достоверно

($p < 0,001$) низшей (на 65,3%) и находилась от 2,44 до 3,31 мкмоль/л.

Содержимое кобальта (табл. 2) в крови здоровых телят составлял $0,614 \pm 0,035$ мкмоль/л, в то время как у больных животных - $0,225 \pm 0,014$ мкмоль/л, т.е. в 2,7 раза меньше ($p < 0,001$), что связано с недостатком кобальта в рационе [6, 7].

Таблица 1 - Статус селена и антиоксидантной защиты у клинически здоровых и больных телят

Биометрический показатель	Селен, нг/мл	ГПО, мкмоль/мин GSH на 1г Hb	МДА, мкмоль/л
Клинически здоровые (n=11)			
Lim	65, 1-87,2	325,1 – 407,8	2, 44-3,31
M±m	73,4±3,8	359,9±13,2	2,94±0,17
Больные (n=15)			
Lim	25, 0-36,2	172,4 – 238,1	4, 51-5,51
M±m	33,4±1,4	229,4±14,4	4,86±0,13
p<	0,001	0,001	0,001

Примечание. p< – сравнительно больных и клинически здоровых телят

Таблица 2 - Обмен кобальта и витамина B₁₂ у клинически здоровых и больных телят

Биометрический показатель	Кобальт, мкмоль/л	Витамин B ₁₂ нг/100мл	ММК мочи, мкмоль/л
Клинически здоровые (n=11)			
Lim	0,478 – 0,654	9, 8-18,6	1, 80-3,92
M±m	0,614±0,035	13,4±1,1	2,90±0,73
Больные (n=15)			
Lim	0,194 – 0,357	4, 2-2,4	6, 21-21,07
M±m	0,225±0,014	7,2±0,3	8,23±1,03
p<	0,001	0,001	0,001

Примечание. p< - сравнительно больных и клинически здоровых телят

Поскольку кобальт необходим для синтеза микробного белка и цианкобаламина под влиянием микроорганизмов рубца, то недостаточное поступление его с кормом предопределяет нарушение микробного синтеза цианкобаламина в преджелудках и дефицит его в организме [8,13], что послужило причиной низкой концентрации витамина B₁₂ в крови больных телят (на 46,3 % меньше, чем в здоровых, соответственно, $7,2 \pm 0,3$ и $13,4 \pm 1,1$ нг/100мл).

Характерными симптомами гипокобальтоза у телят были анорексия, истощение, лизуха, анемия и гибель. Обоснованный диагноз подтверждают гематологическими, биохимическими исследованиями и анализом МЭ рациона [8,9,13,15]. Патогномонические симптомы гипокобальтоза проявляются только при значительном дефиците МЭ [8,13].

Изучение механизмов преобразования Co, витамина B₁₂, метилмалонил- и сукцинил-КоА у телят при дефиците кобальта, разрешило теоретически обосновать и предложить высокоинформативный метод определения в моче концентрации промежуточного и токсичного метаболита – ММК [6, 8], как раннего показателя (теста) субклинического течения гипокобальтоза [11, 12, 15].

При определении концентрации ММК в моче установленная четкая линейная зависимость оптической плотности от содержания ММК в стандартах (свидетелях, фирмы Aldrich) 0-10 мкг/мл. Так, экстинция ее стандарта (10 мкг/мл) составляла $0,350 \pm 0,006$. Выявлено, что содержание ММК в моче больных гипокобальтозом телят возрастает и составляет $8,23 \pm 1,03$ мкмоль/л, в сравнении с $2,9 \pm 0,73$ мкмоль/л в здоровых.

Максимальный терапевтический эффект и нормализацию метаболических нарушений в организме телят при недостаточности селена и кобальта обеспечивало корректирование рационов смесью: метионатов селена – 2,4 и кобальта – 8,5 мг на голову в день на протяжении 30-ти суток и введении препарата "Урсовит" в дозе 3 мл внутримышечно двукратно с интервалом 14 дней.

В молодняка на откорме к началу эксперимент выявлено низкое содержание в крови Fe, Mn, Cu, Co, гемоглобина и эритроцитов всех 5-ты подопытных групп, прежде всего Fe (5, 25-5,29 ммоль/л), что свидетельствует о субклиническом течении гипопластической анемии. В молодняка контрольной и II групп по окончании опыта концентрация железа в крови находилась на уровне $5,40 \pm 0,17$ ммоль/л. В бычков I и III групп содержимое железа в крови соответственно составлял $6,05 \pm 0,18$ и $6,45 \pm 0,23$ ммоль/л, что на 12,0 % ($p < 0,01$) и 19,4 % ($p < 0,001$) достоверно выше, сравнительно с контролем.

При этом наивысшей была концентрация железа в крови животных IV опытной группы, которые получили МЭ подкормку в виде цистеинатов дефицитных элементов и составляла $6,79 \pm 0,28$ ммоль/л, что на 25,7 % ($p < 0,001$) выше, сравнительно с контролем и на 28,4 % ($p < 0,001$) – с началом опыта, а также высшей сравнительно с I (на 12,2 %; $p < 0,05$) и II (на 23,5 %; $p < 0,001$) опытными группами.

Содержимое железа в сыворотке крови бычков по окончании эксперимента контрольной и II групп оставалось на одном уровне ($16,90 \pm 0,71$ мкмоль/л), а у животных I, III и IV групп было соответственно выше относительно контроля на 22,6 ($p_1 < 0,01$), 24,6 ($p_1 < 0,01$) и 36,3% ($p_1 < 0,001$).

Анализ показателей ОЖСС, ЛЖСС, насыщенность трансферрина железом и трансферрин разрешил охарактеризовать нарушение обмена железа [2,10,14].

Так, после окончания опыта в I, III и IV группах отмечено значительное снижение ОЖСС соответственно $51,91 \pm 1,45$; $50,34 \pm 1,38$ и $48,28 \pm 1,31$ мкмоль/л, что было ниже, сравнительно с контролем на 9,8 ($p_1 < 0,05$), 12,5 ($p_1 < 0,01$) и 16,1 % ($p_1 < 0,001$). У животных II группы ЗЗС составляла $57,22 \pm 1,37$ мкмоль/л, что было практически на уровне контроля.

Повышение содержимого железа в сыворотке крови опытных животных и уменьшение ОЖСС оказывали действие значительному снижению ЛЖСС. В то время, как в молодняка II группы ЛЖСС находилась на уровне контроля и составляла $40,32 \pm 1,24$ мкмоль/л, у животных I группы ЛЖСС была на 23,6 % ($p_1 < 0,001$) ниже, сравнительно с контролем, составляла $30,81 \pm 1,05$ мкмоль/л и III группы соответственно ($28,90 \pm 0,98$ мкмоль/л) – на 28,3 % ($p_1 < 0,001$), и в бычков IV группы ($24,83 \pm 0,91$ мкмоль/л) – 38,4 % ($p_1 < 0,001$) и на 44,6 % ($p < 0,001$) – сравнительно с началом опыта.

Насыщение трансферрина железом в сыворотке крови опытных животных по окончании опыта у бычков I группы было на 10,74 % ($p_1 < 0,001$) выше, чем в контроле ($40,65 \pm 2,15$ %), а во II группе оно оставалась на уровне контроля ($29,53 \pm 1,53$ %), в III – составляло $42,59 \pm 2,45$ %, что на 12,68 % ($p_1 < 0,001$) больше, сравнительно с контролем. Заметно выше она была у животных IV группы ($48,57 \pm 2,74$ %).

Трансферрин – гликопротеин из фракции бета-глобулинов, основной функцией которого являются связывания железа и его транспорт к местам депонирования или утилизации для обеспечения потребностей организма [3,8].

Содержание трансферрина по окончании опыта у животных I группы составляло $2,31 \pm 0,10$ г/л, что на 10,1 % ниже контроля, у животных II группы оно – на уровне контроля ($2,56 \pm 0,12$ г/л), а III группы его содержание составляло $2,25 \pm 0,12$ г/л. Существенное снижение содержимого трансферрина выявлено в IV группе – до $2,16 \pm 0,08$ г/л.

Выводы. Характерные клинические признаки при недостаточности селена, кобальта и железа проявляются, в основном, при продолжительных и значительных дефицитах МЭ. Субклиническое течение микроэлементозов значительно распространено в хозяйствах биогеохимических зон западного региона.

Установлено, что низкий уровень селена в крови больших телят ($25,0\text{--}36,2$ нг/мл) служит причиной развития беломышечной болезни. Недостаток селена положительно коррелирует ($r=+0,89$) с активностью ГПО. Низкая активность ГПО усиливает процессы ПОЛ, что приводит к возрастанию концентрации МДА в сыворотке крови.

Содержимое кобальта при гипокобальтозе в крови телят снижается до $0,194\text{--}0,357$ мкмоль/л, а цианкобаламина – на 46,3% ($p < 0,001$) меньше, чем у здоровых животных. При их недостатке снижается активность метилмалонил-КоА-мутаза, что способствует накоплению в крови и моче животных ММК. Определение в моче ММК может служить ранним доклиническим диагностическим тестом субклинического течения гипокобальтоза и дефицита витамина B_{12} в организме животных.

Корректирование рационов телят метионатами селена – 2,4 и кобальта – 8,5 мг на 1 гол в день в течение месяца и введение „Урсовита“ профилаксирует МЭозы.

Недостаток Fe, Co, Cu и Mn в молодняка скота на откорме служит причиной субклинического течения гипопластической анемии. Более простым и информативным показателем обмена железа, сравнительно с ААА является определение в сыворотке крови железа, ОЖСС, трансферрина. Корректирование рационов бычков МЭ (Fe, Co, Cu и Mn) повышает содержимое железа в сыворотке крови животных всех опытных групп, снижение трансферрина и ОЖСС. Подкормка цистеинатами МЭ обеспечивает нормирование обмена железа, профилаксирует анемию и повышает производительность бычков лучше, чем их неорганические соли.

Литература. 1. Антоняк Г.Л., Бабич Н.О., Сологуб Л.И. Утворення активних форм ксисно 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.І. 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.І., Стадник А.М., Личук М.Г., Паска М.З. Критерії діагностики, профілактики та лікування телят за нестачі селену і кобальту // *Науковий вісник ЛНАВМ ім. С.З.Гжицького*. - Львів, 2005. - Т.7, № 4 (27) - Ч.2. - С. 31-35. 6. Кравців Р.І., 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 ЛДАВМ 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 ЛДАВМ 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. Стадник А.М., Кравців Р.І., Личук М.Г. Микроелементози худоби: альтернативні методи діагностики, профілактика // *Вісник Білоцерківського ДАУ – Біла Церква –2005- Випуск 33. - С.239-248*. 13. Судаков М.О. Микроэлементозы сельскохозяйственных животных. - 2-е изд.-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. 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.

ПОСТУПИЛА 25 мая 2007 г