ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՄՈՀԱՄՄԱԴՌԵԶԱ ՌԱՀՄԱՆԻ

ԿՈՎԵՐԻ ԼԱԿՏԱՑԻԱՅԻ ՍԿԶԲՆԱԿԱՆ ՇՐՋԱՆՈՒՄ ԼՅԱՐԴԻ ՖՈՒՆԿՑԻԱՅԻ ՈՐՈՇ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Գ.00.04. «Կենսաքիմիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

Ս Ե Ղ Մ Ա Գ Ի Ր

ԵՐԵՎԱՆ - 2013

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РА
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

МОХАММАДРЕЗА РАХМАНИ

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ В НАЧАЛЬНЫЙ ПЕРИОД ЛАКТАЦИИ КОРОВ

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 - «Биохимия»

ЕРЕВАН - 2013

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում

Գիտական ղեկավար՝ կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր Ռ.Գ. Քամալյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կենս. գիտ. դոկտոր Ն.Հ. Բարխուդարյան
կենս. գիտ. դոկտոր Վ.Հ. Սարգսյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտ

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2013թ. սեպտեմբերի 24-ին, ժամը 14^{00}-ին, Երևանի պետական համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈՀ-ի Կենսաֆիզիկայի 051 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան փ.1, ԵՊՀ, կենսաբանության ֆակուլտետ)

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի պետական համալսարանի գրադարանում:
Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2013 թ. հունիսի 24-ին:

051 մասնագիտական խորհրդի
գիտական քարտուղար,
կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր՝ Լ.Հ. Նավասարդյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете

Научный руководитель: доктор биологических наук,
профессор Р.Г. Камалян

Официальные оппоненты: доктор биологических наук Н.А. Бархударян
доктор биологических наук В.А. Саргсян

Ведущая организация: Институт молекулярной биологии НАН РА

Защита диссертации состоится 24-го сентября 2013 г., в 14^{00} часов, на заседании Специализированного совета Биофизики 051 ВАК РА при Ереванском государственном университете (0025, Ереван, ул. Алека Манукяна 1, ЕГУ, биологический факультет).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного университета.
Автореферат диссертации разослан 24-го июня 2013 г.

Ученый секретарь
Специализированного совета 051
доктор биол. наук, профессор Л.А. Навасардян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В основе повышения производства молочных продуктов лежит интенсификация молочного скотоводства. На повышение молочной продуктивности коров большое влияние оказывают уровень кормления и условия содержания. Повышение продуктивности коров требует также знания закономерностей обмена веществ.

Известно, что в начальный период лактации из-за интенсивной секреции молока резко повышаются энергетические затраты, а, следовательно, и потребность в корме, что приводит к отрицательному энергетическому балансу и повышению риска метаболических и инфекционных заболеваний. В ответ на возросшую потребность в энергетических источниках и других питательных веществах лактирующие коровы для секреции молока усиливают мобилизацию жирных кислот из жировых запасов. Основная нагрузка по утилизации жирных кислот падает при этом на печень, что может привести к нарушению ее функций и развитию кетоза и кетоацидоза, что отражается как на здоровье лактирующих коров, так и на их молочной продуктивности. Коррекция функций печени в первые месяцы лактации весьма актуальна и позволяет избежать как неминуемых метаболических осложнений, так и понижения продуктивности (Drackley et al., 2005). В работе на основании учета функций печени и способов поддержания их преследуется именно эта задача.

Цели и задачи исследования. Целью настоящего исследования являлось изучение молочной продуктивности, биохимических показателей крови и молока, отражающих функции печени при кетозах высопродуктивных коров в начальный период лактации и попытка их коррекции кормовыми препаратами капсулированного холина, защищенного от рубцового переваривания, и наиболее мощным эндогенным антиоксидантом - витамином Е.

Для достижения вышепоставленной цели нами были запланированы и осуществлены следующие исследования:

1. Изучение влияния скармливания с рационом холина и витамина Е на ряд биохимических параметров крови, связанных с функцией печени: глюкозу, общий белок, альбумины и глобулины, триглицериды, холестерин, неэстерифицированные жирные кислоты (НЖК), β-гидроксибутират, мочевину, общий билирубин, тиоловые группы и общую антиокислительную активность (ОАО).
2. Изучение влияния скармливания холина и витамина Е на активность профильных ферментов печени: АСТ, АЛТ, АЛП и ГГТ.
3. Изучение влияния скармливания холина и витамина Е на поедаемость и эффективность использования корма, живую массу и кондицию коров, удои и качество молока.
4. Изучение влияния скармливания холина и витамина Е на содержание афлатоксина B_1 в корме и M_1 в молоке.
5. Изучение влияния скармливания холина и витамина Е на содержание белковых фракций и витамина Е в крови коров.

Научная новизна. В работе впервые предпринята попытка путем коррекции метаболизма кормовыми добавками холина и витамина Е смягчить последствия пагубного влияния кетоза на здоровье и продуктивность коров в начальный период лактации. Проведено сравнительное изучение влияния холина и витамина Е на биохимическую картину крови, связанную с функционированием печени, а также на удой и качество молока. Имеется определенное количество работ, посвященных действию холина на функции печени, молочную продуктивность и состав молока, однако очень мало в этом плане изучено влияние кормовых добавок витамина Е, в основном исследовано его влияние на репродуктивную и иммунную функции животных. Кроме того отсутствуют сравнительные исследования кормовых добавок с преимущественно липотропным и антиоксидантным действием.

Научно-практическое значение работы. В работе раскрывается биохимическая картина функции печени в начальный период лактации с характерной мобилизацией жиров и жирных кислот из жировых депо, с недостаточным их окислением в печени, перепроизводством кетоновых тел и развитием кетоза, чреватым растройством клеточных функций и снижением удоев молока.

На основании коррекции пищевыми добавками холина и витамина Е биохимического профиля печени и удоев молока в первые месяцы лактации коров предлагается их применение для предупреждения нарушений функций печени, развития кетоза и связанного с ним понижения удоев молока. Показано более выраженное протекторное действие витамина Е на биохимический профиль печени и молочную продуктивность лактирующих коров, что свидетельствует о дефиците антиоксидантной активности в первые месяцы лактации. Проведено сравнение влияния кормовых добавок антиоксидантного и липотропного характера на поедаемость корма, живую массу животных, удой и качество молока, биохимические показатели функции печени. Полученные данные могут быть использованы в образовательных программах ветеринарных и биохимических лабораторий, молочных ферм, в справочниках биохимических показателей, представляющих содержание метаболитов крови и активность ферментов коров голштинской породы в первые месяцы лактации. Результаты работы могут быть использованы также в практической работе молочных ферм в связи с использованием более доступных и эффективных кормовых добавок-протекторов функций печени и молочной продуктивности в начальный период лактации.

Апробация работы. Основные результаты работы были доложены на заседаниях кафедры биохимии Национального аграрного университета Армении (2010-2013 гг.), на втором (13.03.2013 г., Иран) и третьем (24-25 июня 2013 г., Армения, Ереван) аграрных конференциях.

Публикации. По теме диссертации опубликованы 4 научные статьи.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 108 страницах машинописного текста компьютерного набора, состоит из: введения, литературного обзора, материала и методов исследования, результатов и обсуждения, выводов, практических предложений и списка литературы (213 источников). Работа иллюстрирована 8 таблицами и 10 рисунками.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для опытов были взяты 24 гол. первотелок и коров III и более лактаций голштинской породы. Опыт длился в течение 5-и недель после отела. Коровы содержались в индивидуальных стойлах. Поголовье коров было разделено на 3 группы по принципу аналогов: I - контрольная, не получавшая кормовых добавок с рационом, II - ежедневно получала капсулированный холин (содержит 25 % холина) в расчете 90 г на голову и III - ежедневно получала 4400 МЕ витамина Е. Коровы получали основной полноценный рацион. Кормовые препараты холина и витамина Е смешивали с кормом. Ежедневно учитывали количество потребленного корма. Для расчета количества потребленного сухого вещества корма проводили еженедельные анализы.

Сбор проб. Образцы крови брали из яремной вены коров в последний день эксперимента перед утренним кормлением в вакуумные пробирки для плазмы и с гепарином для сыворотки крови. Пробы сразу же охлаждали льдом, затем центрифугировали при 3000 g в течение 15 мин для получения плазмы и сыворотки, которые хранили при -20°С для проведения в дальнейшем анализов на метаболиты и ферменты крови, связанные с функциями печени. Метаболиты крови определяли фотометрическим методом на автоматическом анализаторе «BT-1500» с использованием наборов, производимых иранской компанией «Farasamed Co, Ltd. Tehran». Отдельные фракции сывороточных белков определяли с помощью капиллярного зонального электрофореза. Во время эксперимента коров доили трижды в день с 8-часовым интервалом и ежедневно регистрировали удой каждой коровы. В пробах молока определяли содержание компонентов с помощью анализатора молока (EkoMilk Total, Bolgaria). Выход компонентов молока рассчитывали по содержанию компонентов в пробах и количеству молока. Учитывая ежедневный удой и содержание жира в молоке, полученное от коров молоко перерассчитывали на 4 %-ное по жиру молоко, используя формулу Гейнса (Gains, 1928):

$$FCM\ (\text{сбалансированное по жиру молоко}) = [(0.4 \times X\ \text{кг молока}) + (0.15 \times X\ \text{кг молока} \times X\ \text{г/кг жира})],$$

где X - количество молока и жира.

Сбалансированное по энергетической ценности молоко (ECM) также рассчитывали по формуле (Defrain et al., 2006):

$$ECM\ (\text{сбалансированное по энергетической ценности молоко, кал.}) = [(0.327 \times X\ \text{кг молока}) + (12.95 \times X\ \text{кг жира}) + (7.2 \times X\ \text{кг белка})].$$

Эффективность использования кормов определяли по количеству молока, полученого при потреблении 1 кг сухого вещества корма, а энергетической ценности молока - по его отношению к количеству потребленного сухого вещества корма.

В пробах молока определяли также содержание мочевины, а в корме и молоке - соответственно афлатоксина B_1 и M_1. Коров взвешивали в первый и последний дни эксперимента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Действие кормовых добавок холина и витамина Е на метаболиты крови

Как видно из данных таблицы 1, скармливание коровам витамина Е или холина способствует достоверному повышению концентрации глюкозы в плазме крови лактирующих коров (P>0.05).

Таблица 1

Действие кормовых добавок холина и витамина Е на метаболиты крови

Показатели	Группы			P
	контроль	холин	витамин Е	
Глюкоза (мг/дл)	48.25±3.39	55.00±1.92	54.86±1.81	0.1310
Альбумин (г/дл)	3.21±0.06 [b]	3.61±0.07 [a]	3.69±0.10 [a]	0.0011
Триглицериды (мг/дл)	9.50±0.46 [a]	9.00±0.38 [ab]	7.57±0.56 [b]	0.0371
Холестерин (мг/дл)	181.37±8.91[a]	157.37±3.55 [b]	154.14±9.06 [b]	0.0489
НЖК (мМ/л)	0.32±0.04	0.24±0.02	0.25±0.02	0.1579
БГБ (мМ/л)	0.48±0.03 [a]	0.45±0.03 [a]	0.37±0.02 [b]	0.0153
Мочевина (мгN/дл)	14.40±0.65	15.11±0.60	15.89±0.54	0.2793
Билирубин (г/дл)	0.25±0.06	0.20±0.05	0.17±0.02	0.5542
Глобулин (г/дл)	3.60±0.14	3.61±0.12	3.70±0.12	0.8499
Общий белок (г/дл)	6.84±0.17	7.21±0.16	7.39±0.13	0.0746
SH-группы (нМ/мг)	1.44±0.07 [b]	1.66±0.06 [a]	1.64±0.04[a]	0.0362
Общая антиокислительная активность (ОАО) (мМ/л)	0.12±0.01	0.13±0.01	0.14±0.01	0.5519

Примечание: НЖК - неэстерифицированные жирные кислоты, БГБ - β-гидроксибутират.

Буквенные надписи над цифрами (a, b) обозначают достоверность различий между рядами (P<0.05).

Такое действие холина некоторые авторы объясняют предотвращением накопления жиров, что способствует нормализации функций печени, в том числе глюконеогенезу (Cadnorniga-Valino *et al.*,1997). Благотворное влияние на функции печени оказывает и витамин Е, который способствует улучшению ее детоксикационной и глюкогенной функций (Patel and Babich, 2010).

Выраженное действие оказывают кормовые добавки и на уровень альбуминов в крови, содержание которых возрастает при обеих добавках (P<0.01), что

может быть как результатом улучшения функций печени, так и высвобождения инсулина в ответ на повышение уровня глюкозы крови и уменьшения мобилизации жирных кислот из жировых депо. Так, было показано повышение содержания альбуминов, глобулинов и общего белка сыворотки крови при скармливании жвачным витамина Е (El-Shahat and Mohem, 2011).

Что касается триглицеридов, то обе добавки снижают их количество в крови коров, однако достоверный эффект отмечается лишь при скармливании витамина Е ($P<0.05$). Другими исследователями показано, что и при даче холина имеет место статистически значимое снижение концентрации триглицеридов в крови коров (Davidson *et al.*, 2008). Как видно из полученных результатов между плазменной концентрацией липидов и витамина Е отмечается отрицательная корреляция.

О благотворном влиянии кормовых добавок на функции печени свидетельствует также статистически значимое уменьшение при их скармливании содержания холестерина в крови ($P<0.05$), по-видимому, связанное с усилением синтеза желчных кислот и их секрецией с желчью. По поводу влияния холина на содержание холестерина имеются как данные по значительному снижению его уровня в крови (Zahra *et al.*, 2006; Guretzky *et al.*, 2006), так и по отсутствию влияния (Pinotti *et al.*, 2003). Повышение уровня холестерина в крови отмечалось при дефиците витамина Е, что, по-видимому, обусловлено ингибирующим действием витамина Е на биосинтез холестерина (Elson, 1992; El-Seady and El-Deeb, 2012).

Значительное снижение уровня холестерина в плазме крови под влиянием кормовых добавок может быть обусловлено включением в состав липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП). Кроме того часть жирных кислот в печени в присутствии холина может, скорее всего, быть отвлечена от синтеза холестерина на синтез фосфолипидов.

Вместе с тем в наших опытах ни холин, ни витамин Е не оказывали значимого влияния на содержание жирных кислот ($P>0.05$), концентрация которых в крови является критерием мобилизации их из жировых депо. Полученные нами данные согласуются с данными одних авторов (Guretzky *et al.*, 2006; Zahra *et al.*, 2006) и не совпадают с данными других авторов (Pinotti *et al.*, 2003), которые регистрировали значительное падение уровня НЖК в крови коров при даче холина начиная с 14 дня до отела.

Известно, что витамин Е укрепляет систему антиоксидантной защиты от пагубного действия избытка свободных радикалов на клетку и повышает ее чувствительность к инсулину. Имеются данные о благотворном влиянии антиоксидантов на функции β-клеток островков Лангерганса поджелудочной железы, о предупреждении или задержке ими дисфункции β-клеток посредством защиты от окислительного стресса и токсического влияния свободных радикалов (Kaneto *et al.*, 1999). По всей вероятности, повышение секреции и активности инсулина может, по крайней мере, уменьшить выход НЖК из жировой ткани в кровь. Холин, в отличие от витамина Е, не вызывает статистически значимого уменьшения концентрации β-гидроксибутирата, основного представи-

теля кетоновых тел, поставляемого печенью окислительного субстрата мышц, мозга и других тканей. В первые месяцы лактации мобилизация жиров из депо приводит к повышению концентрации жирных кислот в крови, захвату их печенью с окислением и синтезом триглицеридов и кетоновых тел (Gruffat *et al.,* 1996). В печени жвачных, в отличие от животных с однокамерным желудком, *β*-окисление жирных кислот происходит с меньшими скоростями и при их избыточном захвате они включаются в триглицериды или трансформируются в кетоновые тела. Часть триглицеридов пакуется в липопротеины высокой плотности и секретируется в кровь, однако скорость этого процесса при кетозе недостаточна для предотвращения избыточного синтеза кетоновых тел. Полученные нами результаты созвучны с более ранными данными по отсутствию изменений в *β*-гидроксибутирате, даже при уменьшении уровня НЖК в крови при скармливании или введении холина лактирующим коровам (Guretzky *et al.,* 2006). Вместе с тем имеются данные по уменьшению концентрации *β*-гидроксибутирата и НЖК в плазме крови при скармливании холина (Oerlichs *et al.,* 2004).

Статистически значимый эффект витамина Е по понижению β-гидроксибутирата может быть обусловлен возрастанием чувствительности жировой ткани к инсулину и понижением под действием последнего мобилизации жиров из жировых депо.

Поскольку печень является основным производителем мочевины, характеризующей ее детоксикационную функцию, нами определялось также содержание этого метаболита в плазме крови коров, в отношении которого мы констатировали лишь некоторую тенденцию к увеличению, более выраженную при скармливании витамина Е ($P>0.05$). Полученные нами результаты созвучны литературным данным (Zahra *et al.,* 2006; Davidson *et al.,* 2008).

Содержание в плазме другого показателя функционального состояния печени - билирубина, повышенный уровень которого свидетельствует о замедлении выделения желчи, также не претерпевало значимых изменений под действием кормовых добавок ($P>0.05$). Высокие концентрации билирубина токсичны, так как способствуют генерации свободных радикалов, повреждающих клетки печени. В клеточной культуре эпителиальных клеток панкреатического протока быка высокие концентрации билирубина приводят к повреждению биологических мембран и разрушению клеток. Отмечена положительная корреляция между содержанием триглицеридов в печени и концентрацией общего билирубина в плазме крови (Kalaitzakis *et al.,* 2006).

В наших опытах с кормовыми добавками не констатировалось статистически значимых изменений в концентрации общего белка плазмы, глобулинов и общей антиоксидантной активности, хотя отмечалась тенденция к их повышению, сопровождающаяся значимым повышением содержания SH-групп ($P<0.05$). Однако общая картина изменений компонентов крови, в особенности синтезируемых в печени, позволяет говорить об ослаблении нагрузок на печень при скармливании коровам кормового холина и витамина Е. Подобное мнение было высказано и другими авторами (Ambrosio *et al*., 2007; Mohsen *et al.,* 2011).

Более выраженное действие витамина Е на исследованные показатели крови, по-видимому, связано с тем, что поддержание общей антиокислительной активности клеток имеет значение для нормального функционирования биологических мембран и таких клеточных компонентов как нуклеиновые кислоты, белки и фосфолипиды.

2. Действие кормовых добавок холина и витамина Е на активность ферментов плазмы

Аминотрансферазы играют существенную роль как в поддержании оптимального для синтеза белка соотношения аминокислотного пула, так и в сопряжении азотистого и энергетического обменов. Изменения их активности в крови свидетельствуют либо о возросшей их активности в тканях либо о повреждении структуры клеток. Возрастание активности в крови тканевых ферментов свидетельствует о нарушении функций органов, в частности печени, активность маркерных ферментов которой представлена в таблице 2.

Таблица 2

Действие скармливания холина и витамина Е на активность ферментов плазмы

Показатели	Группы			P
	контроль	холин	витамин Е	
γ-глутамилтрансфераза (ГГТ)	29.00 ± 1.58 [a]	26.50 ± 0.96 [ab]	23.86 ± 0.83 [b]	0.0284
Аспартатаминотрансфераза (АСТ)	74.00 ± 2.80	71.50 ± 4.62	66.85 ± 3.18	0.4298
Аланинаминотрансфераза (АЛТ)	60.62 ± 2.68 [a]	42.87 ± 3.68 [b]	42.43 ± 2.00 [b]	0.0411
Щелочная фосфатаза (ЩФ)	40.25 ± 2.04 [a]	38.25 ± 2.21 [ab]	32.00 ± 1.96 [b]	0.0004

Примечание: Буквенные надписи над цифрами (a, b) обозначают достоверность различий в ряду ($P<0.05$).

Как видно из данных таблицы, скармливание холина не вызывает статистически значимых изменений в активностях ГГТ, АСТ и АЛТ, однако активность ЩФ резко падает ($P<0.01$). Скармливание витамина Е оказывает аналогичное холину влияние на активность ЩФ, но вместе с тем значимо понижает активность и других ферментов (АЛТ и ГГТ). Отсутствие статистически значимых изменений активностей АСТ, АЛТ и ГГТ при скармливании коровам и козам холина отмечалось и другими авторами (Zahra *et al.,* 2006; Toghdory *et al.,* 2007).

В наших опытах активность всех тестовых ферментов печени при скармливании лактирующим коровам холина и витамина Е была достоверно или не

достоверно ниже, чем в контрольной группе, что указывает на улучшение функционирования печени.

3. Действие кормовых добавок холина и витамина Е на плазменную концентрацию витамина Е

Скармливание холина и витамина Е приводит в наших опытах к повышению плазменной концентрации последнего (рис. 1). У молочных коров во время отела и в начальный период лактации имеет место понижение концентрации витамина Е в крови, что связывают с ожирением печени. Полученные нами данные совпадают с результатами других исследователей, показавших, что скармливание холина коровам задерживает понижение концентрации витамина Е после отела (Pinotti *et al.,* 2003).

Развитие оксидативного стресса у отелившихся коров, сопровождающееся образованием большого количества свободных радикалов, может привести к необратимым структурным изменениям мембран и повышение в этих условиях антиокислительной защиты имеет важное значение в поддержании нормальной функции печени.

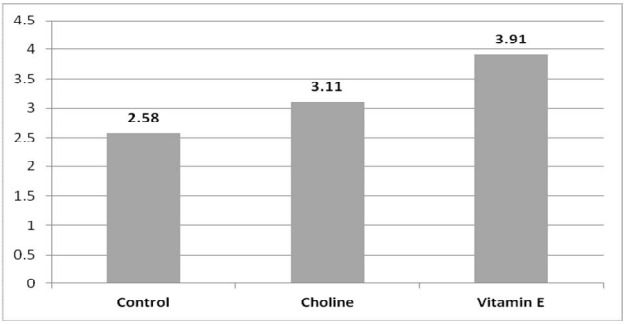

Рис. 1. Концентрация витамина Е в плазме крови коров

4. Влияние кормовых добавок холина и витамина Е на белковые фракции сыворотки крови

Большая часть белков плазмы, в частности альбумины, синтезируются в печени.

Представленные в таблице 3 данные электрофореза белков показывают достоверное повышение фракции альбуминов при скармливании лактирующим коровам холина и витамина Е ($P<0.05$).

Альбумины крови снижают риски послеродовых заболеваний в первые месяцы лактации коров. Повышение уровня альбуминов в крови, играющего важную роль в поддержании осмотического давления и универсального транспортера эссенциальных метаболитов, свидетельствует о поддержании использованными нами кормовыми добавками функции печени лактирующих коров.

В содержании фракций глобулинов, большая часть которых синтезируется

Таблица 3

Действие скармливания коровам холина и витамина Е на белковые фракции крови

Показатели	Группы			P
	контроль	холин	витамин Е	
Альбумины	36.69±0.98 [b]	39.70±0.83 [a]	40.21±1.09 [a]	0.0486
α-глобулины	16.21±1.16	15.34±1.45	14.60±1.30	0.7413
β-глобулины	11.45±0.75	9.10±0.76	8.55±0.65	0.4252
γ-глобулины	35.65±1.68	35.86±0.67	36.64±0.80	0.8343

Примечание. Буквенные надписи над цифрами (a, b) обозначают достоверность различий между рядами (P<0.05).

не в печени, статистически значимых сдвигов при скармливании холина или витамина Е не регистрируется, что соответствует данным других авторов (Toghdory *et al.,* 2007; Mohsen *et al.,* 2011).

5. Влияние кормовых добавок холина и витамина Е на молочную продуктивность и содержание компонентов молока

Представленные в таблице 4 показатели молочной продуктивности существенных сдвигов при использовании кормовых добавок не претерпевают, однако отмечается статистически незначимая тенденция повышения удоев. Так, при скармливании холина и витамина Е удои молока повышаются соответственно на 0.31 и 2.05 л (P>0.05).

Таблица 4

Действие кормовых добавок на продукцию молока

Показатели	Группы			P
	контроль	холин	витамин Е	
Удой, кг/день	34.70±0.98	35.01±0.73	36.75±0.90	0.6508
4 %-ное сбалансированное по жиру молоко (СЖМ), кг/день	31.15±0.83	31.23±0.59	32.46±1.11	0.7563
Сбалансированное по энергет. ценности молоко (СЭМ), кг/день	34.51±±0.91	34.74±0.64	35.91±1.20	0.7812
Потребленное сухое вещество корма (ПСВ), кг/день	21.43±0.68	22.68±0.60	23.26±0.70	0.7520
Эффективность использования корма, молоко/ПСВ	1.56±0.03	1.57±0.03	1.61±0.04	0.8370
Эффективность энергет. ценности молока, СЭМ/ПСВ	1.55±0.03	1.55±0.03	1.56±0.04	0.9832

Имеет место также тенденция повышения содержания молочного жира. По некоторым данным добавки холина необходимы в начале лактационного периода, когда они значительно повышают надои молока (Davidson *et al.,* 2008).

Гуретцки и другие (Guretzky *et al.,* 2006), при скармливании кормовой добавки холина коровам голштинской и джерсейской пород, отмечали повышение выхода СЖМ на 2 кг/день. В ряде исследований указывается на увеличенный экспорт жиров из печени под действием холина (Piepenbrik and Overton, 2003; Cooke *et al.,* 2007), обусловленное, по-видимому, сбережением метионина для продукции молока в связи с взаимозаменяемостью в качестве доноров метильных групп (Emmanuel and Kennelly, 1984). В опытах на козах было показано, что 6 % пула холина происходит из метионина и примерно 28 % метионина используется для синтеза холина путем метилирования фосфатидилэтаноламина. Кормовая добавка холина, снижая потребность в метионине, способствует сбережению метионина для синтеза белка.

Повышение надоев в наших опытах при скармливании витамина Е, скорее всего, связано с улучшением функции печени.

Из данных таблицы 5 видно, что в содержании ни белка, ни жира, ни лактозы статистически значимых сдвигов в молоке получавших кормовые добавки коров в сравнении с контрольной группой не отмечается. Однако в цифровом выражении, с учетом повышения выхода молока, содержание этих и других компонентов превосходит контрольные цифры (табл. 5).

Таблица 5

Действие холина и витамина Е на содержание компонентов в молоке

Показатели	Группы			P
	контроль	холин	витамин Е	
Жирность (%)	3.34±0.07	3.30±0.06	3.20±0.11	0.4924
Выход жира (кг/день)	1.15±0.03	1.15±0.02	1.18±0.06	0.8720
Белок (%)	3.24±0.03	3.22±0.03	3.18±0.04	0.4828
Выход белка (кг/день)	1.12±0.03	1.13±0.02	1.17±0.03	0.7145
Лактоза (%)	4.75±0.02	4.79±0.02	4.86±0.03	0.1565
Выход лактозы (кг/день)	1.65±0.05	1.68±0.04	1.80±0.05	0.4746
Обезжиренное сухое вещество (ОСВ) (%)	8.67± 0.04 [b]	8.87±0.05 [a]	8.74±0.03 [ab]	0.0487
Выход обезжиренного сухого вещества (ОСВ)(кг/день)	3.01±0.08	3.11±0.06	3.22±0.08	0.5773
Сухое вещество (СВ) (%)	12.01±0.09	12.17±0.08	11.94±0.11	0.2993
Выход сухого вещества (СВ) (кг/день)	4.16±0.11	4.26±0.08	4.40±0.12	0.6581
N мочевины (мг/дл)	13.05±1.06	14.41±0.58	14.55±0.48	0.4016

Примечание. Буквенные надписи над цифрами (a, b) обозначают достоверность различий между рядами (P<0.05).

Единственное достоверное повышение регистрируется в ОСВ при скармливании холина (P<0.05).

Наши данные находятся в противоречии с результатами,полученными другими исследователями (Piepenbrik and Overton, 2003; Guretzky *et al.,* 2006), которые констатировали статистически значимое повышение как удоя молока, так и содержания в нем белка, жира и лактозы при скармливании коровам рациона с добавкой холина. Другие исследователи продемонстрировали хотя и статистически значимое, но незначительное повышение указанных компонентов молока (Ambrosio *et al.,* 2007).

Отсутствие значимого эффекта витамина Е на компоненты молока констатировалось и другими авторами (Givens *et al.,* 2004). Вместе с тем дача с кормом высоких доз витамина Е (10000-12000 ед) приводила к резкому возрастанию содержания в молоке коров жира (Pottier *et al.,* 2006).

В наших опытах имело место, хотя и статистически незначимое, повышение уровня азота мочевины под влиянием скармливания холина и витамина Е. Известно, что даже небольшое повышение уровня мочевины в крови является свидетельством нормальной функции печени. При жировой же инфильтрации обороты цикла мочевины в печени замедляются и содержание ее в крови понижается.

6. Влияние кормовых добавок холина и витамина Е на потребление сухого вещества корма

Кормовые добавки не оказывают статистически значимого влияния (P< 0.05) на потребление сухого вещества корма (табл. 4).

Имеющиеся в литературе данные по влиянию холина на потребление сухого вещества корма противоречивы: одни авторы регистрируют отсутствие (Davidson *et al.,* 2008), другие наличие заметного действия (Chung *et al.,* 2009). Механизм действия холина не известен. Более или менее правдоподобно выглядит предположение о благотворном влиянии на здоровье коров в первые месяцы лактации. Это может быть связано с прямым действием холина на кетогенную функцию печени.

7. Влияние кормовых добавок холина и витамина Е на живую массу и упитанность коров

В наших экспериментах не отмечалось статистически достоверных изменений живой массы и степени упитанности при скармливании холина и витамина Е лактирующим коровам в исследованные сроки лактации, однако животные опытных групп теряли меньше в живой массе, чем контрольной (табл. 6).

Аналогичные данные при скармливании холина лактирующим коровам были получены и другими авторами (Edman and Sharma, 1991). Потери живой массы в начале лактационного периода не в последнюю очередь обусловлены оксидативным стрессом.

Таблица 6

Влияние скармливания холина и витамина Е на живую массу и упитанность коров

Показатели	Группы			Р
	контроль	холин	витамин Е	
Живая масса	-13.40±6.91	-9.31±7.02	-6.14±4.36	0.7184
Упитанность	-0.14±0.11	-0.10±0.10	-0.06±0.06	0.8419

8. Влияние кормовых добавок холина и витамина Е на гидроксилирование афлатоксина

Критерием детоксикационной функции печени является обезвреживание ксенобиотиков, лекарственных веществ, кормовых и образующихся в организме токсинов.

Таблица 7

Содержание афлатоксина в корме

Афлатоксин корма (10^{-9})	
общий афлатоксин	афлатоксин B_1
7.2	6.65

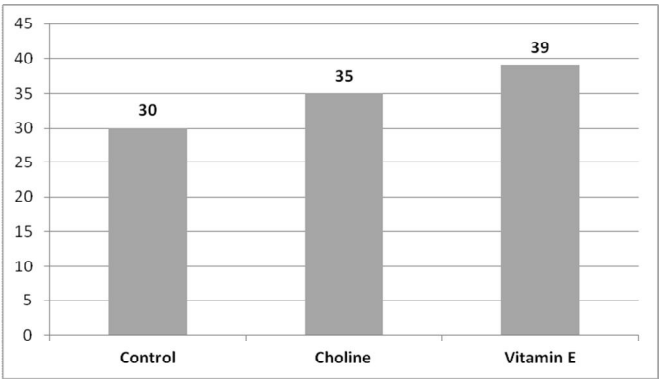

Рис. 2. Влияние скармливания холина и витамина Е на содержание афлатоксина M_1 в молоке лактирующих коров

В наших опытах нами определялось гидроксилирование кормового афлатоксина B_1 в афлатоксин M_1 печенью лактирующих коров. Этот продукт обезвреживания токсичного афлатоксина B_1 выделяется в кровь, откуда поступает в другие биологические жидкости и может служить критерием обезвреживающей функции печени.

Как видно из рис. 2, под действием холина и, в особенности, витамина Е уровень афлатоксина M_1 в молоке, хотя и статистически недостоверно, но заметно повышается, что естественно приписать поддержанию детоксикационной функции печени под влиянием кормовых добавок.

Афлатоксин снижает содержание всех белковых фракций крови, в том числе и γ-глобулинов. В качестве критерия активности афлатоксина используется определение активности ферментов крови. Так, сообщалось о повышении под действием афлатоксина активности таких ферментов крови как АСТ, АЛТ и ЩФ (Tung *et al.,* 1975; Leeson *et al.,* 1995), что интерпретировалось как следствие повреждения гепатоцитов и истечения ферментов в кровь.

ВЫВОДЫ

На основании всесторонних алиментарных, биохимических и физиологических исследований влияния скармливания кормовых добавок холина и витамина Е коровам в начальный период лактации были сделаны следующие выводы:

1. Скармливание холина и витамина Е лактирующим коровам в первый месяц лактации способствует статистически достоверному повышению содержания в крови альбуминов, тиоловых групп и витамина Е. Имеет место статистически незначимое, но существенное повышение концентрации таких компонентов крови как глюкоза, общий белок и мочевина. Полученные результаты можно интерпретировать как результат поддержания функций печени в интенсивный период лактации, сопровождающийся кетозом.
2. Об ослаблении под действием использованных кормовых добавок, в особенности витамина Е, метаболических перегрузок печени в первый месяц лактации свидетельствует также достоверное снижение или тенденция к снижению концентрации НЖК, β-оксибутирата, билирубина и, особенно, холестерина.
3. Под действием кормовой добавки витамина Е наблюдается статистически значимое снижение активности маркерных ферментов печени ЩФ, АЛТ и ГГТ. Добавка холина статистически значимо снижает активность лишь ЩФ. Обе добавки проявляют тенденцию снижать активность всех исследованных профильных ферментов печени, в том числе и АСТ.
4. Холин и витамин Е не влияют на потребление корма и эффективность его использования, однако понижают потери живой массы лактирующих коров и способствуют продукции молока.
5. Скармливание кормовых добавок холина и, в особенности, витамина Е стимулирует гидроксилирование афлатоксина B_1 в гепатоцитах с образованием нетоксичного афлотоксина M_1, т.е. подпитывает детоксикационную функцию

печени.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Результаты исследования могут быть использованы в курсах преподавания питания, биохимии и молочного животноводства.
2. Витамин Е может быть использован в качестве кормовой добавки в питании коров в начальный период лактации для предупреждения жировой инфильтрации печени и кетоза.
3. Применение кормовых добавок на молочных фермах с целью повышения молочной продуктивности может обеспечить фермерам получение дополнительной прибыли.
4. Результаты работы могут быть использованы в качестве справочного материала при составлении справочников по кормовым добавкам, а также выбора фермерами приемлемых добавок.

Список опубликованных работ:

1. Rahmani M.G., Kamalyan R.G., Dehghan-Banadaky M.J., Eskandari G.J. The Correlation Between Energy Carriers in the Blood of Early Lactating Dairy Cows Receiving Supplemental Choline // Reports of national Academy of Sciences of Armenia.- 2012, v. 112, N 4.- P. 417-421.
2. Rahmani M.G., Kamalyan R.G., Dehghan-Banadaky M.J., Marmaryan G.Ju. The effect of oral administration of choline on some liver function characterized blood plazma enzymes of early lactating dairy cows // Biological Journal of Armenia.- 2012, v. LXIV, N 3.- P. 83-86.
3. Rahmani M.G. The influence of supplemental vitamin E on milk yield, DMI, BWC, NEFA, in early lactating dairy cows //Biological Journal of Armenia.- 2012, v. LXIV, N 4.- P. 44-47.
4. Rahmani M.G. The correlation relationships between some biochemical indices in the blood plasma of early lactation period of cows fed with supplemental vitamin E // Agro-science scientific journal, Ministry of Agriculture of RA. Agricultural Support Republican Center.- 2012, N 9-10.- P. 593-596.

ՄՈՀԱՄՄԱԴՌԵԶԱ ՌԱՀՄԱՆԻ

ԿՈՎԵՐԻ ԼԱԿՏԱՑԻԱՅԻ ՍԿԶԲՆԱԿԱՆ ՇՐՋԱՆՈՒՄ ԼՅԱՐԴԻ ՖՈՒՆԿՑԻԱՅԻ ՈՐՈՇ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Գյուղատնտեսական կենսաբանության արդիական հարցերից է կենդանիների առողջության պահպանումը և բարձր մթերատվության ապահովումը:

Բարձրակիթ կովերի լակտացիայի սկզբնական շրջանում որպես էներգիայի և սննդարար նյութերի բարձրացած պահանջարքի հետևանք հաճախ զարգանում են նյութափոխանակային խանգարումներ, որոնք ուղեկցվում են լյարդի ճարպակալմամբ և կետոզով: Այդ գործընթացի մեջ են ընդգրկվում լյարդի բազմաթիվ ֆունկցիաները կարգավորող նյարդահորմոնալ գործոններ: Կետոզը և ճարպկալած լյարդը բարձր կաթնատվության արդյունք է, որը անդրադարնում է կովերի առողջության և մթերատվության վրա: Ելնելով նշվածից, ուսումնասիրվել է խոլինի և վիտամին E-ի կերային հավելումների ազդեցությունը արյան՝ լյարդի ֆունկցիաները բնութագրող ցուցանիշների վրա:

Գլյուկոզի անբավարարության պայմաններում լյարդը որպես էներգիայի աղբյուր օգտագործում է ճարպային հյուսվածքից մոբիլիզացված ճարպաթթուները, որոնց մի մասը փոխարկում է կետոնային մարմինների՝ այլ հյուսվածքների էներգամատակարարման համար: Արդյունքում տեղի է ունենում լյարդի ճարպակալում և ֆունկցիաների խանգարում, ինչը անդրադառնում է լյարդում սինթեզվող ֆերմենտների և արյան այնպիսի բաղադրամասերի վրա, ինչպիսին են ալբումինները, եռգլիցերիդները, β-հիդրոքսիկարագաթթուն, բիլիռուբինը: Քանի որ խոլինը ֆոսֆատիդների հիմնական բաղադրամասն է, և կարող է ընդգրկել ճարպաթթուները ֆոսֆատիդների սինթեզի գործընթացում, մենք օգտագործել ենք նրա կերային պատրաստուկը լյարդի ֆունկցիան բարելավելու և կաթնատու կովերի լյարդի ճարպակալումն և կետոզը կանխելու նպատակով: Հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ ճարպակալած լյարդը և կետոզը ուղորդվում են օքսիդացիոն սթրեսով և առաջացող թթվածնի ակտիվ ձևերից թաղանթների վնասմամբ, մենք ուսումնասիրել ենք նաև վիտամին E-ի ազդեցությունն արյան նշված ցուցանիշների վրա: Վիտամին E-ի, որպես ճարպակալած լյարդի և կետոզի կանխման գործոն, վերաբերյալ տվյալները չափազանց սուղ են: Բացի այդ, բացակայում են համեմատական տվյալներ խոլինի որպես լիպոտրոպ գործոնի և վիտամին E-ի որպես հակաօքսիդանտ ազդեցության վերաբերյալ: Մեր նպատակն էր կովերի կաթնատվության սկզբնական շրջանում ուսումնասիրել խոլինի և վիտամին E-ի ազդեցությունը լյարդի նյութափոխանակային պատկերի և կովերի կաթնատվության վրա:

Փորձերը կատարվել են 24 գլուխ հոլշտին ցեղի առաջնածին և բարձր լակտացիաներ ունեցող կովերի վրա, որոնք 4 շաբաթվա ընթացքում ստանում

էին կերի հետ խոլին և վիտամին E: Կենդանիները բաժանվել էին 3 խմբի՝ 1. ստուգիչ, 2. փորձնական, որոնք ստացել են խոլին (90 գրամ օրական), 3. փորձնական, որոնք ստացել են օրական 4400 ՄՄ վիտամին E:

Գրանցվել է կենդանիների քաշը, սնվածությունը, կերի չոր նյութի կլանումը, կաթնատվությունը, արյան շիճուկի և պլազմայի բաղադրամասերի խտությունը, լյարդի ֆունկցիան բնութագրող ֆերմենտների ակտիվությունը:

Փորձի ընթացքում չի գրանցվել հավաստիորեն ստույգ փոփոխություններ գլյուկոզի, ճարպաթթուների, միզանյութի, ընդհանուր բիլիռուբինի, գլոբուլինների խտության, ԱՍՏ-ի և ընդհանուր հակաօքսիդանտային ակտիվության, կաթի բաղադրիչների ելքի, կովերի զանգվածի, սնվածության մեջ (P>0.05): Սակայն խոլինը դրսևորում է զգալի հավաստիորեն ստույգ ազդեցություն խոլեստերինի, թիոլային խմբերի, շիճուկի սպիտակուցների ալբումինային ֆրակցիայի և արտահայտված էֆեկտ պլազմայի ալբումինների ու ՀՖ-ի (հիմնային ֆոսֆատազ) վրա (P<0.01): Վիտամին E-ի կերաբաժնին ավելացման դեպքում դիտվում է վիճակագրական ստույգ փոփոխություններ եռգլիցերիդների, β-հիդրոքսիկարագաթթվի, թիոլային խմբերի, γ-գլուտամիլտրանսֆերազի, ԱԼՏ-ի (P<0.05) և վառ արտահայտված ազդեցություն պլազմայի ալբումինների և ՀՖ-ի մեջ (P<0.01). Բացի այդ վիտամին E-ի ազդեցության ներքո նկատվում է պլազմայի ընդհանուր սպիտակուցների աճի միտում (P=0.07): Խոլինը և վիտամին E-ն բարձրացնում են կաթի ելքը և որպես հետևանք թվային փոփոխություններ են առաջացնում կաթի բաղադրամասերի մեծամասնության մեջ (P>0.05): Ստացված արդյունքները վկայում են, որ և խոլինը և վիտամին E-ն բարենպաստ ազդեցություն են գործում լյարդի ֆունկցիայի վրա, սակայն վիտամինն ավելի արդյունավետ է:

Ստացված արդյունքները կարող են օգտագործվել՝ կովերի կերակրման, կենսաքիմիայի և անասնապահության կրթական ծրագրերում:

Վիտամին E-ն կարող է օգտագործվել որպես հավելում կաթնատու կովերի կերաբաժնին ու որպես լյարդի ֆունկցիաները բարելավող և կետոզը կանխող գործոն:

Կաթնային ֆերմաներում վիտամին E-ի կերաբաժնին ավելացումը եկամտաբեր կլինի կաթնատվության բարձրացման առումով:

Արդյունքները կարող են օգտագործվել սպառողների համար ուղեցույց կազմելու նպատակով:

MOHAMMADREZA RAHMANI

THE STUDY OF SOME BIOCHEMICAL INDICE OF LIVER FUNCTION IN EARLY LACTATING COWS

S U M M A R Y

One of the actual problems in agricultural biochemistry is supporting agricultural animal health for high milk and meat production. High producing cows in early lactation period often undergo some metabolic disorders including fatty liver and ketosis due to high demands for energy and other nutrients. It depends on many neuronal and hormonal regulatory mechanisms which control liver function. Ketosis and fatty liver are as a result of high milk production in early lactating cows which affect health and productivity of the animals. Hence we made an attempt to study the influence of oral administration of choline and vitamin E on the blood indices which characterized liver function.

In the case of glucose deficit, ketone bodies are produced by the liver and also fatty acids are released through mobilization of adipose tissue, so this function of the liver increases the supply of energy for other tissues. When the release of free fatty acids increases in blood, it leads to fatty liver and, as a consequence, impairment of liver function. These changes in liver affect some blood indices particularly the activities of the enzymes which are synthesized in liver and also some blood components such as albumin, triglycerides, β- hydroxy butyric acid, bilirubin and other compounds. Since choline is main component of phosphatides to decrease fatty acid level by acceleration of its incorporation into phosphatides we used rumen protected choline (RPC) to improve liver function as well as prevention of fatty liver and ketosis in early lactating cows. Due to proceeding fatty liver and ketosis which are accompanied by oxidative stress as well as membrane breakdowns by active form of oxygen, we also studied the effects of supplemental vitamin E on blood corresponding indices. Although there are some data about the effects of choline, the data for the effects of vitamin E as a possible preventive factor for fatty liver and ketosis was poor in early lactating cows, besides there have not been any studies to compare the effects of these feed additives to each other. In our study, we pursued an aim to investigate the characterized liver function indices in blood (liver metabolic profile) and milk yield in early lactating cows, the influence of supplemental RPC and vitamin E and the possibility to prevent fatty liver and ketosis and the relation with the changes which affect the health and milk production.

Twenty four early lactating primiparous and multiparous Holstein cows were used for four weeks to investigate the effects of feeding rumen protected choline (RPC) and vitamin E on blood metabolites, liver enzymes, milk yield, milk

components, dry matter intake (DMI), body weight (BW), body condition score (BCS) and different fractions of blood serum protein. Cows were randomly assigned to one of the following treatments: 1) no supplement (control), 2) 90 g/d of RPC and 3) 4400 IU/d vitamin E.

In this study, the electrophoresis of blood serum protein was carried out by capillary zone electrophoresis (CZE) and exhibited four main fractions: albumin, α-, β-, and γ-globulin fractions.

In this research, treatments did not significantly affect plasma glucose, non-esterified fatty acids (NEFA), blood urea nitrogen (BUN), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin, total antioxidant capacity (TAC), milk yield, BW, BCS, DMI, different fractions of globulin, and the contents and yields of all milk constituents, except the content of SNF for RPC, during the experimental period ($P>0.05$), whereas feeding RPC had significant effects on cholesterol, thiol, serum albumin fractions of blood protein in CZE and highly significant effect on plasma albumin and ALP ($P<0.01$). And feeding vitamin E had significant effects on triglyceride, cholesterol, β-hydroxy butyric acid (BHBA), thiol, gamma-glutamyltransferase (GGT) and alanine aminotransferase (ALT) ($P<0.05$), and highly significant effect on plasma albumin and alkaline phosphatase (ALP) ($P<0.01$). In addition there was a tendency for vitamin E supplementation to increase plasma total protein concentration ($P=0.07$). However, there were numerical increases for the yields of most milk constituents ($P>0.05$) with RPC and vitamin E supplementation as a result of increasing milk yield. The results showed that RPC and vitamin E have beneficial effects on liver function in dairy cows, but this study suggest that vitamin E is more effective in improving liver function that choline.

The results obtained can be used in the education topics include “nutrition”, “biochemistry” and “dairy cattle farming”.

In dairy farm programs, Vit E can be used in dairy nutrition to improve liver function and as a result, reduction in fatty liver as well as ketosis.

In dairy farm using the supplements can provide an increase in milk production which is more profitable for the dairy farmers.

The results can also be used in the preparation of guide handbooks for customers which shows the differences between feed supplements (feed additives); providing better awareness for farmers to select the suitable feed additives to purshass.

Rahmani