УДК 612.015.12:636.2.35:619

ПУЛ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ ПЛАЗМИ КРОВІ У НОВОНАРОДЖЕНИХ ТЕЛЯТ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЦИДОЗУ

В. А. ГРИЩЕНКО, доктор ветеринарних наук

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: viktoriya_004@ukr.net

Анотація. *Встановлено, що в умовах виходу телят перших 36 год. життя із природного стану респіраторно-метаболічного ацидозу відмічається поступове підвищення в плазмі крові концентрації більшості вільних амінокислот, стабілізація рівня аміаку та зменшення – сечовини. Особливістю амінокислотного пулу плазми крові телят до першого випоювання молозива є високий рівень аланіну і гліцину, який зменшується у подальшому і може свідчити про зростання інтенсивності глюконеогенезу. У новонароджених телят часто відмічається порушення кислотно-лужного стану (КЛС) організму у вигляді некомпенсованого ацидозу. Штучне моделювання у них стану метаболічного ацидозу проявляється значним підвищенням у крові вмісту більшості вільних амінокислот, передусім кетогенних, сечовини і аміаку, що вказує на зменшення синтетичних можливостей організму та зростання інтенсивності дезамінування амінокислот у тканинах. Виявлені закономірності доводять наявність тісного взаємозв'язку між параметрами КЛС крові і обміном азотовмісних сполук в організмі новонароджених телят.*

Ключові слова: *вільні амінокислоти, сечовина, аміак, плазма крові, експериментальний ацидоз, новонароджені телята*

Амінокислоти в організмі тварин беруть участь у біосинтетичних, регуляторних та енергетичних процесах. Перехід від внутрішньоутробного до постнатального періоду розвитку жуйних тварин супроводжується зміною обміну вільних амінокислот у тканинах [1].

Концентрація амінокислот у крові тварин залежить від віку та фізіологічного стану тварин, режиму годівлі, рівня гормонів, швидкості їх утилізації та біосинтезу, а також визначається метаболічною активністю печінки і функціональним станом шлунково-кишкового тракту [1, 2]. Відомо, що загальна концентрація амінокислот у сироватці крові новонароджених телят вище за таку в корів-матерів, що пов'язують зі зниженою метаболічною активністю печінки плода [1]. Існує думка, що в кінці антенатального періоду

розвитку тканини жуйних тварин здатні накопичувати вільні амінокислоти, які у подальшому використовуються для інтенсивного біосинтезу та оновлення білків організму [2, 3].

Від народження телята перебувають у стані респіраторно-метаболічного ацидозу, нормалізація якого відбувається протягом перших 24-36 год. життя [4]. В цей період відмічається також унікальне біологічне явище – формування колострального імунітету за рахунок засвоєння на рівні кишечнику нативних імуноглобулінів молозива [5, 6]. На інтенсивність всмоктування білків молозива в кишечнику впливають параметри кислотно-лужного стану організму (оптимальні значення pH травних соків 6,0-6,5) [5], що безумовно специфічно відображається на концентрації вільних амінокислот у крові.

У новонароджених телят часто відмічається порушення параметрів кислотно-лужного стану (КЛС) організму у вигляді некомпенсованого ацидозу (внаслідок різного генезу хвороб тільних корів, патологічних родів, порушення режиму випоювання молозива і його неналежної якості, гіпотрофії новонароджених, функціональної недостатності кишечнику тощо) [3]. Як наслідок, у таких новонароджених тварин відмічають розвиток імунодефіцитного стану організму, на тлі якого виникають гострі розлади травлення та інші неонатальні патології [7]. Тому не виключається, що затримка у нормалізації параметрів КЛС за метаболічного ацидозу новонароджених телят буде відповідно впливати на механізми транспорту амінокислот в тонкому кишечнику, а, отже, визначати інтенсивність їх засвоєння і подальшу утилізацію в тканинах, у тому числі в імунокомпетентних органах для забезпечення аутосинтезу антитіл.

Мета дослідження – вивчити особливості впливу стану експериментального ацидозу на пул вільних амінокислот та інші показники азотного обміну плазми крові у новонароджених телят перших 36 год. життя.

Матеріали і методи дослідження. У дослід відбирали телят відразу після народження і утримували їх в експерименті впродовж перших 36 год. життя. З клінічно здорових телят формували дві групи: контрольну і дослідну по

12 голів у кожній за принципом аналогів. Матеріалом дослідження слугувала венозна кров, яку відбирали у тварин чотири рази: через годину після народження (до випоювання молозива), через годину після його випоювання та на 24 і 36 год. житття. У телят дослідної групи штучно викликали стан метаболічного ацидозу за авторською моделлю [8].

У крові контролювали показники КЛС на мікроаналізаторі газів крові фірми «Radiometer ABL-505» (Данія). Рівень аміаку в крові визначали за методикою А. І. Сілакової (1969) [9], концентрацію сечовини у плазмі крові – за допомогою тестових наборів реактивів фірми «Lachema» (Чехія) на спектрофотометрі Specord M-40, вміст вільних амінокислот у плазмі крові за методом (Овчиннников Ю. О., 1976, [10]) на ААА-339 М фірми «Мікротехна» (Чехія). Результати експериментальних досліджень обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики [11].

Результати дослідження. В умовах стабілізації параметрів показників КЛС, у плазмі крові інтактних телят відбувається поступове зростання концентрації більшості вільних амінокислот та їх загального вмісту (табл. 1). Так, загальна концентрація “незамінних” амінокислот у плазмі крові телят підвищується як на 24-у, так і на 36-у годину життя, відповідно на 112 і 143 %. Динаміка вмісту “замінних” амінокислот також закономірно підвищується протягом перших 36-ти год. життя, хоча з меншою інтенсивністю, відповідно на 28 і 50 %. Зазначені кількісні зміни амінокислот у плазмі крові новонароджених жуйних, ймовірно, пов’язані з поступовою активацію механізмів їх транспорту з кишечнику в кров та зростанням інтенсивності біосинтезу “замінних” амінокислот у тканинах.

Високий рівень таких глюкогенних амінокислот як аланіну і гліцину, в плазмі крові інтактних телят одразу після народження, очевидно, пояснюється їх накопиченням в пренатальний період розвитку. Крім того, молочнокислий ацидоз перших годин життя гальмує поглинання аланіну печінкою [3]. Подальше зменшення концентрації зазначених амінокислот у плазмі крові інтактних новонароджених телят, очевидно, пояснюється зростанням

інтенсивності глюконеогенезу, що, по-перше, є закономірним у відповідь на високу концентрацію H^+ у внутрішньому середовищі організму і заключається у посиленому синтезі електронейтральної сполуки, якою є глюкоза, а по-друге, розглядається як компенсаторна реакція, пов'язана з гіпоглікемією під час народження телят [4]. Всі ключові ензими глюконеогенезу вже присутні під кінець виношування плодів жуйних [2].

1. Пул вільних амінокислот плазми крові новонароджених телят, мкМ (M ± m, n = 12)

Показник	Контрольна група			
	до випоювання молозива	через 1 год. після випоювання молозива	на 24 год. життя	на 36 год. життя
Thr	17,87±2,53	59,35±3,15	81,77±11,33*	98,0±1,0*
Ser	176,77±5,57	323,80±153,20	210,60±46,71	339,55±36,75
Glu	71,97±3,07	98,75±28,05	179,98±27,83*	115,20±38,0
Pro + Citr	42,87±3,88	59,35±1,05	55,50±4,57	80,85±2,45
Gly	312,9±36,55	304,85±146,05	257,14±29,05	211,16±40,55
Arg	35,80±4,80	17,20±0	78,43±14,12	49,70±6,18
Ala	210,83±19,63	283,55±106,25	195,50±8,78	179,37±27,43
Val	106,10±1,48	145,50±15,40	194,86±21,56*	242,47±19,05*
Met	13,10±0,30	24,95±9,25	27,40±0*	18,13±2,00*
Ile	28,97±4,72	56,90±3,10	47,80±4,44*	55,67±7,94*
Leu	50,13±10,86	67,10±11,20	96,92±7,44*	109,70±10,60*
Tyr	33,36±0,80	59,10±16,10	38,92±2,84	48,37±6,81
Phe	40,07±0,94	44,40±11,10	41,72±4,20	45,0±7,12
His	40,20±1,59	66,90±12,70	101,93±12,89*	147,19±15,70*
Trp	25,45±7,85	49,95±7,15	72,58±14,56*	55,13±10,61
Lys	18,43±1,99	59,75±3,75	57,43±9,77*	49,70±6,18
∑ зам. амінокислот	502,44	612,25	641,58	751,77
∑ незам. амінокислот	340,32	574,80	722,37	826,70
∑ амінокислот	1355,30	1930,50	1840,06	2062,20
Сечовина, мМ	9,49±0,72		8,73±0,65	7,28±0,19*
Аміак	0,03±0,01		0,05±0,00*	0,03±0,01

Примітка: * – p<0,05, результати вірогідні порівняно з вихідними даними.

Зниження у крові телят контрольної групи на 36 годину життя концентрації сечовини на 23 % порівняно з такою до першого випоювання молозива та підвищення вмісту аміаку на 24 годину життя на 67 % з подальшим поверненням до вихідного рівня, можливо, пов'язано з активацією анаболічних

процесів у тканинах в умовах нормалізації кислотно-лужних параметрів крові і становленням функціональної активності нирок.

У телят в стані експериментального ацидозу на 24-у годину життя у плазмі крові встановлено знижений, порівняно з відповідним контролем (табл. 1, 2), вміст таких “незамінних” амінокислот, як: треоніну (на 47 %), валіну (на 7 %), метіоніну (на 38 %), гістидину (на 60 %), лейцину (на 14 %), триптофану (на 57 %) і низки “замінних” та частково “замінних” амінокислот: глутамінової кислоти (на 53 %), гліцину (на 13 %), серину (на 28 %), аланіну (на 14 %), тирозину (на 30 %) і аргініну (на 16 %). Одночасно відмічали підвищення рівня проліну і цитруліну (на 19 %) та ізолейцину (на 24 %). Сумарний вміст зазначених амінокислот на 24-у годину життя телят на 26 % нижче за такий у контролі (табл. 1, 2).

Зниження величини pH крові і концентрації бікарбонатів на 24 годину життя супроводжується одночасним вірогідним підвищенням у крові таких телят рівня аміаку (на 60 %) і сечовини (на 27 %) (табл. 1, 2), що свідчить про зростання в їх тканинах інтенсивності реакцій дезамінування амінокислот та відповідне зменшення синтетичних можливостей організму.

І, навпаки, на 36 годину життя у плазмі крові телят у стані експериментального ацидозу виявляється підвищення концентрації глутамінової кислоти (на 114 %), гліцину (на 21 %), треоніну (на 45 %), аланіну (на 16 %), метіоніну (на 19 %), ізолейцину (на 17 %) і лейцину (на 38 %) порівняно з відповідним контролем (табл. 1, 2).

Така ситуація здатна спровокувати розвиток ускладнень експериментального стану ацидозу, оскільки відомо [12], що зростання у крові тварин рівня кетогенних амінокислот таких, як: лейцину, ізолейцину, тирозину і фенілаланіну викликає зміни у співвідношенні щавлевооцтової кислоти і ацетил-КоА в сторону підвищення останнього, зумовлюючи ацидотичні зрушення в організмі.

2. Пул вільних амінокислот плазми крові новонароджених телят у стані експериментального ацидозу, мкМ (M ± m, n = 12)

Показник	Дослідна група (телята у стані експериментального ацидозу)		
	до випоювання молозива	на 24 год. життя	на 36 год. життя
Thr	17,87±2,53	43,30±2,20*,**	141,96±10,95*
Ser	176,77±5,57	151,90±18,69	184,18±16,45**
Glu	71,97±3,07	85,35±0,65**	246,55±19,84*,**
Pro + Citr	42,87±3,88	66,10±16,41	69,15±10,03
Gly	312,90±36,55	224,50±12,51	256,43±14,67
Arg	35,80±4,80	65,95±0,65*	84,18±10,93*
Ala	210,83±19,63	168,87±26,60	207,85±15,89*
Val	106,10±1,48	180,47±47,79	251,85±7,75*
Met	13,10±0,30	16,93±0,05*,**	21,48±2,04*
Ile	28,97±4,72	59,33±5,19*	65,02±4,45*
Leu	50,13±10,86	83,60±11,80	149,65±5,85*,**
Tyr	33,36±0,80	27,15±1,95*,**	47,20±5,09*
Phe	40,07±0,94	42,73±0,83	44,56±2,60
His	40,20±1,59	41,0±1,30**	110,8±18,48
Trp	25,45±7,85	31,45±3,15**	45,10±3,91
Lys	18,43±1,99	58,10±1,57**	54,70±7,47*
∑ зам. амінокислот	502,44	472,22	701,33
∑ незам. амінокислот	340,32	563,01	878,45
∑ амінокислот	1224,78	1346,73	1980,66
Сечовина, мМ	9,49±0,72	11,10±0,26**	8,22±0,76
Аміак	0,03±0,01	0,08±0,00*,**	0,07±0,01*,**

Примітки: 1. * – $p<0,05$, результати вірогідні порівняно з вихідними даними; 2. ** – $p<0,05$, результати вірогідні порівняно з даними телят-аналогів контрольної групи.

Як свідчать літературні дані [1], високий рівень амінокислот за метаболічного ацидозу може бути пов’язаний із гальмуванням їх поглинання печінкою. Крім того, цей факт, очевидно, обумовлений порушенням біосинтетичних процесів в тканинах і гальмуванням всмоктування у тонкому відділі кишечнику, посиленням катаболізму білків і водночас компенсаторною мобілізацією вказаних амінокислот для залучення їх в енергетичному обміні.

Зміни метаболізму амінокислот у телят за ацидозу на 36 годину життя проявляються адаптаційним посиленням процесів амонієгенезу і сечовиноутворення. Вважається, що цим забезпечується детоксикація та видалення надлишку H^+ і аміаку з організму [2].

Висновок. Перебування телят у стані експериментального метаболічного ацидозу впродовж перших 36 годин життя проявляється значним підвищенням у крові пулу більшості вільних амінокислот, аміаку і сечовини, що може свідчити про гальмування біосинтетичних процесів в тканинах, посилення катаболізму білків, амонієгенезу і сечовиноутворення. Такі процеси ще більше ускладнюють стан ацидемії. Виявлені закономірності доводять наявність тісного взаємозв'язку між параметрами КЛС організму новонароджених телят і обміном азотовмісних сполук в організмі новонароджених жуйних. В свою чергу, це частково пояснює розвиток диспротеїнемії та імунодефіциту, описані раніше [3, 5], за умови довготривалого виходу телят із стану метаболічного ацидозу (довше 24-36 годин життя).

Список використаних джерел

1. Захаренко М. А. Фонд свободных аминокислот в тканях телят в раннем постнатальном онтогенезе в связи с нарушением функционального состояния желудочно-кишечного тракта / М. А. Захаренко // Сельскохозяйственная биология. Серия биология животных. – 1992. – № 4. – С. 44-49.
2. Ніщеменко М. П. Фізіологічні аспекти використання амінокислот для підвищення продуктивності тварин: монографія / М. П. Ніщеменко, В. О. Трокоз, В. І. Карповський. – К.: ДДП «Експо-друк», 2015. – 253 с.
3. Гончарук (Грищенко) В. А. Особливості білкового спектра крові новонароджених телят в умовах зміни параметрів кислотно-лужного стану: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.04 «Біохімія» / В. А. Гончарук (Грищенко). – К., 1998. – 17 с.
4. Мельничук Д. О. Кислотно-основний гомеостаз організму новонароджених телят / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, М. І. Цвіліховський // Укр. біохім. журн. – 2001. – Т. 73, № 6. – С. 81-84.
5. Мельничук Д. О. Роль кислотно-лужного стану та фосфоліпідів молока у формуванні колострального імунітету в новонароджених телят: монографія / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко. – К.: ЦП «Компринт», 2015. – 250 с.
6. Мельничук Д. О. Роль молозива у формуванні імунітету в новонароджених телят / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко // Науковий вісник НУБіП України. – 2015. – Вип. 205. – С. 328-335.
7. Мельничук Д. О. Прогнозування імунодефіциту в новонароджених телят / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко // Доповіді НАН України. – 2015. – № 11. – С. 107-112.
8. Пат. 72034 – Україна, G. 09 B 23/28. Спосіб моделювання стану метаболічного ацидозу у новонароджених телят / Мельничук Д. О., Цвіліховський М. І., Грищенко В. А.; заявник і патентовласник НУБіП України. – № 2002108184; заявл. 15.10.2002; опубл. 17.01.2005.

9. Силакова А. И. Аммиак и глутамин крови и методы их определения / А. И. Силакова, Н. П. Корнюшенко // Лабор. дело. – 1969. – № 1. – С. 61-66.

10. Овчинников Ю. А. Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков / Ю. А. Овчинников. – М.: Мир, 1974. – 462 с.

11. Кучеренко М. Є. Сучасні методи біохімічних досліджень / М. Є. Кучеренко, Ю. Д. Бабенюк, В. М. Войціцький. − К.: Фітосоціоцентр, 2001. − 424 с.

12. Мельничук Д. А. Метаболическая система кислотно-щелочного гомеостаза в организме человека и животных / Д. А. Мельничук // Укр. биохим. журн. – 1989. – Т. 61, № 3. – С. 3-21.

References

1. Zakharenko M. A. (1992). Fond svobodnykh aminokislot v tkanyakh telyat v rannem postnatalnom ontogeneze v svyazi s narusheniem funktsionalnogo sostoyaniya zheludochno-kishechnogo trakta [Foundation of free amino acids in the tissues of calves in early postnatal ontogenesis in connection with a violation of the functional state of the gastrointestinal tract]. Agricultural Biology. A series of animal biology, 4, 44-49.

2. Nishchemenko M. P., Trokoz V. O., Karpovskyi V. I. (2015). Fiziolohichni aspekty vykorystannia aminokyslot dlia pidvyshchennia produktyvnosti tvaryn: monohrafiia [hysiological aspects of amino acids to improve the productivity of animals]. Kyiv: DDP «Ekspo-druk», 253.

3. Honcharuk (Hryshchenko) V. A. (1998). Osoblyvosti bilkovoho spektra krovi novonarodzhenykh teliat v umovakh zminy parametriv kyslotno-luzhnoho stanu [Features protein spectrum of blood of newborn calves in a changing parameters of acid-base balance]. K, 17.

4. Melnychuk D. O., Hryshchenko V. A., Tsvilikhovskyi M. I. (2001). Kyslotno-osnovnyi homeostaz orhanizmu novonarodzhenykh teliat [Acid-base homeostasis of the organism newborn calves]. Ukrainian Biochemical Journal, Vol. 73, 6, 81-84.

5. Melnychuk D. O., Hryshchenko V. A. (2015). Rol kyslotno-luzhnoho stanu ta fosfolipidiv moloka u formuvanni kolostralnoho imunitetu v novonarodzhenykh teliat: monohrafiia [The role of acid-base status and milk phospholipids in the formation kolostralnoho immunity in newborn calves]. Kyiv: TsP «Komprynt», 250.

6. Melnychuk D. O., Hryshchenko V. A. (2015). Rol molozyva u formuvanni imunitetu v novonarodzhenykh teliat [The role in the formation of colostrum immunity in newborn calves]. Scientific Journal of NULES of Ukraine, 205, 328-335.

7. Melnychuk D. O., Hryshchenko V. A. (2015). Prohnozuvannia imunodefitsytu v novonarodzhenykh teliat [Prediction immunodeficiency in newborn calves]. Reports of NAS of Ukraine, 11, 107-112.

8. Melnychuk D. O., Tsvilikhovskyi M. I., Hryshchenko V. A. The method of modeling of metabolic acidosis in newborn calves. Patent of Ukraine for useful model № 2002108184; declared 15.10.2002; published 17.01.2005.

9. Silakova A. I., Kornyushenko N. P. (1969). Ammiak i glutamin krovi i metody ikh opredeleniya [Ammonia and blood glutamine, and methods for their determination]. Laboratory business, 1, 61-66.

10. Ovchinnikov Yu. A. (1974). Novye metody analiza aminokislot, peptidov i belkov [New methods of analysis of amino acids, peptides and proteins]. Moscow: Mir, 462.

11. Kucherenko M. Ye., Babeniuk Yu. D., Voitsitskyi V. M. (2001). Suchasni metody biokhimichnykh doslidzhen [Modern methods of biochemical research]. Kyiv: Fitosotsiotsentr, 424.

12. Melnichuk D. A. (1989). Metabolicheskaya sistema kislotno-shchelochnogo gomeostaza v organizme cheloveka i zhivotnykh [The metabolic system of acid-base homeostasis in humans and animals]. Ukrainian Biochemical Journal, Vol. 61, 3, 3-21.

ПУЛ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПЛАЗМЫ КРОВИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АЦИДОЗЕ

В. А. Грищенко

Аннотация. *Установлено, что в условиях выхода телят первых 36 ч. жизни из естественного состояния респираторно-метаболического ацидоза отмечается постепенное увеличение в плазме крови концентрации большинства свободных аминокислот, стабилизация уровня аммиака и уменьшение – мочевины. Особенностью аминокислотного пула плазмы крови телят до первой выпойки молозива является высокий уровень аланина и глицина, который уменьшается в дальнейшем и может свидетельствовать об увеличении интенсивности глюконеогенеза. У новорожденных телят часто отмечается нарушение кислотно-щелочного состояния (КЩС) организма в виде некомпенсированного ацидоза. Искусственное моделирование у них состояния метаболического ацидоза проявляется значительным повышением в крови содержания большинства свободных аминокислот, прежде всего кетогенных, мочевины и аммиака, что указывает на уменьшение синтетических возможностей организма и повышение интенсивности дезаминирования аминокислот в тканях. Установленные закономерности доказывают наличие тесной взаимосвязи между параметрами КЩС крови и обменом азотсодержащих соединений в организме новорожденных телят.*

Ключевые слова: *свободные аминокислоты, мочевина, аммиак, плазма крови, экспериментальный ацидоз, новорожденные телята*

POOL OF FREE AMINO ACIDS IN THE BLOOD PLASMA OF NEWBORN CALVES UNDER THE EXPERIMENTAL ACIDOSIS

V. A. Gryshchenko

Abstract. *It was found that during the emergence of calves that are 36 hours old from the state of natural respiratory-metabolic acidosis a gradual increase of concentrations of most of free amino acids in blood plasma, increase of the ammonia level and the decrease of the urea content are observed. The peculiarity of the amino acid pool of blood plasma of calves that have never been fed with the colostrum yet is high level of alanine and glycine that subsequently decreases and may indicate the increase of the gluconeogenesis intensity in the liver. Disorders of the acid-base status (ABS) in the form of uncompensated acidosis are often observed in newborn calves. The artificial simulation of the metabolic acidosis state in calves expresses in a significant increase of the content of most of free amino acids, especially ketogenic amino acids with the increase of the urea and ammonia level in the blood. The last indicates the decrease of the synthetic abilities of the organism and increase of the intensity of the deamination reactions of amino acids in tissues. Revealed regularities prove the close interconnection between the parameters of ABS of blood and metabolism of nitrogenous compounds in the organism of newborn calves.*

Key words*: free amino acids, urea, ammonia, blood plasma, experimental acidosis, newborn calves*