

БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МЕЛЬНИК АНДРІЙ ЮРІЙОВИЧ

УДК 619:616–008.0–071:616.391:636.5

**КЛІНІКО-БІОХІМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МЕТОДІВ ДІАГНОСТИКИ
ТА ПРОФІЛАКТИКИ ПОРУШЕНЬ ФОСФОРНО-КАЛЬЦІЄВОГО І
D-ВІТАМІННОГО ОБМІНІВ У КУРЕЙ-НЕСУЧОК**

16.00.01 – діагностика і терапія тварин

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Біла Церква – 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Білоцерківському національному аграрному університеті Міністерства аграрної політики України.

Науковий керівник – кандидат ветеринарних наук, доцент
Москаленко Валерій Петрович,
Білоцерківський національний аграрний університет

Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук, професор
Кондрахін Іван Петрович,
ПФ “Кримський агротехнологічний університет” НАУ,
завідувач кафедри терапії і клінічної діагностики

кандидат біологічних наук, старший науковий
співробітник **Апуховська Лариса Іванівна,**
завідувач лабораторії медичної біохімії,
Інститут біохімії НАН України

Захист дисертації відбудеться “___” _____ 2008 р. о ___ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 27.821.02 в Білоцерківському національному аграрному університеті за адресою: 09111, м. Біла Церква, вул. Ставищанська, 126; навчальний корпус №8, ауд. №1.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Білоцерківського національного аграрного університету за адресою: 09117, м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1.

Автореферат розісланий “___” _____ 2008 р.

Вчений секретар спеціалізованої
вченої ради

_____ М.П. Чорнозуб

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Птахівництво України займає важливе місце в забезпеченні населення високоякісними дієтичними продуктами харчування – яйцями та м'ясом. Використати повною мірою генетичний потенціал курей-несучок можна лише за умови дотримання ветеринарно-санітарного благополуччя птахофабрик, повноцінної годівлі та профілактики різних хвороб. Серед захворювань неінфекційної етіології досить часто реєструють гіповітамінози (Рихтер Г., Хеннинг А., 1985; Околелова Т.М., 1988), сечокислий діатез (Кондрахін І.П., Семьонов А.В., 2001; Білецький Є.М., 2006; Кожемяка Н., 2007), остеопороз (Папазян А., Имангулов Ш., 2006).

Хвороби, зумовлені порушенням обміну кальцію та холекальциферолу, знижують несучість курей промислового стада (Сапрыкин Л., 1987; Фисинин В., 1995). Враховуючи, що міцність шкаралупи визначається насамперед рівнем кальцію, фосфору та вітаміну D₃ (Бауман В.К., 1989), цим факторам приділяється особлива увага. Так, за даними G.Huyhebaert and Maertens (2002), додавання до комбікорму замість 3000 МО/кг вітаміну D₃ комбінації аналогів (1500 МО D₃ + 1500 МО 25ОНD₃ на 1 кг комбікорму) значно покращує якість шкаралупи яєць та підвищує несучість курей. Тому підтримання кальцієвого гомеостазу займає одне з провідних місць у забезпеченні високої продуктивності птиці (Бауман В.К., 1968). Проблема раціонального використання вітамінно-мінеральних добавок набуває особливої актуальності у зв'язку з фазовим розмежуванням годівлі курей у кількісному й годинному інтервалі (Мальцев В., 1983; Агеев В., 1987; Езерская А). Методи ранньої діагностики та профілактики порушень вітамінно-мінерального живлення займають одне з провідних місць у вирішенні проблеми збереження стада та отримання продукції високої якості (Байдевятов А., 1978; Кузнецов С., 2002; Подобед Л.І., 2006; Сурай П., Ионов И., 2007).

У зв'язку з цим подальше вивчення методів діагностики і профілактики порушень D-вітамінного і фосфорно-кальцієвого обміну є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами темами. Дисертаційна робота є частиною наукової тематики кафедри терапії та клінічної діагностики Білоцерківського національного аграрного університету (номер держреєстрації 0103U004460), яка є складовою галузевої науково-технічної програми УААН "Забезпечення ветеринарно-санітарного благополуччя в Україні" на 2002–2005 рр. (розділ 13–113), "Вивчення етіології, розробка методів діагностики і профілактичної терапії хвороб печінки та обміну речовин у курей (подагра, канібалізм, випадіння пера, рахіт, гіповітамінози"; дисертант вивчав розділ 13–113.10 (діагностика і профілактика D-гіповітамінозу) та галузевої науково-технічної програми УААН на 2006–2010 рр. "Здоров'я тварин", розділ 01.23.101.21; дисертант виконував розділ "Вивчення дозозалежного впливу вітамінів А, D₃ та Е на стан фосфорно-кальцієвого обміну в курей-несучок".

Мета роботи – експериментально обґрунтувати методи ранньої діагностики та профілактики порушень фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного обмінів

у курей-несучок.

Для виконання мети необхідно було розв'язати наступні **завдання**:

1) вивчити динаміку вмісту ультрафільтрованої, іонізованої, нейтральної і білокзв'язаної форм кальцію та неорганічного фосфору, активності лужної (кістковий і кишковий ізоферменти) й кислої фосфатаз у сироватці крові курей-несучок 90–520-добового віку та їх добові зміни;

2) дослідити концентрацію 25OHD_3 , кальцитоніну, T_3 , T_4 упродовж піку яйцекладки;

3) з'ясувати діагностичну інформативність визначення вмісту фракційного складу кальцію, неорганічного фосфору та активності лужної (кістковий, кишковий ізоферменти) і кислої фосфатаз за експериментального D-гіповітамінозу;

4) порівняти ефективність окремих методичних підходів до профілактики порушень фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного обмінів у курей-несучок.

Об'єкт дослідження – патологія мінерального і D-вітамінного обмінів у курей-несучок.

Предмет дослідження – методи діагностики і профілактики порушень фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного обмінів у курей-несучок.

Методи дослідження – клінічні, вивчення біохімічного (загальний, ультрафільтрований, іонізований, нейтральний та білокзв'язаний кальцій, неорганічний фосфор, загальний магній, активність загальної лужної фосфатази та її кісткового і кишкового ізоферментів, імуноферментний (25-гідроксихолекальциферол, естрадіол, прогестерон, кальцитонін, T_3 , T_4), гістологічний (кісткова тканина).

Наукова новизна одержаних результатів включає експериментальне й теоретичне обґрунтування методів ранньої діагностики та профілактики порушень фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного обмінів у курей-несучок на підставі вивчення біохімічних показників сироватки крові та гістологічного дослідження. Уперше в Україні вивчено динаміку вмісту фракційного складу кальцію, 25OHD_3 , естрадіолу, прогестерону та перерозподіл активності ізоферментів лужної фосфатази в сироватці крові курей-несучок упродовж продуктивного періоду. На основі дослідження цих показників встановлений найбільш небезпечний період їх росту та розвитку відповідно до накопичення та використання мінеральних речовин в організмі, теоретично і практично обґрунтована необхідність фізіологічної корекції вітамінно-мінерального живлення під час яйцекладки. У ході експериментального D-гіповітамінозу визначені найбільш інформативні діагностичні критерії порушень кальцієвого гомеостазу.

Практичне значення одержаних результатів. Вивчені фізіологічні ліміти окремих фракцій кальцію, кісткового та кишкового ізоферментів лужної (ЛФ) і кислої фосфатаз упродовж 520-добового періоду, які можна використовувати для контролю за дотриманням фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного живлення птиці та як критерій діагностики їх порушення (рахіт, остеодистрофія). Експериментально обґрунтований комплекс діагностичних критеріїв та

доцільність застосування декількох схем профілактичних заходів з використанням полі- та монокомпонентних вітамінних препаратів. Одержані результати використовуються в науково-дослідній роботі та під час викладання предметів “Клінічна діагностика хвороб тварин”, Клінічна біохімія”, “Внутрішні хвороби птахів”, ”Хіміко-токсикологічне дослідження яєць” у Білоцерківському національному аграрному університеті, ПФ “Кримський агротехнологічний університету” НАУ, Житомирському агроекологічному університеті, Львівській національній академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького.

Особистий внесок здобувача полягає в тому, що він самостійно виконав увесь обсяг клініко-біохімічних досліджень, узагальнював та аналізував результати експериментальних досліджень. Гістологічні дослідження кісткової тканини проведені разом з кандидатом ветеринарних наук, асистентом кафедри анатомії та гістології Білоцерківського НАУ В.Б. Дудкою, імуноферментний аналіз – зі старшим лаборантом лабораторії новітніх методів досліджень О.Ю. Голуб.

Апробація результатів дисертації проводилася на міжнародних науково-практичних конференціях: “Проблеми неінфекційної патології” (3–4 листопада 2005 р., 18–19 вересня 2008 р., м. Біла Церква); “Наукові та практичні аспекти ветеринарної медицини” (27–28 вересня 2006 р., м. Біла Церква); „Актуальні проблеми ветеринарної медицини” (24–25 квітня 2007 р., м. Харків); „Десятиріччя факультету ветеринарної медицини” (26–28 вересня 2007 р., м. Луганськ); державних: “Сучасні проблеми ветеринарної медицини” (24–26 жовтня 2005 р., 24–26 жовтня 2006 р., 14–15 листопада 2007 р., м. Біла Церква); внутрішньовузівських: “Наукові пошуки молоді у III тисячолітті” (19 травня 2005 р., 17 травня 2006 р., 22 травня 2007 р., 19 травня 2008 р.)

Публікації. Результати експериментальних досліджень опубліковані в 6 статтях, що вийшли у фахових виданнях: “Віснику Білоцерківського державного аграрного університету” (5), “Науковому віснику Луганського національного аграрного університету” (1).

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 147 сторінках комп’ютерного тексту, ілюстрована 25 таблицями, 17 рисунками, включає вступ, огляд літератури, вибір напрямів досліджень, матеріали і методи виконання роботи, 6 розділів власних досліджень, їх узагальнення та аналіз, висновки та пропозиції виробництву, список використаної літератури, що містить 298 найменувань, у тому числі 57 – із далекого зарубіжжя, та 12 додатків.

Вибір напрямів досліджень, матеріал та методи виконання роботи.

Робота виконувалася упродовж 2004–2008 рр. у лабораторії кафедри терапії та клінічної діагностики Білоцерківського державного (нині національного) аграрного університету, ЗАТ ”Агрокомплекс” м. Біла Церква Київської області та Білоцерківському племптахопідприємстві. Експериментальну частину роботи викону-

вали за наступним планом: а) розробка методу відбору крові у курей-несучок; б) вивчення динаміки фракційного складу кальцію, вмісту неорганічного фосфору, концентрації 25ОНD_3 , кальцитоніну, естрадіолу, прогестерону, трийодтироніну, тироксину, активності ізоферментів лужної фосфатази в сироватці крові курей-несучок упродовж продуктивного періоду; в) вивчення добової динаміки деяких показників мінерального обміну в курей-несучок (фракційний склад кальцію, вміст неорганічного фосфору, активність ізоферментів лужної фосфатази; г) встановлення інформативних показників для ранньої діагностики порушень фосфорно-кальцієвого обміну за експериментально спричиненого D_3 -гіповітамінозу; д) порівняння двох схем профілактики порушень фосфорно-кальцієвого і D -вітамінного обмінів у курей-несучок.

У сироватці крові досліджували наступні показники: вміст загального, ультрафільтрованого та білокзв'язаного кальцію визначали в реакції з гліоксаль-біс-2-гідроксіанілом у модифікації Л.І. Апуховської, іонізованого – методом іонно-обмінної абсорбції за Волковим, вміст неорганічного фосфору – з аскорбіною кислотою (за *Duse*), загальний магній – в реакції з титановим жовтим, загальний білок – рефрактометрично, альбуміни – турбодиметричним методом, активність загальної лужної фосфатази (ЛФ) та її кісткового і кишкового ізоферментів – у реакції з 4-нітрофенілфосфатом (Вагнер В.К., Путилін В.М., Харабуга Г.Г., 1981), 25-гідроксихолекальциферол (25ОНD_3), кальцитонін (КТ), трийодтиронін (T_3), тироксин (T_4), естрадіол, прогестерон – методом ІФА, гістозрізи кісткової тканини виконували з використанням заморожувального мікроматома з наступним фарбуванням гематоксиліном та еозином.

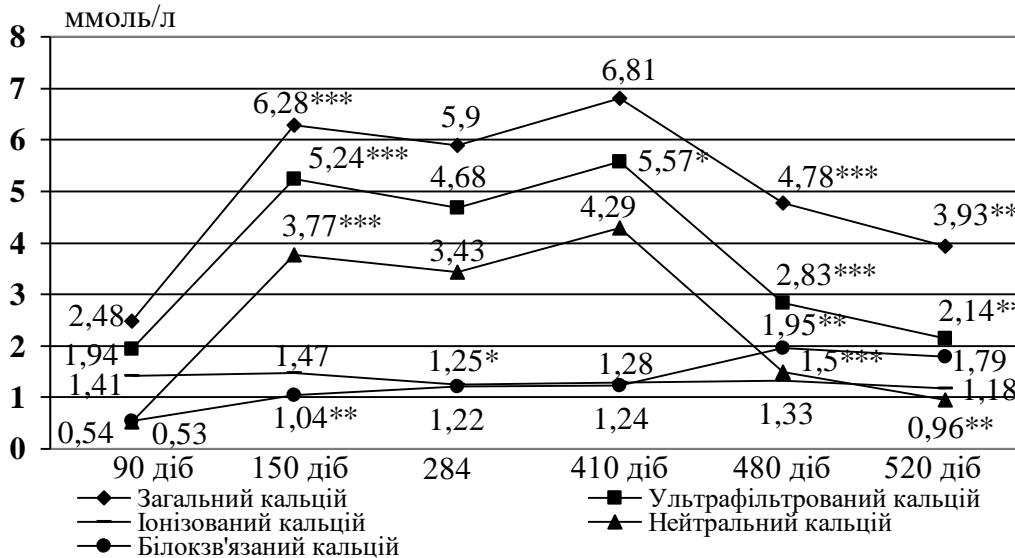
Одержані результати досліджень крові обчислювали методами варіаційної статистики. Корелятивний зв'язок між показниками визначали за коефіцієнтом кореляції (r) Пірсона (Ойвин І.А., 1960).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Динаміка фосфорно-кальцієвого обміну, активності лужної і кислій фосфатаз та гормонального статусу курей-несучок під час яйцекладки

У курей-несучок високопродуктивних кросів обмін кальцію досить інтенсивний, що підтверджується динамікою змін його різних форм у перед- та продуктивний періоди. Вміст загального кальцію у 150-добової птиці (початок продуктивного періоду) збільшується у 2,53 рази порівняно з 90-добовим (передпродуктивний період) і підтримується на високому рівні до 410-добового віку (рис. 1). У подальшому, зі спадом продуктивності (480 діб), рівень кальцію різко знижується (з $6,81 \pm 0,43$ до $4,78 \pm 0,19$ ммоль/л; $p < 0,001$) і ця тенденція продовжується до 520-добового віку ($3,93 \pm 0,20$ ммоль/л; $p < 0,01$). Подібно змінюється вміст ультрафільтрованої фракції кальцію та його складових. Нейтральний кальцій (зв'язаний з карбонатною, цитратною та фосфорною кислотами) зменшується

у період з 410 до 480 діб більш інтенсивно (у 2,86 рази). Зовсім інша динаміка іонізованої фракції ультрафільтрованого кальцію – її вміст вірогідно менший у 250-добової птиці ($1,25 \pm 0,09$ ммоль/л), порівняно з 150-добовою, і в подальшому не змінюється. Вміст білокзв'язаного кальцію з початком яйцекладки (150 діб) зростає удвічі, порівняно з передкладковим періодом ($p < 0,01$), і утримується на стабільному рівні ($p < 0,1$) до 410-добового віку.



Примітки: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з попереднім показником

Рисунок 1 – Динаміка фракційного складу кальцію в сироватці крові курей-несучок упродовж продуктивного періоду

За даними літератури (Бауман В.К., 1968, Георгиевский В.И., 1970, Фисинин В.И., 1990), зростання білокзв'язаного кальцію можна пояснити тим, що ця форма забезпечує транспорт іонів кальцію до судин матки, де необхідна його кількість вивільняється і використовується для формування шкаралупи яйця.

Окрім абсолютної кількості кальцію та його компонентів важливим є з'ясування відносних змін кожної з цих фракцій у перед- і продуктивний періоди. Частка ультрафільтрованої фракції уже в 90-добовому віці є досить високою ($78,2 \pm 2,86$ %), а з початком яйцекладки вона ще вища (табл. 1) і підтримується на цьому рівні з незначним відхиленням до 410-ї доби. У наступний період вона зменшується до $59,2 \pm 1,87$ % у 480 діб.

Складові ультрафільтрованого кальцію змінюються у протилежних напрямках: частка нейтрального різко зростає з $27,3 \pm 2,6$ до $72,0 \pm 1,53$ % у 150-денному віці, а іонізованого, навпаки, зменшується. До 410-денного віку обидві складові майже не змінюються, а з 480-ї доби починається протилежна тенденція: частка нейтрального зменшується, а іонізованого зростає і складають відповідно $44,9 \pm 2,75$ і $55,1 \pm 2,96$ %. Частка білокзв'язаного кальцію у загальній кількості до 410-добового віку стабільна, а потім зростає і в 520-добовому віці складає $45 \pm 1,97$ %.

Таблиця 1 – Відносні показники фракційного складу кальцію в курей-несучок різного віку

Показник	Ультрафільтрований кальцій, у проц.	Іонізований кальцій, у проц.		Нейтральний кальцій, у проц.		Білок-зв'язаний кальцій, у проц.
	до загального кальцію	до загального кальцію	до ультрафільтрованої фракції	до загального кальцію	до ультрафільтрованої фракції	до загального кальцію
Вік птиці, діб						
90	78,2±2,86	56,8±1,49	72,7±2,82	21,4±2,73	27,3±2,6	21,8±2,9
150	83,4±1,20	23,4±1,35	28,0±1,52	60,0±1,36	72,0±1,53	16,6±1,22
p<	0,1	0,001	0,001	0,001	0,001	0,1
284	79,3±2,09	21,2±1,51	26,7±1,78	58,1±2,42	73,3±2,26	20,7±2,09
410	81,8±0,91	18,8±1,27	23,0±1,62	63±1,56	77,0±1,6	18,2±0,91
480	59,2±1,87	27,9±1,09	47,0±1,95	31,3±1,76	53,0±1,94	40,8±1,87
p<	0,1	0,1	0,001	0,001	0,1	0,001
520	54,4±1,97	30,0±1,27	55,1±2,96	24,4±2,35	44,9±2,75	45,6±1,97
p<	0,1	0,1	0,05	0,05	0,05	0,1

Вміст неорганічного фосфору з початком продуктивного періоду (150 доба) збільшується до 1,91±0,08 ммоль/л порівняно з 1,33±0,05 – у 90-добовому віці (p<0,001). У подальшому (284-а доба) його концентрація вірогідно (p<0,01) зменшується (1,64±0,05 ммоль/л) і підтримується з незначним відхиленням до кінця продуктивного періоду (1,56±0,08 у 480-добовому і 1,75±0,07 ммоль/л – у 520-денному віці).

Важливими ферментами, що беруть участь у фосфорно-кальцієвому обміні, є лужна і кисла фосфатази (ЛФ і КФ). Лужна фосфатаза має кілька ізоферментів, зокрема кістковий, який синтезується остеобластами, і кишковий, який гідролізує органічні сполуки фосфору з утворенням неорганічного фосфату, концентрація якого на апікальній мембрані ентероцитів збільшується, що значно покращує його абсорбцію в кишковоки. За результатами наших досліджень, з початком яйцекладки активність загальної ЛФ зростає у 2,12 рази, порівняно з передкладковим періодом, і складає 548,0±32,9 Од/л (рис. 2), що зумовлено інтенсивним збільшенням (у 2,48 рази) активності, передусім, кісткового ізоферменту до 483,0±27,4 порівняно з 194,0±15,4 Од/л у передкладковий період. Це пояснюється інтенсивним синтезом медулярного компонента кісткової тканини, основу якої складає немінералізований матрикс з великою кількістю неістинних остеонів на різних стадіях своєї диференціації. У подальшому динаміка активності кісткового ізоферменту характеризується вірогідним (p<0,001) зниженням у 284-добовому віці, і зростанням у 410 днів. Проте слід відмітити, що знижена активність кісткового ізоферменту ЛФ у такому віці слабо (r=0,32) корелює зі зниженням вмісту іонізованого кальцію. Це підтверджує безпосередню участь кіст-

кової тканини у підтриманні рівня іонної кальціємії.

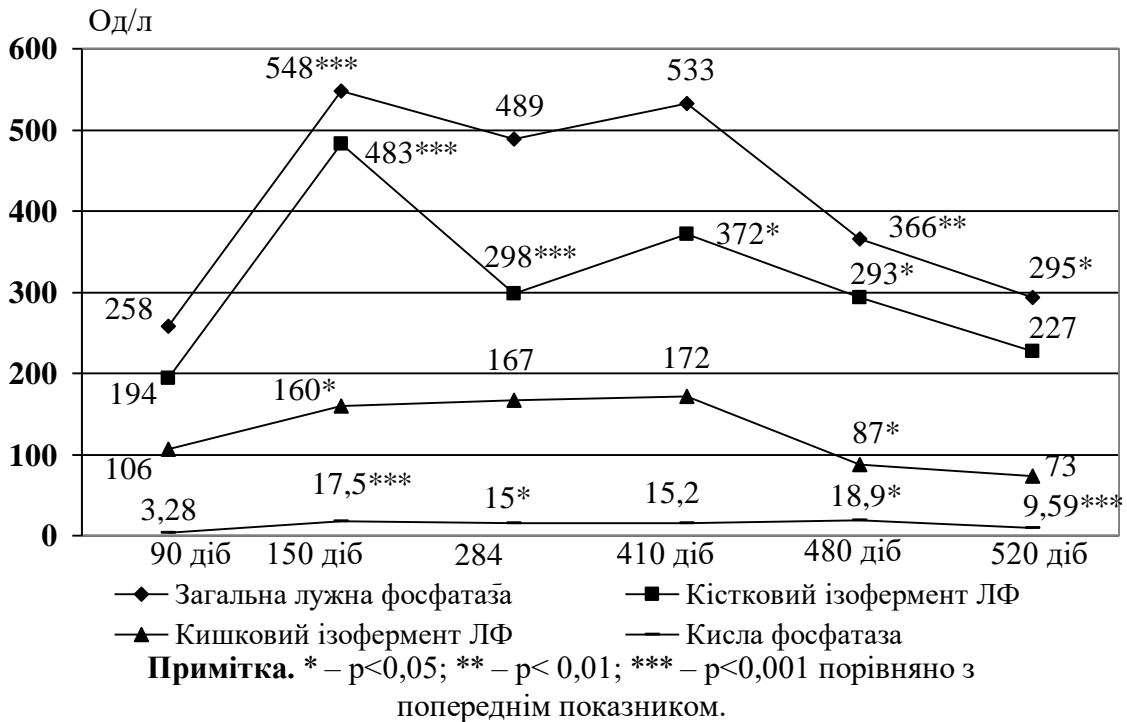


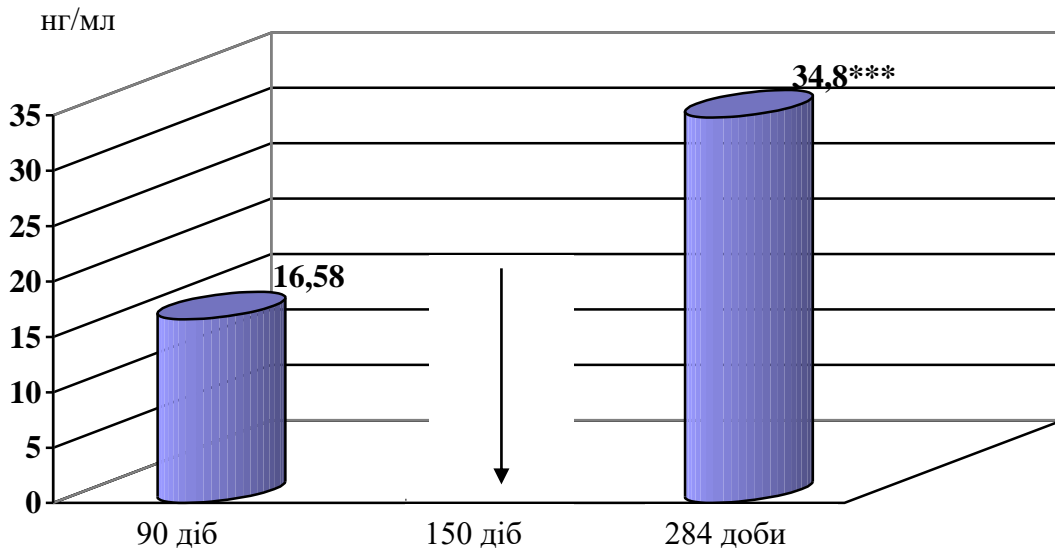
Рисунок 2 – Активність лужної (кишковий, кістковий ізоферменти) та кислій фосфатаз у сироватці крові курей-несучок

Подібні зміни й загального, ультрафільтрованого і нейтрального кальцію, проте кореляція між активністю кісткового ізоферменту ЛФ і вмістом нейтрального кальцію незначна ($r=0,23$). Меншою мірою зростання активності загальної ЛФ зумовлено її кишковим ізоферментом: активність його збільшувалась до $160 \pm 15,4$ Од/л у 150-денному віці (в 1,6 рази, порівняно з 90-денною). Вона залишається стабільною до 410-ї доби. Зростання активності кишкового ізоферменту ЛФ співпадає з періодом збільшення вмісту неорганічного фосфору ($r=0,32$).

Повноцінний ремоделінг кісткової тканини відбувається за врівноважених процесів активної резорбції та синтезу її складових компонентів. Так, утворення органічного матриксу забезпечують остеобласти, а резорбцію – остеокласти, які продукують КФ. Тому закономірним є зростання активності КФ у 150-добової птиці у 5,33 рази – $17,5 \pm 0,73$ Од/л порівняно з 90-добою. На 284-у добу її активність дещо зменшувалась – $15,0 \pm 0,43$ Од/л ($p < 0,05$), а у 480 дів збільшувалась до $18,9 \pm 1,32$ Од/л ($p < 0,05$). Лише за майже повного припинення яйцекладки (520 доба) її гідролізна дія зменшувалась у 1,97 рази – $9,59 \pm 0,61$ Од/л. Одночасне підвищення активності ЛФ (кістковий ізофермент) і КФ можна пояснити виходячи із досліджень Н.В. Родіонової (1988), які вказують на те, що у процесі трансформації остеобластів у зрілі остецити в цитоплазмі клітин утворюється велика кількість первинних лізосом, які входять до складу остеодитарних лакун. Тобто, остеобласти на різних стадіях своєї диференціації мають можливість зворотного переходу від обмеженого синтезу колагену до процесів остеолітичної активності. Проте активність КФ слабо ($r=0,28$; 150 доба) корелювала з активністю кісткового ізоферменту ЛФ.

Особливий вплив на підтримання фосфорно-кальцієвого гомеостазу має вітамін D₃, а точніше його активні метаболіти, які утворюються в результаті послідовних реакцій гідроксилювання в печінці (25ОНD₃) та нирках [1,25(ОН)₂D₃ і 24,25(ОН)₂D₃]. За рівнем 25ОНD₃ є можливість стежити за наявністю всіх активних форм вітаміну D₃ в організмі (Апуховська Л.І., 2006).

Рівень 25ОНD₃ в сироватці крові 90-денної птиці в середньому становив 16,58±0,44 нг/мл. Слід зазначити, що на 150-у добу, поряд із підвищенням концентрації ультрафільтрованого кальцію, відмічали лише залишки вмісту активного метаболіту вітаміну D₃ – 25ОНD₃, незважаючи на те, що раціон містив 2000 МО вітаміну D₃ в 1 кг комбікорму. Причиною може бути інгібування його синтезу в печінці або інтенсивне використання під час яйцекладки, що потребує більш детального дослідження з визначенням концентрації його похідних – 1,25(ОН)₂D₃ та 24,25(ОН)₂D₃. На 284-у добу відмічали вірогідне (p<0,001) підвищення концентрації 25ОНD₃ до 34,8±1,55 нг/мл, що на 52,6 % більше порівняно із 90-добовою птицею (рис. 3). Проте це не відновило рівень іонізованого кальцію в сироватці крові птиці 284-денного віку.

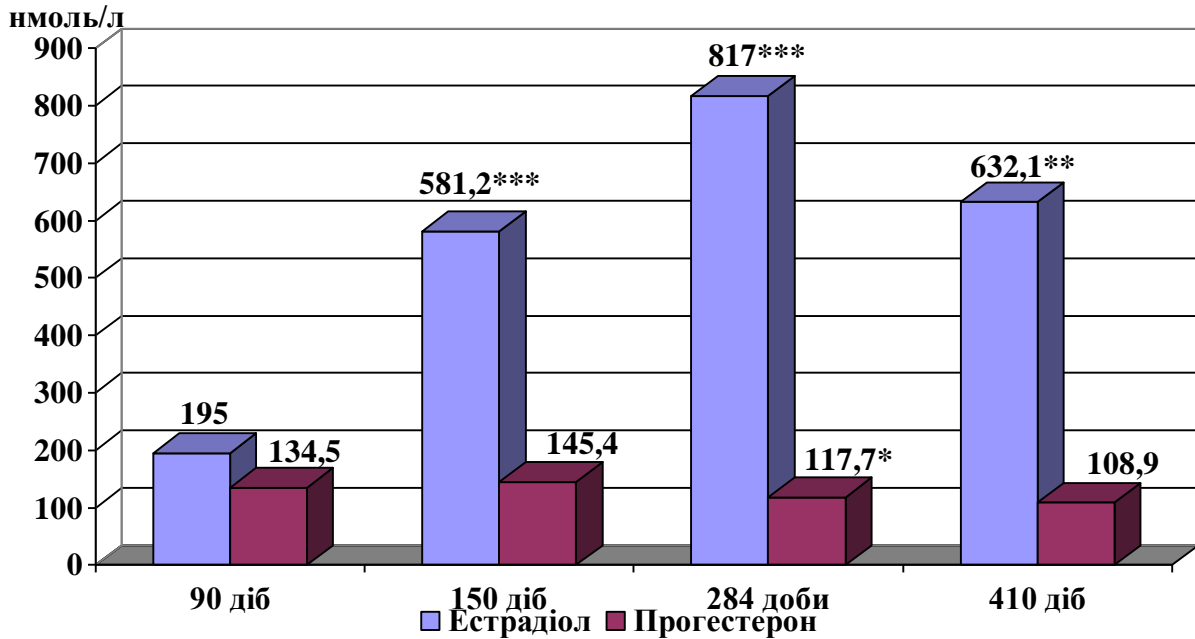


Примітка. *** – p<0,001 порівняно з попереднім показником.

Рисунок 3 – Динаміка вмісту 25ОНD₃ в сироватці крові курей-несучок 90, 150 і 284 добового віку.

Важливим показником у підтриманні кальцієвого гомеостазу є адекватна стосовно інтенсивності яйцекладки продукція статевих гормонів. Під дією естрогенів у печінці синтезуються ліпофосфопротеїнові комплекси, які є аналогами вітеліну яєчного жовтка. Особливістю сироваткового фосфопротеїну є здатність адсорбувати на своїй поверхні велику, порівняно з іншими білками сироватки крові, кількість іонів кальцію. Важливим є те, що кальцій дуже легко вивільняється зі складу такого комплексу в судинах матки і ніякої ферментативної реакції це не потребує. Так, вміст естрадіолу у птиці 150-денного віку збільшувався (p<0,001) у 3 рази порівняно з 90-добовою (рис. 4). Це вказує на важливу роль під час яйцекладки естрогенів, які справляють стимулювальний вплив на синтез медулярної

тканини кістки.

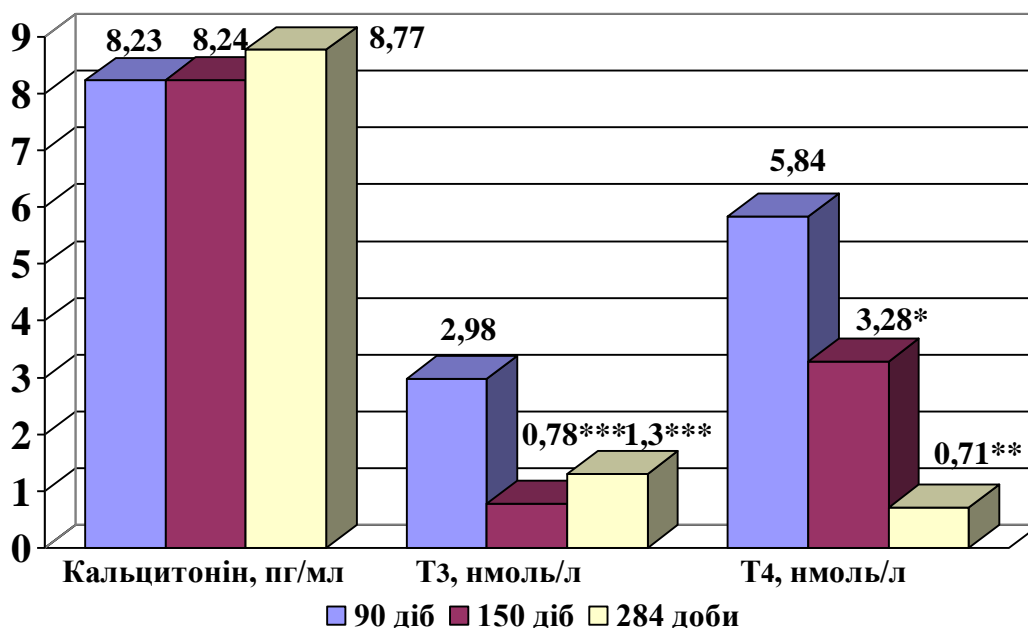


Примітка. * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$.

Рисунок 4 – Динаміка вмісту естрадіолу та прогестерону в сироватці крові курей-несучок

Нами встановлений слабкий корелятивний зв'язок ($r=0,42$) середнього ступеня між концентрацією естрадіолу та активністю кісткового ізоферменту ЛФ. У наступний віковий проміжок (284 доба) рівень естрадіолу був на 28,8 % вищим ($p < 0,001$) – $817 \pm 16,5$ нмоль/л, що є максимальним за весь період досліджень. Надалі продукція цього гормону зменшувалася, поруч зі зниженням інтенсивності яйцекладки, у 410-добової птиці до $632,1 \pm 56,1$ нмоль/л. Водночас вміст прогестерону мав дещо іншу динаміку: у 150-денної птиці відмічали незначну тенденцію до збільшення – $145,4 \pm 5,1$ нмоль/л; на 284-у добу – вірогідне ($p < 0,05$) зниження до $117,7 \pm 8,73$ нмоль/л. У подальшому (410-а доба) спостерігалася лише тенденція до зменшення його рівня.

У передкладковий період (90 доба) та упродовж першої фази продуктивного періоду (150-а і 284-а доба) вміст кальцитоніну вірогідно не змінювався і в кожний віковий проміжок складав відповідно $8,23 \pm 4,23$, $8,24 \pm 0,23$ та $8,77 \pm 0,12$ нмоль/л (рис. 5). Стабільність цього показника вказує на підтримання моделюючої функції медулярного компонента кісткової тканини, яка насамперед визначається високою здатністю до накопичення іонів кальцію. Вміст T_3 й T_4 в сироватці крові курей-несучок 150-денного віку був зниженим ($p < 0,001$) у 3,8 та 1,7 рази, порівняно з 90-добовою птицею, і становив $0,78 \pm 0,02$ та $3,28 \pm 0,65$ нмоль/л відповідно. На 284-у добу концентрація T_3 була на 40% більшою ($1,3 \pm 0,08$ нмоль/л; $p < 0,001$), порівняно з 150-добовою, а вміст T_4 , зменшувався ($p < 0,001$) у 4,6 рази, і в середньому становив $0,71 \pm 0,07$ нмоль/л, що очевидно пов'язано з інтенсивним його перетворенням у більш активний T_3 .



Примітка. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ порівняно з попереднім показником.

Рисунок 5 – Вміст кальцитоніну, трийодтироніну та тироксину в сироватці крові курей-несучок

Вивчаючи добову динаміку деяких показників мінерального обміну, встановили, що вміст загального та ультрафільтрованого кальцію за дворазової (9.00, 15.00) добової годівлі сягає свого піку через 6 год після другого прийому корму (21.00) – $7,96 \pm 0,37$ і $7,0 \pm 0,35$ ммоль/л ($p < 0,001$ порівняно з показником у 6.00 год). У проміжку найвищої кальціємії (о 18.00) встановлена максимальна активність кісткового ізоферменту ЛФ ($198,0 \pm 16,7$ Од/л; $p < 0,01$), порівняно з $165 \pm 19,6$ Од/л о 14.00, що свідчить про участь кісткової тканини у процесі вивільнення необхідної кількості іонообмінної фракції кальцію для побудови шкаралупи яйця. Активність кишкового ізоферменту найвищою була о 21.00 ($129 \pm 14,9$ Од/л), що зумовило підвищення вмісту неорганічного фосфору до $2,24 \pm 0,05$ ммоль/л о 00.00 год (табл. 2). Активність КФ збільшувалась на 23,6 % ($p < 0,05$), порівняно з вихідним значенням, що за зменшення активності кишкового ізоферменту ЛФ ($81 \pm 15,3$ Од/л; $p < 0,05$) через 9 год після другого прийому корму свідчить про зниження компенсаторних можливостей медулярного компонента кісткової тканини і розвиток короточасного D-гіповітамінозу (табл. 3). На це вказує і зниження рівня ультрафільтрованої фракції кальцію до $5,98 \pm 0,33$ ммоль/л ($p < 0,05$) відносно періоду максимальних значень (табл. 2). Тобто до 06.00 вміст кальцію, фосфору та активність лужної і кислої фосфатаз повертаються до початкових значень і організм птиці починає підготовку до наступного циклу яйцеутворення, яке розпочинається овуляцією приблизно через 30 хв після знесення яйця. Дослідження В.К. Бауман (1989) показують, що фізіологічний ефект вітаміну D₃ проявляється приблизно через 6 год після останнього прийому корму, тому і абсорбція кальцію повинна адекватно відповідати цьому періоду.

Таблиця 2 – Показники вмісту фракційного складу кальцію та неорганічного фосфору в сироватці крові курей-несучок упродовж доби

Час відбору крові, год	Загальний кальцій, ммоль/л	Ультрафільтрований кальцій, ммоль/л	Білокзв'язаний кальцій, ммоль/л	Неорганічний фосфор, ммоль/л
06.00	6,06±0,23	5,25±0,31	0,81±0,17	1,87±0,08
09.30	6,85±0,34	6,12±0,37	0,73±0,06	1,47±0,04***
14.00	7,68±0,21***	6,85±0,24***	0,83±0,09	1,46±0,05***
18.00	7,40±0,25**	6,56±0,22***	0,84±0,04	1,51±0,09*
21.00	7,96±0,37***	7,0±0,35**	0,96±0,08	1,68±0,12
00.00	6,87±0,35°	5,98±0,33°	0,89±0,10	2,24±0,0***°°°
03.00	6,62±0,33	5,75±0,28	0,87±0,07	1,97±0,09°

Примітки: 1) * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 порівняно з показниками першої групи;

2) ° – p<0,05; °° – p<0,01; °°° – p<0,001 порівняно з показниками попередньої групи.

Таблиця 3 – Активність лужної (кістковий і кишковий ізоферменти) та кислій фосфатаз у сироватці крові курей-несучок упродовж доби

Час відбору крові, год	Загальна лужна фосфатаза (ЛФ), Од/л	Кістковий ізофермент ЛФ, Од/л	Кишковий ізофермент ЛФ, Од/л	Кисла фосфатаза, Од/л
06.00	194±21,4	127±16,1	80±16,5	11,3±0,71
09.30	241±19,8	168±20,3	102±17,6	10,0±0,49
14.00	250±18,1	165±19,6	101±19,8	12,4±1,05
18.00	273±16,7**	198±16,7**	94±16,6	12,1±0,82
21.00	260±17,5*	151±17,4	129±14,9*	12,6±0,86
00.00	246±16,9	155±18,2	81±15,3°	14,8±0,93**
03.00	189±16,2°	136±17,8	85±18,0	12,5±0,76

Примітки: 1) * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 порівняно з показниками першої групи

2) ° – p<0,05; °° – p<0,01; °°° – p<0,001 порівняно з показниками попередньої групи.

Аналізуючи результати наших досліджень, можна припустити, що кишкова абсорбція кальцію не задовольняє транспорт його іонів до кістки та шкаралупових залоз у процесі кальцифікації шкаралупи яйця, тому що упродовж доби є інтервали, під час яких чутливість рецепторів до активних метаболітів вітаміну D₃ та його гідроксилазних ферментів у кістковій тканині, печінці, нирках, ентероцитах та інших тканинах є максимальною. Виходячи з цього, період з 00.00 до 3.00 год ми розцінюємо як дефіцитний за вітаміном D₃.

Тому норми та режими годівлі повинні бути скореговані на задоволення добової потреби несучок в кальції, при цьому значення має не тільки годинний інтервал, а й здатність різних його джерел до розчинення.

Інформативність визначення фракційного складу кальцію, вмісту неорганічного фосфору й активності лужної та кислої фосфатази за експериментально спричиненого D₃-гіповітамінозу

Наступне завдання роботи – встановлення інформативності показників фракційного складу кальцію та активності ізоферментів ЛФ за експериментального D₃-гіповітамінозу, який був відтворений шляхом згодовування дефіцитного за холекальциферолом комбікорму (500 МО проти 2000 МО у контролі).

За клінічного дослідження птиці 195-добового віку порушень фізіологічного стану не спостерігали. Вміст загального і ультрафільтрованого кальцію птиці дослідної групи мав тенденцію до зниження, а вміст неорганічного фосфору був вірогідно ($p < 0,001$) меншим ($1,24 \pm 0,08$ ммоль/л) не лише проти групи контролю, а й попереднього результату (табл. 3).

Таблиця 3 – Вміст фракційного складу кальцію і неорганічного фосфору та активності ЛФ і КФ в сироватці крові курей-несучок за D₃-гіповітамінозу (n=10)

Показник	Група	Вік птиці, діб		
		130	195	280
Загальний кальцій, ммоль/л	Дослід	2,73±0,13	6,04±0,41	5,51±0,45
	Контроль	2,77±0,11	6,25±0,34	5,97±0,37
Ультрафільтрований кальцій, ммоль/л	Дослід	2,09±0,07	5,06±0,28	3,86±0,34*
	Контроль	2,16±0,06	5,24±0,35	5,01±0,31
Кальцій, зв'язаний з білком, ммоль/л	Дослід	0,64±0,10	0,98±0,07	1,65±0,09***
	Контроль	0,61±0,09	1,01±0,10	0,96±0,12
Неорганічний фосфор, ммоль/л	Дослід	1,85±0,24	1,24±0,08***	1,79±0,29
	Контроль	1,93±0,27	1,65±0,06	1,54±0,07
Лужна фосфатаза загальна, Од/л	Дослід	578±39,4	779±33,7*	533±30,6
	Контроль	540±41,4	678±36,7	643±35,6
Кістковий ізофермент ЛФ, Од/л	Дослід	475±34,7	694±31,4***	307±34,2**
	Контроль	382±38,6	493±32,4	458±31,2
Кишковий ізофермент ЛФ, Од/л	Дослід	116±37,2	104±31,9*	238±36,7
	Контроль	164±37,2	197±30,4	192±38,4
Кисла фосфатаза, Од/л	Дослід	15,8±0,91	11,4±0,96*	17,4±0,84*
	Контроль	14,2±0,89	15,3±1,27	14,2±0,92

Примітка. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ порівняно з показником контрольної групи.

Вірогідне зменшення неорганічного фосфору зумовлене, напевно, підвищеною функцією прищитоподібних залоз і утворенням комплексу фосфопротеїну та зниженням ($- 47,2$ %; $p < 0,05$), порівняно з групою контролю, активності кишкового ізоферменту ЛФ до $104 \pm 31,9$ Од/л порівняно з $197,0 \pm 30,4$, що вказує на порушення процесів транспорту іонів фосфату через мембрану ентероцитів. Активність загальної лужної фосфатази збільшувалася до $779,0 \pm 33,76$ Од/л ($p < 0,05$) за рахунок кісткового ізоферменту – $694,0 \pm 31,47$ Од/л ($+31,5$ %; $p < 0,001$

відносно попереднього показника). Водночас активність КФ знижувалася ($11,41 \pm 0,96$ Од/л; $p < 0,05$), що пояснюється гальмуванням остеокластичних процесів у кістковій тканині та порушенням включення активних метаболітів вітаміну D₃ в ядерну субстанцію остеобластів. Це спричиняє зменшення синтезу специфічних білків кісткової тканини – колагену, остеокальцину, гідроксипроліну. Утворюється недостатня кількість пластичного матеріалу на побудову клітин остеїдного ряду, в результаті чого порушується проліферація та диференціація клітин кісткової тканини. Клінічно у птиці дослідної групи спостерігали зниження рухової активності, оперення настобурчене, тьмяне, 20 % курей мали ознаки суглобової слабості.

У курей дослідної групи 280-добового віку встановлено вірогідне ($p < 0,05$) зниження вмісту ультрафільтрованого кальцію до $3,86 \pm 0,34$ ммоль/л порівняно з $5,01 \pm 0,31$ – у контролі (70 % загальної вмісту, у групі контролю – 84,0 %). Фракція кальцію, зв'язаного з білком, зросла в 1,68 раза, порівняно з попереднім показником ($p < 0,001$), і була на 71,9 % більшою, ніж у контролі. У цей період активність кісткового ізоферменту ЛФ знижувалася у 2,23 рази, порівняно з показником у 195-денної птиці, а кислоти, навпаки, зростала у 1,53 раза ($17,4 \pm 0,84$ Од/л; $p < 0,001$). Ці зміни вказують на посилення остеолізу, кісткова тканина втрачає функціональну здатність до фіксації іонів кальцію.

Таким чином, ранніми інформативними показниками D-гіповітамінозу (500 МО вітаміну D в раціоні) у курей-несучок першої фази продуктивного періоду є гіпофосфатемія, підвищення загальної активності ЛФ та її кісткового ізоферменту і знижена, порівняно з контролем, активність кишкового ізоферменту ЛФ.

Профілактика порушень фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного обміну у курей-несучок

Клінічно діагностувати початкові стадії остеопатій практично неможливо, а лікування птиці в заключній стадії перебігу дистрофічних процесів у кістковій тканині є малоефективним. Найбільш раннім та інформативним методом розпізнавання цих захворювань вважається дослідження мінеральних компонентів сироватки крові та ферментів, які прямо або опосередковано впливають на фізіологію процесу яйцеутворення. Дослід, проведений у ЗАТ "Білоцерківське племптахопідприємство", дав можливість в умовах птахофабрики порівняти інформативність біохімічних тестів для ранньої діагностики порушень вітамінно-мінерального обміну. Були використанні кури кросу Хайсекс коричневий у різні періоди технологічного циклу.

Біохімічне дослідження сироватки крові птиці 120-добового віку показало, що вміст загального, ультрафільтрованого та білокзв'язаного кальцію знижений – $3,61 \pm 0,27$; $2,38 \pm 0,25$ та $1,23 \pm 0,06$ ммоль/л. Особливим підтвердженням порушень вітамінно-мінерального живлення є зменшена частка ультрафільтрованої форми кальцію – 66,6 %. У 30 % птиці вміст цієї фракції складав у середньому $1,4 \pm 0,17$ ммоль/л (53,3 %). Слід відмітити значне підвищення активності

загальної лужної – $1107 \pm 63,3$ Од/л за рахунок кісткового ізоферменту ($906 \pm 46,7$ Од/л) та кислій фосфатази – $19,1 \pm 2,65$ Од/л.

Нами було запропоновано декілька схем профілактичних заходів: використання окремих компонентів раціону та полікомпонентних добавок.

З метою поповнення депо кальцію і фосфору в кістковій тканині та підтримання її фізіологічної функції необхідним є відновлення транспорту іонів цих макроелементів у кишечнику для утворення кристалів гідроксиапатиту і розташування на їх поверхні іонообмінної фракції кальцію. Враховуючи специфічний вплив холекальциферолу на гомеостаз кальцію в організмі, використали препарат Ровімікс D₃ 500 у дозі 3800 МО/кг комбікорму упродовж 12 діб. Концентрацію вітамінів А і Е встановили на рівні 10000 МО та 10 мг/кг комбікорму відповідно.

У сироватці крові дослідної птиці 133-добового віку вірогідно зростав вміст загального кальцію і неорганічного фосфору, рівень ультрафільтрованої фракції кальцію збільшився до $3,84 \pm 0,24$ ммоль/л проти $2,83 \pm 0,15$ у контролі ($p < 0,01$), а його частка у загальній кількості макроелементу була на 12,4 % більшою і становила $82,4 \pm 1,69$ %. Отримані зміни вказують на посилення абсорбції кальцію в кишечнику, внаслідок чого відмічається підвищення фізіологічно активної фракції кальцію (табл. 4). У цей час рівень білокзв'язаної форми був більшим у контрольній групі (+ 32,8 %).

Таблиця 4 – Фракційний склад кальцію та вміст неорганічного фосфору в сироватці крові курей-несучок під впливом Ровіміксу D₃ 500 (n=10)

Показник	Група	Вік птиці, діб			
		120	133	145	200
Загальний кальцій, ммоль/л	Дослід	$3,61 \pm 0,28$	$4,66 \pm 0,27^\circ$	$5,62 \pm 0,23^{*\circ}$	$7,24 \pm 0,28^{*\circ\circ}$
	Контроль	$3,85 \pm 0,12$	$4,04 \pm 0,22$	$4,81 \pm 0,18^\circ$	$6,36 \pm 0,26$
Ультрафільтрований кальцій, ммоль/л	Дослід	$2,38 \pm 0,25$	$3,84 \pm 0,24^{*\circ\circ\circ}$	$4,75 \pm 0,2^{*\circ\circ}$	$6,03 \pm 0,3^{\circ\circ\circ}$
	Контроль	$2,76 \pm 0,20$	$2,83 \pm 0,15$	$3,21 \pm 0,11$	$5,48 \pm 0,24$
Білокзв'язаний кальцій, ммоль/л	Дослід	$1,23 \pm 0,06$	$0,82 \pm 0,09^{*\circ}$	$0,87 \pm 0,07^{**}$	$1,21 \pm 0,08^{**}$
	Контроль	$1,08 \pm 0,10$	$1,21 \pm 0,11$	$1,60 \pm 0,20$	$0,88 \pm 0,08^{**}$
Неорганічний фосфор, ммоль/л	Дослід	$1,35 \pm 0,06$	$1,91 \pm 0,09^{*\circ\circ}$	$1,88 \pm 0,04^*$	$1,71 \pm 0,09$
	Контроль	$1,44 \pm 0,07$	$1,63 \pm 0,05^\circ$	$1,62 \pm 0,08$	$1,83 \pm 0,05$

Примітки: 1)* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ щодо показника групи контролю;
2)° – $p < 0,05$; °° – $p < 0,01$; °°° – $p < 0,001$ порівняно з попереднім показником.

Індикатором покращення метаболічних процесів у кістковій тканині є знижена уже на 133-у добу на 28,7 % активність кісткового ізоферменту ЛФ ($p < 0,001$ порівняно з контрольною групою). Водночас більший ($p < 0,01$) вміст неорганічного фосфору (+14,6 %; $1,91 \pm 0,09$ ммоль/л) підтверджується підвищеною у 2,62 рази ($p < 0,001$) активністю кишкового ізоферменту ЛФ ($406 \pm 14,8$ Од/л; табл. 5).

Проаналізувавши результати біохімічного дослідження сироватки крові курей 133-денного віку, у подальшому поступово зменшили дозу вітаміну D₃ до 2000 МО/кг комбікорму та збільшили кальцію в раціоні до 3,5–3,8 г/100 г комбікорму.

Таблиця 5 – Активність лужної та кислій фосфатаз у сироватці крові курей-несучок різного віку під впливом Ровіміксу D₃ 500 (n=10)

Показник	Група	Вік птиці, діб			
		120	133	145	200
Лужна фосфатаза, Од/л	Дослід	1107±63,3	966±21,9 ^o	718±18,4 *** ^{ooo}	769±40,5
	Контроль	1029±60,6	982±34,8	923±41,0	815±35,1
Кістковий ізофермент ЛФ, Од/л	Дослід	906±46,7	599±17,7 *** ^{ooo}	527±15,1 *** ^{oo}	665±37,6 ^{oo}
	Контроль	851±37,9	840±26,2	826±23,9	648±41,4
Кишковий ізофермент ЛФ, Од/л	Дослід	216±28,5	406±14,8 *** ^{ooo}	275±14,3 *** ^{ooo}	137±7,22 *** ^{ooo}
	Контроль	182±21,0	155±21,3	114±16,1	184±13,2
Кисла фосфатаза, Од/л	Дослід	19,1±2,65	15,3±0,7	10,1±0,32 *** ^{ooo}	16,1±1,04 ^{ooo}
	Контроль	17,2±1,31	17,5±1,17	19,8±1,42	15,5±1,44

Примітки: 1) * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001 щодо показника групи контролю;

2) ^o – p<0,05; ^{oo} – p<0,01; ^{ooo} – p<0,001 порівняно з попереднім показником.

У 145 та 200 діб вміст ультрафільтрованого кальцію продовжував зростати і його частка у загальній кількості складала 84,6±1,13 і 86,1±1,17 % (p<0,001 порівняно з контролем).

На відновлення фосфорно-кальцієвого обміну вказує підвищення (+13,8 %) вмісту неорганічного фосфору у курей дослідної групи (1,88±0,04 ммоль/л; p<0,05 порівняно з контролем). Активність кісткового ізоферменту ЛФ вірогідно зменшувалася, порівняно з попереднім значенням, і була на 36,2 % меншою (527,0±15,1 Од/л; p<0,001), ніж у контролі. Знижувалася, відносно попереднього показника, також кишкова фракція ЛФ, проте її активність (275,0±14,3 Од/л) була вірогідно більшою (p<0,05), порівняно з групою птиці, раціон яких залишався без змін. Підвищення вмісту фізіологічно активної фракції кальцію та неорганічного фосфору на фоні зниження активності кісткового ізоферменту ЛФ вказує на відновлення транспорту цих макроелементів в кишковоки та депонування в скелеті птиці.

У другому досліді вивчали профілактичну ефективність водорозчинної форми препарату вітамінів А, D₃ та Е – Гідровіт.

Клінічне дослідження і відбір крові проводили у момент пересадки птиці з цеху молодняка у цех промислового стада (вік птиці 80–110 днів) та у віці 190 діб. Курям-несучкам дослідної групи водорозчинну форму вітамінів А, D₃ та Е випоювали у віці 80- та 120-ти діб у дозі 20 мл на 100 л води. За такої дози на

одну курку-несучку приходилось 1000 МО холекальциферолу. Вітаміни у кожному випадку задавали упродовж двох тижнів.

Проведені клінічні дослідження птиці 80-, 130- та 180-добового віку показало, що загальний стан у птиці задовільний, оперення рівне, гладеньке, шкіра борідок та гребеня рожевого кольору, еластична. Слизова оболонка ротової порожнини, гортані та переднього відділу трахеї без нашарувань. Дзьоб та грудна кістка не деформовані, лапи не викривлені.

У сироватці крові курей 80-денного віку дослідної групи вміст загального, ультрафільтрованого та зв'язаного з білками крові кальцію становив $4,53 \pm 0,17$; $3,85 \pm 0,04$ та $0,68 \pm 0,22$ ммоль/л відповідно, неорганічного фосфору – $1,88 \pm 0,12$ ммоль/л. Активність загальної лужної фосфатази (ЛФ) та її кісткового і кишкового ізоферментів складала $382 \pm 21,7$; $323 \pm 35,7$; та $63 \pm 41,2$ Од/л. У птиці контрольної групи вірогідної різниці між цими показниками не спостерігали. У віці 130 діб, через тиждень після посадки птиці в цех промислового виробництва, у сироватці крові курей дослідної групи вміст загального і ультрафільтрованого кальцію був вірогідно ($p < 0,001$) більшим – $6,93 \pm 0,09$ та $5,75 \pm 0,14$ ммоль/л відповідно, порівняно з показниками контрольної групи ($6,23 \pm 0,11$ і $5,31 \pm 0,09$ ммоль/л). Концентрація білокзв'язаної форми кальцію мала тенденцію до підвищення і становила $1,18 \pm 0,07$ ммоль/л. Активність загальної ЛФ становила $529,0 \pm 20,3$ Од/л, її кісткового ізоферменту – на 12,5 % більша ($478 \pm 33,6$ Од/л).

У птиці 190-денного віку дослідної групи вміст ультрафільтрованого кальцію в сироватці крові був на 9 % меншим, порівняно з показником групи контролю і складав $4,24 \pm 0,09$ ммоль/л – 78 % від його загального вмісту ($p < 0,001$). У цей час спостерігали зниження активності кісткового ізоферменту ЛФ – $343 \pm 27,3$ Од/л, проти $456 \pm 30,2$ Од/л у контролі. Активність кишкового ізоферменту мала тенденцію до підвищення. Рівень неорганічного фосфору в курей дослідної та контрольної груп не мав вірогідної різниці упродовж всього періоду, але в межах груп спостерігали поступове його зниження.

Таким чином, додаткове введення препарату Ровімікс D₃ 500 курям-несучкам у дозі 3800 МО упродовж 120 – 133-ї діб вірогідно ($p < 0,001$) збільшувало (порівняно з групою контролю) вміст ультрафільтрованої фракції кальцію на кожний відбір крові (133, 145, 195 та 280-а доби). Водночас вживання водорозчинної форми препаратів вітамінів А, D₃ та Е у віці 80 та 120 діб зменшує ($p < 0,001$) концентрацію ультрафільтрованого кальцію у птиці 190-денного віку (– 34,7 %).

Підсумовуючи результати клініко-біохімічних досліджень, можна зробити висновок, що зміни активності кісткового та кишкового ізоферментів лужної фосфатази є одним із ранніх інформативних тестів, які свідчать про порушення вітамінно-мінерального обміну і, поряд із визначенням фракційного складу кальцію, дають можливість контролювати ефективність лікувально-профілактичних заходів.

ВИСНОВКИ

1. У роботі експериментально обґрунтована фізіологічна гіперкальціємія в курей-несучок під час яйцекладки. За вмістом активного метаболіту вітаміну D₃ – 25ОНD₃ встановлений критичний період яйцекладки у птиці. Вивчена динаміка фракційного складу кальцію та активності кісткового і кишкового ізоферментів ЛФ, що дало змогу встановити їх інформативність для ранньої діагностики порушень обміну кальцію, фосфору та вітаміну D₃. На основі проведених досліджень апробовані дві схеми профілактики порушень фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного обмінів у курей-несучок.

2. Вміст загального, ультрафільтрованого, нейтрального і білокзв'язаного кальцію з початком яйцекладки збільшується, порівняно з предкладковим періодом (90 діб), відповідно, у 2,53; 2,79; 7,11 та в 1,93 рази і становить 6,25±0,53; 5,24±0,42; 3,77±0,41 і 1,04±0,13 ммоль/л, залишається стабільним до 410-добового віку. Зі зниженням продуктивності вміст загального, ультрафільтрованого і особливо нейтрального кальцію зменшується до 3,93±0,20 2,14±0,15 і 0,96±0,13 ммоль/л у 520-добової птиці. Рівень іонізованого кальцію залишається стабільним у птиці з 90 до 480-добового віку.

3. Вміст неорганічного фосфору в сироватці крові курей-несучок більш стабільний, порівняно з кальцієм: з початком продуктивного періоду він зростає на 30,3 % (1,91±0,08 ммоль/л), на піку яйцекладки на 284-у добу вірогідно (p<0,05) зменшується до 1,64±0,05 ммоль/л і в подальшому підтримується на стабільному рівні.

4. Паралельно зі збільшенням вмісту кальцію у сироватці крові курей-несучок зростає концентрація естрадіолу, яка у 150-добової птиці становила 581±45,4 нмоль/л (на 66,4 % більше, ніж у 90-добової), 284-добової – 817±16,5 нмоль/л, що свідчить, напевно, про стимулювальний вплив його на синтез у печінці ліпофосфопротеїнових комплексів, які під час яйцекладки є транспортною формою іонів кальцію. Вплив естрогенів на фізіологічну гіперкальціємію в курей-несучок підтверджується позитивним коефіцієнтом кореляції середнього ступеня, який встановлений між концентрацією естрадіолу, нейтральною та білокзв'язаною формами кальцію (r=0,63 і r=0,72 відповідно).

5. Концентрація кальцитоніну в сироватці крові курей-несучок з 90 до 284-добового віку залишається стабільною (8,23±0,36 – 8,77±0,12 пг/мл) і не корелює зі змінами загального кальцію та його окремих фракцій. Стабільність кальцитоніну, очевидно, є необхідною для формування і підтримання структури кісткової тканини.

6. Динаміка тироксину у курей-несучок характеризується зниженням його концентрації з наростанням продуктивності: 5,84±0,57 – у 90-добовому віці; 3,28±0,65 нмоль/л – у 150- і 0,71±0,07 нмоль/л – у 284-добовому. Вміст трийодтироніну (Т₃) зменшувався у 150-добової птиці у 3,8 рази, порівняно з 90-добовою, а потім зростав до 1,3±0,08 нмоль/л (p<0,001) на піку яйцекладки. Очевидно, Т₃ є основним йодовмісним гормоном щитоподібної залози у курей.

7. Встановлена добова динаміка показників, що характеризують стан фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного обміну в курей-несучок кросу Мориньї.

7.1. Вміст загального та ультрафільтрованого кальцію найвищий з 14- до 21-ї години ($7,96 \pm 0,37$ і $7,0 \pm 0,35$ ммоль/л, відповідно) з наступним зниженням ($p < 0,05$) до $6,62 \pm 0,33$ і $5,75 \pm 0,28$ ммоль/л о 3.00 год.

7.2. У проміжку найвищої кальціємії (о 18.00) встановлена максимальна активність кісткового ізоферменту ЛФ ($198,0 \pm 16,7$ Од/л; $p < 0,01$, порівняно з $165 \pm 19,6$ Од/л о 14.00), що свідчить про участь кісткової тканини у процесі вивільнення необхідної кількості іонообмінної фракції кальцію для побудови шкаралупи яйця. Активність кишкового ізоферменту найвищою була о 21.00 ($129,0 \pm 14,9$ Од/л), що зумовило максимальне зростання вмісту неорганічного фосфору ($2,24 \pm 0,05$ ммоль/л) опівночі (00.00 год).

8. За експериментально спричиненого D₃-гіповітамінозу в курей-несучок на початку продуктивного періоду (130–195-а доби) найбільше діагностичне значення має визначення в сироватці крові вмісту неорганічного фосфору, активності ЛФ та її кісткового і кишкового ізоферментів. Концентрація неорганічного фосфору зменшувалася на 195-у добу в 1,33 раза ($p < 0,001$), порівняно з групою контролю та в 1,5 раза проти початкового рівня. Активність ЛФ та її кісткового ізоферменту збільшувалася відповідно в 1,35 та 1,64 рази, порівняно з початком досліду, і була вірогідно ($p < 0,05$ і $p < 0,001$) вищою, ніж у контролі. Підвищення (+18,4 %; $p < 0,05$) гідролазної дії КФ у курей 280-денного віку та активності кісткового ізоферменту ЛФ вказує на виснаження компенсаторних можливостей медулярної тканини кістки внаслідок порушення рівноваги між процесами її синтезу та остеолізу.

9. 2000 МО вітаміну D₃ на 1 кг комбікорму в раціоні недостатньо для синтезу 25ОНD₃ у 150-добовому віці, оскільки спричиняє зниження рівня іонного кальцію у курей-несучок 284-денного віку на 15 % ($1,25 \pm 0,09$ ммоль/л; $p < 0,05$), а підвищення концентрації 25ОНD₃ до $34,8 \pm 1,55$ нг/мл на 284-у добу не відновлює показники іонної кальціємії.

10. Додаткове вполювання водорозчинної форми вітамінів А, D₃ і Е – Гідровіт упродовж двох тижнів у віці 80 та 110 діб збільшує в 1,08 раза концентрацію ультрафільтрованого кальцію на 130-у добу ($p < 0,01$), а на 195-у – знижує до $4,24 \pm 0,09$ ммоль/л проти $6,49 \pm 0,24$ ммоль/л у контролі ($p < 0,001$), що зумовлено динамікою активності кісткового ізоферменту ЛФ, яка у 130 діб була більшою в 1,49 раза ($p < 0,01$) з наступним зменшенням (195-а доба) в 1,33 раза ($p < 0,01$).

11. Використання гранульованого препарату Ровімікс D₃-500 упродовж 120 – 133-ї діб у дозі 3800 МО/кг комбікорму спричиняє збільшення вмісту неорганічного фосфору у 133-добовій птиці на 14,6 % ($1,91 \pm 0,09$ ммоль/л; $p < 0,001$), 145-добової – на 13,8 % ($1,88 \pm 0,04$; $p < 0,05$), порівняно з показниками у курей контрольної групи, що свідчить про відновлення його транспорту в кишечнику. Підтверджується це зростанням активності кишкового ізоферменту

лужної фосфатази до $406 \pm 14,8$ Од/л (у контролі – $155,0 \pm 21,3$ Од/л; $p < 0,001$).

12. Концентрація ультрафільтрованого кальцію вірогідно ($p < 0,001$) підвищувалась у групі досліду з $2,4 \pm 0,26$ (120-а доба) до $4,75 \pm 0,20$ ммоль/л у 145 діб і по закінченню експерименту (200-а доба) мала тенденцію до підвищення – $6,03 \pm 0,3$ проти $5,48 \pm 0,24$ у контролі. Зменшенням активності кісткового ізоферменту ЛФ у птиці 145-денного віку до $527,0 \pm 15,1$ проти $826,0 \pm 23,9$ Од/л у контролі ($p < 0,001$) вказує на достатню функцію медулярного компонента кісткової тканини, відновлення кальцієвого гомеостазу в організмі курей-несучок і високу профілактичну активність вітаміну D₃ у дозі 3800 МО.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. З метою ранньої діагностики порушень фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного обмінів у передпродуктивний та продуктивний періоди, проводити визначення фракційного складу кальцію (іонізована, нейтральна, білокзв'язана форми) та активності лужної (кістковий, кишковий ізоферменти) і кислої фосфатази.

2. З метою профілактики порушень D-вітамінного і фосфорно-кальцієвого обміну вводити в комбікорм вітамін D₃ із розрахунку 3800 ІО/кг комбікорму, з яких 1800 МО у другу половину дня (після 15.00) упродовж 120 – 133-ї діб.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ

1. Москаленко В.П. Методика прижиттєвого відбору крові у курей-несучок / В.П. Москаленко, А.В. Розумнюк, **А.Ю. Мельник** // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – Вип. 31.– Біла Церква, 2005. – С.62–65. *(Дисертант провів заключний етап досліджень з підбору діаметра ін'єкційної голки).*

2. Мельник А.Ю. Активність кісткового і кишкового ізоферментів лужної фосфатази в курей-несучок у періоди найвищої продуктивності / **А.Ю. Мельник**, В.П. Москаленко // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – Вип. 33 – Біла Церква, 2005. – С. 186–194. *(Дисертант провів біохімічне дослідження сироватки крові, узагальнив результати, підготував статтю до друку).*

3. Мельник А.Ю. Вміст ультрафільтрованого та зв'язаного з білками крові кальцію для оцінки стану кальцієвого та D-вітамінного обмінів у курей-несучок / **А.Ю. Мельник** // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – Вип. 36.– Біла Церква, 2006. – С.100–107. *(Дисертант провів біохімічне дослідження сироватки крові, узагальнив результати, підготував статтю до друку).*

4. Мельник А.Ю. Оцінка кальцієвого обміну в курей-несучок за D-гіповітамінозу / **А.Ю. Мельник** // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – Вип. 40. – Біла Церква, 2006. – С. 186–194.

5. Мельник А.Ю. Добова динаміка деяких показників мінерального обміну в курей-несучок / **А.Ю. Мельник** // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – Вип. 43. – Біла Церква, 2007. – С. 92–98. *(Дисертант провів біохімічне дослідження сироватки крові, узагальнив результати, підготував статтю до друку).*

6. Мельник А.Ю. Діагностика та профілактика порушень фосфорно-кальцієвого та D-вітамінного обміну в курей-несучок / **А.Ю. Мельник** // 36. наук. праць Луган. нац. ун-ту. – Серія „Ветеринарні науки”. – Луганськ, 2005. – №50/73. – С. 408–418. (*Дисертант провів біохімічне дослідження сироватки крові, узагальнив результати, підготував статтю до друку*).

Мельник А.Ю. Клініко-біохімічне обґрунтування методів діагностики та профілактики порушень фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного обмінів у курей-несучок. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.01 – діагностика і терапія тварин. – Білоцерківський національний аграрний університет, Біла Церква, 2008.

Робота включає експериментальне і теоретичне обґрунтування біохімічних показників сироватки крові, які характеризують методи ранньої діагностики та профілактики порушень фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного обмінів у курей-несучок. Вивчено динаміку вмісту фракційного складу кальцію, 25ОНD₃, естрадіолу, прогестерону, кальцитоніну, T₃, T₄, активність ізоферментів лужної фосфатази (кістковий, кишковий) в сироватці крові курей-несучок упродовж продуктивного періоду. За вмістом активного метаболіту вітаміну D₃ – 25ОНD₃ встановлений критичний період яйцекладки відповідно до накопичення та використання мінеральних речовин в організмі. Це дало змогу провести фізіологічну корекцію вітамінно-мінерального живлення під час яйцекладки. За експериментального D-гіповітамінозу визначені найбільш інформативні діагностичні критерії порушень кальцієвого гомеостазу. На підставі проведених досліджень апробовані дві схеми профілактики порушень фосфорно-кальцієвого і D-вітамінного обмінів у курей-несучок. Одержані результати використовуються в науково-дослідній роботі та під час викладання предметів “Клінічна діагностика хвороб тварин”, “Клінічна біохімія”, “Внутрішні хвороби птахів”, “Хімікотоксикологічне дослідження яєць” у Білоцерківському національному аграрному університеті, ПФ “Кримський агротехнологічний університету” НАУ, Житомирському агроекологічному університеті, Львівській національній академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького.

Ключові слова: кальцій, фосфор, вітамін D₃, D-гіповітаміноз, ізоферменти лужної фосфатази.

Мельник А.Ю. Клинико-биохимическое обоснование методов диагностики и профилактики нарушений фосфорно-кальциевого и D-витаминного обменов у кур-несушек. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.01 – диагностика и терапия животных. – Белоцерковский национальный аграрный университет, Белая Церковь, 2008.

В диссертации экспериментально и теоретически обоснованы методы диагностики и профилактики нарушений фосфорно-кальциевого и D-витаминного обменов у кур-несушек.

На основании биохимических исследований установлено, что физиологическая гиперкальциемия у кур на протяжении продуктивного периода сопровождается перераспределением в сыворотке крови отдельных фракций кальция: концентрация ультрафильтрованной, нейтральной и белоксвязанной форм достоверно увеличивается на 150-й с последующим уменьшением в период с 410 по 480-й дни. Относительное содержание нейтральной формы кальция увеличивается на 150-й день до $72,0 \pm 1,53$ % от количества ультрафильтрованной (на 44,7 %), что объясняется повышением ($p < 0,001$) уровня эстрадиола в этот период продуктивного периода, который позитивно коррелировал ($r = 0,63$) с концентрацией нейтрального кальция. Содержание кальцитонина в период 150 и 284-го дня не изменялось, T_3 – уменьшалось (150-й день) с последующим увеличением ($p < 0,001$) на 284-й день, а уровень T_4 и прогестерона снижался. Уровень 25ОНD_3 – в сыворотке крови 90-дневной птицы составлял $16,58 \pm 0,44$ нг/мл, а в 150-дневном выявляли лишь его “следы”. Увеличение его концентрации до $34,8 \pm 1,55$ пг/мл на 284-й день не восстанавливает показателя ионной кальциемии, о чем свидетельствует уменьшение ($p < 0,05$) ионизированного кальция. Повышение (в 2,12 раза) активности общей щелочной фосфатазы (ЩФ) у птицы 150-дневного возраста, в сравнении с предкладковым периодом, совпадает с изменениями концентрации ультрафильтрованной фракции кальция. Происходит это в основном за счет ее костного изофермента (+59,8 %) и в меньшей мере – кишечного. Следует отметить слабую корреляционную связь ($r = 0,42$) между активностью костного изофермента ЩФ у птицы 150-дневного возраста с концентрацией эстрадиола. Гидролазная активность кишечной фракции ЩФ проявляется увеличением уровня неорганического фосфора у птицы 150-дневного возраста ($r = 0,32$). Одновременно с этим происходит увеличение активности кислой фосфатазы в 5,33 раза. Содержание кальция, его фракций, активность щелочной и кислой фосфатаз с возрастом (480 день) достоверно уменьшается.

Установлена суточная динамика показателей фосфорно-кальциевого обмена. Содержание общего и ультрафильтрованного кальция наибольшее с 14 до 21 часа с последующим снижением ($p < 0,05$) в 03.00. В промежутке наибольшей кальциемии (в 18.00) установлена максимальная активность костного изофермента ЩФ ($198,0 \pm 16,7$; Ед/л, по сравнению с $165,0 \pm 19,6$ Ед/л в 14.00). Активность кишечного изофермента ЩФ была наибольшей в 21.00, что обусловило максимальное повышение концентрации неорганического фосфора в полночь (00.00).

Экспериментально воспроизведенный на курах-несушках D_3 -гиповитаминоз (500 МЕ) показал, что активность костного изофермента ЩФ повышается в 1,46 и 1,4 раза ($p < 0,001$) относительно предыдущего и показателя группы контроля уже на 195-й день исследований, а содержание ультрафильтрованной фракции кальция уменьшалось ($p < 0,05$) несколько позже (– 23 %) – на 280-й день. Снижение (в 1,33 раза; $p < 0,001$) уровня неорганического фосфора было установлено на 195 день ($1,24 \pm 0,08$ ммоль/л). Достоверным подтверждением гипофосфатемии была пониженная на 47,2 %, против группы контроля, активность кишечной фракции ЩФ.

Таким образом, для диагностики D₃-гиповитаминоза у кур-несушек в начале продуктивного периода информативным является гипофосфатемия и повышение активности ЩФ особенно ее костного изофермента.

Внесение в комбикорм препарата Ровимикс D₃-500 в дозе 3800 МЕ в период 12 дней позитивно повлияло на фосфорно-кальциевый обмен в организме птицы. Это проявлялось увеличением ($p < 0,01$) в 1,35 раза, относительно группы контроля, физиологически активной фракции кальция у 133-дневных кур-несушек. Достоверно больше содержание этой фракции было отмечено и на 145 день. Уровень неорганического фосфора в сыворотке крови птицы экспериментальной группы (3800 МЕ холекальциферола) 133-дневного возраста увеличивался интенсивнее (+29,3 %) по сравнению с контрольной группой (+11,6 %), о чем свидетельствует повышение активности кишечной фракции ЩФ до $406 \pm 14,8$ Ед/л против $155 \pm 21,3$ Ед/л.

Ключевые слова: кальций, фосфор, витамин D₃, D-гиповитаминоз, изоферменты щелочной фосфатазы.

Melnik A.Y. Clinical and biochemical substantiation of diagnostic and prophylactic methods of disturbances of phosphorus, calcium and vitamin D exchanges in laying hens. – Manuscript

Thesis for reception of scientific degree of candidate of veterinary sciences on speciality 16.00.01 – Diagnostic and Therapy of Animals. – Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, 2008

The dissertation includes experimental and theoretical substantiation of biochemical indexes of blood serum that characterize the methods of early detection and prophylactic of metabolism disturbances of phosphorus, calcium and vitamin D in the laying hens. The dynamics of fractions of calcium, 25OHD₃, estradiol, progesterone, calcitonin, triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄), activity of general alkaline phosphatase and its isoenzymes (bony, intestinal) were studied in blood serum of laying hens over a productive period. Critical period of oviposition according to accumulation and usage of mineral matters in the organism were established using content of active metabolite of vitamin D – 25OHD₃. This gave the possibility to use physiological correction of vitamins and minerals nutrition during oviposition. Most informative diagnostics criteria of disturbance in calcium metabolism with experimental D-hypovitaminosis were determined. On the base of conducted experiments there were proved two prophylactic schemes of phosphorus, calcium and vitamin D metabolism disturbances. Finding results are used in research, scientific work and for teaching disciplines: „Clinical diagnostic of animals diseases” „Clinical biochemistry”, „Internal diseases of poultry”, „Chemicotoxicological investigation of eggs” in Bila Tserkva National Agrarian University, south branch of the NAU, „Crimean Agrotechnological University”, „Zhitomir Agroecological University”, “Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj”.

Key words: calcium, phosphorus, vitamin D₃, D-hypovitaminosis, isoenzymes of alkaline phosphatase.