

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ**

**ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН**

Кваліфікаційна наукова праця

на правах рукопису

**САЧКО СЕРГІЙ РОМАНОВИЧ**

УДК 577.18.02:591.133.2:636.09 / 636.2.034:636.084

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ У КОРІВ ХВОРИХ НА КЕТОЗ**

**І ЇХ КОРЕКЦІЯ ІОНОФОРАМИ, ВІТАМІНОМ Е**

**ТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРАМИ**

211 – Ветеринарна медицина

21 – Ветеринарія

Подається на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

\_\_\_\_\_ С. Р. Сачко

Науковий керівник:

**Вудмаска Ігор Васильович**, доктор сільськогосподарських наук, професор,  
заступник директора з наукової роботи Інституту біології тварин НААН

**ЛЬВІВ- 2024**

## АНОТАЦІЯ

**Сачко С. Р. Метаболічні порушення у корів хворих на кетоз і їх корекція іонофорами, вітаміном Е та гепатопротекторами – Кваліфікаційна освітньо-наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії галузі знань 21 «Ветеринарія» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина». – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2024

Метою дисертаційної роботи було встановлення впливу монензину та біологічно активних речовин шишок хмелю на рубцеву ферментацію, обмін речовин та молочну продуктивність корів, впливу вітаміну Е на ферментацію у рубці, а також ефективності кормової добавки, яка містить шишки хмелю, вітамін Е та захищених від руйнування бактеріями рубця холіну, метіоніну та карнітину для нормалізації метаболізму при лікуванні кетозу молочних корів.

В останні тижні тільності та перші тижні після отелення відбуваються суттєві метаболічні зміни в організмі корів, які викликані зміною гормонального статусу. Відбувається перебудова енергетичного обміну, спостерігається дефіцит глюкози, який компенсується посиленням вивільненням жирних кислот з жирової тканини. Надмірне надходження жирних кислот в печінку викликає її жирове переродження, що пригнічує синтез глюкози та перетворення аміаку в сечовину. При оцінці метаболічного стану корів у транзитний період основну увагу приділяють саме порушенням вуглеводно-ліпідного обміну. Поза увагою залишається такий важливий аспект як інтоксикація аміаком, яка є одним з чинників переродження печінки. Раціон високопродуктивних корів містить велику кількість протеїнових кормів, внаслідок чого зростає утворення аміаку, що створює додаткове навантаження на печінку, викликає патологію паренхіми та знижує її функціональну здатність. Крім того, надлишкове утворення аміаку призводить до менш ефективного використання протеїну кормів.

Основний внесок в утворення аміаку в рубці виконує нечисельна, але метаболічно дуже активна група бактерій гіперпродуцентів аміаку.

Проблема пригнічення життєдіяльності цих бактерій досить широко вивчається у світі, для цього застосовують антибіотики-іонофори. Монензин – іонофорний антибіотик, що продукується грибами *Streptomyces cinnamonensis* і пригнічує життєдіяльність грам-позитивних бактерій. У багатьох країнах монензин використовується у м'ясному скотарстві для підвищення приростів. У годівлі корів монензин застосовують рідко, оскільки знижує жирність молока. Останніми роками з'явилися повідомлення про можливість використання монензину для попередження негативного енергетичного балансу у корів після отелення, внаслідок посилення під його впливом утворення в рубці пропіонату – попередника глюконеогенезу. Монензин збільшує споживання корму, попереджує виникнення ацидозу та алкалозу рубця, зменшує метаноутворення, знижує концентрацію  $\beta$ -гидроксибутирату у крові.

Хоча монензин не всмоктується у травному каналі, у Європейському Союзі його використання у якості кормової добавки заборонене. Важливим напрямом досліджень є пошук шляхів регулювання утворення аміаку в рубці без використання антибіотиків. Шишки хмелю містять речовини, які за антимікробною дією подібні до монензину – пренільовані флороглюциноли (фітоіонофори), що дозволяє розглядати їх як потенційну добавку до раціону корів. Антимікробною дією володіють такі компоненти хмелю як хумулон ( $\alpha$ -кислота), лупулон ( $\beta$ -кислота), ізохумулон та деякі інші мінорні сполуки. Як й інші іонофори, біологічно активні сполуки шишок хмелю блокують транспорт катіонів через мембрани бактерій, порушують синтез полісахаридів бактеріальної мембрани, змінюють трансмембранне перенесення амінокислот. Крім того, поліфеноли шишок хмелю виявляють антиоксидантну дію.

Дослідження дії вказаних сполук на рубцеву ферментацію мають теоретичне і практичне значення для попередження порушень обмін речовин у корів протягом транзитного періоду. Поєднання дії іонофорів та гепатопротекторів забезпечує комплексний захист печінки корів, попереджує

виникнення метаболічних порушень і підвищує молочну продуктивність.

Для реалізації поставленої мети проведено три досліді та виробничу перевірку. У першому досліді використано три групи корів української чорно-рябої молочної породи з продуктивністю за попередню лактацію 6-7 тис. кг молока, по 10 тварин у групі. Перша група служила контролем. Коровам другої групи додавали до раціону монензин у дозі 400 мг на добу. Третя група отримувала борошно з сухих шишок хмелю у кількості 20 г на голову в добу. Дослід тривав протягом трьох тижнів перед та трьох тижнів після отелення.

У другому досліді було задіяно дві групи корів української чорно-рябої молочної породи з продуктивністю за попередню лактацію 6-7 тис. кг молока, по 10 тварин у групі. Перша група служила контролем. Коровам другої групи додавали 20 г сухих подрібнених шишок хмелю та 3,0 г DL- $\alpha$ -токоферолу ацетату на голову в добу. Дослід тривав протягом останніх 3-х тижнів сухостою та перших 3-х тижнів після отелення.

Третій дослід виконано на коровах української чорно-рябої молочної породи. Для досліді підібрано 3 групи корів: з ознаками клінічного кетозу (концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові  $> 3,0$  ммоль/л) – 4 голови; з субклінічним кетозом (концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові 1,3-2,2 ммоль/л) – 10 голів та клінічно здорові (концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові 0,2–1,1 ммоль/л) – 10 голів. Хворим на кетоз коровам протягом місяця після отелення до комбікорму додавали лікувально-профілактичну добавку, що містить подрібнені гранули шишок хмелю – 20 г, DL- $\alpha$ -токоферолу ацетат – 3 г, та захищені від розщеплення у рубці холін – 50 г, метіонін – 20 г, і карнітин – 1 г. Клінічно здорові корови слугували контролем.

Додавання до раціону монензину та шишок хмелю призвело до зниження протеолітичної активності вмісту рубця та зменшення концентрації аміаку, лактату і летких жирних кислот у ньому ( $p < 0,05-0,01$ ). Монензин знизив рН вмісту рубця з 7,09 до 6,86 ( $p < 0,05$ ), а шишки хмелю до 6,99. У плазмі крові зростала концентрація глюкози, зменшувалась концентрація кетонових тіл ( $p < 0,05$ ), сечовини та неестерифікованих жирних кислот ( $p < 0,05-0,01$ ).

Додавання до раціону корів монензину збільшило добовий надій корів з 22,3 до 24,5 кг. Шишки хмелю на показники молочної продуктивності не вплинули.

Введення до раціону корів шишок хмелю та вітаміну Е вплинуло на перебіг рубцевої ферментації: відбувалась стимуляція целюлозолітичної та пригнічення протеолітичної активності ( $p < 0,01$ ). Унаслідок вищої целюлозолітичної активності у вмісті зростала концентрація летких жирних кислот. Зниження протеолітичної активності призвело до зменшення концентрації аміаку в рубці ( $p < 0,05$ ). При цьому кількість мікробного азоту у вмісті рубця корів дослідної групи помірно зросла, що вказує на відсутність негативної дії добавки на мікрофлору в цілому. У крові корів до отелення досліджувана кормова добавка знижувала концентрацію продуктів пероксидного окиснення ( $p < 0,05$ ), не впливаючи на інші показники. Після отелення — у крові корів дослідної групи виявлено зростання концентрації глюкози ( $p < 0,05$ ), триацилгліцеролів ( $p < 0,05$ ), ефірів холестеролу ( $p < 0,05$ ) та зниження концентрації  $\beta$ -гідроксибутирату ( $p < 0,05$ ), летких жирних кислот ( $p < 0,05$ ), гідропероксидів ліпідів ( $p < 0,05$ ), ТБКАП ( $p < 0,05$ ). Отже, введення до раціону корів протягом транзитного періоду 3,0 г DL- $\alpha$ -токоферолу ацетату та 20 г/добу сухих шишок хмелю стимулює синтез глюкози печінкою, зменшує інтенсивність вивільнення жирних кислот з жирової тканини, пригнічує процеси пероксидного окиснення та знижує концентрацію кетонових тіл у крові.

Введення до комбікорму корів із симптомами клінічного кетозу лікувально-профілактичної добавки, що містила подрібнені гранули шишок хмелю – 20 г, DL- $\alpha$ - токоферол – 3 г та захищені від розщеплення у рубці холін – 20 г, метіонін – 20 г, і карнітин – 1 г призвело до зниження в крові концентрації  $\beta$ -гідроксибутирату з 4,58 ммоль/л на початку досліду до 2,78 ммоль/л наприкінці досліду ( $p < 0,01$ ). Зменшилась кількість неестерифікованих жирних кислот ( $p < 0,05$ ) і ТБК активних продуктів ( $p < 0,05$ ). Спостерігалось зростання концентрації глюкози з 1,95 до 2,93 ммоль/л ( $p < 0,01$ ). Відбулися зміни активності ензимів крові. Зокрема, стали нижчими активності аспаратамінотрансферази, лужної фосфатази, лактатдегідрогенази ( $p < 0,01$ ).

У крові корів із субклінічним кетозом під впливом добавки знизилась концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату з 1,65 до 1,06 ммоль/л ( $p < 0,001$ ), неестерифікованих жирних кислот ( $p < 0,001$ ), сечовини ( $p < 0,05$ ), ТБК активних продуктів ( $p < 0,05$ ). Відбулось зростання концентрації глюкози з 2,05 до 2,69 ммоль/л ( $p < 0,001$ ). Також виявлено зміни активності ензимів крові: знизилась активність аспартатамінотрансферази, лужної фосфатази та лактатдегідрогенази ( $p < 0,05$ ).

У контрольних корів протягом дослідного періоду також виникли певні зміни метаболічного профілю крові, пов'язані зі зміною фізіологічного стану внаслідок початку лактації. При порівнянні показників на початку і у кінці дослідження виявлено збільшення концентрації глюкози ( $p < 0,05$ ) та зменшення концентрації неестерифікованих жирних кислот ( $p < 0,001$ ) і ТБК активних продуктів ( $p < 0,05$ ).

Лікувально-профілактична добавка, що містить подрібнені гранули шишок хмелю, вітамін Е та захищені від розщеплення у рубці холін, метіонін і карнітин знижує концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату та збільшує концентрацію глюкози в крові корів після отелення. У корів з субклінічною формою кетозу спостерігається нормалізація показників крові, а у хворих на клінічний кетоз корів захворювання переходить у субклінічну форму. Вказана кормова добавка може застосовуватись для профілактики метаболічних порушень у корів після отелення.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше виконано порівняльне дослідження метаболічної дії іонофорного антибіотика монензину і біологічно активних сполук шишок хмелю на рубцеву ферментацію, біохімічні показники крові з акцентуванням уваги на продукування кетонових тіл та показники, які характеризують оксидативний стрес і стан печінки у корів молочного напрямку продуктивності наприкінці тільності та на початку лактації. Встановлено наявність у шишок хмелю властивостей близьких до дії монензину. Уперше показано доцільність спільного використання шишок і вітаміну Е для покращення ферментації у рубці корів, зниження утворення кетонових тіл та

покращення показників крові корів у перший тиждень після отелення, коли для них характерний напружений обмін речовин викликаний негативним енергетичним балансом. Вперше встановлено ефективність застосування шишок хмелю у комплексі з вітаміном Е та гепатопротекторами для профілактики і лікування кетозу корів. Показано, що запропонована комплексна кормова добавка позитивно впливає на обмін речовин корів хворих на субклінічний кетоз і частково попереджує негативні прояви клінічного кетозу.

**Практичне значення одержаних результатів.** Запропонована лікувально-профілактична кормова добавка може бути використана у комплексі з традиційними методами лікування кетозу для більш повного охоплення різних аспектів порушення обміну речовин у корів при цьому метаболічному захворюванні. Результати досліджень метаболічної дії шишок хмелю можуть застосовані для створення інших лікувальних препаратів для заміни кормових антибіотиків іонофорного типу.

**Ключові слова:** корови, кетоз, монензин, шишки хмелю, вітамін Е, метіонін, холін, карнітин, вміст рубця, кров, молоко, біохімічні показники

## **SUMMARY**

**Sachko S. R. Metabolic disorders in cows with ketosis and their correction with ionophores, vitamin E and hepatoprotectors - Qualification scientific paper with manuscript rights.**

**Dissertation for the scientific degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 21 “Veterinary Medicine”, specialty 211 “Veterinary Medicine” - Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, 2024.**

The aim of the dissertation was to establish the effect of monensin and biologically active substances of hop cones on rumen fermentation, metabolism and milk productivity of cows, the effect of vitamin E on fermentation in the rumen, as well as the effectiveness of a feed supplement containing hop cones, vitamin E and protected from destruction by rumen bacteria choline, methionine and carnitine for normalization of metabolism at the treatment of ketosis in dairy cows.

In the last weeks of pregnancy and the first weeks after calving, significant metabolic changes occur in the body of cows, which are caused by changes in the hormonal status. There is a restructuring of energy metabolism; there is a deficit of glucose, which is compensated by the increased release of fatty acids from adipose tissue. Excessive intake of fatty acids by the liver causes its fatty degeneration, which suppresses the synthesis of glucose and conversion of ammonia into urea. When assessing the metabolic state of cows during the transit period, the main attention is paid to the violation of carbohydrate-lipid metabolism. Such an important aspect as ammonia intoxication, which is one of the factors of liver degeneration, remains overlooked. The diet of highly productive cows contains a large amount of protein feed, because of which the formation of ammonia increases, which creates an additional load on the liver, causes pathology of the parenchyma and reduces its functional capacity. In addition, excessive formation of ammonia leads to less efficient use of feed protein.



A small but metabolically very active group of bacteria called hyper-ammonia-producing bacteria (HAB) makes the main contribution to the formation of ammonia in the rumen. The problem of suppressing of vital activity of these bacteria is widely studied in the world, for this purpose antibiotics-ionophores are used. Monensin is an ionophore antibiotic produced by *Streptomyces cinnamonensis* fungi and it inhibits the activity of gram-positive bacteria. In many countries, monensin is used in beef cattle breeding to increase growth. In feeding cows, monensin is rarely used, because it reduces the fat content in milk. In recent years, there have been reports about the possibility of using monensin to prevent negative energy balance in cows after calving, due to increasing in the rumen the formation of propionate, a precursor of gluconeogenesis. Monensin increases feed intake, prevents rumen acidosis and alkalosis, reduces methane formation, and lowers the concentration of  $\beta$ -hydroxybutyrate in the blood.

Although monensin is not absorbed in the digestive tract, its use as a feed additive is prohibited in the European Union. An important direction of research is the search for ways to regulate the formation of ammonia in the rumen without the use of antibiotics. Hop cones contain substances that are similar to monensin in their antimicrobial effect - prenylated phloroglucinols (phytoionophores), which allows them to be considered as a potential supplement to the diet of cows. Such hop components as humulone ( $\alpha$ -acid), lupulone ( $\beta$ -acid), isohumulone and some other minor compounds have an antimicrobial effect. Like other ionophores, biologically active compounds of hop cones block the transport of cations through bacterial membranes, disrupt the synthesis of bacterial membrane polysaccharides, and change the transmembrane transfer of amino acids. In addition, polyphenols of hop cones have an antioxidant effect.

Studies of the effect of these compounds on ruminal fermentation are of theoretical and practical importance for the prevention of metabolic disorders in cows during the transition period. The combination of the ionophores and hepatoprotectors provides comprehensive protection of the cow's liver prevents the occurrence of metabolic disorders and improves milk productivity.

To realize that goal, three experiments and a trial on the farm were conducted. In the first experiment, three groups of cows of the Ukrainian black-white dairy breed were used with yields of 7 thousand kg of milk during the previous lactation, 10 animals in the group. The first group were a control. The cows of the second group were given monensin in a dose of 400 mg per day. The third group received ground granules of dry hop cones for 20 g per cow a day. The experiment lasted for three weeks before and three weeks after calving.

In the second experiment, two groups of cows of the Ukrainian black-white dairy breed with a productivity of 6-7 thousand kg of milk during the previous lactation, 10 animals in the group, were involved. The first group were a control. The cows of the second group were given 20 g of ground granules of hop cones and 3.0 g of DL- $\alpha$ -tocopherol acetate per cow per day. The experiment continued during the last 3 weeks of dry period and the first 3 weeks after calving.

The third experiment was performed on cows of the Ukrainian black-white dairy breed. Three groups of cows were selected for the experiment: with signs of clinical ketosis ( $\beta$ -hydroxybutyrate concentration in the blood  $> 3.0$  mmol/l) – four cows; with subclinical ketosis ( $\beta$ -hydroxybutyrate 1.3-2.2 mmol/l) – 10 cows and clinically healthy ( $\beta$ -hydroxybutyrate concentration in the blood 0.2–1.1 mmol/l) – 10 cows. Cows suffering from ketosis, within a month after calving was added daily to the combined feed a therapeutic and preventive diet additive containing ground granules of hop cones - 20 g, DL- $\alpha$ -tocopherol acetate - 3 g, and rumen-protected choline - 50 g, methionine - 20 g and carnitine - 1 g. Healthy cows were as controls.

Addition of monensin or hop cones to the diet cows led to a decrease in the proteolytic activity of the ruminal fluid and a decrease in the concentration of ammonia, lactate and volatile fatty acids in it ( $p < 0.05-0.01$ ). Monensin reduced the pH of rumen content from 7.09 to 6.86 ( $p < 0.05$ ), and hop cones do it to 6.99. In the blood plasma increased the concentration of glucose, and decreased the concentration of ketone bodies ( $p < 0.05$ ), urea and non-esterified fatty acids ( $p < 0.05-0.01$ ). Addition of monensin increased the daily milk yields of cows from 22.3 to 24.5 kg. Hop cones did not affect milk productivity.

The adding of hop cones and vitamin E into the cow's diet affected the course of ruminal fermentation: cellulolytic activity was stimulated and proteolytic activity was inhibited ( $p < 0.01$ ). Because of the higher cellulolytic activity in the rumen, the concentration of volatile fatty acids increased. A decrease in proteolytic activity led to a decrease in ammonia concentration in the rumen ( $p < 0.05$ ). At the same time, the amount of microbial nitrogen in the rumen content of the experimental group cows increased moderately, which indicates the absence of a negative effect of the additive on the rumen bacteria as a whole. In the blood before calving, the studied feed additive reduced the concentration of peroxide oxidation products ( $p < 0.05$ ), without affecting other indicators. After calving there were found an increase in the concentration of glucose ( $p < 0.05$ ), triacylglycerols ( $p < 0.05$ ), cholesterol esters ( $p < 0.05$ ) and a decrease in the concentration of  $\beta$ -hydroxybutyrate ( $p < 0.05$ ) volatile fatty acids ( $p < 0.05$ ), lipid hydro peroxides ( $p < 0.05$ ), TBARS ( $p < 0.05$ ) in the blood of the cows of the experimental group.

Therefore, the addition into the diet of cows during the transition period of 3.0 g/day DL- $\alpha$ -tocopherol acetate and 20 g/day of dry hop cones stimulates the synthesis of glucose by the liver, reduces the intensity of fatty acids release from adipose tissue, suppresses the processes of peroxidation and reduces the concentration of ketone bodies in the blood.

Adding to cows with clinical ketosis a therapeutic-preventive supplement containing ground granules of hop cones - 20 g, DL- $\alpha$ -tocopherol - 3 g and protected forms of choline - 20 g, methionine - 20 g, and carnitine - 1g decreased the concentration of  $\beta$ -hydroxybutyrate from 4.58 to 2.78 mmol/l ( $p < 0.01$ ), non-esterified fatty acids ( $p < 0.05$ ) and TBARS ( $p < 0.05$ ) in the cows blood.

An increase in glucose concentration from 1.95 to 2.93 mmol/l ( $p < 0.01$ ) was observed. There were changes in the activity of blood enzymes. In particular, the activities of aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, and lactate dehydrogenase became lower ( $p < 0.01$ ).

In the blood of cows with subclinical ketosis under the influence of the supplement, the concentration of  $\beta$ -hydroxybutyrate decreased from 1.65 to 1.06

mmol/l ( $p < 0.001$ ) and lowered concentrations of non-esterified fatty acids ( $p < 0.001$ ), urea nitrogen ( $p < 0.05$ ) and TBARS active products ( $p < 0.05$ ). There was an increase in glucose concentration from 2.05 to 2.69 mmol/l ( $p < 0.001$ ). Changes in the activity of blood enzymes also detected: the activity of aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, and lactate dehydrogenase decreased ( $p < 0.05$ ).

During the experimental period in the healthy cows also observed certain changes in the metabolic profile of the blood, associated with a change in the physiological state due to the onset of lactation. When comparing the indicators at the beginning and at the end of the experiment, an increase in the concentration of glucose ( $p < 0.05$ ) and a decrease in the concentration of non-esterified fatty acids ( $p < 0.001$ ) and TBC active products ( $p < 0.05$ ) were found.

A therapeutic-preventive supplement containing crushed granules of hop cones, vitamin E and choline, methionine and carnitine protected from cleavage in the rumen reduces the concentration of  $\beta$ -hydroxybutyrate and increases the concentration of glucose in the blood of cows after calving. In cows with a subclinical ketosis, normalization of blood parameters observed, and in cows with clinical ketosis, the disease passes into a subclinical form. This feed supplement can be used to prevent metabolic disorders in cows after calving.

**Scientific novelty of the obtained results.** For the first time, a comparative study of the metabolic effect of the ionophore antibiotic monensin and biologically active compounds of hop cones on ruminal fermentation, biochemical indicators of blood with an emphasis on the production of ketone bodies and indicators characterizing oxidative stress and the state of the liver in dairy cows of productivity at the end of pregnancy and at the beginning of lactation was performed. It has been established that hop cones have properties close to the action of monensin. For the first time, the expediency of simultaneous use of cones and vitamin E was shown to improve fermentation in the rumen of cows, reduce the formation of ketone bodies and improve the blood parameters of cows in the first week after calving, when they are characterized by a tense metabolism caused by a negative energy balance. For the first time, the effectiveness of the use of hop cones in combination with vitamin E and

hepatoprotectors for the prevention and treatment of ketosis in cows was established. It is shown that the proposed complex feed supplement has a positive effect on the metabolism of cows suffering from subclinical ketosis and partially prevents the negative manifestations of clinical ketosis.

**Practical significance of the obtained results.** The proposed therapeutic and preventive feed supplement can be used in combination with traditional methods of treating ketosis to more fully covering various aspects of metabolic disorders in cows with this metabolic disease. The results of research on the metabolic action of hop cones can be used to create other medicinal products to replace ionophores-type feed antibiotics.

**Key words:** cows, ketosis, monensin, hop cones, vitamin E, methionine, choline, carnitine, rumen content, blood, milk, biochemical indices

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ

### Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Вудмаска, І. В., Сачко, С. Р., Гудима, В. Ю., Голова, Н. В., & Пахолків, Н. І. (2019). Вплив шишок хмелю і вітаміну Е на рубцеву ферментацію у корів після отелення. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин НААН*, 20(2), 42–47. <https://doi.org/10.36359/scivp.2019-20-2.05>  
(Здобувач визначив ензиматичну активність вмісту рубця, статистично опрацював отримані результати, брав участь у написанні статті).
2. Вудмаска, І. В., Сачко, С. Р., Петрук, А. П., Пахолків, Н. І., Гудима, В. Ю., & Скорохід, А. В. (2019). Корекція біохімічних показників крові корів у перед- і післяотельний періоди шишками хмелю та вітаміном Е. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, серія: Ветеринарні науки*, 21(95), 117–121. <https://doi.org/10.32718/nvlvet9522>  
(Здобувач провів дослід, статистично опрацював результати, брав участь у написанні статті).
3. Vudmaska, I., Petrukh, I., Sachko, S., Vlizlo, V., Kosenko, Y., Kozak, M., & Petruk, A. (2021). Using hop cones, vitamin E, methionine, choline and carnitine for treatment of subclinical ketosis in transition dairy cows. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 9(1): 55–62. <http://doi.org/10.17582/journal.aavs/2021/9.1.55.62>  
(Здобувач провів дослід, визначив активність езимів і вміст гормонів у крові, статистично опрацював результати, брав участь у написанні статті).
4. Сачко, С. Р., Вудмаска, І. В., Невоструєва, І. В., Сачко, Р. Г., & Петрук, А. П. (2021). Вплив шишок хмелю і вітаміну Е на кетогенез та антиоксидантний статус корів. *Біологія тварин*, 23(2), 37–40. <https://doi.org/10.15407/animbiol23.02.037>  
(Здобувач провів дослід, визначив концентрацію кетонових тіл у крові, статистично опрацював результати, брав участь у написанні статті).

5. Сачко, С. Р. (2023). Вплив лікувально-профілактичної кормової добавки на рубцеву ферментацію хворих на кетоз корів. *Біологія тварин*, 25(1), 39–45. <https://doi.org/10.15407/animbiol25.01.039>

(Здобувач виконав експериментальні дослідження, статистично опрацював отримані дані, написав статтю).

#### **Оглядова стаття за темою дисертації:**

6. Vudmaska, I., Salyha, Yu., & Sachko, S. (2024). Ionophore antibiotics and hop cones as regulators of digestion and metabolism in ruminants. *Studia Biologica*, 18(1), 155–170. <http://doi.org/10.30970/sbi.1801.759>

(Здобувач брав участь в опрацюванні літератури і написанні оглядової статті).

#### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

7. **Sachko, S.**, & Vudmaska, I. (2019). Use of hop cones and vitamin E to prevent metabolic disorders in transition dairy cows. *Proceedings of the XIX Middle-European Vniatrics Congress*, May 22–25, 2019, Lviv (Ukraine), *The Animal Biology*, 21(2), 132. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2019\\_21\\_2\\_76](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2019_21_2_76)

(Здобувач виконав експериментальні дослідження, статистично опрацював отримані дані, брав участь у написанні тез)

8. **Сачко, С.** (2019). Використання шишок хмелю для регулювання рубцевої ферментації та профілактики метаболічних порушень у корів. *Матеріали XVIII Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених*, 5–6 грудня 2019 р., Львів (Україна), *Біологія тварин*, 21(3), 149. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2019\\_21\\_3\\_71](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2019_21_3_71)

(Здобувач виконав експериментальні дослідження, статистично опрацював отримані дані, написав статтю тези).

9. **Сачко, С.** (2020). Застосування шишок хмелю та гепатопротекторів для лікування субклінічного кетозу корів. *Матеріали XIX Всеукраїнської науково-практичної конференції «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології*,

*тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченої 90-річчю від дня народження Яновича Вадима Георгійовича (1930–2011), 3–4 грудня 2020 р., Львів (Україна), Біологія тварин, 22(4), 100. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2020\\_22\\_4\\_81](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2020_22_4_81)*

(Здобувач провів дослід, визначив концентрацію кетонових тіл у крові, статистично опрацював результати, брав участь у написанні тез).

10. **Sachko, S., & Vudmaska, I.** (2021). Effect of hop cones and vitamin E on ketogenesis and some blood parameters in transition dairy cows. *The 1<sup>st</sup> Ukrainian-Polish Scientific forum Agrobioprospectives*, 29–30 September 2021, Lviv, *The Animal Biology*, 23(3), 99. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2021\\_23\\_3\\_95](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2021_23_3_95)

(Здобувач провів дослід, визначив концентрацію кетонових тіл у крові, статистично опрацював результати, брав участь у написанні тез).

11. **Сачко, С. Р.,** Петрук, А. П., & Вудмаска І. В. Регуляція ензиматичної активності бактерій рубця корів іонофорами. *Матеріали XII Українського біохімічного конгресу*, 30 вересня – 4 жовтня 2019 р., Тернопіль (Україна), *Медична та клінічна хімія*, 21(3), 322.

(Здобувач визначив ензиматичну активність вмісту рубця, брав участь у написанні тез).

12. **Сачко, С., & Пахолків, Н.** (2022). Застосування монензину для профілактики кетозу корів у транзитний період. *Матеріали XX Всеукраїнської науково-практичної конференції «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченої 90-річчю від дня народження Макара Івана Арсентійовича, 19 травня 2022 р. Львів (Україна), Біологія тварин, 24(2), 65. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2022\\_24\\_2\\_50](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2022_24_2_50)*

(Здобувач визначив біохімічні показники у крові, статистично опрацював результати, брав участь у написанні тез).



## ЗМІСТ

<b>АНОТАЦІЯ</b>	2
<b>СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ</b>	14
<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ</b>	19
<b>ВСТУП</b>	20
<b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b>	26
1.1. Загальна характеристика кетозу корів	26
1.2. Лікування та профілактика кетозу корів	29
1.3. Характеристика дії іонофорних антибіотиків	31
1.3.1. Дія іонофорів у рубці корів	32
1.3.2. Особливості дії монензину на рубцеву ферментацію	34
1.3.3. Вплив монензину на обмін речовин в організмі корів	36
1.3.4. Вплив монензину на молочну продуктивність корів	38
1.3.5. Особливості застосування монензину	38
1.4. Біологічна активність сполук шишок хмелю	39
1.4.1. Протимікробна дія компонентів шишок хмелю	40
1.4.2. Інші біологічні активності сполук шишок хмелю	43
1.5. Дія вітаміну Е на ферментацію у рубці	45
1.6. Гепатопротектори	46
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ</b>	48
2.1. Схема досліджень	48
2.2. Методи дослідження	52
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ</b>	70
3.1. Порівняльна дія монензину та шишок хмелю на обмін речовин у корів	70
3.1.1. Вплив на ферментацію у рубці	70
3.1.2. Вплив на показники крові	72
3.1.3. Вплив на молочну продуктивність	73

3.2.	Вплив спільної дії шишок хмелю та вітаміну Е на обмін речовин у корів	86
3.2.1.	Вплив на ферментацію у рубці	86
3.2.2.	Вплив на показники крові	88
3.2.3.	Вплив на молочну продуктивність	99
3.3.	Вплив комплексної лікувально-профілактичної кормової добавки на обмін речовин у хворих на кетоз корів	101
3.3.1.	Вплив на ферментацію у рубці	101
3.3.2.	Вплив на показники крові	107
3.4.	Виробнича перевірка комплексної лікувально-профілактичної протикетозної кормової добавки для корів	123
<b>РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ</b>		126
<b>ВИСНОВКИ</b>		144
<b>ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ</b>		146
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ</b>		147
<b>ДОДАТКИ</b>		185

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

АлАТ – аланінамінотрансфераза

АсАТ – аспартатамінотрансфераза

НЕЖК – неестерифіковані жирні кислоти

ТГ – триацилгліцероли

ЛЖК – леткі жирні кислоти

ГПЛ – гідропероксили ліпідів

ДК – дієнові кон'юганти

ТБК – тіобарбітурова кислота

ТБК-АП – ТБК активні продукти

ЛДГ – лактатдегідрогеназа

ЛФ – лужна фосфатаза

КТ – кальцитонін

ПГ паратгормон

НАВ – бактерії гіперпродуценти аміаку

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Значних збитків молочному скотарству завдають порушення обміну речовин: кетоз, ацидоз, стеатоз. Вказані метаболічні захворювання спостерігаються у значної частини високопродуктивних корів, що призводить до зниження молочної продуктивності, порушення відтворювальної функції, виникнення супутніх патологій [27, 68, 104, 235, 236, 274].

В останні тижні тільності та перші тижні після отелення відбуваються суттєві метаболічні зміни в організмі корів, які викликані зміною гормонального статусу. Відбувається перебудова енергетичного обміну, спостерігається дефіцит глюкози, який компенсується посиленням вивільненням жирних кислот з жирової тканини [162, 225]. Надмірне надходження жирних кислот в печінку викликає її жирове переродження [4, 92, 104, 258], що пригнічує синтез глюкози та перетворення аміаку в сечовину [41, 256]. Вказані особливості метаболізму природні для корів, проте у високопродуктивних тварин прояв цих змін настільки інтенсивний, що часто призводить до патологічних порушень обміну речовин. Разом з тим, вони, значним чином, залежать від кормових факторів, а отже частково можуть бути нівельовані коригуванням раціону [102].

При оцінці метаболічного стану корів у транзитний період основну увагу приділяють саме порушенням вуглеводно-ліпідного обміну [4, 62, 67, 71, 104, 259]. Поза увагою залишається такий важливий аспект як інтоксикація аміаком, яка є одним з чинників переродження печінки [41, 256]. Аміак утворюється в рубці корів при катаболізмі амінокислот бактеріями рубця, після чого він використовується бактеріями для синтезу власних амінокислот, а надлишок — надходить через кров'яне русло в печінку, де перетворюється в сечовину, яка частково повертається у рубець зі слиною, а частково виводиться з сечею [83]. Раціон високопродуктивних корів містить велику кількість протеїнових кормів, внаслідок чого зростає утворення аміаку, що створює додаткове навантаження на печінку, викликає патологію паренхіми та знижує її функціональну здатність.

Основний внесок в утворення аміаку в рубці виконує нечисельна, але

метаболічно дуже активна група бактерій гіперпродуцентів аміаку [139]. Проблема пригнічення життєдіяльності цих бактерій досить широко вивчається у світі, проте для цього застосовують антибіотик-іонофор монензин [110, 114, 205].

Монензин — природний антибіотик, що продукується грибами *Streptomyces cinnamonensis* і пригнічує життєдіяльність грам-позитивних бактерій [194, 220, 239, 251, 283]. У багатьох країнах монензин використовується у м'ясному скотарстві для підвищення приростів [126]. У годівлі корів монензин застосовують рідко, оскільки він знижує жирність молока [128, 137, 157, 241]. Останніми роками з'явилися повідомлення про можливість використання монензину для попередження негативного енергетичного балансу у корів після отелення [127, 169, 170, 188]. Монензин збільшує споживання корму коровами [119], попереджує виникнення ацидозу рубця [237], зменшує метаноутворення [90, 190, 219, 238, 250, 294, 295], зменшує частоту захворювання на кетоз [114, 130, 149, 186, 188] та мастит [193]. Хоча монензин не всмоктується у травному каналі, у ЄС його використання у якості кормової добавки заборонене.

Важливим напрямом досліджень є пошук шляхів регулювання утворення аміаку без використання антибіотиків. Одним з таких чинників можуть бути шишки хмелю, які містять речовини, що вибірково діють на грам-позитивні бактерії, до яких належать гіперпродуценти аміаку, за подібними до іонофорних антибіотиків механізмами.

Шишки хмелю містять речовини, які за антимікробною дією подібні до монензину – пренільовані флороглюцини (фітоіонофори) [88, 105, 139], що дозволяє розглядати їх як потенційну добавку до раціону корів. Антимікробною дією володіють такі компоненти хмелю як хумулон ( $\alpha$ -кислота), лупулон ( $\beta$ -кислота), ізохумулон та деякі інші мінорні сполуки [141, 167]. Як й інші іонофори, біологічно активні сполуки шишок хмелю блокують транспорт одновалентних іонів через мембрани бактерій, порушують синтез полісахаридів бактеріальної мембрани [167].

Протимікробна активність притаманна також і ефірним оліям хмелю,

проте вона менша порівняно до дії фітоіонофорів [168]. Крім того, поліфеноли шишок хмелю проявляють потужну антиоксидантну дію [88, 270, 298].

Крім кетозу у високопродуктивних корів часто виникає жирове переродження печінки, у багатьох випадках це супутні хвороби. Порушення функції печінки погіршує перебіг кетозу, оскільки синтез глюкози, сечовини, триацилгліцеролів відбуваються саме у ній [104, 285].

Поєднання дії іонофорів та гепатопротекторів забезпечує комплексний захист печінки корів, попереджує виникнення метаболічних порушень і підвищує молочну продуктивність [92, 223, 227, 293]. Дослідження дії вказаних сполук на рубцеву ферментацію мають теоретичне і практичне значення для попередження порушень обмін речовин у корів протягом транзитного періоду.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана протягом 2018–2022 років у контексті науково-дослідних робіт лабораторії обміну речовин Інституту біології тварин НААН за завданням 35.00.02.05 Ф «Дослідити метаболічні процеси у високопродуктивних корів у до- та післяродовий періоди» (2016-2020 рр.), № держреєстрації 0116U001414. Автором дисертаційної роботи здійснено дослідження впливу монензину, шишок хмелю, вітаміну Е та гепатопротекторних препаратів на рубцеву ферментацію, біохімічні показники крові, антиоксидантний стан у молочних корів за норми та захворювання на кетоз.

**Мета і задачі дослідження.** Метою нашої роботи було встановлення впливу монензину та біологічно активних речовин шишок хмелю на рубцеву ферментацію, обмін речовин та молочну продуктивність корів, впливу вітаміну Е на ферментацію у рубці, а також ефективності кормової добавки, яка містить шишки хмелю, вітамін Е та захищених від руйнування бактеріями рубця холіну, метіоніну та карнітину для нормалізації метаболізму при лікуванні кетозу молочних корів.

Для досягнення мети були поставлені такі завдання:

- Порівняти метаболічну дію іонофорного антибіотика монензину та біологічно активних і іонофорних властивостей шишок хмелю на біохімічний статус молочних корів, з акцентом уваги на протикетозний та гепатопротекторний ефект.
- Встановити можливість застосування шишок хмелю, як іонофорного фітопрепарату, у контексті заборони використання кормових антибіотиків в Україні та Європейському Союзі.
- Встановити ефективність застосування підвищених кількостей вітаміну Е у раціоні корів для попередження негативної дії іонофорів на окремі аспекти рубцевої ферментації.
- Розробити лікувально-профілактичну кормову добавку, яка містить шишки хмелю, вітамін Е та гепатопротекторні препарати для комплексної превенції негативних змін в організмі високопродуктивних корів, пов'язаних з негативним енергетичним балансом, кетозом і стеатозом.

*Об'єкт дослідження* – метаболічні порушення у високопродуктивних корів наприкінці сухостійного періоду та на початку лактації, їх корекція іонофразами, антиоксидантами та гепатопротекторами.

*Предмет дослідження* – біохімічні показники вмісту рубця і крові хворих на кетоз корів, вплив монензину, шишок хмелю і вітаміну Е та комплексної лікувально-профілактичної кормової добавки на обмін речовин у здорових та хворих на кетоз корів.

*Методи дослідження* – біохімічні, фізіологічні, статистичні (середні величини та їх відхилення, вірогідність різниць).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше виконано порівняльне дослідження метаболічної дії іонофорного антибіотика монензину і біологічно активних сполук шишок хмелю на рубцеву ферментацію, біохімічні показники крові з акцентуванням уваги на продукування кетонових тіл та показники, які характеризують оксидативний стрес і стан печінки у корів молочного напряму продуктивності наприкінці тільності та на початку лактації. Встановлено наявність у шишок хмелю властивостей близьких до дії монензину.

Уперше показано доцільність спільного використання шишок і вітаміну Е для покращення ферментації у рубці корів, зниження утворення кетонових тіл та покращення показників крові корів у перший тиждень після отелення, коли для них характерний напружений обмін речовин викликаний негативним енергетичним балансом.

Вперше встановлено ефективність застосування шишок хмелю у комплексі з вітаміном Е та гепатопротекторами для профілактики і лікування кетозу корів. Показано, що запропонована комплексна кормова добавка позитивно впливає на обмін речовин корів хворих на субклінічний кетоз і частково попереджує негативні прояви клінічного кетозу.

**Практичне значення одержаних результатів.** Запропонована лікувально-профілактична кормова добавка може бути використана у комплексі з традиційними методами лікування кетозу для більш повного охоплення різних аспектів порушення обміну речовин у корів при цьому метаболічному захворюванні. Результати досліджень метаболічної дії шишок хмелю можуть застосовані для створення інших лікувальних препаратів для заміни кормових антибіотиків іонофорного типу.

**Особистий внесок здобувача.** Автор особисто провів патентний пошук, дібрав й опрацював наукову літературу, освоїв необхідні методики дослідження, виконав експериментальну частину роботи, математичну і статистичну обробку даних. Планування досліджень, аналіз та інтерпретацію отриманих даних,



формування висновків і пропозицій здійснено спільно з науковим керівником професором І. В. Вудмаскою.

**Апробація результатів дисертації.** Використані у дисертаційній роботі результати досліджень апробовано на аспірантських звітах і наукових конференціях конгресах, форумах: XIX Middle-European Vniatrics Congress (May 22–25, 2019, Lviv); XVIII Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених (5–6 грудня 2019 р., Львів); XIX Всеукраїнській науково-практичній конференції «Молоді вчені у розв’язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (3–4 грудня 2020 р., Львів); The 1st Ukrainian-Polish Scientific forum Agrobioperspectives (September 29–30 2021, Lviv); XII Українському біохімічному конгресі (30 вересня – 4 жовтня 2019 р., Тернопіль); XX Всеукраїнській науково-практичній конференції «Молоді вчені у розв’язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (19 травня 2022 р. Львів); конкурсі «За кращу наукову доповідь молодого ученого НААН з фундаментальних та прикладних досліджень» (24-25 жовтня 2019 р., Київ).

**Публікації.** За матеріалами дисертації видано 6 наукових статей (з яких одна дова та одна одноосібна), у тому числі 2 статті у виданнях, які індексуються у наукометричній базі Scopus та 4 статті у фахових журналах категорії Б. Крім того, опубліковано 6 тез участі у наукових та науково-практичних конференціях, конгресах, форумах.

**Структура і обсяг дисертації.** Дисертаційна робота містить такі розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати власних досліджень, узагальнення отриманих результатів, висновки, список використаних джерел та додатки. Дисертація викладена на 185 сторінках, містить 24 таблиці. Бібліографічний список включає 298 джерел літератури.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Загальна характеристика кетозу корів

Молочні корови, особливо на початку лактації, використовують значну частину наявних у раціоні та організмі енергії і поживних речовин для синтезу молока. Це вимагає значного споживання корму, що не завжди можливо забезпечити належною мірою за високої молочної продуктивності [225]. Корова генетично схильна віддавати перевагу виробництву молока, навіть якщо це відбувається за рахунок критично важливих для її здоров'я втрат запасів енергії [9, 14, 62, 67, 71, 77]. При цьому відбувається надлишкове вивільнення жирних кислот з жирової тканини та зростає утворення кетонових тіл [26, 31, 32, 68, 138, 222]. Кетони в обмежених кількостях не становлять проблеми, але коли виробляються більші концентрації настає метаболічне порушення, відоме як кетоз [2, 15, 26-29, 31-33, 68, 82, 102].

Оскільки кетоз належить до метаболічних порушень, крім основних симптомів, безпосередньо пов'язаних з енергетичним обміном, при ньому спостерігається ряд інших патологічних відхилень, які охоплюють більшість аспектів обміну речовин у різних органах і тканинах [15, 20, 23, 40, 82, 84, 225, 235]. Зокрема, це стосується протеїнового [12, 18, 42, 43, 51, 52, 53, 64, 78, 256], ліпідного [9, 25, 47, 70], мінерального [10, 30, 34, 35] обміну, обміну вітамінів [8, 25], гормонального [11, 13, 21, 45, 50, 51, 61, 63, 66, 226, 276] та антиоксидантного [12, 44, 48, 69, 79] статусу, функціонального стану печінки, нирок та кровотворної системи [36, 37, 47, 69, 257, 258]. Спостерігаються зміни каталітичної активності ензимів [65].

Зазвичай вирізняють дві форми кетозу: клінічний та субклінічний [15, 26-29, 31-33]. Як випливає з назви, клінічний кетоз перебігає у гострій формі з вираженими клінічними ознаками. Хворі на клінічний кетоз корови пригнічені,

здебільшого лежать, апетит знижений. При важкому перебігу спостерігається скрегіт зубами, м'язовий тремор, підвищена чутливість шкіри, тахікардія, сповільнене дихання, при видиху відчувається запах ацетону [26, 31, 32]. За несприятливих умов та при відсутності або неналежному лікуванні тварина впадає у коматозний стан, який закінчується загибеллю. Проте, незважаючи на тяжкий перебіг клінічної форми кетозу, його переважно виліковують або, принаймні, переводять у субклінічну форму саме через яскраво виражені симптоми і наявність розроблених схем лікування.

Субклінічний кетоз, незважаючи на легкий або навіть безсимптомний перебіг призводить до значно більших збитків для тваринництва [1, 20, 36, 236, 274]. За субклінічного кетозу у корів знижується молочна продуктивність [46, 197, 222], відтворна здатність, імунний статус, зростає частота і важкість супутніх метаболічних порушень: стеатозу, ацидозу, зміщення сичуга та інших [4, 82, 104, 197, 207, 291]. Субклінічний кетоз – поширене порушення обміну речовин високопродуктивних корів, викликане значним негативним енергетичним балансом в організмі наприкінці сухостійного періоду та після отелення. Негативний баланс енергії завжди наявний у корів наприкінці сухостійного періоду та у першу третину лактації, проте субклінічний кетоз виникає, якщо концентрація кетонів у крові зростає вище припустимого рівня. Верхня межа концентрації  $\beta$ -гідроксибутирату (ВНВА) у крові здорових корів становить за даними різних джерел від 1,2 до 1,4 ммоль/л. Підвищення концентрації ВНВА поза вказану межу свідчить про наявність субклінічного кетозу, а за концентрації ВНВА понад 3,0 ммоль/л діагностують клінічну форму кетозу [26, 31, 32, 68].

Етіологія і патогенез кетозу корів пов'язані з дефіцитом енергії після отелення, недостатнім гліюконеогенезом, значним вивільненням жирних кислот із жирової тканини та інтенсивним утворенням кетонових тіл [41, 47, 62, 67, 70, 71, 162]. Ендокринна система корів, хворих на кетоз, зазнає суттєвих навантажень [3, 11, 21, 51, 63, 66]. Корови з кетозом мають порушення функції жирової тканини, яке виникає внаслідок виникнення резистентності до інсуліну

[112,113]. Компенсаторні механізми намагаються вирівняти дефіцит енергії, який виникає при низькому рівні глюкози в крові та підвищеному глюконеогенезі за рахунок зменшення рівня інсуліну, IGF-1 та лептину та збільшення рівня кортизолу [277].

Жуйні тварини схильні до кетозу через особливості травлення, за якого вуглеводи корму майже повністю перетворюються у леткі жирні кислоти (оцтова, пропіонова, масляна) та молочну кислоту, внаслідок чого майже вся глюкоза організму синтезується печінкою *de novo*. В умовах підвищеної потреби в глюкозі у високопродуктивних корів на початку лактації виникає її дефіцит [141, 259]. Порушення складу та структури раціону, зокрема високий рівень протеїну та дефіцит вуглеводів, призводять до дисбалансу рубцевої ферментації. Це зменшує утворення глюкогенної пропіонової кислоти та збільшує утворення аміаку в рубці з розщеплюваного, особливо розчинного, протеїну [141]. Надлишок аміаку, який не може бути використаний бактеріями рубця для синтезу амінокислот власних протеїнів, надходить у кров та потрапляє в печінку, де перетворюється у сечовину [82]. Якщо утворення аміаку занадто інтенсивне або функція печінки ослаблена, надлишковий аміак викликає інтоксикацію організму. Крім того, аміак пригнічує перебіг реакцій циклу трикарбонових кислот і стимулює кетогенез внаслідок зв'язування  $\alpha$ -кетоглутарової кислоти. У результаті порушується утилізація оцтової кислоти і утворюється ацетооцтова та  $\beta$ -гідроксимасляна кислоти, що підсилює важкість перебігу кетозу [258].

Внаслідок дисбалансу між витратами енергії та споживанням, кетоз спостерігається не лише у корів з високою продуктивністю, але й у корів із помірними надоями за недостатньої годівлі після отелення. Поширеність субклінічного кетозу в країнах Європейського Союзу коливається в межах від 25 до 47% [274], причому, до 85% стад мають більше 25% хворих на субклінічний кетоз корів [102].

При цьому, зменшення виробництва молока становить лише 11% збитків, основне зниження прибутків відбувається внаслідок супутніх хвороб і передчасного вилучення тварин зі стада [186, 233, 236], оскільки субклінічний

кетоз не лише безпосередньо впливає на стан здоров'я і продуктивність корів а й має більш віддалені наслідки, пов'язані із виникненням інших захворювань: післяпологовий метрит, затримка плаценти, зміщення сичуга, мастит та патологія кінцівок [235]. Застосування антимікробних засобів у стадах з високою поширеністю субклічного кетозу, порівняно з благополучними за кетозом стадами, у середньому на 10 - 25% більше [234], що не лише збільшує вартість лікування, а й призводить до непридатності молока для використання у харчовій промисловості.

## **1.2. Лікування та профілактика кетозу корів**

Згідно класичної загально прийнятої концепції, лікування кетозу полягає у наступних підходах: 1) відновлення нормального апетиту, 2) відновлення нормальної концентрації глюкози в крові, 3) зниження доступності жирних кислот для кетогенезу [148, 155].

Для лікування кетозу використовують глюкозу, пропіленгліколь та біологічно активних речовин, парентеральне введення ряду препаратів, які регулюють характерні для кетозу порушення метаболізму.

На даний час основним способом лікуванням клінічного кетозу є внутрішньовенне введення глюкози та пероральне введення пропіленгліколю [75, 76, 148, 159]. Проте, хоча пропіленгліколь забезпечує синтез глюкози та стимулює глюконеогенез, він не впливає на мобілізацію жиру з жирової тканини. Щоб пригнічувати ліполіз у молочної худоби, необхідно задіяти 2 основні ліполітичні шляхи: регуляторний і запальний [112, 113]. У регуляторному шляху катехоламіни, гормон росту та інші проліполітичні гормони та пептиди активують мембранні рецептори адипоцитів, які підвищують активність аденілциклази, яка перетворює АТФ на цАМФ [150]. Останній активує протеїнкіназу А, яка в кінцевому підсумку запускає гормоночутливу ліпазу. Запальний шлях запускається активацією запальних сигнальних каскадів MAPK і NFκB, які стимулюють протеїнкіназу С, яка, у свою чергу, активує HSL [113].

Крім глюкози та пропіленгліколю для лікування кетозу використовують препарати і добавки, які регулюють метаболізм у рубці, кислотно-лужний баланс, мінеральний обмін, гормональний статус, протеїновий, ліпідний та вітамінний обмін, синтез сечовини, антиоксидантний стан [1, 3, 6, 7, 8, 34, 35, 41, 72, 80, 71].

Оскільки кетоз часто супроводжується стеатозом, паралельно застосовують засоби для профілактики та лікування жирового переродження печінки [4, 39, 72]. За жирового переродження печінки пригнічується її функціональний стан, який серед іншого включає такі важливі при кетозі аспекти як синтез глюкози, амінокислот, триацилгліцеролів, перетворення аміаку у сечовину, обмін холестерину, дезінтоксикаційну функцію [4, 6]. Захист печінки полегшує перебіг кетозу та зменшує його негативні наслідки.

Більшість способів лікування кетозу зосереджені головним чином на регулюванні метаболізму глюкози та жирних кислот, залишаючи поза увагою інтоксикацію аміаком. На тлі зниження функції печінки внаслідок жирової дистрофії, що супроводжує кетоз, частина аміаку залишається в крові, викликаючи інтоксикацію організму [256, 257].

Добавки захищених жирних кислот пальмової олії зменшують здоювання з тіла і сприяють покращенню фізіологічного стану хворих на кетоз корів [22]. Застосовують також штучне пригнічення мобілізації ліпідів з жирової тканини [112, 113]

Профілактика субклінічна кетозу полягає у належній годівлі у період сухостою та на початку лактації [24, 54, 73, 74, 77, 125, 222]. Незважаючи на це, багато корів залишаються в групі ризику протягом кількох тижнів після отелення. Іноді буває важко застосувати адекватний раціон, наприклад при пасовищному утриманні. Малі ферми стикаються з труднощами у підготовці відповідного раціону для невеликої кількості транзитних корів.

### 1.3. Характеристика дії іонофорних антибіотиків

Іонофори – група карбоксильних поліефірних антибіотиків які продукують бактерії роду *Streptomyces* [133]. та деякі одноклітинні водорості [117]. Крім того, на даний час багато іонофорних антибіотиків синтезують хімічним способом [183]. Вони є ліпофільними сполуками і володіють високою адгезивною здатністю. Внаслідок цього, іонофори адсорбуються на ліпідній мембрані грам-позитивних бактерій і виявляють свою протибактеріальну дію [171, 181]. Грам-негативні бактерії оточені бактеріальною стінкою, тому протимікробні властивості іонофорів щодо них не виявляються, або ж вони виражені незначно [189]. Разом з тим, чутливість різних типів бактерій до іонофорів має деякі винятки. Зокрема, деякі грам-позитивні бактерії рубця (*Lachnospira multiparus*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyvirbio fibrisolvens*) резистентні до дії іонофорів [189]. Механізми цієї резистентності поки що не встановлені, але слід враховувати, що самі продуценти іонофорів – *Streptomyces spp.* належать до грам-позитивних бактерій і при цьому також не чутливі до іонофорів. Окремі грам-негативні бактерії можуть мати тимчасову чутливість до іонофорів, але при довшому контакті у них формується резистентність [245].

За механізмом транспорту іонів існує два типи іонофорів: ті що зв'язуються з іонами і переносять їх через мембрану та ті що утворюють суцільний канал між внутрішньоклітинним і позаклітинним простором через який переміщуються іони [171, 243]. Основні іонофори, які застосовуються у скотарстві (монензин, ласалоцид, саліноміцин, наразин) належать до першої групи. Монензин утворюється бактеріями *Streptomyces cinnamonensis*, ласалоцид - *Streptomyces lasaliensis*, саліноміцин - *Streptomyces albus*, наразин - *Streptomyces aureofaciens*.

Іонофори цієї групи здатні зв'язувати досить широкий ряд іонів з деякими відмінностями у селективності. Монензин  $\text{Na}^+ > \text{K}^+, \text{Li}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$ , ласалоцид -  $\text{Ba}^{++}, \text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Na}^+ > \text{Cs}^+ > \text{Li}^+$ , саліноміцин -  $\text{Rb}^+, \text{Na}^+ > \text{K}^+ \gg \text{Cs}^+, \text{Sr}^+, \text{Ca}^{++}, \text{Mg}^+$ , наразин -  $\text{Na}^+ > \text{K}^+, \text{Rb}^+, \text{Cs}^+, \text{Li}^+$  [189, 207]. Проте, у цілому механізм дії цих антибіотиків однаковий.

Цитоплазма бактерій містить більше іонів Калію ніж Натрію, а у рубцевій рідині, навпаки, іонів Натрію більше ніж іонів Калію. Для підтримання функціонально оптимального співвідношення концентрації цих хімічних елементів у плазматичній мембрані еукаріотів наявний спеціальний ензим –  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-аза (натрій-калієва помпа). АТФ-аза активно переносить іони  $\text{K}^+$  усередину клітини, тоді як іони  $\text{Na}^+$  виводяться назовні. Джерелом енергії для цього є АТФ, енергія якої використовується для активного транспорту іонів проти градієнта концентрації. У бактерій ці процеси перебігають складніше, за участі ряду ензимних комплексів, окремих для Натрію та Калію, проте загальний принцип подібний – перенесення Калію усередину та виведення Натрію назовні клітини з використанням енергії АТФ [117, 171, 189].

За дії іонофорів у концентрації іонів Натрію і Калію у бактеріальних клітинах та середовищі починають вирівнюватись, тобто у цитоплазмі надмірно зростає кількість Натрію.  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -АТФ-ази намагаються вивести іони натрію за межі клітини витрачаючи при цьому АТФ. Дефіцит АТФ призводить до нестачі енергії для інших метаболічних процесів у бактеріальній клітині та її загибелі [189].

### **1.3.1. Дія іонофорів у рубці корів**

Рубець жуйних заселений сотнями видів мікроорганізмів. Мікроорганізми рубця ферментують поживні речовини корму, розщеплюючи частину з них і трансформуючи іншу [84]. Зокрема, вуглеводи кормів у рубці майже повністю розщеплюються до оцтової, пропіонової, масляної та молочної кислот, протеїн - до амінокислот та аміаку, ненасичені жирні кислоти трансформуються у насичені та транс-ізомери. Леткі жирні кислоти всмоктуються у кров і беруть участь у синтетичних процесах. Амінокислоти та аміак використовуються для синтезу бактеріального протеїну, проте надлишковий аміак всмоктується у кров та перетворюється у печінці у сечовину. Транс-ізомери жирних кислот включаються у ліпіди мембран бактерій. Бактерії разом з кормовими масами потрапляють у сичуг та кишечник жуйної тварини де перетравлюються,



забезпечуючи тварину збалансованим за амінокислотним складом бактеріальним протеїном. Різні бактерії мають свої специфічні ферментативні особливості: одні утворюють переважно оцтову кислоту, інші - пропіонову, ще інші молочну. Так само щодо протеїну: одні бактерії розщеплюють протеїн до амінокислот, а інші до аміаку.

Отже, при вибіркового пригніченні життєдіяльності окремих видів бактерій змінюється склад продуктів ферментації у рубці жуйної тварини, що впливає на подальший обмін речовин у її організмі.

Відомо, що введення до раціону великої рогатої худоби іонофорних антибіотиків змінює перебіг рубцевої ферментації, зокрема іонофори зменшують утворення аміаку у рубці жуйних тварин вибірково впливаючи на грам-позитивні бактерії, до яких належать бактерії гіперпродуценти аміаку –НАВ (*Clostridium aminophilum*, *Clostridium sticklandii*, *Peptostreptococcus anaerobius* та деякі інші) [205]. Іонофори також пригнічують активність молочнокислих бактерій, стимулюючи тим самим утворення попередника глюкози – пропіонової кислоти [114]. Враховуючи на майже повне ферментування вуглеводів корму в рубці, пропіонат для жуйних тварин є одним з основних джерел наявної в організмі глюкози [211].

Іонофори, вибірково діючи на життєдіяльність мікрофлори рубця, змінюють перебіг рубцевої ферментації впливаючи на розщеплення вуглеводів і протеїнів та пов'язані з ними ланки метаболізму [96, 110, 126, 127, 144, 250, 271, 272, 288]. Внаслідок впливу на рубцеву ферментацію змінюється субстратне забезпечення організму тварини, що впливає на обмін речовин та продуктивність. Продуктивна дія іонофорів залежить від фізіологічного стану та складу раціону тварин [100, 107, 133, 147, 239]. Зокрема, при застосуванні іонофорів відгодівельній ВРХ, яку утримують на концентратному раціоні з високим вмістом неструктурних легкоферментованих вуглеводів спостерігається зростання приростів та зменшення витрат корму [96, 97, 107, 126, 271], тоді як за введення їх до раціону з високим вмістом клітковини прирости

також зростають, але без впливу на рівень використання сухої речовини раціону [182, 230, 263].

Іонофори впливають на ферментацію вуглеводів, змінюючи співвідношення утворених у рубці летких жирних кислот. Внаслідок цього у складі летких жирних кислот рубцевої рідини зростає частка пропіонату і зменшується частка ацетату та бутирату, що пов'язано з частковим пригніченням активності целюлозолітичних бактерій [96, 101, 107, 126, 147, 179, 182, 230, 263, 271].

Важливим аспектом дії іонофорів у рубці є зниження за їх впливу метаногенезу [90, 151, 190, 194, 219, 238, 250, 294]. Для синтезу метану необхідні вуглекислий газ та молекулярний водень. При ферментуванні вуглеводів корму до ацетату та бутирату, крім утворення вказаних летких жирних кислот вивільняються  $\text{CO}_2$  та  $\text{H}_2$ . Метан-синтезуючі бактерії використовують ці два субстрати на утворення метану [132]. На відміну від ацетату і бутирату, при пропіоновокислому бродінні вуглекислий газ та молекулярний водень не утворюються, що сприяє зменшенню надходження метану в атмосферу та зниженню парникового ефекту. Крім того, метаногенез супроводжується додатковими витратами енергії, отже спрямування ферментації у напрямі утворення пропіонату дещо підвищує ефективність використання корму [132, 147]. Це важливо для м'ясного скотарства, де застосування іонофорів сприяє збільшенню приростів живої маси [107, 283, 96]. У молочних корів продуктивний ефект не такий однозначний [190, 195], з огляду на можливе зниження жирності молока, тому коровам іонофори доцільно згодовувати лише у транзитний період для вирівнювання енергетичного балансу та профілактики і лікування кетозу.

### **1.3.2. Особливості дії монензину на рубцеву ферментацію**

У ветеринарній медицині використовують іонофори, що належать до групи тих, що транспортують іони через плазматичну мембрану бактерій : монензин, лазалоцид, саліноміцин і наразин. Оскільки механізм їх дії подібний, розглянемо

його на прикладі найбільш вживаного іонофорного антибіотика - монензину, застосування якого для попередження субклінічного кетозу набуло поширення останніми роками [233]. Монензин, карбоновий поліефірний іонофор, використовується в птахівництві як кокцидіостатик. Крім того, монензин впливає на рубцеву ферментацію у жуйних тварин, особливо цей ефект виражений у транзитний період [200, 251, 121, 192, 205]. Основний ефект спрямований на життєдіяльність грам-позитивних бактерій, монензин змінює співвідношення Натрію і Калію у цих бактеріях та спричиняє збільшення використання бактеріальними клітинами енергетичних ресурсів на відновлення аніонного балансу, що призводить до сповільнення росту мікробної маси та загибелі частини грам-позитивних бактерій [110, 123, 251, 272].

Здатність молекули монензину вибірково зменшувати кількість грам-позитивних бактерій у рубці на користь грам-негативних бактерій покращує ефективність використання поживних речовин корму, збільшуючи продукцію пропіонату і зменшуючи втрати вуглецю у вигляді вуглекислого газу та метану, тому монензин ефективний при відгодівлі великої рогатої худоби [97, 110, 123, 161, 220, 238, 250, 272].

Оскільки протеолітичні бактерії переважно грам-позитивні, за введення у рубець монензину спостерігається зниження концентрації аміаку в рубці як наслідок меншого розщеплення протеїну корму і, відповідно, більша частка протеїну перетравлюється в тонкому кишечнику, що енергетично вигідніше для жуйної тварини [200, 228, 238]. Окремі дослідження не виявили змін концентрації аміаку в рубці [121, 251], тому цей аспект впливу іонофорів на протеоліз потребує подальшого вивчення.

Дані про дію монензину на продукцію летких жирних кислот у рубці жуйних та рН рубцевої рідини свідчать про вплив ряду чинників на ці процеси, зокрема споживання корму, його складу і перетравності, наповнення рубця [119, 121, 238, 251].

Результати багатьох досліджень не показали змін сумарного вмісту летких жирних кислот у рубці корів при введенні у рубець монензину [121, 200, 251].

Разом з тим, виявлено вплив на співвідношення окремих ЛЖК. За дії іонофорних антибіотиків у складі летких жирних кислот збільшується частка пропіонової кислоти за рахунок зменшення частки оцтової та масляної кислот, внаслідок чого знижується ацетат/пропіонатне співвідношення [121, 251]. Показано також зростання частки валеріанової, капронової та енантової кислот [149, 200]. Таким чином, вибіркоче пригнічення функціонування грам-позитивних бактерій змінює перебіг ферментаційних процесів у рубці, модулюючи утворення окремих летких жирних кислот – продуктів комплексного катаболізму компонентів корму різними групами бактерій багатьох видів [121, 251].

Монензин продемонстрував профілактичну дію для ацидозу рубця, зменшивши швидкість зниження рН рубця та інколи зменшуючи рубцевий ацидоз, однак він не запобігав безпосередньо цим процесам [237]. Згідно даних деяких дослідників монензин підвищує показник рН, що пояснюють пригніченням продукції молочної кислоти в рубці [149, 228]. З іншого боку, деякі дослідження свідчать про відсутність впливу монензину на рН рубцевої рідини [137, 200, 205].

За тривалого застосування монензину може виникнути тимчасова резистентність бактерій до нього, яка зникає через декілька поколінь цих бактерій [255]. Випадків перехресної резистентності монензину та інших антибіотиків не виявлено [214]. Згідно рішення Європейського медичного агентства використання монензину для сільськогосподарських тварин не виявляє негативного впливу на здоров'я людей [136].

### **1.3.3. Вплив монензину на обмін речовин в організмі корів**

Більшість досліджень свідчать про виражений ефект монензину на зниження концентрації кетонових тіл, головним чином  $\beta$ -гідроксибутирату, у крові корів після отелення, у сухостійний період така дія також спостерігається, але дещо рідше [124, 138, 169, 200, 153, 114, 121, 191, 192, 205, 238].

Оскільки кетоз є наслідком негативного енергетичного балансу, пов'язаного з порушеннями вуглеводного і ліпідного обміну, а саме дефіцитом глюкози та надмірним використанням жирних кислот для вирівнювання енергетичних потреб організму, монензин впливає також на вміст у крові цих ключових енергетичних субстратів, проте така дія виражена меншим чином ніж дія на концентрацію кетонів, а виявлені зміни не завжди вірогідні [138, 169, 200, 153, 121, 191, 192, 188, 170]. Тим не менш, монензин переважно підвищує концентрацію глюкози та знижує концентрацію НЕЖК в крові хворих на кетоз корів [154]. Окремі дослідження вказують на відсутність дії монензину на обмін глюкози та НЕЖК, проте у жодному з них не отримано негативної дії - зниження концентрації глюкози або підвищення концентрації НЕЖК [186].

Монензин знижує концентрацію триацилгліцеролів у печінці [191, 192, 205, 289], що важливо як для обміну ліпідів у цілому, так і з огляду забезпечення функції печінки, яка у високопродуктивних корів схильна до надмірного накопичення триацилгліцеролів, що призводить до її жирового переродження. Про гепатопротекторну дію монензину свідчить також зниження під його впливом активності трансаміназ у крові кетозних корів [91, 138, 224, 289].

Оскільки монензин, як іонофорний антибіотик, пригнічує життєдіяльність протеолітичних бактерій, його застосування зменшує розщеплення протеїну у рубці та збільшує надходження і засвоєння протеїну у тонкому кишечнику [200, 228], що у багатьох випадках призводить до зростання концентрації сечовини у крові [169, 289] та молоці [191, 192, 205].

Згідно досліджень багатьох науковців підвищення ефективності функціонування печінки підтверджується нижчою активністю аспартатамінотрансферази і вищим рівнем холестерину у корів, які отримували монензин [121, 124, 289].

У транзитний період корови, на тлі метаболічних порушень, схильні до інфекційних захворювань внаслідок зниження резистентності [106]. Застосування монензину впливає на імунну функцію та резистентність корів до запальних процесів, що викликано опосередкованою дією, пов'язаною з меншою

патологічною дією негативного енергетичного балансу і спричинених ним кетозу та стеатозу [4, 129, 267, 177, 186]. Введення у рубець монензину стимулює протизапальні механізми у організмі корів, зокрема впливає на експресію протеїнів гострої фази та гаптоглобіну [116, 191, 192], проте такий ефект спостерігається не завжди [122, 200, 205]. Тим не менше, за використання монензину у кетозних корів спостерігається зменшення випадів маститів [129, 114, 91, 193], метритів і затримки посліду [129, 197, 198].

#### **1.3.4. Вплив монензину на молочну продуктивність корів**

Вплив переважно відсутній, а за наявності – незначний. Монензин у більшості випадків не впливає на апетит корів [121, 137, 205, 224], хоча в окремих дослідження встановлено збільшення кількості споживання корму у перерахунку на суху речовину [191, 192].

Продуктивна дія проявляється підвищенням надою за одночасного зниження жирності молока [91, 119, 128, 191, 197, 198, 241]. Згідно даних інших дослідників, жирність молока не зменшується, у результаті чого вихід молочного жиру зростає [157]. У більшості випадків, такий ефект спостерігається на початку лактації за наявності метаболічних порушень, тобто монензин зменшує навантаження на організм негативного енергетичного балансу і його патологічного впливу на обмін речовин, що покращує загальний стан організму і, відповідно, відновлює молочну продуктивність [119].

#### **1.3.5. Особливості застосування монензину**

За останні кілька десятиліть опубліковано результати ряду досліджень про вплив монензину на продуктивність, здоров'я та ферментацію в рубці молочних корів. Форма введення та добова доза в опублікованих статтях відрізняються. Було зроблено кілька спроб узагальнити наукові результати щодо використання монензину для молочних корів, у тому числі оглядові статті та метааналіз [126-

129, 238]. Більшість цих робіт виконано у США, вони розглядають різні форми використання монензину у молочних корів. Проте, немає статей, які б узагальнювали результати щодо введення монензину протягом перехідного періоду для профілактики кетозу.

У Європейському Союзі використання монензину для молочних корів не було схвалено, і після заборони застосування кормових антибіотиків у 2006 році його використання у годівлі великої рогатої худоби заборонено, в той час як він продовжує використовуватись для лікування кокцидіозу у птиці [135]. У США 2013 році Європейське агентство з лікарських засобів [136] затвердило використання монензину у формі болюсів тривалої дії (CRC) для профілактики кетозу корів (Kexxtone, Elanco GmbH, Куксхафен, Німеччина). Ця фармацевтична форма зараз є єдиною дозволеною в Європі для корів в останні три тижні до та перші три тижні після отелення. CRC містить 32,4 г монензину, який поступово вивільняється в рубці протягом 95 днів у добовій дозі 335 мг [136]. Тому, щоб проявити його ефект у профілактиці кетозу, його потрібно вводити за 3–4 тижні до отелення.

В Україні застосування кормових антибіотиків також заборонено, але іонофори дозволено використовувати у якості кокцидіостатиків.

Іонофори токсичні для деяких видів моногастричних тварин, зокрема у коней вони викликають порушення серцевої діяльності [144].

Іонофорні антибіотики не застосовуються у гуманній медицині, хоча вони включені Центром співробітництва ВООЗ з методології статистики ліків (WHOCC) до списку «Ліки для профілактики та/або лікування ацетонемії» (QA16QA06), на додаток до списку засобів проти протозойних захворювань» (QP51AN03) [286].

#### **1.4. Біологічна активність сполук шишок хмелю**

Останніми роками існує тенденція до обмеження використання антибіотиків у тваринництві, які забороняється використовувати у

профілактичних та стимулюючих продуктивність цілях. Тому, у світі зараз ведеться інтенсивний пошук сполук здатних їх замінити. Звичайно, біологічно активні речовини рослинного походження менш активні ніж антибіотики, проте вони можуть розглядатись як потенційні замітники антимікробних препаратів. Деякі рослини містять відносно активні антимікробні компоненти. До них належить хміль, у шишках якого наявні сполуки, які за біологічною активністю подібні до іонофорних антибіотиків.

Хміль використовують як рослину з лікувальними властивостями ще античних часів [175], проте через наявність у його складі надзвичайно широкого спектру біологічно активних речовин, дослідження можливих шляхів їх застосування надалі тривають [87, 185, 217, 290, 298].

Шишки хмелю містять ряд біологічно активних компонентів, подібних за дією до антибіотиків-іонофорів, це пренільовані флавоноїди: лупулон, гумулон та їх похідні [141, 284]. Вказані компоненти шишок хмелю можна розглядати як потенційний замітник іонофорних антибіотиків [139, 290]. Отже, іонофорні антибіотики і кислоти хмелю володіють подібним спектром біологічної активності, тобто вони пригнічують життєдіяльність більшості грам-позитивних мікроорганізмів рубця [86, 140, 141].

Крім того, шишки хмелю містять ряд інших біологічно активних речовин: феноли, ефірні олії та смоли, які мають антимікробну, антиоксидантну, седативну, фітоестрогенну, інсуліностимулюючу, імуномодулюючу та протипухлинну дію [88, 95, 105, 164, 168, 174, 298].

#### **1.4.1. Протимікробна дія компонентів шишок хмелю**

*$\alpha$ - і  $\beta$ -Кислоти.* Основними, кількісно найбільш чисельними біологічно активними компонентами шишок хмелю є гідрофобні  $\alpha$ - і  $\beta$ -кислоти, або як їх ще називають "гіркі кислоти", які продукуються лупуліновими залозами суплідь.  $\alpha$ -Кислоти представлені шістьма сполуками, серед яких хумулон (35-70 %), кохумулон (20-55 %), адхумулон (10-15 %), а також мінорні компоненти:



постхумулон, прехумулон та адпрехумулон [108, 168, 221]. До  $\beta$ -кислот належать лупулон (30-55 %), колупулон (20-55 %), адлупулон (5-10 %), прелупулон і постлупулон [168].

Серед компонентів хмелю найвищу протимікробну активність виявляють  $\alpha$ - і  $\beta$ -кислоти, які функціонують за схемою характерною для іонофорних антибіотиків, причому  $\beta$ -кислоти діють ефективніше.

$\alpha$ -Кислоти мають важливе значення у пивоварінні, це основні сполуки заради яких хміль використовується для виробництва пива. Натомість,  $\beta$ -кислоти значно менше важливі для броварного виробництва, проте вони представляють більший інтерес як сполуки з антимікробними властивостями.

До дії  $\beta$ -кислот чутливі бактерії родів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Helicobacter*, *Clostridium*, *Listeria* [168, 261]. Кислоти вбудовуються у плазматичну мембрану грам-позитивних бактерій і транспортують недисоційовані протоновані молекули у цитоплазму, де йони Гідрогену замінюються на катіони та виводяться з клітини. У результаті у цитоплазмі накопичуються протони  $H^+$  і клітина гине [131, 145]. Грам-негативні бактерії та гриби переважно не чутливі до протимікробної дії [168]. Ізо-форми цих кислот менш активні щодо бактерій, проте враховуючи їх кращу розчинність, ефективність протимікробної дії відносно висока [248]. Протимікробна дія зростає за нижчого рН [168].

$\beta$ -Кислоти хмелю інгібують активність грам-позитивних бактерій *S. bovis*, які є одним з основних продуцентів лактату у рубці жуйних. Разом з тим, деякі грам-позитивні бактерії не чутливі до  $\beta$ -кислот, наприклад бактерії класу *Negativicutes* [140]. Представник цього класу *M. elsdenii* є важливим продуцентом пропіонату у рубці. Отже, за дії біологічно активних кислот суплідь хмелю у вмісті рубця знижується продукція молочної кислоти. Продукція пропінової кислоти кількісно переважно не змінюється, проте внаслідок деякого зниження кількості ацетату частка пропіонату у рубцевій рідині стає більшою [140].  $\beta$ -Кислоти шишок хмелю, подібно до іонофорних антибіотиків, знижують

протеолітичну активність у рубці та пригнічують утворення аміаку і метаногенез у ньому [103, 152, 208, 210, 297].

**Поліфеноли.** Шишки хмелю містять також поліфенольні компоненти, кількість яких відносно невелика (3-6 %), проте вони володіють значною біологічною активністю. Це велика група сполук, серед яких найбільше фармацевтичне значення мають пренілфлавоноїди: ксантохумулон, ізоксантохумулон, десмутилксантохумулон і 8-пренілнарінгенін [86, 167, 242]. поліфенольні сполуки є наступними за антимікробною активністю компонентами хмелю [89, 116, 145], механізм дії яких здійснюється двома шляхами: накопичення у мікробних клітинах та порушення цілісності клітинної мембрани. Серед поліфенолів хмелю найвищу активність виявляють флавоноли і таніни [116]. Як й  $\alpha$ - і  $\beta$ -кислоти, поліфенольні сполуки діють, переважно, на грам-позитивні бактерії, зокрема на *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus mutans*, *Clostridium perfringens* [252], проте до них чутливі й деякі грам-негативні бактерії, наприклад *Prevotella oralis*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusarium nucleatum*, *Escherichia coli* [168]. Інші феноли: галова, кавова, ферулова та деякі інші кислоти володіють нижчою активністю, проте виявляють помірну дію на ряд грам-позитивних та грам-негативних бактерій [118, 244]. Відносно високою активністю характеризуються поліфеноли групи пренілфлавоноїдів, які діють на грам-позитивні бактерії та деякі гриби і протисти [145, 187, 204], а також володіють антивірусною дією [109, 292].

**Ефірні олії.** Інша велика група біологічно активних речовин шишок хмелю це ефірні олії, які також продукуються лупуліновими залозами [108]. Ефірні олії шишок хмелю мають різну хімічну природу, це вуглеводні (монотерпени, сесквітерпени, аліфатичні вуглеводні), кисень-місткі сполуки (терпенові спирти, сесквітерпенові спирти), сірко-місткі сполуки (тіоестери, сульфідні). Основні представники ефірних олій, наявні у шишках хмелю в найбільшій кількості це монотерпени:  $\alpha$ -пінен,  $\beta$ -пінен, мірцен і лімонен, та сесквітерпени:  $\alpha$ -хумулен,  $\alpha$ -селінен,  $\beta$ -фарнезен,  $\beta$ -каріофілен,  $\beta$ -селінен.

Протимікробна активність притаманна також і ефірним оліям хмелю, проте вона менша порівняно до дії гірких кислот і поліфенолів [168]. Цей аспект важливий тим, що ефірні олії містять у більшості рослин і екстракти цих олій часто пропонуються як протимікробні чинники. На відміну від цих рослин, хміль крім ефірних олій містить інші протимікробні речовини зі значно сильнішою дією. Тим не менше, ефірні олії хмелю володіють протимікробними властивостями, що додається до загальної протимікробної дії. У шишках хмелю наявні наступні біологічно активні ефірні олії, які належать до терпенів: лінелоол, гераніол, терпінеол, лімонен, каріофіллен, гумулен, міріцен, кадінен, пінен та інші [98, 158, 165, 176, 184, 260, 263, 287].

#### **1.4.2. Інші біологічні активності сполук шишок хмелю**

Крім протимікробних сполук, лупулінові залози шишок хмелю продукують інші біологічно активні речовини подібної природи, які виявляють широкий спектр біологічної активності. Наявні у шишках хмелю сполуки володіють значними антиоксидантними властивостями [87, 298]. Найвища антиоксидантна дія характерна для поліфенолів хмелю, які ефективно нейтралізують активні форми Оксигену, зокрема гідроксильні, пероксильні, супероксидні, пероксидні радикали та синглетний кисень [213, 249]. Крім того, поліфеноли інгібують ензими задіяні у генеруванні активних форм Оксигену: НАДФ-оксидазу, циклооксигеназу, ксантинооксидазу, ліпоксигеназу [168]. Серед флавоноїдів найвищий антиоксидантний ефект виявляють кверцетин, міріцетин і кемпферол [232]. Антиоксидантна дія таких фенольних сполук хмелю як галова кислота, кверцетин, катехін перевищує дію аскорбінової кислоти [173], а ксантохумулон має вищу антиоксидантну активність ніж  $\alpha$ -токоферол [203].

Висока антиоксидантна дія притаманна також й  $\alpha$ - і  $\beta$ -кислотам (хумулон і лупулон), за ефективністю антиоксидантної дії вони наближаються до  $\alpha$ -токоферолу та аскорбінової кислоти [168, 270]. Антиоксидантні властивості виявлені також у листі хмелю [185, 206].

Віддавна відома седативна дія шишок хмелю [168]. Основний принцип седативного впливу шишок хмелю та їх екстрактів полягає, в основному, у алостеричній модуляції специфічних рецепторів нейромедіаторів біологічно активними речовинами, такими як ефірні олії або смоли. Більшу увагу приділяють взаємодії з рецепторами GABA ( $\gamma$ -аміномасляна кислота), хоча вивчали також взаємодію ефірних масел хмелю з N-метил-D-аспартат (NMDA) рецепторами [99, 254].

Поліфеноли хмелю, особливо ксантохумулон, володіють протипухлинними властивостями [146, 164]. При надходженні *per os* ксантохумулону у процесі травлення трансформується у ряд біологічно активних речовин, які інгібують неопластичний ріст. Механізм дії ксантохумулону і його метаболітів полягає в інгібуванні двох сигнальних шляхів Akt та NF- $\kappa$ B, індукуванні апоптозу клітин пухлин внаслідок посилення експресії Bax, PARP, каспаз-3, -8, -9 та інгібуванні експресії Notch1, mTOR, STAT3, FAK and MMP-2 [143, 146, 164]. Цікава особливість дії ксантохумулону – хоча переважно він виявляє антиоксидантні властивості, у клітинах пухлин ця сполука часто виявляє прооксидантну дію, що сприяє антиканцерогенному ефекту [282]. Зростання рівня вільних радикалів пригнічує активність NF- $\kappa$ B, що індукує апоптоз [142]. Ксантохумулон попереджує виникнення метастазів інгібуючи ERK/MAPK та PI3/AKT сигнальні шляхи [262].

Поліфенольні сполуки хмелю регулюють вуглеводно-ліпідний обмін, посилюючи катаболізм та знижуючи ліпідів у крові [146]. Ксантохумулон зменшує акумуляцію ліпідів у печінці і жировій тканині та пригнічує проліферацію адіпоцитів, діючи через регуляцію функції PPAR $\gamma$  [218, 223, 293].

Останнім часом інтерес до хмелю зріс через пренільовані флавоноїди хмелю, які демонструють естрогенну активність. У шишках хмелю містяться наступні фітоестрогени: 8-пренілнарінгенін (8-PN), 6-пренілнарінгенін (6-PN), 6,8-дипренілнарінгенін (6,8-DPN) і 8-геранілнарінгенін (8-GN), 8-PN є найактивнішим з них [105, 167, 265, 273]. Він також впливає на передачу клітинних сигнальних шляхів. Проте, хоча естрогенний вплив був встановлений

у дослідях *in vitro*, дані *in vivo* менш переконливі [229]. До того ж, ці ефекти вимагають таких високих концентрацій, яких неможливо фізіологічно досягти через дію 8-PN та його метаболітів, наявних у дієті людини і тварин [166, 167, 229]. Вміст 8-пренілнарінгеніну в хмелі шишок, як правило, дуже низький – менше 0,01% [201], а естрогенна активність інших пренілфлавоноїдів хмелю незначна [202]. На даний час, ведуться дослідження з виділення та очищення фітоестрогенів хмелю, які лише у такому випадку розглядатися як фітоестрогенний препарат [166, 229, 265].

Ведуться дослідження ефективності використання хмелю для подовження терміну зберігання харчових продуктів [146] Підтверджено консервуючу дію, особливо хмелю в порошковій формі, при застосуванні до сирих або готових м'ясних продуктів, охолоджених або заморожених [275]. При зберіганні при низьких температурах дія оксидаз у м'ясі продовжується, хоча й сповільнено. Навіть на цьому рівні помічається блокуючий ефект хмелю. Використання антиоксидантної дії хмелю для консервування харчових продуктів, подовжуючи таким чином термін їх зберігання, має великий потенціал, особливо для м'ясних [120, 172, 215] та хлібобулочних [216] продуктів, де підвищується не тільки їх свіжість, але й функціональні властивості.

### **1.5. Дія вітаміну Е на ферментацію у рубці**

Бактерії, як й інші живі організми потребують вітамін Е як активного антиоксиданта клітинних мембран. Причому, мікроорганізми потребують більших доз вітаміну Е, ніж сама тварина [156]. При згодовуванні або парентеральному введенні жуйним токоферолу враховується потреба саме тварини, тоді як мікроорганізмам рубця цієї кількості недостатньо. Токсичність токоферолу дуже низька, тому додавання його у раціон жуйних у більшій кількості може стимулювати целюлолітичні бактерії рубця та компенсувати негативний ефект іонофорів на гідроліз клітковини раціону [246].

## 1.6. Гепатопротектори

Оскільки бактерії рубця розщеплюють значну частину кормового холіну, метіоніну та карнітину, жуйні повинні отримувати їх у захищеній формі [163, 227, 253, 296].

**Карнітин** необхідний для транспортування довголанцюгових жирних кислот з цитоплазми в мітохондрії, ацетил-КоА з пероксисом в цитоплазму і регулює співвідношення ацил-КоА / КоА-SH [240]. За умови надлишку надходження жирних кислот у печінку карнітин транспортує їх в мітохондрії для  $\beta$ -окиснення, таким чином, зменшуючи накопичення триацилгліцеролів у гепатоцитах [199]. Введення у раціон корів карнітину регулює експресію м-РНК, які пов'язані з синтезом та екскрецією ліпопротеїнів дуже низької щільності [85]. Додавання до раціону захищеного карнітину підвищує надої корів та вміст жиру в молоці [199].

**Холін** є компонентом фосфатидилхоліну і відомий як гепатопротектор [163, 227, 266]. Він задіяний у проміжному метаболізмі ліпідів, дефіцит фосфатидилхоліну зменшує формування у печінці ліпопротеїнів дуже низької щільності, що сповільнює вивід з неї триацилгліцеролів і призводить до стеатозу [4, 93]. Зміни метаболізму ліпідів печінки можуть мати вплив на метаболізм глюкози. Глюкоза метаболізується до пірувату під час гліколізу. У нормоксичних умовах піруват окислюється до ацетил-КоА, а потім повністю окислюється до вуглекислого газу та води в циклі трикарбонових кислот, однак у гіпоксичних умовах піруват ферментується до молочної кислоти, яка використовується для регенерації глюкози глюконеогенезом. Додатки до раціону корів захищеного холіну знижують концентрацію молочної кислоти в плазмі крові, що свідчить про зменшення гліколізу, або про використання молочної кислоти для глюконеогенезу [269]. Після отелення, в умовах негативного енергетичного балансу організму, у крові корів спостерігається дуже низький вміст холіну [94, 162, 291]. Введення до раціону захищеного від розщеплення у рубці холіну підвищує його концентрацію у крові і покращує стан печінки [75, 92, 93, 291].

Холін позитивно впливає на репродуктивну функцію [196] та молочну продуктивність корів [93, 227, 289, 296]. Додавання холіну підвищує концентрацію фосфатидилхоліну та N-оксиду триметиламіну в молозиві корів, збільшує вихід молозива, не впливаючи на його якість [269].

Холін має протизапальні властивості. Зокрема, від зменшує надходження з лейкоцитів таких цитокінів як фактор некрозу пухлин (TNF $\alpha$ ) та інтерлейкін 1 $\beta$  (1L1B) [269]. Холін також бере участь у регуляції секреції інсуліну і розглядається як попередник ацетилхоліну [160, 253].

**Метіонін** – незамінна амінокислота, яка також широко використовується для захисту печінки [296]. Вважається, що додавання до корму тварин метіоніну та холіну є взаємозамінним, оскільки холін утворюється з метіоніну. Проте останніми роками встановлено, що заміна метіоніну холіном або навпаки, не завжди призводить до аналогічних результатів [266]. Хоча метаболізм метіоніну та холіну тісно взаємопов'язаний і їх часто вважають взаємозамінними з точки зору гепатопротекції, виявлено, що вказані сполуки по-різному впливають на стан печінки телят [111] та молочну продуктивність корів [296].

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Схема досліджень.

##### **Порівняльна дія монензину та шишок хмелю на рубцеву ферментацію, обмін речовин та молочну продуктивність корів**

Використано 3 групи сухостійних корів української молочної чорно-рябої породи з продуктивністю за попередню лактацію 7 тис. кг молока, по 10 тварин у групі. Тварини отримували стандартний збалансований раціон, який містить: сінаж різнотравний, силос кукурудзяний, ячмінно- кукурудзяну дерть, шрот соєвий, мелясу, сіль кормову, мінерально-вітамінний премікс.

Перша група служила контролем. Коровам другої групи додавали до раціону монензин у дозі 400 мг на добу. Третя група отримувала борошно з шишок хмелю у кількості 20 г на добу. Монензин та екстракт шишок хмелю додавали протягом останніх 3-х тижнів сухостою та перших 3-х тижнів після отелення.

Для лабораторних досліджень брали вміст рубця, венозну кров, молоко. Вміст рубця брали одноразово через тиждень після отелення, кров – перед отеленням, через тиждень та місяць після отелення. Молоко — через місяць після отелення.

##### **Вплив спільної дії шишок хмелю та вітаміну Е на рубцеву ферментацію, обмін речовин та молочну продуктивність корів**

Використано 2 групи сухостійних корів української молочної чорно-рябої породи з продуктивністю за попередню лактацію 6-7 тис. кг молока, по 10 тварин у групі.



Тварини отримували стандартний збалансований раціон, який містив: сінаж різнотравний, силос кукурудзяний, ячмінно-кукурудзяну дерть, шрот соєвий, мелясу, сіль кормову, мінерально-вітамінний премікс.

Перша група служила контролем. Коровам другої групи додавали 3,0 г DL- $\alpha$ -токоферолу ацетату (6,0 г Ровімікс Е-50) та 20 г сухих подрібнених шишок хмелю на добу. Дослід тривав протягом останніх 3-х тижнів сухостою та перших 3-х тижнів після отелення.

Для лабораторних досліджень брали вміст рубця, венозну кров, молоко. Вміст рубця брали одноразово через тиждень після отелення, кров – перед отеленням, через тиждень та місяць після отелення. Молоко — через місяць після отелення.

### **Вплив комплексної лікувально-профілактичної кормової добавки на рубцеву ферментацію та обмін речовин у хворих на кетоз корів**

Від корів української молочної чорно-рябої породи з продуктивністю за попередню лактацію 6-7 тис. кг молока після отелення взяли зразки венозної крові для визначення концентрації глюкози і  $\beta$ -гідроксибутирату.

Для досліду підібрано 2 групи корів: з ознаками клінічного кетозу (концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові  $> 3,0$  ммоль/л) – 4 голови; з субклінічним кетозом ( $\beta$ -гідроксибутират 1,3-2,2 ммоль/л) – 10 голів та клінічно здорові (концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові 0,2–1,1 ммоль/л) – 10 голів. Хворим на кетоз коровам протягом місяця до комбікорму додавали лікувально-профілактичну добавку, що містить подрібнені гранули шишок хмелю – 20 г, DL- $\alpha$ -токоферолу ацетат – 3 г, та захищені від розщеплення у рубці холін – 50 г, метіонін – 20 г, і карнітин – 1 г. Клінічно здорові корови слугували контролем.

Як джерело монензину використовували препарат Еймерікс, Біофарм, Україна (діюча речовина – монензин натрію, 20 %); джерело вітаміну Е – препарат Rovimix E50; метіоніну – препарат Pro-Met, Bioscreen Technologies, Італія; джерело холіну – препарат Sta-Chol, Bioscreen Technologies, Італія; карнітину –

препарат Carnipass, Lonza Ltd (Швейцарія); хміль сорту Слов'янка ( $\alpha$ -кислоти – 5 %,  $\beta$ -кислоти – 7 %, когумулон – 25 %).

Для лабораторних досліджень використовували вміст рубця та венозну кров. Вміст рубця брали одноразово через тиждень після отелення, кров – через тиждень та через місяць після отелення, молоко – через місяць після отелення.

У рубцевій рідині визначали білковий азот, мікробний азот, вміст аміаку, молочної кислоти, загальний вміст летких жирних кислот, рН, згідно методів викладених у довіднику: Влізло, В. В. (ред.). (2012). Лабораторні методи досліджень у біології тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів, Сполом, 764 с. [5].

У сироватці крові визначали концентрацію ацетоацетату,  $\beta$ -гідроксибутирату, у плазмі крові – концентрацію глюкози, загального протеїну, сечовини, загальних ліпідів, триацилгліцеролів, летких жирних кислот, холестеролу, продуктів пероксидного окиснення, згідно методів викладених у довіднику: Влізло, В. В. (ред.). (2012). Лабораторні методи досліджень у біології тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів, Сполом, 764 с. [5].

Концентрацію у плазмі крові Кальцію, Фосфору, активність аспаратамінотрансферази, аланінамінотрансферази, лактатдегідрогенази, лужної фосфатази визначали за допомогою діагностичних наборів на біохімічному аналізаторі Humalyzer 2000, кількість кальцитоніну, паратгормону, інсуліну, кортизолу визначали за допомогою діагностичних наборів на імуноферментному аналізаторі DRG.

У молоці визначали вміст білка, жиру, лактози на аналізаторі "Екомілк".

### **Виробнича перевірка комплексної лікувально-профілактичної протикетозної добавки до корму корів**

Проведено виробничу перевірку розробленої у попередні роки протикетозної кормової добавки у ФГ «Аміла» Турійського р-ну Волинської обл. на 60 коровах української чорнорябої молочної породи. Коровам 3 тижні після отелення з метою профілактики кетозу та стеатозу до комбікорму додавали

лікувально-профілактичну добавку, що містить подрібнені гранули шишок хмелю – 20 г, вітамін Е – 3 г та захищені від розщеплення у рубці холін – 20 г, метіонін – 20 г і карнітин – 1 г. Контролем слугували корови, умови утримання та годівлі яких були аналогічними. У сечі виявляли кетонові тіла за допомогою тест-смужок (Ketophan, Pliva). Кров брали з хвостової вени відразу після отелення та через місяць після отелення. У цільній крові визначали концентрацію глюкози та  $\beta$ -гідроксибутирату за допомогою глюкокетометра CareSens Dual, використовуючи тест-смужки CareSens PRO для глюкози та KetoSens для  $\beta$ -гідроксибутирату.

Таблиця 1.1

## Склад кормової добавки.

На одну корову в добу:		
	Компонент	Діюча речовина
Шишки хмелю	Шишки хмелю 20 г	$\beta$ -кислоти (лупулон) 1,2 г
Вітамін Е	Rovimix E50 6,0 г	DL- $\alpha$ -токоферол 3,0 г
Захищений DL-Метіонін	Pro-Met, Bioscreen Technologies 40,0 г	Захищений DL-Метіонін 20,0 г
Захищений DL-Холін	Sta-Chol, Bioscreen Technologies 50,0 г	Захищений DL-Холін 20,0 г
L-Карнітин	Carnipass, Lonza Ltd 5,0 г	L-Карнітин 1,0 г
Наповнювач	Шрот соєвий 200 г	Шрот соєвий 200 г

## 2.2. Методи досліджень

Вміст рубця відбирали за допомогою зонду у 5 тварин з кожної групи зранку через 2 години після ранкової годівлі. Отримані зразки охолоджували для транспортування в лабораторію і використовували для досліджень у той же день. Для інкубування використовували наступний буферний розчин. До 25 мл вмісту рубця (профільтрованого через чотири шари марлі рубця) додавали 75 мл буферного розчину Мак-Догла (на 1 л. розчину): 9,8 г  $\text{NaHCO}_3$ , 2,77 г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,57 г  $\text{KCl}$ , 0,47 г  $\text{NaCl}$ , 0,12 г  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  та 0,16 г  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

**2.2.1. Визначення рН вмісту рубця [14].** При визначенні рН умісту рубця на приладі натискали кнопку з діапазоном вимірювання рН 4–9. Електроди попередньо промивали дистильованою водою та висушували фільтрувальним папером. Вміст рубця добре перемішували, виливали у стаканчик і занурювали у нього електроди. Через 1,5–3 хвилини відмічали показники на шкалі приладу, оскільки саме протягом цього часу встановлюється стан рівноваги між електродами і досліджуваним розчином.

**2.2.2. Визначення целюлозолітичної активності вмісту рубця.** У заздалегідь приготовані мірні пробірки вносили по 10 мл вмісту рубця. Потім целюлозні папірці, які попередньо висушували при температурі  $105^\circ\text{C}$  дві години і зважували, вставляли у кожну пробірку. Закривали пробірки міцно корками та інкубували впродовж 24 години при температурі  $37^\circ\text{C}$ . Після закінчення інкубації пробірки відкривали, папірці добре промивали у проточній воді, висушували на повітрі 2 години та у сушильній шафі при температурі  $105^\circ\text{C}$  до постійної маси.

Активність вираховували за формулою:

$$X = (A - B) : A \times 100,$$

де:

X – процент активності, %;

A – маса папірця до інкубації;

$V$  – маса папірця після інкубації;

100 – процентне число.

**2.2.3. Визначення амілолітичної активності вмісту рубця.** У мірні пробірки на 10 мл вносили по 1 мл 10 % NaCl та 1 мл 2 % крохмального субстрату, а потім доводили об'єм дистильованою водою до 9,5 мл. Ставили пробірки у водяну баню при 40<sup>0</sup>C терміном на 5 хвилин. Потім додавали 0,5 мл нерозведеного вмісту рубця у кожну пробірку. Щільно закривали пробірки корками. Перший ряд пробірок залишали на водяній бані на 30 хвилин для інкубації при постійному перемішуванні їх вмісту, а з пробірок другого ряду вміст переносили у пробірки на 30 мл з підготовленою сумішшю (1 мл 5 % Zn(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> і 1 мл 0,3 н NaOH) і ставили у киплячу водяну баню на 4 хвилини. Далі вміст пробірок фільтрували через ватний тампон у мірні колбочки об'ємом на 100 мл, у які попередньо внесли по 2 мл розчину йодо-йодистого калію. Пробірки ополіскували гарячою (85–90<sup>0</sup>C) дистильованою водою і фільтр промивали доти, поки об'єм рідини у колбочках не був доведений до мітки. Таким чином отримували контрольні проби до дії амілази на крохмаль. Після закінчення інкубації з усіма наступними пробірками повторювали те ж саме, це були дослідні проби (після дії амілази на крохмаль).

Одержані фільтрати проб до та після інкубації фотоколориметрували у кюветах на 5 мл при червоному світлофільтрі проти дистильованої води.

Активність вираховували за формулою:

$$(P - M) : P \times 2 = \text{умовних амілазних одиниць,}$$

де:

$P$  – не інкубовані проби (контрольні);

$M$  – інкубовані проби (дослідні).

#### **2.2.4. Визначення протеолітичної активності вмісту рубця.**

*Дослідна проба.* У пробірку вносили 2 мл казеїну і преінкубовували 5 хвилин при температурі 39<sup>0</sup>C. Додавали 1 мл вмісту рубця. Інкубували 10

хвилин та зупиняли реакцію додаванням 5 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти.

*Контрольна проба.* Проводили все аналогічно, однак вміст рубця додавали після зупинення реакції 5 мл 5 % розчину трихлороцтової кислоти.

Після осадження білків проби центрифугували. В приготовані пробірки переносили по 1 мл надосадової рідини, додавали по 4 мл 6 % розчину карбонату натрію та по 1 мл реактиву Фоліна (розведеного 1:4). Ретельно перемішували та залишали впродовж 30 хвилин у затемненому місці. Проби досліджували фотометрично при довжині хвилі 660 нм.

*Стандарт.* До 1 мл стандарту (що містить 0,4 мг тирозину) додавали 4 мл карбонату натрію та дуже ретельно перемішували і туди ж вносили 1 мл готового 1:4 реактиву Фоліна. Через 30 хвилин експозиції фотометрували.

Активність вираховували за формулою:

$$X = (E_k - E_d) \times 0,00147 \times 100 = \text{мікроеквівалент активності тирозину в } 100 \text{ мл/хв,}$$

де:

$E_k$  – екстинція контрольної проби;

$E_d$  – екстинція дослідної проби.

**2.2.5. Визначення ліполітичної активності вмісту рубця.** У колби з притертими корками місткістю 100–150 мл відмірювали по 3 мл субстрактного розчину та по 1 мл вмісту рубця. Склад субстрактного розчину: розчин Рінгера-Локка — 3 мл, олія соняшникова — 3 мл, 0,6 % розчин цистеїну солянокислого — 1 мл, жовч — 3 краплі. Дослідні проби інкубували у термостаті за температури 39 °C впродовж 5 год. Через кожну годину проби ретельно струшували по 5 хв. По закінченню часу експозиції в кожну колбу вносили по 3 краплі 20 % фосфорновольфрамкової кислоти та ставили у холодильник. Досліджувані розчини з колбочок фільтрували у пробірки, додавали по 1 краплі розчину Ташира та проводили титрування 0,01 н. розчином NaOH до появи рожевого кольору.

Ліполітичну активність вмісту рубця визначали за формулою:

$$x = \frac{A - B}{5}, \text{ од. акт./год}$$

де: А - кількість 0,01 н NaOH, яку витратили на титрування проб, що знаходились в термостаті,

В — кількість 0,01 н NaOH, яку витратили на титрування проб, що знаходились в холодильнику,

5 — час, год.

**2.2.6. Визначення загального азоту.** У колбу К'ельдаля вносили 1 мл досліджуваного зразка та додавали 0,5 мл 6 %  $\text{CuSO}_4$  і 5 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Колби ставили на полум'я, та слідкували, щоб не доводити до сильного кипіння. Спалювання припиняли коли рідина у колбі ставала прозорою.

Весь об'єм спаленої проби переносили у перегонну колбу. У прийомну колбу вносили 3–4 краплі індикатора Таширо та 10–20 мл 0,01 н  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Далі колбу підставляли під скляну трубку, що з'єднана з холодильником апарата К'ельдаля, занурюючи кінець трубки в розчин кислоти. Потім через лійку у перегонну колбу заливали 30–40 мл 33 % NaOH.

Вмикали нагрівач та починали відгонку проби. Разом з парами води при кип'ятінні виділявся аміак, який після проходження через холодильник попадав в приймальну колбу та зв'язувався із сірчаною кислотою. Відгонку продовжували 15–30 хвилин до нейтральної реакції, яку встановлювали індикаторним папірцем.

Вміст приймальної колби титрували 0,01 н NaOH до переходу малинового забарвлення в зелене.

Кількість загального азоту в пробі розраховували за формулою:

$$X = (A - B) \times 0,14 \times 100;$$

де:

X – кількість загального азоту в 100 мл досліджуваного зразка, мг;

A – кількість 0,01 н  $\text{H}_2\text{SO}_4$  наливої в прийомну колбу, мл;

B – кількість 0,01 н NaOH, яка пішла на титрування, мл;

0,14 – кількість (мг) азоту, що зв'язується 1 мл 0,01 н  $H_2SO_4$ , мг;

100 – коефіцієнт перерахунку у проценти.

**2.2.7. Визначення залишкового і білкового азоту.** В центрифужні пробірки для осадження білків вносили 5 мл досліджуваного зразка. Туди ж додавали такий самий об'єм сірчаноокислого цинку та окису барію. Суміш ретельно перемішували та центрифугували впродовж 5 хвилин при 3000–5000 об/хв.

Потім 3 мл центрифугату переносили в колбу К'ельдаля та додавали до нього 3 мл концентрованої  $H_2SO_4$ . Спалювання проби та відгонку аміаку проводили так само, як і при визначенні загального азоту.

Вміст небілкового азоту в пробі вираховували за тою ж формулою, що і визначали вміст загального азоту.

Білковий азот визначали за різницею вмісту загального та залишкового азоту.

**2.2.8. Визначення вмісту амінного азоту.** До 1,5 мл суміші абсолютного спирту+ацетоном (у співвідношенні 1:1) вносили 0,1 мл досліджуваного зразка, осаджували та залишали на 20 хвилин. По закінченню експозиції центрифугували впродовж 15 хвилин при 2500 об/хв. Потім у мірні пробірки на 10 мл переносили центрифугат, до якого додавали 2–3 краплі фосфатного буферу (рН 6,5), добре струшували і вносили 2 мл 0,5 % розчину нінгідрину в нормальному бутиловому спирті. Потім пробірки ставили на кип'ячу водяну баню на 15–30 хвилин. Охолоджували під проточною водою та додавали етанолу до мітки 10 мл. Та проводили визначення на спектрофотометрі при довжині хвилі 570 нм. Контролем служила дистильована вода.

Кількість амінного азоту в пробі розраховували за формулою:

$$X = A \times R,$$

де:

X – мг% амінного азоту;



A – кількість азоту проби, вирахованої за графіком;

R – коефіцієнт розведення та перерахунку, мг%.

**2.2.9. Визначення аміаку.** У зовнішні ємності чашки Конвея з одного боку перегородки вносили 1 мл досліджуваного зразка, а з другого — 1 мл насиченого розчину  $K_2CO_3$ . У середину чашки Конвея вносили 2 мл 0,05 н  $H_2SO_4$ . Накривали теплим покривним склом. Змішували вміст рубця з розчином  $K_2CO_3$  і залишали на 6 годин. По закінченню експозиції кислоту переносили із середини чашки у мірну пробірку. Середину чашки невеликими порціями дистильованої води промивали декілька разів та відбирали у пробірку до 20 мл. Потім у пробірки вносили 1 мл реактиву Неслера та дистильованою водою доводили об'єм до 25 мл. Проводили визначення колориметрично на синьому світлофільтрі. Контролем служила дистильована вода.

#### **2.2.10. Визначення вмісту летких жирних кислот.**

Концентрацію ЛЖК визначали шляхом парової дистиляції зразків інкубаційного середовища в апараті Маркгама, за методом, описаним А. П. Кротковою і М. І. Мітиним. Для цього в колби перегонного апарату з дистильованою водою вносили інкубаційну рідину, насичений розчин  $MgSO_4$  і 2 % розчин  $H_2SO_4$ . Кількість ЛЖК в отриманому дистиляті визначали шляхом титрування 0,1 N розчином  $NaOH$  після додавання до нього 1 %-ного спиртового розчину фенолфталеїну. Концентрацію ЛЖК виражали у ммоль/л.

#### **2.2.11. Визначення мікробного протеїну у вмісті рубця.**

Профільтрований через чотири шари марлі вміст рубця в об'ємі 200 мл змішували з рівним об'ємом 0,2 % розчину твіну-80 в 10 % розчині формаліну. Отриману суміш залишали при кімнатній температурі впродовж 48 годин.

Центрифугували при 1000 об/хв впродовж 10 хв для виділення фракцій найпростіших суміш. Надосадову рідину зливали в колбу і виділяли з неї фракції

бактерій. До осаду додавали фізіологічний розчин і знову центрифугували у тому ж режимі. Надосадову рідину зливали у ту ж колбу, а осад промивали фізіологічним розчином. Цю процедуру повторювали 5–6 разів, доки фракція найпростіших не буде містити кормові частинки. Надосадову рідину, отриману після відділення найпростіших, центрифугували при 2000 об/хв впродовж 20 хвилин. Надосадову рідину зливали, а осад змішували з фізіологічним розчином і центрифугували. Цю процедуру повторювали 6–8 разів.

Отримані препарати бактерій переносили у бюкси і висушували при температурі 65°C до постійної маси.

### 2.2.12. Визначення вмісту кетонових тіл

*Принцип методу.* Ацетон відганяють при підігріванні в апараті К'ельдаля. З фільтрату крові ацетооцтову і β-оксимаєляну кислоти послідовно переводять в ацетон. Останній вловлюють у приймальній колбі з йодом у лужному середовищі шляхом утворення йодоформу. Надлишок йоду, витраченого на утворення йодоформу, визначають йодометрично.

*Реактиви:*

#### **10 % розчин вольфрамату натрію:**

10 г  $\text{Na}_2\text{WO}_4$  до 100 мл дист. води,

#### **2/3 н розчин $\text{H}_2\text{SO}_4$ :**

для 1 н розчину беруть 26,6 мл конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  з пит. вагою 1,84 до 1 л дист. води,

для 2/3 н  $26,6 \times 2 : 3 = 17,7$  мл конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  до 1 л дист. води;

(4 ампули фіксаналу доводять до 600 мл дист. води)

#### **2 н розчин $\text{H}_2\text{SO}_4$ :**

2 ампули фіксаналу доводять до 100 мл дист. водою

#### **10% розчин $\text{H}_2\text{SO}_4$ :**

100 мл кислоти до 1000 мл дист. води

#### **0,01 н розчин йоду:**

10 мл йоду до 100 мл дист. води;

розбивають 1 ампулу і доводять до 1000 мл дист. водою;

**0,01 н розчин гіпосульфиту  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ :**

розбивають ампулу і доводять до 1000 мл дист. водою

**10% розчин  $\text{NaOH}$ :**

10 г лугу на 100 мл дист. води.

**0,3 н  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ :**

47,30 г  $\text{Ba}(\text{OH})_2 \times 8 \text{H}_2\text{O}$  до 1000 мл дист. води

23,65 до 500 мл дист. води

**0,3 н  $\text{ZnSO}_4$**

43,116 г до 1000 мл дист. води

21,558 г до 500 мл дист. води

**свіжо приготовані**

**біхроматна суміш:**

2 г  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (двохромовоокислий калій)

20 мл конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$

100 мл дист. води;

**1% розчин крохмалю:**

1 г крохмалю на 10 мл дист. води (заварити, має бути без осаду)

**Осадження крові по Фоліну:**

готуємо колби і вливаємо:

35 мл дист. води

5 мл добре збовтаної крові (стоїть 30 хв., відбувається гемоліз еритроцитів)

50 мл вольфрамату натрію (стоїть 1 годину)

5 мл 2/3 н розчину  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( по краплях постійно перемішуючи)

Залишають на 1-2 години для повного осадження білків. Утворюється ясно-шоколадний колір. Якщо цього не сталося, то додають 1-2 краплі 2 н розчину  $\text{H}_2\text{SO}_4$  до тих пір, поки колір осаду не стане темно-коричневий ( протягом 15 хв.)

Далі фільтруємо і міцно закриваємо корками — це готовий фільтрат. Може стояти в холодильнику 3-4 дні.

### Доосадження фільтрату

У центрифужні пробірки вливаємо:

10 мл фільтрату

5 мл 0,3 н  $\text{Ba}(\text{OH})_2$

5 мл 0,3 н  $\text{ZnSO}_4$

Центрифугуємо 10 хв. при 3-3,5 тис. обертів

### Хід визначення:

#### Ацетон та ацетооцтова кислота

До перегінної колби вливаємо:

10 мл фільтрату (який відповідає 1 мл цільної крові)

1 мл 10% розчину  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

100 мл дист води (трошки постоїть, тоді підключаємо до апарату).

У приймальний стакан вносять:

2 мл 0,01 н розчину йоду

2 мл 10% розчину  $\text{NaOH}$ .

Утворюється  $\text{NaOI}$  — він біліє. Дивимось, щоб ішла рівномірна перегонка у колбах де був розчин йоду.

По закінченні дистиляції (15 хв.) приймальну колбу забирають, щільно закривають корком і залишають в темному місці на 20 хв. для закінчення реакції утворення йодоформу.

#### $\beta$ -оксимасляна кислота

Для відгонки ацетону, який утворюється в новий приймальний стакан вносять також

2 мл 0,01 н розчину йоду

2 мл 10 % розчину  $\text{NaOH}$

В дистиляційну колбу під час кипіння обережно (відставивши пальник) у 4 прийоми в однакові проміжки часу вносять 10 мл хромової суміші.

Дистилують так само, як описано вище. Після закінчення перегонки приймачі залишають стояти 15 хв. і приступають до титрування.

Для цього у приймальний стакан вносять:

2 мл 10% розчину  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . (до побуріння розчину), щоб перетворити йод у вільний через 2-3 хв. додають 2-3 краплі крохмалю.

Йод, який при цьому вивільняється відтитрують 0,01 н розчином гіпосульфїту  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Титрують до зникнення синього кольору.

Контроль: все так само, тільки замість фільтрату крові дають дист. воду.

$$(A - B) \times 0,1024 \times 100$$

АсАс

$$(A - B) \times 25$$

$\beta$ -оксимасляна кислота

### Загальна кількість кетонових тіл

Реактиви всі ті самі, хід аналізу починається так як при перегонці кетонових тіл крові, тільки коли ми додали всі реактиви і починаємо перегонку, то до перегінної колби одразу ж додаємо хромову суміш, що ми не робили при перегонці кетонових тіл крові.

Підрахунок проводять за формулою:

$$X = \frac{(A - B) \cdot 0,1024 \cdot 100}{M},$$

де:

X – кількість кетонових тіл, мг%;

A – об'єм 0,01 н розчину гіпосульфїту, витраченого на титрування контрольної проби, мл;

B – об'єм 0,01 н розчину гіпосульфїту, витраченого на титрування дослідної проби, мл;

M – об'єм взятої для перегонки крові, мл;

1 мл 0,01 н розчину йоду відповідає 0,1024 мг загального ацетону;

100 – коефіцієнт перерахунку у мг%.

### 2.2.13. Визначення вмісту дієнових кон'югатів

В основі методу лежить властивість молекул жирних кислот з двома подвійними спряженими зв'язками інтенсивно поглинати світло при довжині хвилі  $\lambda=233$  нм.

У пробірки вносять 0,2 мл плазми крові та додають 1,8 мл суміш н-гептан–ізопропанол та закривають корками. Через на 15 хв центрифугують при 6000 об/хв впродовж 10 хв. З надосадової рідини відділяють гептанову фазу (верхній шар), 0,5 мл якої вносять у пробірки, де попередньо внесли по 2 мл етилового спирту. Оптичну густина вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 233 нм проти контролю (н-гептану).

Для визначення кількості дієнових кон'югатів використовують коефіцієнт молярної екстинкції  $2,2 \times 10^5$  моль<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup>.

Концентрацію дієнових кон'югатів (ДК), виражену в мкмоль/л, розраховують за формулою:

$$A = \frac{(DE - KE) \cdot 103}{c}$$

де:

A — кількість дієнових кон'югатів у мкмоль/л;

c — кількість білка в пробі, мг;

KE — екстинкція контрольної проби;

DE — екстинкція дослідної проби;

$10^3$  — коефіцієнт перерахунку.

### 2.2.14. Визначення вмісту гідроперекисів ліпідів

Визначення вмісту гідроперекисів ліпідів у біологічному матеріалі досягається шляхом осадженням білків розчином трихлороцтової кислоти (ТХОК) та екстракцією ліпідів етанолом з наступною взаємодією досліджуваних екстрактів з тіоціанатом амонію.

0,2 мл плазми крові, яка містить 0,5 мг/мл оксалату натрію в буферному розчині рН 7,4, поміщають в центрифужну пробірку з добре фіксованим корком,

додають 2,8 мл етанолу і 0,05 мл 50 % розчину ТХОК. Пробірку щільно закривають та ретельно струшують впродовж 5–6 хв. Утворений білковий осад виділяють центрифугуванням впродовж 10 хв при 3000 об/хв.

Визначення гідроперекисів ліпідів: 1,5 мл етанольного екстракту доводять етанолом до 2,7 мл, ретельно струшують та додають 0,02 мл концентрованої НСІ і 0,03 мл 1 % розчину солі Мора в 3 % розчині НСІ. Вміст струшують та через 30 с додають 0,2 мл 20 % розчину тіоціанату амонію, після чого розвивається малинове забарвлення. Вимірювання оптичної густини проводять впродовж 10 хв після додавання тіоціанату амонію на спектрофотометрі при довжині хвилі 480 нм. У контрольні проби замість плазми крові у пробірки вносять 0,2 мл бідистильованої води.

Вміст гідроперекисів ліпідів у біологічному матеріалі виражають в величинах оптичної густини при 480 нм на 1 мл плазми крові ( $\Delta D_{480}$ /мл плазми):

$$\Delta D_{480} (\text{гідроперекисів ліпідів}) = D_{480}(\text{дослід}) - D_{480}(\text{контроль}).$$

#### **2.2.15. Визначення вмісту ТБК-активних продуктів (малонового діальдегіду — МДА)**

В основі методу лежить реакція між малоновим діальдегідом (МДА) і тіобарбітуровою кислотою (ТБК), яка при високій температурі та кислому середовищі протікає з утворенням триметинового комплексу, що містить одну молекулу МДА та дві молекули ТБК.

У пробірки до 0,5 мл плазми крові вносять 5 мл 20 % фосфорно-вольфрамової кислоти. Пробірки щільно закривають корками, перемішують і залишають на холоді впродовж 15 хв. Потім центрифугують при  $t +4$  °С впродовж 15 хв при 2500 об/хв. Надосадову рідину зливають, а до осаду додають 2 мл  $H_2O$  та 1 мл 0,8 % ТБК. Ретельно перемішують, закривають щільно корками та інкубують впродовж однієї години на водяній бані при 100 °С. Охолоджують при проточній воді та відцентрифугують впродовж 10 хв при 6000 об/хв.

В отриманому центрифугаті вимірюють оптичну густину на спектрофотометрі при двох довжинах хвиль: 535 і 580 нм, щоб виключити поглинання зафарбованих комплексів ТБК-речовинами неліпідної природи.

Вміст ТБК-активних продуктів, яка визначається в нмоль/мл, розраховують за формулою:

$$C=0,21+26,5\cdot\Delta D,$$

де:

$\Delta D$  — показник  $D_{535}-D_{580}$

**2.2.16. Вміст неетерифікованих жирних кислот.** У пробірки до 0,1 мл плазми крові вносили 3 мл екстракційної суміші (хлороформ:гептан:метанол — 250:250:12) та 0,9 мл мідного реагенту. Вміст пробірок впродовж 3 хвилин ретельно перемішували на вортексі, а потім центрифугували впродовж 5 хв при 3000 об/хв. До 1,8 мл отриманої рідини додавали 0,5 мл розчину 1,5-дифенілкарбазиду, перемішували і залишали впродовж 15 хв для утворення кольорової реакції (рожево-малинового забарвлення). Визначення проводили колориметрично при 550 нм. Вміст неетерифікованих жирних кислот вираховували за формулою:

$$X = \frac{A \cdot B \cdot 10000}{C},$$

де:

$X$  — вміст жирних кислот, мкмоль/л;

$A$  — кількість пальмітинової кислоти у стандарті, мкмоль/л;

$B$  — екстинкція дослідної проби;

$C$  — екстинкція стандартної проби;

10000 — коефіцієнт перерахунку у мкмоль/л.



### 2.2.17. Вміст загального холестеролу в плазмі крові

Метод базується на реакції Лібермана-Бурхарда, суть якої полягає в здатності холестерину утворювати з оцтовим ангідридом і концентрованою сульфатною кислотою зелене забарвлення, інтенсивність якого вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 656 нм. Для дослідження відбирали 0,2 мл плазми крові. Контролем служило 5 мл хлороформу, 1 мл оцтового ангідриду і 4 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Одночасно досліджували стандарт.

Вміст загального холестеролу визначали за формулою:

$$X = (A \times B \times 13) \div C$$

де,

X – кількість загального холестерину, моль;

B – екстинція дослідної проби;

C – екстинція стандартної проби;

13 – коефіцієнт перерахунку у ммоль/л

### 2.2.18. Визначення вмісту вільного та естерифікованого холестеролу.

Для визначання вільного холестеролу у центрифужні пробірки вносили 5 мл ліпідного екстракту та проводили випаровування на водяній бані до об'єму 1 мл. Потім у пробірки додавали 1 мл дігітоніну та залишали на 10 хв. Після закінчення часу експозиції центрифугували при 2000 обертів впродовж 10–15 хв. Надосадову рідину зливали, а осад промивали 5 мл ацетону. Відцентрифугували, потім осад висушували за кімнатної температури та проводили реакцію Лібермана-Бурхарда, яка описана вище за визначення загального холестеролу. Кількість ефірозв'язаного холестеролу визначали за різницею між загальним і вільним.

### 2.2.19. Визначення вмісту молочної кислоти в крові за Баркером і Саммерсоном.

Метод базується на здатності молочної кислоти при нагріванні з концентрованою сульфатною кислотою переходити в ацетальдегід, який дає з *n*-гідроксидифенілом характерне фіолетове забарвлення, інтенсивність якого прямо пропорційна концентрації молочної кислоти.

У центрифужну пробірку вносили 0,5 мл дистильованої води і 0,1 мл крові, 1 мл 20% розчину трихлороцтової кислоти та поміщають її на 10 хвилин у лід (для кращого осадження білків), після чого центрифугують впродовж 5 хвилин при 3000 об/хв.

Надосадову рідину переносять у чисту центрифужну пробірку, додають 1 краплю 4% розчину сульфату купруму та обережно нашаровують 3 мл концентрованої кислоти сульфатної, при цьому продовжують безперервно помішувати вміст скляною паличкою. Потім пробірку кип'ятять на водяній бані та охолоджують її на ній же до температури 20°C. До охолодженої суміші вносять 1 краплю свіжеприготовленого лужного розчину *n*-гідроксидифенілу (50 мг *n*-гідроксидифенілу розчиняють в 3 мл 3% розчину натрію гідроксиду) і ставлять пробірку на водяну баню при 30°C впродовж 30 хвилин, час від часу перемішуючи вміст. У пробірці за цей час розвивається блакитне забарвлення. Пробірку поміщають на 90 с на киплячу водяну баню. За цей час блакитне забарвлення переходить у фіолетове забарвлення. Потім суміш охолоджують та проводять визначення на ФЕК (зелений світлофільтр) у кюветі з товщиною шару 10 мм проти контролю води.

Вміст молочної кислоти у ммоль/л розраховують за формулою:

$$C \cdot 1000$$

Вміст молочної кислоти = ----- , де

$$0,1 \cdot 1000$$

*C* – кількість молочної кислоти в пробі, знайдена за калібрувальним графіком, ммоль;

0,1 – об'єм крові, узятій на дослідження, мл;

1000 в чисельнику – коефіцієнт перерахування на 1 л крові;

1000 в знаменнику – коефіцієнт переводу мкмоль в ммоль.

**2.2.20. Вміст триацилгліцеролів** у плазмі крові визначали за допомогою набору реактивів «Lachema» на біохімічному аналізаторі Humalyzer 2000.

**2.2.21. Вміст загального білка** в плазмі крові визначали за допомогою наборів фірми «Біомарк» на біохімічному аналізаторі Humalyzer 2000.

**2.2.22. Вміст глюкози** у плазмі крові визначали глюкозоксидазним методом за допомогою наборів фірми «Біомарк» на біохімічному аналізаторі Humalyzer 2000.

**2.2.23. Вміст сечовини** у плазмі крові визначали за допомогою стандартного набору фірми «Lachema» на біохімічному аналізаторі Humalyzer 2000.

**2.2.24. Визначення активності аспартатамінотрансферази (АсАТ) та аланінамінотрансферази (АлАТ).** Проводили методом Райтмана-Френкеля за допомогою стандартного наборів фірми «SIMKO Ltd» (Україна). на біохімічному аналізаторі Humalyzer 2000.

**2.2.25. Визначення загального Кальцію** проводили за допомогою стандартного набору, виготовленого фірмою «SIMKO Ltd» (Україна). Метод базується на утворенні кольорової реакції з арсеназою III, за методом Р. J. Вауер. При нейтральному рН Кальцій утворює з розчином барвника комплекс синього кольору, інтенсивність якого визначали на спектрофотометрі.

Концентрацію кальцію (Са, ммоль/л) у сироватці крові розраховували за формулою:

$$Ca = (E_d / E_{ст}) \times 2,5,$$

де  $E_d$  —  $E$  — екстинкція (оптична густина) дослідної (д) проби;

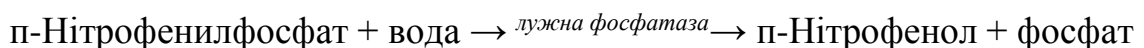
$E_{ст}$  —  $E$  — екстинкція стандартної (ст) проби;

2,5 — коефіцієнт переводу в ммоль/л.

**2.2.26. Визначення концентрації неорганічного Фосфору** проводили за допомогою стандартного набору, виготовленого фірмою «SIMKO Ltd» (Україна). Метод базується на утворенні кольорової реакції малахітового зеленого з фосфорномолібденовою кислотою за методом В. В. Меньшикова [39]. Неорганічний фосфор утворює з молібденовою кислотою фосфорномолібденову гетерополікислоту, яка реагує з основним барвником — малахітовим зеленим і дає зеленувато-синє забарвлення. У сильно кислому середовищі іони фосфору утворюють комплекс з молібдатом. Поглинання цього комплексу в ультрафіолетовій області пропорційне концентрації Фосфору. Розрахунок проводили за калібрувальним графіком.

**2.2.27. Визначення активності лужної фосфатази** (лужна фосфогідролаза моноестерів ортофосфорної кислоти, К.Ф.3.1.3.1.) в сироватці крові проводили з використанням набору реактивів фірми «Філіст» (Україна), (Кінетичний метод з ДЕА-буфером). Метод базується : лужна фосфатаза в лужному середовищі каталізує перенесення фосфатної групи від п-нітрофенілфосфата до діетаноламіну, звільняючи п-нітрофенол.

Кількість п-нітрофенолу, що утворився в одиницю часу, пропорційна активності ферменту і визначається по зміні оптичної щільності розчину зразка в одиницю часу при довжині хвилі 405 нм.



**2.2.28. Визначення вмісту інсуліну, кортизолу, паратгормону і кальцитоніну.** У плазмі крові визначали за допомогою стандартного наборів фірми «The DRG Group Elisab». Для кількісного визначення кортизолу з використанням даного набору застосовується конкурентний метод

імунохемілюмінесцентного аналізу. Проби, очищені антигени кортизолу, моноклональні антитіла до кортизолу, і мікрочастинки, які мають магнітні властивості, покриття яких містить овечі поліклональні антитіла, ретельно змішують та інкубуються. При цьому формуються імунні комплекси. Світловий сигнал вимірюється фотоелектронним помножувачем. Результат вимірювання, виражений у відносних одиницях люмінесценції, є обернено пропорційним концентрації кортизолу у пробі (або, у відповідних випадках, в калібраторі/контролі).

**2.2.29. Склад молока** (вміст білка, жиру, лактози) визначали на аналізаторі "Екомілк".

## РОЗДІЛ 3

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

## 3.1. Порівняльна дія монензину та шишок хмелю на обмін речовин корів

## 3.1.1. Вплив на ферментацію у рубці

З метою регуляції рубцевої ферментації, впливу на обмін речовин, стан здоров'я та молочну продуктивність коровам вводили у корм іонофорний антибіотик монензин або розмелені гранули жіночих суплідь хмелю. Після отелення у корів брали вміст рубця для досліджень змін його хімічного складу.

Додавання до раціону корів як монензину, так і шишок хмелю знижувало протеолітичну активність у вмісті рубця (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Ензиматична активність вмісту рубця ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )

Показники	Групи корів		
	Контроль	Монензин	Хміль
Амілолітична, тис. ум. ам. од.	389,7±20,46	453,4±19,37*	425,9±20,48
Целюлозолітична, % актив.	29,55±1,12	25,49±0,79	27,33±0,95
Протеолітична, екв. тир./100 мл/хв	8,02±0,21	5,33±0,41***	6,24±0,29**
Ліполітична, ммоль НЕЖК	5,91±0,10	4,29±0,19**	5,01±0,30**

У цій та наступних таблицях статистична вірогідність вказана: \* - між контрольною та дослідними групами. \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ .

Крім того, спостерігалось пригнічення ліполітичної активності, більш виражене у групі, яка отримувала шишки хмелю. Амілолітична активність у рубці обох дослідних груп зросла, проте статистично вірогідним цей вплив був лише у групі, яка отримувала монензин ( $p < 0,05$ ). Целюлозолітична активність не залежала від введення у раціон досліджуваних чинників. Така дія викликана пригніченням монензином та наявними у шишках хмелю  $\beta$ -кислотами грам-позитивних бактерій рубця, до яких належать протеолітичні бактерії.

За дії монензину та шишок хмелю у вмісті рубця значно знизилась концентрація аміаку ( $p < 0,05$ ) (табл. 3.2.). Концентрація аміаку в рубці жуйних може бути зумовлена двома причинами: меншою його продукцією, або ж посиленням використання у синтезі амінокислот бактеріального протеїну.

Таблиця 3.2

**Азотово-вуглеводний обмін у вмісті рубця ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Показники	Групи корів		
	Контроль	Монензин	Хміль
Білковий азот, ммоль/л	47,25 $\pm$ 3,74	61,56 $\pm$ 4,31*	57,32 $\pm$ 3,72*
Мікробний азот, ммоль/л	33,12 $\pm$ 1,59	34,93 $\pm$ 2,88	36,15 $\pm$ 2,10
ЛЖК, ммоль/л	130,57 $\pm$ 5,70	126,09 $\pm$ 7,84	129,56 $\pm$ 5,22
Аміак, ммоль/л	6,78 $\pm$ 0,22	5,31 $\pm$ 0,29***	5,12 $\pm$ 0,36***
Лактат, ммоль/л	5,91 $\pm$ 0,35	5,75 $\pm$ 0,31	5,81 $\pm$ 0,25
pH	7,09 $\pm$ 0,07	6,86 $\pm$ 0,06*	6,99 $\pm$ 0,05

У нашому випадку ми не спостерігали збільшення кількості мікробного азоту, тобто інтенсифікації синтезу мікробного протеїну не відбувалось. Отже, причиною зниження концентрації аміаку було пригнічення розщеплення протеїну корму. Це зумовлено переважною дією досліджуваних добавок на бактерії-гіперпродуценти аміаку (*Clostridium aminophilum*, *Clostridium sticklandii*, *Peptostreptococcus anaerobius* та деякі інші). Внаслідок меншого

розщеплення кормового протеїну, у рубці зростав вміст білкового азоту. Таким чином, як монензин, так і шишки хмелю знижували розщеплюваність протеїну.

Концентрація лактату у рубці корів обох груп дещо зменшувалась. проте ці зміни не були статистично вірогідними. Вірогідних змін концентрації летких жирних кислот також не виявлено. Враховуючи підвищення амілолітичної активності при незмінній целюлозолітичній активності, зростала, очевидно, частка пропіонової кислоти та знижувалась частка оцтової кислоти, проте ці показники ми не визначали. Незважаючи на незмінну кількість лактату та летких жирних кислот рН рубцевої рідини ( $p < 0,05$ ). Це зниження не було критичним і рН залишався у межах фізіологічної норми.

### 2.1.2. Вплив на показники крові

При аналізі змін показників крові корів до отелення та через тиждень і місяць після нього слід враховувати фізіологічні зміни, які відбуваються у транзитний період і спостерігаються у тварин усіх груп як контрольної, так дослідних. Найбільш виражені при цьому – зниження після отелення концентрації глюкози та зростання концентрації неестерифікованих жирних кислот (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

#### Біохімічні показники плазми крові, ммоль/л ( $M \pm m$ , $n=10$ )

Показники	Групи корів		
	Контроль	Монензин	Хміль
	до отелення		
1	2	3	4
Загальний протеїн, г/л	75,35±1,38	71,83±1,65	73,59±1,67
Сечовина	4,61±0,17	4,52±0,28	4,85±0,20
Глюкоза	3,79±0,11	3,88±0,09	3,75±0,07
Триацилгіцероли	0,23±0,02	0,26±0,01	0,30±0,01



## Продовження таблиці 3.3

1	2	3	4
НЕЖК, мекв/л	0,32±0,03	0,28±0,02	0,31±0,01
Загальний холестерол	4,01±0,26	4,12±0,19	4,00±0,22
Вільний холестерол	1,32±0,10	1,26±0,07	1,33±0,08
Естер. холестерол	2,68±0,15	2,87±0,13	2,67±0,09
Лактат	0,81±0,04	0,70±0,05	0,63±0,04*
АлАТ, нкат/л	328,22±21,40	301,72±25,93	310,07±28,64
АсАТ, нкат/л	895,33±18,67	876,28±51,27	1030,12±61,20
Лужна фосфатаза, мккат/л	2,17±0,19	2,22±0,13	1,95±0,23
ЛДГ, мккат/л	26,71±0,20	24,10±0,11	28,32±0,26
тиждень після отелення			
Загальний протеїн, г/л	64,18±1,79 <sup>#</sup>	70,22±1,43	75,13±1,92
Сечовина	5,95±0,27 <sup>##</sup>	5,32±0,15 <sup>*#</sup>	5,73±0,21 <sup>#</sup>
Глюкоза	2,78±0,07 <sup>##</sup>	3,34±0,05 <sup>*#</sup>	3,05±0,08 <sup>#</sup>
Триацилгіцероли	0,29±0,01	0,35±0,02	0,33±0,03
НЕЖК, мекв/л	0,84±0,04 <sup>###</sup>	0,59±0,02 <sup>**###</sup>	0,73±0,05 <sup>###</sup>
Загальний холестерол	4,46±0,29 <sup>#</sup>	4,47±0,14 <sup>#</sup>	4,52±0,17 <sup>#</sup>
Вільний холестерол	1,35±0,08	1,29±0,05	1,37±0,06
Естер. холестерол	3,10±0,10 <sup>#</sup>	3,19±0,12 <sup>#</sup>	3,15±0,07 <sup>#</sup>
Лактат	1,28±0,07 <sup>##</sup>	1,15±0,04 <sup>*##</sup>	1,11±0,05 <sup>*###</sup>
АлАТ, нкат/л	424,21±32,16 <sup>##</sup>	398,37±24,73 <sup>##</sup>	442,27±29,55 <sup>##</sup>
АсАТ, нкат/л	1154,42±78,24 <sup>##</sup>	1204,39±87,43 <sup>##</sup>	1150,71±59,40 <sup>##</sup>
Лужна фосфатаза, мккат/л	2,38±0,15	2,27±0,11	2,09±0,22*
ЛДГ, мккат/л	29,48±0,23	30,44±0,42	28,50±0,49
місяць після отелення			
Загальний протеїн, г/л	68,29±2,11	67,33±1,36	65,43±0,97
Сечовина	4,82±0,27	4,77±0,24	4,85±0,19
Глюкоза	3,25±0,20 <sup>#</sup>	3,54±0,15 <sup>*#</sup>	3,18±0,09 <sup>#</sup>
Триацилгіцероли	0,30±0,01 <sup>#</sup>	0,32±0,02 <sup>#</sup>	0,29±0,02

Продовження таблиці 3.3

1	2	3	4
НЕЖК, мекв/л	0,68±0,04 <sup>###</sup>	0,55±0,02 <sup>*###</sup>	0,72±0,03 <sup>###</sup>
Загальний холестерол	4,43±0,38 <sup>#</sup>	4,39±0,21 <sup>#</sup>	4,43±0,23 <sup>#</sup>
Вільний холестерол	1,41±0,11	1,45±0,08	1,53±0,05
Естер. холестерол	3,01±0,09 <sup>#</sup>	2,95±0,06 <sup>#</sup>	2,90±0,11 <sup>#</sup>
Лактат	1,15±0,03 <sup>##</sup>	0,85±0,05 <sup>*#</sup>	1,21±0,08 <sup>###</sup>
АлАТ, нкат/л	301,12±18,42	312,92±15,64	297,70±13,09
АсАТ, нкат/л	998,43±22,70 <sup>#</sup>	941,45±42,59 <sup>#</sup>	950,47±37,12 <sup>#</sup>
Лужна фосфатаза, мккат/л	2,19±0,11	2,15±0,05	2,22±0,07 <sup>#</sup>
ЛДГ, мккат/л	31,52±0,15	0,28±0,11	0,27±0,04

У цій та наступних таблицях статистична вірогідність вказана: \* - між контрольною та дослідними групами; # - між показниками до та після отелення.

\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ; # -  $p < 0,05$ ; ## -  $p < 0,01$ ; ### -  $p < 0,001$ .

Це пов'язано з негативним енергетичним балансом і є характерним для усіх корів, особливо для високопродуктивних. Крім того, для плазми крові корів усіх груп після отелення характерне зростання концентрації сечовини і лактату та зростання активності амінотрансфераз.

Спостерігається тенденція до зростання за дії досліджуваних чинників концентрації загального протеїну. Так, вміст загального протеїну у плазмі крові корів контрольної групи після отелення був на 15,9 % меншим, ніж у плазмі крові сухостійних корів ( $p < 0,05$ ). Це може бути викликано менш інтенсивним синтезом протеїну на метаболічні процеси внаслідок негативного енергетичного балансу, який може призводити до змін обміну азотових сполук. У плазмі крові корів через тиждень через місяць після отелення зросла концентрація сечовини ( $p < 0,05$ ). Причиною цього може бути зменшення надходження аміаку з рубця внаслідок меншого його утворення, активніше виведення сечовини з сечею або посилення переходу сечовини у рубець зі слиною.

Монензин і шишки хмелю викликали статистично вірогідні зміни біохімічних показників крові корів лише у післяотельний період, причому через тиждень після отелення дія була інтенсивніша ніж через місяць.

При цьому монензин діяв інтенсивніше і цей ефект виявлявся як через тиждень, так і через місяць після отелення, тоді як шишки хмелю через місяць після отелення майже не впливали на досліджувані біохімічні параметри крові. До отелення при згодовуванні монензину і шишок хмелю виявлено лише зниження концентрації лактату ( $p < 0,05$ ).

Плазма крові корів, які отримували монензин і шишки хмелю містила більше глюкози ( $p < 0,05$ ), що, скоріш за все, пов'язано з більшою продукцією у рубці пропіонату, який є основним попередником глюкози крові жуйних тварин. Крім того, у плазмі крові корів дослідних груп виявлено меншу концентрацію лактату ( $p < 0,05$ ). Згідно сучасних уявлень, лактат відіграє суттєву роль в енергетичному забезпеченні організму, особливо у жуйних. Використання лактату підвищується в екстремальних умовах. Початок лактації у високопродуктивних корів супроводжується значною напруженістю обміну речовин і негативним енергетичним балансом організму. Оскільки концентрація НЕЖК у плазмі крові дослідних корів знижувалась, очевидно частину енергетичних витрат забезпечується окисненням лактату. Слід зазначити, що шишки хмелю впливали на концентрацію глюкози, лактату й сечовини ефективніше ніж монензин.

У плазмі крові корів, які отримували монензин або шишки хмелю вміст загального протеїну після отелення не змінювався. Очевидно зміни рубцевої ферментації за дії вказаних чинників у подальшому впливають на обмін протеїнів крові стабілізуючи загальну їх кількість.

Щодо вмісту сечовини у плазмі крові корів спостерігалась зворотна тенденція, тобто її кількість зростала. Особливо вираженою ця зміна була у корів контрольної групи, у яких концентрація сечовини зросла на 29,1 % ( $p < 0,01$ ). Дещо менші, хоча також суттєві зміни виявлено у плазмі крові корів, які отримували монензин, де концентрація сечовини після отелення зросла на 17,7

% ( $p < 0,05$ ). За додавання до корму шишок хмелю кількість сечовини у плазмі крові корів після отелення була більшою на 18,1 % ( $p < 0,05$ ). На відміну від моногастричних тварин, у жуйних сечовина у крові є не лише продуктом розпаду амінокислот організму. Вона у значній кількості синтезується печінкою з аміаку, який утворюється у рубці при дезамінуванні амінокислот корму бактеріями. Таким чином, зростання сечовини може свідчити про більше надходження з рубця у кров аміаку у корів після отелення ніж до нього, що пов'язано з більшим споживання коровами після отелення кормів, а відповідно й кормового протеїну.

Концентрація глюкози у плазмі крові усіх корів протягом досліджу знижувалась, що характерно для корів після отелення і є фізіологічно нормою, пов'язаною з початком лактації. Тим не менш, зміни у корів різних груп відрізнялися. Концентрація глюкози у плазмі крові корів контрольної групи через тиждень після отелення була меншою на 26,6 % порівняно до відповідного показника до отелення ( $p < 0,01$ ), а у корів, які отримували монензин або шишки хмелю зниження цього показника становило 13,9 % та 18,7 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Через місяць після отелення кількість глюкози у крові корів усіх груп також була меншою ніж у крові корів до отелення ( $p < 0,05$ ), тобто негативний енергетичний баланс у них спостерігався надалі. Проте, ці показники були дещо більшими порівняно з показниками виявленими через тиждень після отелення. Так, концентрація глюкози у плазмі крові корів контрольної групи через місяць після отелення була на 14,2 % нижчою порівняно до цього ж показника у них перед отеленням. Для корів, які отримували монензин або шишки хмелю ці показники різнились відповідно на 8,8 % та 15,2 %. При цьому, різниця у концентрації глюкози контрольної та дослідних груп вірогідною була лише для корів які отримували монензин, у плазмі крові корів цієї групи глюкози містилось на 8,9 % більше порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ ). Кількість глюкози у плазмі крові корів що отримували шишки хмелю і корів контрольної групи через місяць після отелення не різнилась. Таким чином, на цей показник шишки хмелю діяли інтенсивніше через тиждень після отелення, а монензин – через місяць після нього.

Особливо значні різниці у показниках до та після отелення виявлено для неестерифікованих жирних кислот. Зокрема, у плазмі крові корів контрольної групи концентрація неестерифікованих жирних кислот після отелення була більшою у 2,6 рази ( $p < 0,001$ ), а у корів дослідних груп у 2,3 рази ( $p < 0,001$ ). Таке значне збільшення концентрації неестерифікованих жирних кислот цілком нормальне явище для корів після отелення, воно пов'язане з негативним енергетичним балансом у цей період, викликаним початком лактації. Тим не менш, варто звернути увагу на те, що у корів дослідних груп викид неестерифікованих жирних кислот з жирової тканини відбувався дещо з меншою інтенсивністю, ніж у корів контрольної групи.

Для триацилгліцеролів була характерна дещо інші тенденції. У плазмі крові корів контрольної групи їх вміст зростав після отелення на 26,1 %, у плазмі крові корів які отримували монензин - на 34,6 % ( $p < 0,05$ ), тоді як у корів які отримували шишки хмелю змін не виявлено. Триацилгліцероли крові синтезуються, головним чином, печінкою з неестерифікованих жирних кислот. Після цього триацилгліцероли у складі ліпопротеїнів дуже низької щільності надходять у кров та використовуються для синтезу молочного жиру. Неузгодження змін їх вмісту зі змінами концентрації неестерифікованих жирних кислот може бути пояснено інтенсивнішим використанням триацилгліцеролів у цьому синтезі. З іншого боку, такий ефект може бути пов'язаний з затримкою триацилгліцеролів у печінці, тобто з стеатозом.

У плазмі крові корів усіх груп після отелення спостерігалось зростання вмісту загального холестеролу. У контрольній групі цей показник збільшився на 11,2 %, а у групах що отримували монензин та шишки хмелю на 8,5 та 13,0 % відповідно ( $p < 0,05$ ). Отже, монензин дещо зменшував загальну кількість холестеролу у крові, а шишки хмелю, навпаки, дещо збільшували. При цьому, жодних змін у вмісті вільного холестеролу не виявлено, зростання кількості загального холестеролу відбувалось виключно за рахунок естерифікованої його форми. Тут тенденції такі ж, як і для загального холестеролу. Найбільше зростання виявлено у контрольній групі і групі, що отримувала шишки хмелю –

15,7 та 17,9 % ( $p < 0,05$ ), тоді як плазма крові корів, яким давали монензин після отелення мала зростання кількості естерів холестеролу лише на 11,2 % ( $p < 0,05$ ).

Після отелення у плазмі крові корів усіх груп значно зростав вміст лактату. У контрольній групі це збільшення становило 58,0 %, у групі, що отримувала монензин 64,3 %, а у групі якій до корму додавали шишки хмелю – 76,2 % ( $p < 0,01$ ).

Отже, при дослідженні біохімічних показників плазми крові виявлено, що шишки хмелю не впливали на них через місяць після отелення, за винятком помірного зниження концентрації лактату ( $p < 0,05$ ). Натомість дія монензину у цей період була виражена значно інтенсивніше. Через місяць після отелення монензин знижував концентрацію сечовини ( $p < 0,05$ ), неестерифікованих жирних кислот ( $p < 0,01$ ) та лактату ( $p < 0,05$ ) та підвищував концентрацію глюкози ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками корів контрольної групи. Таким чином дія шишок хмелю була менш інтенсивною і менш тривалою.

У крові корів до та після отелення виявлено значні відмінності при порівнянні концентрації кетонівих тіл, причому всі зміни мали високу статистичну вірогідність ( $p < 0,01-0,001$ ). Для кетонівих тіл спостерігались тенденції подібні до інших показників, вони зростали після отелення у корів як контрольної так і дослідних груп (табл. 3.4). Збільшення концентрації кетонівих тіл у крові корів можна пояснити змінами вмісту НЕЖК та глюкози у плазми їх крові, тобто фізіологічною перебудовою регуляторних систем організму при переході від сухостою до лактації. Інтенсивніше ці зміни були виражені через тиждень після отелення, що також характерно для усіх корів. Це цілком закономірно, оскільки після отелення кетогенез посилюється, що пов'язано з негативним енергетичним балансом, який супроводжується дефіцитом глюкози. Організм компенсує цей дефіцит синтезом кетонівих тіл з жирних кислот. У цілому слід зазначити, що у крові корів після отелення концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату зростала більшою мірою, ніж концентрація ацетоацетату.

Встановлено вплив монензину і шишок хмелю на кетогенез. У сухостійний період спостерігалось лише незначне, хоча й статистично вірогідне ( $p < 0,05$ )

зменшення концентрації ацетоацетату за згодовування монензину. Кетонові тіла утворюються як додатковий енергетичний субстрат з НЕЖК при дефіциті глюкози. Оскільки у даному випадку концентрація глюкози зростала, потреба у кетонівих тілах зменшувалась.

Таблиця 3.4

**Кетонові тіла у сироватці крові корів, ммоль/л ( $M \pm m$ , n=10)**

Показники	Групи корів		
	Контроль	Монензин	Хміль
	до отелення		
Ацетоацетат	0,21±0,02	0,17±0,02*	0,20±0,02
β-оксибутират	0,45±0,03	0,39±0,04	0,38±0,03
Сума кетонових тіл	0,66±0,04	0,56±0,05	0,58±0,04
Ацетоацетат/β-оксибутират	0,47±0,03	0,44±0,04	0,53±0,07
	тиждень після отелення		
Ацетоацетат	0,30±0,02 <sup>###</sup>	0,21±0,01 <sup>**#</sup>	0,24±0,02 <sup>#</sup>
β-гідроксибутират	0,88±0,05 <sup>###</sup>	0,65±0,04 <sup>**###</sup>	0,73±0,04 <sup>*###</sup>
Сума кетонових тіл	1,18±0,06 <sup>###</sup>	0,86±0,04 <sup>**###</sup>	0,97±0,05 <sup>###</sup>
Ацетоацетат/β-оксибутират	0,34±0,06 <sup>##</sup>	0,32±0,03 <sup>###</sup>	0,33±0,05 <sup>###</sup>
	місяць після отелення		
Ацетоацетат	0,29±0,02	0,18±0,02 <sup>**</sup>	0,25±0,03
β-гідроксибутират	0,72±0,04	0,52±0,03 <sup>**</sup>	0,64±0,04
Сума кетонових тіл	1,01±0,03	0,70±0,03 <sup>*</sup>	0,89±0,04
Ацетоацетат/β-оксибутират	0,40±0,02	0,35±0,01	0,39±0,02

Особливо виражено вплив монензину та шишок хмелю на кетогенез проявлявся через тиждень після отелення. У цей період виявлено значне зменшення вмісту ацетоацетату та гідроксибутирату у крові корів, які отримували монензин ( $p < 0,01$ ). Меншою мірою синтез кетонових тіл пригнічувався за додавання шишок хмелю ( $p < 0,05$ ). Зокрема, за дії монензину у

крові корів після отелення концентрація ацетоацетату була нижчою на 30,0 % ( $p < 0,01$ ), концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату – на 26,1 % ( $p < 0,01$ ).

Вміст ацетоацетату у крові корів через тиждень після отелення у контрольній групі був на 42,8 %, у групі яка отримувала монензин на 23,5 %, а у групі, яка отримувала шишки хмелю на 20,0 %. Тобто, за вмістом ацетоацетату видно суттєве зниження інтенсивності вказаних змін у крові корів дослідних груп. Проте, за вмістом у крові  $\beta$ -гідроксибутирату одержано дещо інші результати. Через тиждень після отелення вміст  $\beta$ -гідроксибутирату у крові корів контрольної групи зріс на 95,5 %. У крові корів що отримували монензин це зростання було значно меншим і становило лише 66,5 %. У корів, які отримували шишки хмелю вміст  $\beta$ -гідроксибутирату після отелення зростав приблизно з такою ж інтенсивністю, як у корів контрольної групи, тобто на вказаний показник шишки хмелю не вплинули.

Тим не менш, за сумарною кількістю ацетоацетату та  $\beta$ -гідроксибутирату помірний вплив шишок хмелю помітний. Так, ця сумарна кількість у корів контрольної групи після отелення на 78,8 % перевищувала показник до отелення. У корів, яким додавали монензин зростання суми кетонових тіл було суттєво меншим і становило лише 53,6 %. У крові корів, які отримували шишки хмелю різниця була значно ближчою до показника контрольної групи (67,2 %), проте тенденція до зниження концентрації кетонових тіл у них наявна.

Через місяць після отелення статистично вірогідну дію на вміст у крові кетонових тіл виявлено лише для монензину. Так, у цей період монензин знизив концентрацію ацетоацетату на 38,1 %, а концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату – на 27,8 % ( $p < 0,01$ ). У результаті сумарна кількість ацетоацетату і  $\beta$ -гідроксибутирату у крові цих корів була на 30,7 % меншою ніж у корів контрольної групи. Для шишок хмелю помітна подібна тенденція, проте вона кількісно незначна та статистично не вірогідна.

Цікавий результат отримано за зниженням через тиждень після отелення співвідношення ацетоацетат/ $\beta$ -гідроксибутират. Якщо у корів контрольної групи і групи що отримувала монензин ця зміна була однаковою і становила 27,7 і



27,3 %, то у корів які отримували шишки хмелю співвідношення ацетоацетат/ $\beta$ -гідроксибутират знизилось після отелення на 47,8 %. Через місяць після отелення таких різниць не виявлено.

Нашими дослідженнями встановлено помірний вплив шишок хмелю на інтенсивність пероксидного окиснення та відсутність такої дії у монензину. Додавання до раціону корів шишок хмелю суттєво знижувало концентрацію продуктів пероксидного окиснення у плазмі крові корів як до отелення, так і після нього (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

**Концентрація продуктів пероксидного окиснення у плазмі крові  
( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

Показники	Групи корів		
	Контроль	Монензин	Хміль
	до отелення		
ГПЛ, од. Е480/мл	2,16 $\pm$ 0,10	2,01 $\pm$ 0,07	1,98 $\pm$ 0,14
ТБКАП, мкмоль/л	1,12 $\pm$ 0,04	1,20 $\pm$ 0,06	1,05 $\pm$ 0,03*
ДК, мкмоль/л	5,67 $\pm$ 0,21	5,23 $\pm$ 0,18	4,99 $\pm$ 0,25*
	тиждень після отелення		
ГПЛ, од. Е480/мл	2,91 $\pm$ 0,16 <sup>##</sup>	2,88 $\pm$ 0,20 <sup>##</sup>	2,64 $\pm$ 0,13 <sup>*##</sup>
ТБКАП, мкмоль/л	1,67 $\pm$ 0,08 <sup>##</sup>	1,52 $\pm$ 0,10 <sup>#</sup>	1,54 $\pm$ 0,09 <sup>##</sup>
ДК, мкмоль/л	9,50 $\pm$ 0,32 <sup>###</sup>	9,24 $\pm$ 0,27 <sup>###</sup>	8,79 $\pm$ 0,38 <sup>*###</sup>
	місяць після отелення		
ГПЛ, од. Е480/мл	3,01 $\pm$ 0,21 <sup>##</sup>	3,14 $\pm$ 0,18 <sup>###</sup>	2,51 $\pm$ 0,15 <sup>*#</sup>
ТБКАП, мкмоль/л	1,20 $\pm$ 0,12	1,34 $\pm$ 0,14	1,02 $\pm$ 0,06*
ДК, мкмоль/л	7,27 $\pm$ 0,26 <sup>##</sup>	6,92 $\pm$ 0,30 <sup>##</sup>	6,33 $\pm$ 0,23*

До отелення вміст гідропероксидів ліпідів у плазмі крові корів, які отримували шишки хмелю, знизився порівняно до показника корів контрольної групи на 7,8 %, вміст ТБК активних продуктів – на 6,3 % ( $p < 0,05$ ), а вміст

дієнових кон'югантів – на 12,0 % ( $p < 0,05$ ). Після отелення зберігалась така сама тенденція: вміст гідропероксидів ліпідів знизився на 9,3 % ( $p < 0,05$ ), ТБК активних продуктів - на 7,8 %, вміст дієнових кон'югантів – на 7,5 % ( $p < 0,05$ ). Таким чином, на відміну від монензину, шишки хмелю виявляли антиоксидантну дію.

Після отелення концентрація продуктів пероксидного окиснення у плазмі крові корів усіх груп була значно вищою, ніж до отелення. Це цілком закономірно і фізіологічно обґрунтовано, отелення і початок лактації це критичний період для тварини, який супроводжується, у тому числі, й оксидативним стресом. Більшою мірою такий ефект виявлявся через тиждень після отелення, ніж через місяць після нього.

У плазмі крові корів контрольної групи через тиждень після отелення вміст гідропероксидів ліпідів зріс на 34,7 % порівняно до вмісту гідропероксидів ліпідів у плазмі їх крові до отелення ( $p < 0,01$ ). Вміст ТБК активних продуктів у плазмі крові корів цієї групи через тиждень після отелення був більшим 49,1 % ( $p < 0,01$ ), а вміст дієнових кон'югантів – на 67,5 % ( $p < 0,01$ ). Подібні зміни спостерігались й у дослідних групах. У плазмі крові корів, що отримували монензин, через тиждень після отелення вміст гідропероксидів ліпідів, ТБК активних продуктів та дієнових кон'югантів зріс на 43,3 % ( $p < 0,01$ ), 26,6 % ( $p < 0,05$ ) і 76,7 % ( $p < 0,001$ ), а у плазмі крові корів, які отримували шишки хмелю – на 33,3 % ( $p < 0,01$ ), 46,7 % ( $p < 0,01$ ), і 76,2 % ( $p < 0,001$ ) відповідно. Цілком можливо, що таке значне збільшення продуктів пероксидного окиснення зумовлене не лише напруженим обміном речовин у тканих, а й значним вивільнення неестерифікованих жирних кислот з жирової тканини у цей фізіологічний період, що викликано негативним енергетичним балансом. Надмірна кількість жирних кислот у хіломікронах крові може бути причиною зростання кількості пошкоджених подвійних зв'язків.

Через місяць після отелення концентрація гідропероксидів ліпідів у плазмі крові корів усіх трьох груп була вищою ніж до отелення і приблизно відповідала їх концентрації виявленій через тиждень після отелення. У той же час,

концентрації ТБК активних продуктів та дієнових кон'югатів через місяць після отелення знизилась порівняно з цими показниками отриманими через тиждень після отелення, але для дієнових кон'югатів усе одно були вищими ніж до отелення. При цьому, при порівнянні антиоксидантної дії показано, що через місяць після отелення, як і через тиждень нього, за додавання до корму шишок хмелю знижується концентрація у крові продуктів пероксидного окиснення. Так, через місяць після отелення у плазмі крові корів цієї групи, порівняно з контрольною групою, концентрація гідропероксидів ліпідів знизилась на 16,4 %, ТБК активних продуктів – на 15,0 %, а дієнових кон'югатів – на 12,9 % ( $p < 0,05$ ).

Вплив шишок хмелю на вміст продуктів пероксидного окиснення пояснюється наявністю у хмелі компонентів з потужною антиоксидантною дією. Антиоксидантні властивості шишок хмелю добре відомі, оскільки шишки хмелю давно використовуються у пивоварінні. Виявляється, антиоксидантний вплив проявляється не лише місцево при бродінні, речовини з антиоксидантними властивостями всмоктуються в кров і діють на рівні організму тварини.

### **3.1.3. Вплив на молочну продуктивність**

Додавання до раціону монензину збільшило середньодобові надої корів (табл. 3.6) на 2,2 кг, проте жирність молока при цьому знизилась з 3,41 до 3,22 % ( $p < 0,05$ ). Внаслідок цього, надій у перерахунку на базисну жирність зріс лише на 0,8 кг або на 3,8 %. Змін у вмісті молочного протеїну та лактози за дії монензину не виявлено.

За додавання монензину, внаслідок зростання надою та збільшення частки протеїну у складі молока, збільшився добовий вихід протеїну з молоком, який у корів цієї групи був на 11,6 % більшим порівняно до молока корів контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Вихід молочного жиру та лактози також дещо зростав, проте ці зміни не були статистично вірогідними. Таким чином, монензин незначно вплинув на молочну продуктивність.

Таблиця 3.6

**Показники молочної продуктивності корів ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

Показники	Групи корів		
	Контроль	Монензин	Хміль
Добовий надій, кг	22,30±1,19	24,52±1,06	22,44±1,10
Надій на базисну жирність, кг	22,36±1,10	23,22±0,87	22,77±0,95
Жир, %	3,41±0,07	3,22±0,05*	3,45±0,09
Протеїн, %	3,11±0,12	3,15±0,15	3,20±0,18
Лактоза, %	4,59±0,19	4,62±0,30	4,58±0,21
Вихід жиру, кг/добу	0,76±0,03	0,79±0,05	0,77±0,06
Вихід протеїну, кг/добу	0,69±0,04	0,77±0,05*	0,72±0,03
Вихід лактози, кг/добу	1,02±0,07	1,13±0,04	1,03±0,06

Згодовування шишок хмелю не впливало на надій та склад молока. Жоден з досліджуваних показників молока корів цієї групи не відрізнявся від контролю, за винятком незначного і статистично не вірогідного збільшення відсотка молочного протеїну.

Отже, шишки хмелю можуть бути застосовані для регулювання рубцевої ферментації та обміну речовин в організмі корів у перед- та післяотільний період. Введення до раціону шишок хмелю може зменшити негативні зміни метаболізму, характерні для корів у цей період, і попередити ряд поширених у високопродуктивних корів порушень обміну речовин, а саме: кетоз, стеатоз, ацидоз.

***Підсумки до підрозділу 3.1.***

Додавання до раціону шишок хмелю пригнічує протеолітичну та стимулює амілолітичну активності у рубці корів. Внаслідок цього, у вмісті рубця знижується концентрація аміаку, зростає концентрація лактату та знижується рН.

У плазмі крові корів, до раціону яких додають шишки хмелю, після отелення зростає концентрація глюкози та знижується концентрація лактату і сечовини. Введення в раціон корів шишок хмелю до отелення на біохімічні показники плазми крові не впливає.

Додавання до раціону корів шишок хмелю підвищує антиоксидантний захист організму та знижує концентрацію кетонових тіл у крові.

За регуляторною дією шишки хмелю близькі до антибіотику монензину, тобто володіють властивостями природного фітоіонофору. Дія шишок хмелю на кетогенез менш виражена, а антиоксидантні властивості значно вищі, порівняно до дії монензину.

**Результати цього розділу опубліковані [55, 59, 60]:**

- 1. Сачко, С.** (2019). Використання шишок хмелю для регулювання рубцевої ферментації та профілактики метаболічних порушень у корів. *Матеріали XVIII Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених*, 5–6 грудня 2019 р., Львів, *Біологія тварин*, 21(3), 149. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2019\\_21\\_3\\_71](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2019_21_3_71)
- 2. Сачко, С. Р.,** Петрук, А. П., & Вудмаска І. В. Регуляція ензиматичної активності бактерій рубця корів іонофорами. *Матеріали XII Українського біохімічного конгресу*, 30 вересня – 4 жовтня 2019 р., Тернопіль, *Медична та клінічна хімія*, 21(3), 322.
- 3. Сачко, С., & Пахолків, Н.** (2022). Застосування монензину для профілактики кетозу корів у транзитний період. *Матеріали XX Всеукраїнської науково-практичної конференції «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченої 90-річчю від дня народження Макара Івана Арсентійовича*, 19 травня 2022 р. Львів, *Біологія тварин*, 24(2), 65. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2022\\_24\\_2\\_50](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2022_24_2_50)

### 3.2. Вплив спільної дії шишок хмелю та вітаміну Е на обмін речовин у корів

#### 3.2.1. Вплив на ферментацію у рубці

Згідно даних, показаних у таблиці 3.7, введення до раціону корів шишок хмелю пригнічувало протеолітичну активність вмісту рубця ( $p < 0,01$ ). Це закономірно, оскільки поліфеноли суплідь хмелю володіють протимікробними властивостями подібними до антибіотиків-іонофорів, тобто вони пригнічують життєдіяльність грам-позитивних бактерій. Найвищою протеолітичною активністю у рубці володіє група грам-позитивних бактерій – так звані гіперпродуценти аміаку (*hyper-ammonia producing bacteria*, НАР). Важливо, що при цьому не знизилась целюлозолітична активність. Целюлозолітичні бактерії, переважно, грам-позитивні і, відповідно, вони також чутливі до дії іонофорів. Разом з тим, високі дози вітаміну Е стимулюють діяльність целюлозолітичних бактерій. Завдяки цьому одночасне додавання до раціону корів шишок хмелю і вітаміну Е взаємно компенсувало їх вплив на целюлозолітичну активність вмісту рубця. Амілолітичні та ліполітичні бактерії рубця жуйний переважно грам-негативні, тому впливу на їх активність не спостерігалось.

Таблиця 3.7

#### Ензиматична активність вмісту рубця ( $M \pm m$ , $n=5$ )

Показники	Групи тварин	
	Контроль	Хміль+вітамін Е
Амілолітична, тис. ум. ам. од.	422,68±9,75	434,37±14,04
Целюлозолітична, % актив.	35,23±1,75	42,14±3,68*
Протеолітична, екв. тис/100мл/хв.	7,01±0,34	5,15±0,29**
Ліполітична, ммоль НЕЖК	6,23±0,31	5,99±0,40

Зміна протеолітичної активності вплинула на показники азотового обміну в рубці (табл. 3.8). Зокрема, концентрація білкового азоту зросла на 22 % ( $p < 0,05$ ), тоді як кількість мікробного азоту залишилась без змін. При цьому, у вмісті рубця корів, що отримували кормову добавку знизилась концентрація аміаку ( $p < 0,01$ ). Це свідчить про зменшення розщеплення протеїну корму при збереженні загальної чисельності мікробної маси. Відомо, що компоненти суплідь хмелю виявляють бактерицидну дію до грам-позитивних бактерій. Найвища їх активність спостерігається щодо нечисельної але метаболічно дуже активної групи бактерій – гіперпродуцентів аміаку, що й є причиною зростання кількості білкового азоту і зниження концентрації аміачного азоту у рубці корів дослідної групи.

Таблиця 3.8

**Азотово-вуглеводний обмін у вмісті рубця ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Показники	Групи тварин	
	Контроль	Хміль+вітамін Е
Білковий азот, ммоль/л	51,48±2,61	62,80±3,59*
Мікробний азот, ммоль/л	37,15±2,45	40,94±3,19
ЛЖК, ммоль/л	119,85±5,11	128,45±5,35
Азот аміаку, ммоль/л	6,99±0,13	5,35±0,54**
Лактат, ммоль/л	4,22±0,09	4,18±0,12
pH	6,93±0,14	6,85±0,19

Відхилень у показниках вуглеводного обміну не виявлено. Концентрація лактату у вмісті рубця корів обох груп не відрізнялась, а сумарна концентрація легких жирних кислот дещо зростала, проте ця зміна була кількісно незначною і статистично не вірогідною.

Таким чином, метаболічна дія спільного застосування шишок хмелю і вітаміну Е подібна до дії застосування лише шишок хмелю за винятком впливу комбінованого застосування на целюлозолітичну активність вмісту рубця.

### 3.2.2. Вплив на показники крові

За тиждень до отелення не виявлено вірогідних різниць у показниках плазми крові корів контрольної та дослідної груп (табл. 3.9). Спостерігалась лише тенденція до збільшення концентрації глюкози і зменшення концентрації сечовини.

Після отелення вплив додавання до раціону шишок хмелю і вітаміну Е проявлявся суттєвіше. Через тиждень після отелення у плазмі корів спостерігалось характерне для цього періоду зниження концентрації глюкози та зростання концентрації неестерифікованих жирних кислот. Кормова добавка значно зменшила ці несприятливі для здоров'я корів зміни. Вміст глюкози у крові тварин дослідної групи через тиждень після отелення був на 22 % більшим ніж у контрольній групі ( $p < 0,01$ ) і за кількісним показником не відрізнявся від вмісту глюкози за тиждень до та через місяць після отелення.

Через тиждень після отелення у крові корів концентрація неестерифікованих жирних кислот підвищилась більш ніж удвічі порівняно з сухостійним періодом. Комбіноване застосування шишок хмелю і вітаміну Е сприяло зниженню вмісту НЕЖК на 21 % ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.9

#### Біохімічні показники плазми крові, ммоль/л ( $M \pm m$ , $n=10$ )

Показники	Групи тварин	
	Контроль	Хміль+вітамін Е
1	2	3
до отелення		
Загальний протеїн, г/л	73,14±4,95	72,33±5,18
Глюкоза	3,07±0,05	3,17±0,06
Сечовина	6,10±0,42	5,80±0,48
Триацилгліцероли	0,19±0,02	0,20±0,03
НЕЖК, мекв/л	0,40±0,02	0,42±0,03



Продовження таблиці 3.9

1	2	3
Загальний холестерол	4,07±0,29	4,20±0,23
Вільний холестерол	1,51±0,16	1,59±0,12
Естер. холестерол	2,55±0,33	2,61±0,11
Лактат	0,61±0,11	0,53±0,09
АлАТ, нкат/л	311,42±18,12	299,53±22,14
АсАТ, нкат/л	769,80±47,40	733,13±38,51
Лужна фосфатаза, мккат/л	2,08±0,11	2,20±0,15
ЛДГ, мккат/л	31,71±0,27	32,26±0,17
тиждень після отелення		
Загальний протеїн, г/л	67,22±4,14	75,14±2,01
Глюкоза	2,31±0,04 <sup>##</sup>	2,82±0,11 <sup>**</sup>
Сечовина	6,78±0,48 <sup>#</sup>	6,83±0,40 <sup>#</sup>
Триацилгліцероли	0,20±0,03	0,30±0,03 <sup>*##</sup>
НЕЖК, мекв/л	0,91±0,07 <sup>###</sup>	0,71±0,12 <sup>*###</sup>
Загальний холестерол	3,92±0,17	4,20±0,14
Вільний холестерол	1,51±0,16	1,49±0,12
Естер. холестерол	2,40±0,03	2,71±0,10 <sup>*</sup>
Лактат	0,81±0,14 <sup>##</sup>	0,60±0,06 <sup>*#</sup>
АлАТ, нкат/л	489,91±52,14 <sup>#</sup>	461,33±42,71 <sup>#</sup>
АсАТ, нкат/л	1314,49±68,45 <sup>##</sup>	1277,47±49,78 <sup>##</sup>
Лужна фосфатаза, мккат/л	2,28±0,08	2,35±0,17
ЛДГ, мккат/л	32,71±0,12	30,27±0,14
місяць після отелення		
Загальний протеїн, г/л	70,25±1,48	69,32±3,71
Глюкоза	2,95±0,11	3,11±0,06
Сечовина	5,69±0,37	5,53±0,39
Триацилгліцероли	0,25±0,03 <sup>#</sup>	0,27±0,03 <sup>#</sup>
НЕЖК, мекв/л	0,61±0,09 <sup>##</sup>	0,45±0,05 <sup>*</sup>

Продовження таблиці 3.9

1	2	3
Загальний холестерол	3,82±0,12	4,12±0,14
Вільний холестерол	1,24±0,06 <sup>#</sup>	1,21±0,07 <sup>#</sup>
Естер. холестерол	2,58±0,05	2,90±0,14*
Лактат	0,75±0,06 <sup>##</sup>	0,58±0,04*
АлАТ, нкат/л	311,29±14,55	329,16±19,47
АсАТ, нкат/л	948,50±44,71	892,23±33,18
Лужна фосфатаза, мккат/л	2,43±0,12	2,37±0,15
ЛДГ, мккат/л	25,46±0,15	23,58±0,09

Хоча концентрація НЕЖК у крові корів через тиждень після отелення надалі залишалась досить високою, проте отриманий ефект достатньо суттєвий для нормалізації метаболічного стану організму. Зменшення концентрації НЕЖК плазми крові під впливом кормової добавки зберігалось й через місяць після отелення. У цей період вміст неестерифікованих жирних кислот у крові корів контрольної і дослідної груп становив відповідно 0,61 та 0,45 ммоль/л, тобто концентрація НЕЖК у крові корів дослідної групи повністю нормалізувалась до рівня сухостійних корів.

За дії кормової добавки до раціону шишок хмелю та вітаміну Е у плазмі крові зростала кількість триацилгіцеролів, особливо суттєво цей вплив проявився через тиждень після отелення, коли у концентрація триацилгіцеролів у плазмі крові тварин дослідної групи у 1,5 рази перевищувала показник корів контрольної групи ( $p < 0,05$ ).

Додавання до раціону шишок хмелю і вітаміну Е впливало на обмін холестеролу, збільшуючи вміст естерифікованої його форми у плазмі крові. Цей ефект спостерігався лише після отелення як через тиждень, так і через місяць після нього. Зокрема, через тиждень після отелення вміст ефірів холестеролу у плазмі крові корів дослідної групи перевищував показник контрольної групи на 13 % ( $p < 0,05$ ), а через місяць – на 12 % ( $p < 0,05$ ). Оскільки зростання у плазмі

крові вмісту ефірів холестеролу зростало одночасно зі зростанням вмісту триацилгліцеролів, це скоріш за все свідчить про збільшення у ній кількості ліпопротеїнів дуже низької щільності, для яких характерний такий ліпідний склад. Зростання у крові вмісту триацилгліцеролів на тлі зменшення вмісту неестерифікованих жирних кислот свідчить про покращення обміну речовин і зменшення схильності корів дослідної групи до метаболічних порушень, зокрема до жирового переродження печінки.

Виявлено відмінності у біохімічних показниках плазми крові корів до отелення та через тиждень і місяць після отелення. Ці зміни відбувались у корів обох груп, контрольної та дослідної, проте їх інтенсивність та спрямованість мали свої особливості.

У першу чергу привертають увагу зміни концентрацій глюкози та неестерифікованих жирних кислот, а саме зниження концентрації глюкози та зростання концентрації неестерифікованих жирних кислот. Слід зауважити, що самі по собі такі зміни є цілком закономірними і фізіологічно обґрунтованими, вони викликані негативним енергетичним балансом у корів після отелення, що пов'язано з витратою поживних речовин на молокоутворення та зі зміною гормонального статусу організму. Увагу слід звернути на відмінності між показниками корів контрольної та дослідної груп.

Так, у плазмі крові корів контрольної групи через тиждень після отелення концентрація глюкози зменшилась на 24,7 % ( $p < 0,01$ ), а у корів дослідної групи – на 11,1 % ( $p < 0,05$ ). Через місяць після отелення рівень глюкози у плазмі крові корів обох груп піднявся і майже вирівнявся з показниками отриманими до отелення.

На відміну від глюкози вміст неестерифікованих жирних кислот у плазмі крові після отелення, навпаки, зростав, причому зростав суттєво. Через тиждень після отелення кількість неестерифікованих жирних кислот у плазмі крові корів контрольної групи був на 127,5 % більшим ( $p < 0,001$ ), ніж у цих же корів до отелення. У корів дослідної групи зростання було меншим, проте також значним – у них через тиждень після отелення плазма крові містила на 67,1 % ( $p < 0,001$ )

більше неестерифікованих жирних кислот, ніж до отелення. Для контрольної групи цей ефект зберігався й через місяць після отелення – плазма їх крові у цей період містила на 52,5 % ( $p < 0,01$ ) більше неестерифікованих жирних кислот, ніж до отелення. У корів дослідної групи через місяць після отелення вміст неестерифікованих жирних кислот також був дещо вищим порівняно з відповідним показником до отелення, проте ця різниця становила лише 7,1 % і вона не була статистично вірогідною.

Через тиждень після отелення у корів обох груп спостерігалось зростання концентрації сечовини у плазмі крові. У корів контрольної групи це збільшення становило 11,2 % ( $p < 0,05$ ), а у корів дослідної групи – 17,8 % ( $p < 0,01$ ). Через місяць після отелення концентрація сечовини вирівнялась до рівня, який був до отелення. Збільшення концентрації сечовини може бути викликаний декількома чинниками. Це або зростання надходження аміаку з рубця, після чого він перетворюється печінкою у сечовину, або ж посилений катаболізм протеїнів організму. У будь якого випадку збільшення концентрації сечовини у крові для жуйних не настільки критичне, як для моногастричних тварин. У жуйних значна частина сечовини крові повертається з слиною у рубець і знову включається у метаболізм.

Щодо триацилгліцеролів, то вони у плазмі крові корів контрольної групи через тиждень після отелення не відрізнялись від показника до отелення, тоді як у корів дослідної групи концентрація триацилгліцеролів через тиждень після отелення збільшилась на 50,0 % ( $p < 0,01$ ). Через місяць після отелення кількість триацилгліцеролів у плазмі крові корів обох груп був приблизно однаково більшим, ніж до отелення, різниця становила у контрольній групі 31,6 %, а у дослідній – 35,0 % ( $p < 0,05$ ). Триацилгліцероли синтезуються печінкою з летких жирних кислот, після чого виводяться в кров у складі ліпопротеїнів дуже низької щільності. Тому у даному випадку зростання їх вмісту в крові на тлі високої концентрації у крові неестерифікованих жирних кислот є позитивним наслідком, оскільки затримка триацилгліцеролів у печінці веде до її жирового переродження.

Через тиждень після отелення у плазмі крові корів зросла концентрація лактату. У корів контрольної групи ця різниця виражена більшою мірою, вона становила 32,8 % ( $p < 0,01$ ), у дослідній групі ця зміна була менш вираженою і становила лише 13,2 % ( $p < 0,05$ ). Через місяць після отелення високий вміст лактату зберігся у корів контрольної групи, де його концентрація у плазмі крові надалі перевищувала відповідний показник контрольної групи на 23,0 % ( $p < 0,01$ ), тоді як у плазмі крові корів дослідної групи повернувся до рівня, який був до отелення. Лактат зростає у крові коли клітинам не вистачає кисню для повноцінного гліколізу, тому отримані результати свідчать, про певні метаболічні проблеми.

Через тиждень після отелення не спостерігалось змін у вмісті холестеролу у плазмі крові корів. Через місяць після отелення виявлено зростання кількості вільного холестеролу у корів контрольної групи на 17,9 % ( $p < 0,05$ ), а у корів дослідної групи на 23,9 % ( $p < 0,05$ ). У крові корів дослідної групи у цей період зростала також кількість естерифікованого холестеролу на 11,1 % ( $p < 0,05$ ).

Встановлено зниження концентрації кетонів у крові корів під впливом згодовування їм кормової добавки шишок хмелю і вітаміну Е, особливо суттєвими були зміни вказаного параметру крові через тиждень після отелення (табл. 3.10). Наприкінці першого тижня лактації спостерігалось статистично вірогідне зменшення кількості  $\beta$ -гідроксибутирату ( $p < 0,05$ ), враховуючи помірне зниження концентрації ацетоацетату в крові корів цієї групи різниця у кількості кетонів була ще суттєвішою ( $p < 0,01$ ).

Вплив шишок хмелю і вітаміну Е на кетогенез корів у періоди до лактації та через місяць після неї виражений менше, хоча тенденції до зниження концентрації кетонів у крові тварин дослідної групи зберігаються. Так, за тиждень до лактації виявлено помірне зменшення кількості  $\beta$ -гідроксибутирату при незмінній кількості ацетоацетату. Через місяць після отелення дещо зменшувалась концентрація у крові як  $\beta$ -гідроксибутирату, так і ацетоацетату, внаслідок чого зниження сумарної концентрації кетонів було статистично вірогідним ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.10

**Кетонів тіла у сироватці крові, ммоль/л (M±m, n=10)**

Показники	Групи тварин	
	Контроль	Хміль+вітамін Е
до отелення		
Ацетоацетат	0,31±0,05	0,32±0,06
Гідроксибутират	0,60±0,08	0,50±0,06
Сума кетонових тіл	0,90±0,12	0,82±0,04
Ацетоацетат/β-гідроксибутират	0,52±0,03	0,72±0,22*
тиждень після отелення		
Ацетоацетат	0,50±0,06 <sup>###</sup>	0,43±0,04 <sup>##</sup>
Гідроксибутират	1,31±0,13 <sup>###</sup>	0,80±0,09 <sup>*##</sup>
Сума кетонових тіл	1,81±0,11 <sup>###</sup>	1,23±0,12 <sup>*###</sup>
Ацетоацетат/β-гідроксибутират	0,38±0,03 <sup>##</sup>	0,55±0,06 <sup>*##</sup>
місяць після отелення		
Ацетоацетат	0,41±0,05 <sup>##</sup>	0,32±0,06
Гідроксибутират	0,99±0,03 <sup>###</sup>	0,86±0,09 <sup>##</sup>
Сума кетонових тіл	1,40±0,07 <sup>##</sup>	1,19±0,04 <sup>*##</sup>
Ацетоацетат/β-гідроксибутират	0,41±0,04 <sup>##</sup>	0,37±0,03 <sup>###</sup>

При порівнянні концентрації кетонових тіл у динаміці, виявлено суттєве її зростання після отелення у крові корів обох груп, що пов'язано з початком лактації, характерним для корів у цей фізіологічний негативним енергетичним балансом та зміною споживання корму.

У крові корів контрольної групи концентрація ацетоацетату через тиждень після отелення зросла на 61,2 % ( $p < 0,001$ ), а через місяць після отелення – на 32,3 % ( $p < 0,01$ ). У дослідній групі результат був дещо іншим. Через тиждень після отелення концентрація ацетоацетату у крові корів дослідної групи зросла на 34,4 % ( $p < 0,01$ ), тобто меншою мірою ніж у корів контрольної групи. Через

місяць після отелення результат був виражений ще суттєвіше. У цей період концентрація ацетоацетату у крові корів дослідної групи вирівнялась з показником до отелення. Отже, додавання до корму шишок хмелю та  $\alpha$ -токоферолу виявило значний позитивний вплив на кількість ацетоацетату в крові корів не лише у порівнянні контроль-дослід, а й у фізіологічній динаміці переходу від сухостійного стану до лактації.

Що стосується  $\beta$ -гідроксибутирату, то тут ситуація дещо інша хоча тенденція частково зберігається. Концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові корів контрольної групи через тиждень після отелення зростає на 118,3 % ( $p < 0,001$ ), а у крові корів дослідної групи лише на 60,0 % ( $p < 0,01$ ), тобто удвічі менш інтенсивно. Проте, через місяць після отелення збільшення концентрації  $\beta$ -гідроксибутирату у крові корів обох груп, порівняно з коровами контрольної групи, було приблизно однаковим: 65,0 % ( $p < 0,001$ ) у контрольній групі та 72,0 % ( $p < 0,01$ ) у дослідній групі. Таким чином, через місяць після отелення ми отримали суттєвий позитивний вплив комплексної дії шишок хмелю та  $\alpha$ -токоферолу на концентрацію ацетоацетату і відсутність впливу на концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату, при тому що у перший тиждень після отелення добавка позитивно впливала на концентрації обох кетонівих тіл, менш інтенсивно збільшуючи їх у корів дослідної групи.

Внаслідок цього, збільшення сумарної кількості ацетоацетату та  $\beta$ -гідроксибутирату у крові контрольних і дослідних корів через тиждень після отелення становило, відповідно, 101,1 % ( $p < 0,001$ ) у корів контрольної групи і 50,0 % ( $p < 0,001$ ) у корів дослідної групи, тобто цей показник у дослідній групі був удвічі кращим. У той же час, через місяць після отелення зростання суми кетонівих тіл, порівняно до сухостійного періоду, становила у крові корів контрольної групи 55,5 % ( $p < 0,01$ ), а у корів дослідної групи 45,1 % ( $p < 0,01$ ), тобто різниця була не такою суттєвою. Це зумовлено суттєвим позитивним впливом на концентрацію ацетоацетату на тлі відсутності впливу на концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату.

Співвідношення ацетоацетат/ $\beta$ -гідроксибутират через тиждень після отелення у корів обох груп було значно нижчим ніж перед отеленням. Якщо до отелення воно становило у корів контрольної та дослідної групи 0,52 і 0,72, то через тиждень після отелення вказана пропорція знизилась на 26,9 % ( $p < 0,01$ ) і 23,6 % ( $p < 0,01$ ) і становила, відповідно, 0,38 та 0,55. Через місяць після отелення співвідношення ацетоацетат/ $\beta$ -гідроксибутират було 0,41 у крові корів контрольної групи і 0,37 у корів дослідної групи, тобто на відміну від періоду до отелення і тиждень після отелення, через місяць після отелення цей показник у контрольній і дослідній групах був приблизно однаковий. Проте у відсотках при порівнянні співвідношення ацетоацетат/ $\beta$ -гідроксибутират до отелення та через місяць після отелення різниця суттєва: у корів контрольної групи воно було нижчим на 21,2 % ( $p < 0,01$ ), а у корів дослідної групи – на 48,6 % ( $p < 0,001$ ).

Концентрація продуктів пероксидного окиснення у плазмі крові корів обох груп різко зростала після отелення, порівняно до сухостійного періоду (табл. 3.11). Через місяць після отелення концентрація продуктів пероксидного окиснення у плазмі крові корів дещо знижувалась, проте все одно була більшою ніж за сухостою.

Це можна пояснити родовим стресом та вищою напруженістю метаболічних процесів під час лактації. Встановлено значний вплив досліджуваної кормової добавки на вміст продуктів пероксидного окиснення у крові корів. Це закономірно, оскільки обидва компоненти: супліддя хмелю та  $\alpha$ -токоферол проявляють антиоксидантні властивості.

Практично усі досліджувані показники пероксидного окиснення знижувались про згодовуванні кормової добавки, хоча через великий розкид даних різниці не завжди статистично вірогідні. Важливо, що вплив добавки зберігся й через місяць після лактації, коли згодовування добавки вже припинили. Це може бути пов'язано з дією вітаміну Е, який згодовували коровам у більшій за рекомендовані норми кількості. Вітамін Е депонується в організмі тварин, тому його дія продовжувалась надалі.



Таблиця 3.11

**Концентрація продуктів ПОЛ у плазмі крові (M±m, n=10)**

Показники	Групи тварин	
	Контроль	Хміль+вітамін Е
до отелення		
Гідроперокси́ди ліпідів, од. Е480/мл	2,19±0,22	1,62±0,11**
ТБКАП, мкмоль/л	3,09±0,22	2,11±0,25***
Дієнові кон'юганти, мкмоль/л	4,93±0,38	4,20±0,31*
тиждень після отелення		
Гідроперокси́ди ліпідів, од. Е480/мл	3,51±0,32 <sup>###</sup>	2,81±0,23 <sup>###</sup>
ТБКАП, мкмоль/л	4,40±0,20 <sup>###</sup>	3,56±0,31 <sup>###</sup>
Дієнові кон'юганти, мкмоль/л	8,21±0,53 <sup>###</sup>	5,55±0,65 <sup>###</sup>
місяць після отелення		
Гідроперокси́ди ліпідів, од. Е480/мл	3,27±0,20 <sup>###</sup>	1,99±0,26 <sup>***#</sup>
ТБК-АП, мкмоль/л	3,49±0,22 <sup>#</sup>	2,25±0,21 <sup>**</sup>
Дієнові кон'юганти, мкмоль/л	5,67±0,23 <sup>#</sup>	4,83±0,27 <sup>*</sup>

Порівняння оксидантного стану крові корів перед та після отелення показало зростання вмісту продуктів пероксидного окиснення після отелення, особливо у перший тиждень після нього. Через тиждень після отелення концентрація гідропероксидів ліпідів у плазмі крові корів контрольної групи зросла на 60,3 % ( $p < 0,001$ ), ТБК-активних продуктів – на 42,4 % ( $p < 0,001$ ), а дієнових кон'югатів – на 66,5 % ( $p < 0,001$ ). У дослідній групі через тиждень після отелення концентрація гідропероксидів ліпідів була більшою на 73,4 %, ТБК-активних продуктів – на 68,7 % ( $p < 0,001$ ), а дієнових кон'югатів – на 32,0 % ( $p < 0,01$ ) порівняно до відповідних показників перед отеленням. Звертає на себе увагу нібито більше зростання через тиждень концентрації гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів у плазмі крові корів дослідної групи. Проте, насправді вони знижувались порівняно до контрольної групи у цей період. Відносно більший відсоток їх зростання через тиждень після отелення

зумовлений низьким вмістом вказаних сполук у крові корів дослідної групи перед отеленням. Тобто, перед отеленням комплексна антиоксидантна дія шишок хмелю і  $\alpha$ -токоферолу проявилась дуже інтенсивно через що й виникла така значна різниця.

Більшою мірою антиоксидантна дія шишок хмелю і  $\alpha$ -токоферолу проявилась через місяць після отелення при порівнянні показників з цими ж показниками до отелення. Значне збільшення виявлено лише для концентрації гідропероксидів ліпідів у плазмі крові корів контрольної групи, де вона зростала на 49,3 % ( $p < 0,001$ ), порівняно до концентрації гідропероксидів ліпідів у плазмі крові корів контрольної групи перед отеленням. Відносно велике збільшення, хоча й менше ніж у контрольній групі, спостерігалось для концентрації гідропероксидів ліпідів у корів дослідної групи, воно становило 22,8 % ( $p < 0,05$ ), тобто було удвічі менше, ніж у корів контрольної групи. Концентрація ТБК-активних продуктів у плазмі крові корів контрольної групи через місяць після отелення була на 12,9 % більшою ніж до отелення, а у корів дослідної групи це зростання становило лише 6,1 %. Концентрація дієнових кон'югатів при цьому у корів контрольної і дослідної груп змінювалась через місяць після отелення однаково, вона зростала в обох групах на 15,0 %, порівняно з концентрацією дієнових кон'югатів у плазмі крові цих корів до отелення.

Таким чином, ми виявили значне зростання вмісту продуктів пероксидного окиснення у плазмі крові корів обох груп через тиждень після отелення і відносне зниження їх вмісту через місяць після отелення, що пояснюється родовим стресом і перебудовою обміну речовин відразу після отелення і поступовим вирівнюванням метаболізму через місяць після отелення. Проте, за комплексного використання шишок хмелю і  $\alpha$ -токоферолу концентрація продуктів пероксидного окиснення у плазмі крові була меншою, ніж у корів контрольної групи.

### 3.2.3. Вплив на молочну продуктивність

Використання кормової добавки помірно збільшило вміст жиру та протеїну у молоці корів дослідної групи (табл. 3.12). Слід зазначити, що іонофори та вітамін Е по-різному впливають на жирність молока. Згідно наших попередніх досліджень та літературних даних монензин супліддя хмелю знижують вміст жиру в молоці, а вітамін Е – навпаки, підвищує його. У цьому досліді, за сумісного використання шишок хмелю і вітаміну Е жирність молока була дещо більшою ніж у контролі, отже вітамін Е компенсував жирдепресуючу дію іонофорів хмелю.

Добовий надій корів дослідної групи збільшився на 4,5 % порівняно до надою корів контрольної групи. Внаслідок дещо вищої жирності молока, надій на базисну жирність зріс на 6,4 %. Наявна тенденція до збільшення виходу молочного жиру та протеїну.

Таблиця 3.12

#### Показники молочної продуктивності (M±m, n=10)

Показники	Групи корів	
	Контроль	Хміль+вітамін Е
Добовий надій, кг	25,76±1,22	26,93±1,49
Надій на базисну жирність, кг	26,87±1,20	28,59±1,78
Жир, %	3,55±0,05	3,61±0,07
Протеїн, %	3,23±0,09	3,28±0,11
Лактоза, %	4,51±0,08	4,50±0,10
Вихід жиру, кг/добу	0,91±0,04	0,97±0,06
Вихід протеїну, кг/добу	0,83±0,04	0,89±0,07
Вихід лактози, кг/добу	1,16±0,05	1,21±0,07

Разом з тим, зміни молочної продуктивності статистично не вірогідні, що пояснюється недостатньою для оцінки такого параметру кількістю

експериментальних тварин. Тим не менше, метою наших досліджень було не стимулювання надоїв, а покращення метаболічного стану корів після отелення, а саме – попередження надмірного кетогенезу та оксидативного стресу.

### ***Підсумки до підрозділу 3.2.***

Додавання до корму корів комплексної добавки що містить 300 мг  $\alpha$ -токоферолу ацетату та 1 г/кг сухих шишок хмелю на кг сухої речовини раціону пригнічує протеолітичну активність та зменшує концентрацію аміаку у рубці, що важливо для нормалізації рубцевої ферментації та попередження інтоксикації аміаком у перші тижні після отелення.

Введення до раціону корів протягом транзитного періоду токоферолу ацетату та шишок хмелю стимулює синтез глюкози печінкою, зменшує інтенсивність вивільнення жирних кислот з жирової тканини, пригнічує процеси пероксидного окиснення та знижує концентрацію кетонових тіл у крові.

Комплексне використання вітаміну Е та шишок хмелю попереджує негативний вплив іонофорних сполук хмелю на жирність молока корів, що пов'язано з взаємно компенсуючою дією поліфенольних сполук хмелю і токоферолу на целюлозолітичні бактерії рубця.

Вказана кормова добавка може застосовуватись для профілактики метаболічних порушень обміну речовин корів у післяотельний період, зокрема для попередження виникнення кетозу та жирового переродження печінки.

### **Результати цього розділу опубліковані [16, 17, 58, 246, 247]:**

1. Вудмаска, І. В., Сачко, С. Р., Гудима, В. Ю., Голова, Н. В., & Пахолків, Н. І. (2019). Вплив шишок хмелю і вітаміну Е на рубцеву ферментацію у корів після отелення. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин НААН*, 20(2), 42–47. <https://doi.org/10.36359/scivp.2019-20-2.05>

2. Вудмаска, І. В., Сачко, С. Р., Петрук, А. П., Пахолків, Н. І., Гудима, В. Ю., & Скорохід, А. В. (2019). Корекція біохімічних показників крові корів у перед- і післятільний періоди шишками хмелю та вітаміном Е. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, серія: Ветеринарні науки*, 21(95), 117–121. <https://doi.org/10.32718/nvlvet9522>
3. Сачко, С. Р., Вудмаска, І. В., Невоструєва, І. В., Сачко, Р. Г., & Петрук, А. П. (2021). Вплив шишок хмелю і вітаміну Е на кетогенез та антиоксидантний статус корів. *Біологія тварин*, 23(2), 37–40. <https://doi.org/10.15407/animbiol23.02.037>
4. Sachko, S., & Vudmaska, I. (2019). Use of hop cones and vitamin E to prevent metabolic disorders in transition dairy cows. *Proceedings of the XIX Middle-European Buiatrics Congress*, May 22–25, 2019, Lviv (Ukraine), *The Animal Biology*, 21(2), 132. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2019\\_21\\_2\\_76](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2019_21_2_76)
5. Sachko, S., & Vudmaska, I. (2021). Effect of hop cones and vitamin E on ketogenesis and some blood parameters in transition dairy cows. *The 1<sup>st</sup> Ukrainian-Polish Scientific forum Agrobioperspectives*, 29–30 September 2021, Lviv (Ukraine), *The Animal Biology*, 23(3), 99. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2021\\_23\\_3\\_95](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2021_23_3_95)

### **3.3. Вплив комплексної лікувально-профілактичної кормової добавки на обмін речовин у хворих на кетоз корів**

#### **3.3.1. Вплив на ферментацію у рубці**

У групі корів, хворих на кетоз, клінічні симптоми залежали від рівня  $\beta$ -гідроксибутирату в їх організмі. У більшості тварин встановлено пригнічення загального стану, кваліть, неохочі рухи, залежування. Проте ці симптоми були виражені помірно, оскільки ступінь захворювання був відносно легким, про що

свідчить не високий як для клінічного кетозу рівень  $\beta$ -гідроксибутирату у крові, який проте перевищував межу характерну для клінічного кетозу. У окремих тварин реєструвалась тахікардія, погіршення апетиту, зниження частоти і сили рубцевих скорочень. Типовою ознакою кетозу був запах ацетону з видихуваним повітрям.

В окрему групу були відібрані корови з ознаками характерними для субклінічної форми кетозу. Тварини були флегматичними, мало рухалися у деяких спостерігалася лизуха. У тварин за клінічного огляду встановлено неправильну постанову кінцівок та незначну кульгавість при русі. При цьому встановлено, що концентрації  $\beta$ -гідроксибутирату у крові менше 2,0 ммоль/л.

У контрольній групі корови були клінічно здоровими, умови утримання та годівлі були аналогічними. Концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові цієї групи корів знаходилася у межах 0,5–1,0 ммоль/л.

Як видно з результатів наведених у таблиці 3.13, захворювання на кетоз змінює перебіг рубцевої ферментації у корів. Виявлено зміни у інтенсивності розщеплення клітковини, крохмалю, протеїну та ліпідів. Зокрема, порівняно з коровами контрольної групи, амілолітична активність рубцевої рідини корів з субклінічним кетозом знизилась на 6,5 % ( $p < 0,05$ ), а у хворих на клінічний кетоз корів цей показник був нижчий на 16,5 % ( $p < 0,01$ ). Подібна тенденція спостерігалась для целюлозолітичної активності, проте для цієї групи ензимів менша активність спостерігалась лише для корів хворих на клінічний кетоз, у яких зниження становило 11,4 % ( $p < 0,05$ ). У корів з субклінічним кетозом змін целюлозолітичної активності у рубцевій рідині не виявлено, тобто у цій групі вказана активність не відрізнялась від показника рубцевої рідини здорових корів. У хворих корів значно знизилась ліполітична активність: при субклінічному кетозі на 12,9 % ( $p < 0,05$ ), а за клінічної форми цього захворювання – на 21,5 % ( $p < 0,01$ ). Такі зміни можуть бути наслідком меншого споживання корму хворими коровами, а також змін чисельності та функціонування мікроорганізмів рубця внаслідок порушень метаболізму та погіршення загального стану хворих тварин.

Протеолітична активність вмісту рубця змінювалась протилежним чином, тобто у хворих корів вона зростала. Зокрема, у рубці корів з субклінічним кетозом протеолітична активність була вищою на 12,5 % ( $p < 0,05$ ), а у рубці корів з клінічною формою кетозу на 22,4 % ( $p < 0,01$ ), порівняно із здоровими коровами. Це є наслідком характерного для кетозу корів зростання у рубці чисельності та активності бактерій гіперпродуцентів аміаку.

Таблиця 3.13

**Ензиматична активність вмісту рубця ( $M \pm m$ ,  $n=4-5$ )**

Показники	Групи корів		
	Клінічно здорові	Субклінічний кетоз	Клінічний кетоз
Початок дослідження			
Амілолітична, тис. ум. ам. од.	548,44±18,39	512,91±25,46*	458,47±20,12**
Целюлозолітична, % актив.	44,73±3,75	45,58±3,29	39,65±2,02*
Протеолітична, екв. тис/100мл/хв.	6,47±0,40	7,28±0,36*	7,92±0,42**
Ліполітична, ммоль НЕЖК	5,39±0,21	4,69±0,30*	4,23±0,27**
Кінець дослідження			
Амілолітична, тис. ум. ам. од.	551,65±22,36	547,42±29,19	495,33±41,18*#
Целюлозолітична, % актив.	48,16±3,01	51,69±2,58	42,81±3,05
Протеолітична, екв. тис/100мл/хв.	5,99±0,22	5,11±0,27*##	6,32±0,43##
Ліполітична, ммоль НЕЖК	5,92±0,25	4,58±0,27*	4,12±0,15**

У цій та наступних таблицях статистична вірогідність вказана: \* - між контрольною та дослідними групами; # - між показниками на початку та наприкінці дослідження.

\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ ; # -  $p < 0,05$ ; ## -  $p < 0,01$ ; ### -  $p < 0,001$ .

У результаті додавання до комбікорму корів протикетозної добавки встановлено позитивний її вплив на рубцеву ферментацію. Після лікування корів з субклінічним кетозом целюлозолітична і амілолітична активності рубцевої

рідини вирівнялась з відповідними показниками здорових корів, а протеолітична активність була навіть дещо нижчою ( $p < 0,05$ ), ніж у контрольній групі.

Проте, лікування корів з клінічною формою кетозу було не таким ефективним. Амілолітична активність у рубцевій рідині цих корів залишалась нижчою порівняно із здоровими тваринами ( $p < 0,05$ ), хоча була більшою від активності до лікування ( $p < 0,05$ ). Целюлозолітична активність рубцевої рідини після лікування клінічного кетозу була дещо меншою, ніж у корів контрольної групи, хоча ця різниця не була статистично вірогідною. Після лікування протеолітична активність рубцевої рідини корів, які були хворі на субклінічний кетоз була на 15,0 % нижчою ( $p < 0,05$ ), а у корів, які хворіли клінічним кетозом – на 5,5 % вищою, хоча й не вірогідно, порівняно до контрольної групи. На ліполітичну активність досліджувана добавка не вплинула, вона залишалась нижчою як після лікування субклінічного ( $p < 0,05$ ), так і після лікування клінічного кетозу ( $p < 0,01$ ).

Таким чином, при порівнянні показників рубцевої ферментації до і після лікування виявлено зниження протеолітичної активності у рубці корів, які мали субклінічний кетоз ( $p < 0,01$ ) та зростання амілолітичної ( $p < 0,05$ ) і зменшення протеолітичної активності ( $p < 0,01$ ) у рубці корів, яких лікували від клінічної форми кетозу. Інші показники у рубці корів кожної з груп після лікування змінювались статистично не вірогідно.

Така дія може бути пояснена пригніченням життєдіяльності бактерій гіперпродуцентів аміаку біологічно активними сполуками хмелю, у першу чергу лупулоном та його дериватами. Менш інтенсивне зниження целюлозолітичної активності спричинене, очевидно, частковою її компенсацією внаслідок стимулюючої дії вітаміну Е на цю групу рубцевих бактерій. З дію вітаміну Е може бути пов'язане й зниження ліполітичної активності.

Згідно наведених у таблиці 3.14 даних, захворювання на кетоз впливає на інтенсивність і спрямованість рубцевої ферментації, причому за клінічного перебігу цього захворювання ці зміни виражені значно більшим чином, ніж за субклінічної форми. Так, при субклінічному кетозі основні зміни обміну



азотових сполук стосувались збільшення концентрації аміаку в рубцевій рідині, яка перевищувала відповідний показник у рубці здорових корів на 12,3 % ( $p < 0,05$ ). Клінічна форма кетозу впливала на ферментацію протеїну та утворення продуктів його розпаду суттєвішим чином. Концентрація аміаку в цьому випадку зростала на 33,6 % ( $p < 0,01$ ). При цьому, на відміну від корів з субклінічним кетозом, за клінічного кетозу у рубці зменшувався вміст білкового азоту ( $p < 0,05$ ), що відбувалося за рахунок меншої кількості азоту клітин мікроорганізмів, тобто зменшення чисельності мікробіоти рубця. Враховуючи наведені у попередній таблиці дані про зростання у рубці протеолітичної активності, можна припустити, що це зменшення не стосувалося протеолітичних бактерій. Проте, з іншого боку, зростання протеолітичної активності може бути спричинене бактеріями гіперпродуцентами аміаку, для яких характерна невелика чисельність за дуже високої гідролітичної активності.

Зміни виявлено й у показниках вуглеводного обміну, вони проявились у зниженні загальної кількості летких жирних кислот та зростанні концентрації молочної кислоти. Так, за субклінічного та клінічного кетозу концентрація летких жирних кислот у рубці знижувалась відповідно на 11,4 % та 27,2 %. Хоча статистично вірогідними ці зміни були лише у випадку клінічного кетозу ( $p < 0,01$ ), кількісно зміни при субклінічній формі достатньо суттєві, що дозволяє стверджувати про певну тенденцію. На жаль, ми не мало змоги визначити концентрації окремих летких жирних кислот, що дало б значно детальнішу інформацію про вплив кетозу на ферментацію вуглеводів, проте виходячи з особливостей ферментативної активності у рубці, можна зробити висновок, що у корів хворих на субклінічний кетоз пригнічувалось, головним чином розщеплення крохмалю та цукрів, а у корів хворих на клінічний кетоз, крім крохмалю та цукрів, погіршувалось розщеплення й целюлози та геміцелюлози.

Концентрація лактату зросла за обох форм кетозу, при субклінічній формі вона була на 14,2 % ( $p < 0,05$ ), а при клінічній – на 31,1 % ( $p < 0,01$ ) більшою, ніж у здорових тварин. Отже, незважаючи на зниження загальної амілолітичної активності у рубці хворих корів, молочнокисле бродіння у них посилювалось.

Згодовування лікувально-профілактичної добавки змінювало перебіг бродильних процесів у рубці. У вмісті рубця хворих на кетоз корів виявлено більшу, порівняно до корів контрольної групи, концентрацію аміаку та меншу кількість білкового азоту ( $p < 0,05$ ). При цьому, важливо що у корів з клінічним кетозом відсутня різниця за вмістом мікробного азоту, тобто популяція бактерій у їх рубці вирівнялась із здоровими коровами.

Таблиця 3.14

**Азотово-вуглеводний обмін у вмісті рубця ( $M \pm m$ ,  $n=4-5$ )**

Показники	Групи корів		
	Клінічно здорові	Субклінічний кетоз	Клінічний кетоз
	Початок дослідю		
Білковий азот, ммоль/л	58,45±4,76	52,33±5,11	45,27±3,18*
Мікробний азот, ммоль/л	38,37±2,65	39,62±1,97	31,24±2,03*
ЛЖК, ммоль/л	122,67±9,75	108,69±6,14	89,36±7,32**
Азот аміаку, ммоль/л	5,71±0,52	6,41±0,40*	7,63±0,29**
Лактат, ммоль/л	4,02±0,13	4,59±0,10*	5,27±0,06**
pH	6,70±0,11	6,79±0,15	6,78±0,17
	Кінець дослідю		
Білковий азот, ммоль/л	57,28±3,98	55,81±3,14	50,42±2,81
Мікробний азот, ммоль/л	36,83±1,77	37,55±2,05	35,89±3,12
ЛЖК, ммоль/л	121,39±5,87	123,13±7,34 <sup>#</sup>	107,75±4,67*** <sup>#</sup>
Азот аміаку, ммоль/л	5,24±0,43	5,11±0,29 <sup>#</sup>	6,09±0,32* <sup>#</sup>
Лактат, ммоль/л	4,32±0,27	4,65±0,19	4,96±0,06*
pH	6,63±0,07	6,67±0,09	6,73±0,12

Після згодовування лікувально-профілактичної добавки вказані показники у корів хворих на субклінічний кетоз наблизились до показників здорових тварин, тоді як у корів, які були хворі на клінічний кетоз стан покращувався,

проте концентрація аміаку та білкового азоту надалі відрізнялась від здорових тварин. Те саме можна сказати про лактат, концентрація якого після лікування знижувалась ( $p < 0,05$ ), проте все одно була більшою ніж у здорових корів ( $p < 0,05$ ).

Ми не виявили вірогідних різниць показників рН вмісту рубця хворих і здорових корів до та після лікування. Очевидно це зумовлено взаємно компенсуючими змінами концентрацій летких жирних кислот і лактату у рубці.

### 3.3.2. Вплив на показники крові

У клінічно здорових корів протягом дослідного періоду виникли певні зміни метаболічного профілю крові (табл. 3.15).

Таблиця 3.15

#### Показники плазми крові корів, клінічно здорові ( $M \pm m$ , $n=10$ )

Показники	Початок дослідю	Кінець дослідю
Загальний протеїн, г/л	70,95±2,49	76,05±1,01*
Глюкоза, ммоль/л	2,42±0,13	2,87±0,08**
Сечовина, ммоль/л	6,67±0,20	6,39±0,25
Триацилгліцероли, ммоль/л	0,18±0,01	0,25±0,02**
НЕЖК, мекв/л	0,84±0,05	0,38±0,03***
Загальний холестерол, ммоль/л	3,69±0,20	3,23±0,11
Лактат, ммоль/л	0,75±0,10	0,70±0,08
АлАТ, нкат/л	226,53±25,88	231,36±17,23
АсАТ, нкат/л	1095,55±68,24	935,17±50,81*
Лужна фосфатаза, мккат/л	1,62±0,09	1,51±0,11
ЛДГ, мккат/л	29,23±1,13	29,99±0,88
ТБК-АП, мкмоль/л	3,12±0,18	3,39±0,13*

Ключовим показником вуглеводного обміну є концентрація глюкози в крові. Встановлено, що до лікування корів концентрація глюкози у їх плазмі

крові була низькою. Найсильніше гіпоглікемія проявлялася у корів, хворих на клінічний кетоз. При порівнянні показників на початку і у кінці дослідження виявлено збільшення концентрації глюкози на 18,6 % ( $p < 0,05$ ) і триацилгліцеролів на 31,1 % ( $p < 0,01$ ) та зменшення концентрації неестерифікованих жирних кислот на 55,1% ( $p < 0,001$ ).

Спостерігалось незначне збільшення кількості ТБК активних продуктів ( $p < 0,05$ ). У плазмі крові на 14,6 % знизилась активність аспартатамінотрансферази ( $p < 0,01$ ) та на 16,3 % лужної фосфатази, проте ця зміна статистично не вірогідна. Досліджувана лікувально-профілактична добавка вплинула на показники плазми крові корів хворих на субклінічний кетоз (табл. 3.16).

Таблиця 3.16

**Показники плазми крові корів, субклінічний кетоз ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

Показники	Початок дослідження	Кінець дослідження
Загальний протеїн, г/л	83,72±1,88 <sup>#</sup>	78,41±2,14*
Сечовина, ммоль/л	6,70±0,37	5,67±0,22*
Глюкоза, ммоль/л	2,05±0,08 <sup>#</sup>	2,69±0,12**
Триацилгліцероли, ммоль/л	0,20±0,02	0,26±0,02*
НЕЖК, мекв/л	0,96±0,05 <sup>#</sup>	0,50±0,04*** <sup>#</sup>
Загальний холестерол, ммоль/л	3,33±0,17 <sup>#</sup>	3,06±0,13 <sup>#</sup>
Лактат, ммоль/л	0,93±0,15 <sup>##</sup>	0,81±0,18*
АлАТ, нкат/л	347,44±19,98 <sup>###</sup>	301,24±26,54 <sup>##</sup>
АсАТ, нкат/л	1247,28±83,32	877,21±56,92**
Лужна фосфатаза, мккат/л	2,48±0,19 <sup>###</sup>	1,56±0,08* <sup>#</sup>
ЛДГ, мккат/л	37,99±2,04 <sup>##</sup>	34,23±0,83 <sup>##</sup>
ТБК-АП, мкмоль/л	4,37±0,28 <sup>###</sup>	3,55±0,15*** <sup>#</sup>

У плазмі крові корів з субклінічним кетозом на 30,3 % зросла концентрація триацилгліцеролів ( $p < 0,05$ ) та на 48,3 % знизилась концентрація

неестерифікованих жирних кислот ( $p < 0,001$ ). Концентрація загального протеїну у плазмі крові корів з субклінічним кетозом не змінювалась і перебувала у межах клінічної норми, проте концентрація сечовини наприкінці згодовування добавки була 15,7 % нижчою ( $p < 0,05$ ). Добавка вплинула на антиоксидантний статус. Кров корів з субклінічним кетозом містила наприкінці дослідження меншу кількість ТБК активних продуктів ( $p < 0,05$ ). Виявлено зміни активності ензимів крові. Зокрема, наприкінці дослідження на 29,6 % знизилась активність аспартатамінотрансферази ( $p < 0,01$ ). Активність аланінамінотрансферази також була меншою, але статистично не вірогідно. Активність лужної фосфатази була нижчою на 35,63 % ( $p < 0,05$ ), а лактатдегідрогенази – на 9,9 %.

За субклінічного перебігу кетозу концентрація сечовини на початку дослідження не відрізнялась від показника контрольних корів і була на 15,5 % ( $p < 0,01$ ) нижчою, ніж у хворих на клінічний кетоз. На кінець дослідження, за додавання до раціону корів лікувально-профілактичної добавки, концентрація у корів цієї групи знизилася на 15,2 % ( $p < 0,05$ ) і досягла межі клінічної величини, що свідчить про ефективність проведеного лікування.

Концентрація глюкози у плазмі крові корів з клінічним кетозом після лікування зросла на 50 %, з 1,95 до 2,93 ммоль/л ( $p < 0,01$ ), а концентрація триацилгліцеролів у 2,2 рази ( $p < 0,01$ ). Концентрація неестерифікованих жирних кислот, навпаки, удвічі зменшилась ( $p < 0,001$ ) (табл. 3.17).

Важливим критерієм метаболізму протеїну є концентрація сечовини. Концентрація сечовини у плазмі крові корів, хворих на клінічний кетоз, була вищою на 18,9 % ( $p < 0,05$ ), порівняно із показником у плазмі крові здорових, що свідчить про посилення катаболізму протеїнів і дезамінування амінокислот в їхньому організмі внаслідок дефіциту метаболічної енергії. На кінець дослідження, за проведеного лікування, концентрація сечовини у крові корів з клінічним кетозом знизилася на 25 % ( $p < 0,05$ ) і стала у межах клінічної величини.

Концентрація сечовини у плазмі крові корів з клінічною формою кетозу після використання добавки на 24,9 % ( $p < 0,05$ ) знизилась. Сечовина синтезується у печінці з аміаку, який утворюється при катаболізмі амінокислот. У жуйних

тварин значна частина аміаку надходить у кров з рубця, де відбувається розщеплення амінокислот бактеріями. Тому печінка жуйних тварин, особливо високопродуктивних лактуючих корів, отримує додаткове навантаження пов'язане з необхідністю нейтралізації токсичного для тварини аміаку. На відміну від моногастричних тварин, жуйні виводять сечовину з організму не лише з сечею, а й з слиною, яка потрапляє у рубець і повторно використовується як джерело Нітрогену. Зниження концентрації сечовини у крові може мати декілька причин, а саме: зменшення надходження аміаку, пригнічення синтезу сечовини або ж посилення її виведення з організму. У нашому досліді зниження концентрації сечовини зумовлене меншим надходженням аміаку, про що свідчить менша його кількість у вмісті рубця корів з клінічним кетозом після застосування лікувальної кормової добавки.

Таблиця 3.17

**Показники плазми крові корів, клінічний кетоз (M±m, n=4)**

Показники	Початок досліді	Кінець досліді
Загальний протеїн, г/л	83,38±2,83 <sup>#</sup>	75,98±3,06
Сечовина, ммоль/л	7,93±0,47 <sup>##</sup>	5,95±0,51*
Глюкоза, ммоль/л	1,95±0,17 <sup>##</sup>	2,93±0,11**
Триацилгліцероли, ммоль/л	0,14±0,03	0,20±0,03*
НЕЖК, мекв/л	1,28±0,10 <sup>###</sup>	0,73±0,11*** <sup>#</sup>
Загальний холестерол, ммоль/л	5,19±0,18 <sup>##</sup>	4,91±0,27 <sup>##</sup>
Лактат, ммоль/л	1,12±0,17 <sup>###</sup>	0,90±0,13 <sup>###</sup>
АлАТ, нкат/л	597,75±52,48 <sup>###</sup>	558,00±9,40 <sup>###</sup>
АсАТ, нкат/л	1444,03±54,29 <sup>##</sup>	989,78±45,16 <sup>***</sup>
Лужна фосфатаза, мккат/л	3,38±0,24 <sup>###</sup>	2,29±0,28 <sup>###</sup>
ЛДГ, мккат/л	40,85±2,63 <sup>##</sup>	32,58±4,33**
ТБК-АП, мкмоль/л	5,93±0,49 <sup>###</sup>	4,11±0,40 <sup>###</sup>

Концентрація ТБК активних продуктів стала меншою на 30,6 % ( $p < 0,05$ ). Для більш детальної оцінки стану функціонування печінки виконано порівняльне дослідження активності індикаторних ензимів печінки амінотрансфераз у крові і встановлено суттєві зміни показників на початок та кінець досліджу. Так, перед лікуванням найвища активність аспартатамінотрансферази була у корів, хворих на клінічний кетоз, що на 24,2 % ( $p < 0,01$ ) вище, ніж у здорових корів та на 13,6 % ( $p < 0,01$ ), ніж за субклінічного кетозу.

Зростання активності аспартатамінотрансферази у плазмі крові хворих на кетоз корів, вказує на деструктивні процеси у гепатоцитах, які спричиняють пошкодження їх плазматичних мембран та збільшення внаслідок цього проникнення трансаміназ з клітин у кров'яне русло тварини.

Наприкінці досліджу, внаслідок лікування, активність аспартатамінотрансферази у хворих корів знижувалася, проте залишалася усе ще на високому рівні у корів хворих на клінічну форму кетозу, де вона на 5,7 % вища, ніж у здорових тварин ( $p < 0,01$ ). Натомість зниження активності аспартатамінотрансферази у плазмі крові корів із субклінічним кетозом більш суттєве, що вказує на вищу ефективність лікування для цієї групи корів.

Різниця між рівнем активності аспартатамінотрансферази до та після лікування становила 31,5 % ( $p < 0,01$ ) при клінічному кетозі та 29,7 % ( $p < 0,01$ ), за його субклінічного перебігу, що свідчить про позитивний ефект лікувально-профілактичної добавки на стабілізацію функції печінки, що пояснюється наявністю у її складі гепатопротекторних компонентів.

Різниці у активності аланінамінотрансферази були подібні до змін активності аспартатамінотрансферази, але виражені вони були меншим чином. Максимально висока активність аланінамінотрансферази спостерігалась на початку досліджу при кетозі і знижувалася наприкінці досліджу після курсу лікування. Ці зміни були менш значними. Нижча активність аланінамінотрансферази спостерігалась у плазмі крові контрольної групи, тобто у здорових корів.

Ще одним індикаторним показником стану печінки є інтенсивність надходження лактатдегідрогенази у кров. Активність лактатдегідрогенази плазми крові при клінічному та субклінічному кетозі перевищувала показники здорових корів на 39,8 % ( $p < 0,01$ ) та 30 % ( $p < 0,05$ ), відповідно, що свідчить про порушення функціональної здатності печінки і вихід ензиму через пошкоджені цитоплазматичні мембрани гепатоцитів у кров'яне русло. Внаслідок лікування відбулось зниження активності лактатдегідрогенази при субклінічному кетозі на 20,3 % ( $p < 0,01$ ) та на 10 % за його клінічного перебігу ( $p < 0,05$ ). Встановлені зміни свідчать про покращення функціональної здатності печінки.

Таким чином, досліджувана кормова добавка належним чином вплинула на концентрацію глюкози у крові хворих на клінічний кетоз корів коригуючи вказаний показник до рівня клінічної норми. Важливим результатом лікувальної дії є зростання кількості триацилгліцеролів, це свідчить про більш ефективне виведення ліпідів з печінки, що є основним фактором зниження їх депонування у гепатоцитах та виникнення такого небажаного порушення обміну речовин як жирове переродження печінки. Зниження кількості неестерифікованих жирних кислот також свідчить про позитивний ефект. Неестерифіковані жирні кислоти крові походять з жирової тканини звідки вони вивільнюються за негативного енергетичного балансу для попередження дефіциту енергетичних субстратів в організмі. Оскільки більшість тканин нездатні ефективно використовувати вільні жирні кислоти, вони спочатку потрапляють у печінку, естерифікуються у триацилгліцероли та повертаються в кров'яне русло у складі ліпопротеїнів дуже низької щільності. Зменшення концентрації неестерифікованих жирних кислот у крові свідчить про зниження дефіциту енергії, очевидно внаслідок збільшення концентрації іншого джерела енергії – глюкози. Проте слід відмітити, що незважаючи на зниження, концентрація неестерифікованих жирних кислот усе одно залишилась на відносно високому рівні.

Вміст кетонових тіл в крові клінічно здорових корів протягом досліджуваного періоду змінювався незначно і статистично не вірогідно (табл. 3.18). Спостерігалась певна тенденція до зниження їх концентрації, що



зумовлено фізіологічними змінами метаболізму та його регуляції на початку лактації.

За субклінічного кетозу перед лікуванням у сироватці крові корів концентрація кетонів була значно вищою ніж у здорових тварин: ацетоацетату в 1,7 разу, а  $\beta$ -гідроксибутирату – у 2,6 рази ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 3.18

**Кетонові тіла у сироватці крові корів  
до та після лікування, ммоль/л**

Показники	Початок дослідження	Кінець дослідження
	Здорові n=10	
Ацетоацетат	0,35±0,03	0,28±0,02
$\beta$ -Гідроксибутират	0,64±0,10	0,56±0,07
Сума кетонів тіл	0,99±0,05	0,84±0,08
Ацетоацетат/ $\beta$ -гідроксибутират	0,54±0,02	0,50±0,03
	Субклінічний кетоз n=10	
Ацетоацетат	0,62±0,03 <sup>###</sup>	0,49±0,02*
$\beta$ -Гідроксибутират	1,65±0,09 <sup>###</sup>	1,06±0,12** <sup>###</sup>
Сума кетонів тіл	2,27±0,14 <sup>###</sup>	1,55±0,11** <sup>###</sup>
Ацетоацетат/ $\beta$ -гідроксибутират	0,38±0,03 <sup>#</sup>	0,46±0,02
	Клінічний кетоз n=4	
Ацетоацетат	1,35±0,05 <sup>###</sup>	0,74±0,04*** <sup>###</sup>
$\beta$ -Гідроксибутират	4,08±0,26 <sup>###</sup>	2,78±0,30*** <sup>###</sup>
Сума кетонів тіл	5,43±0,31 <sup>###</sup>	3,52±0,25*** <sup>###</sup>
Ацетоацетат/ $\beta$ -гідроксибутират	0,33±0,02 <sup>##</sup>	0,26±0,02 <sup>###</sup>

Після лікування цих корів відбулось зниження цих показників, зокрема концентрація ацетоацетату у сироватці їх крові зменшилась на 26,5 % ( $p < 0,05$ ), а концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату – на 55,6 % ( $p < 0,01$ ). Хоча вміст кетонів тіл

у крові хворих на субклінічний кетоз корів після лікування надалі залишався значно вищим порівняно з здоровими тваринами ( $p < 0,001$ ), концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у них становила 1,06 ммоль/л, що нижче від межі яка діагностує субклінічний кетоз (1,2 ммоль/л). Таким чином, застосування добавки вирівняло концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату до рівня фізіологічної норми здорової корови, оскільки саме  $\beta$ -гідроксибутират є основним показником, за яким діагностують кетоз.

У сироватці крові корів з клінічним кетозом були значно вищі за норму концентрації ацетоацетату і  $\beta$ -гідроксибутирату, які у рази перевищували відповідні показники у здорових корів. За використання лікувально-профілактичної кормової добавки виявлено зниження концентрації ацетоацетату на 82,4 % ( $p < 0,01$ ). У корів з симптомами клінічного кетозу згодовування кормової добавки в 1,46 рази знизило концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату в крові – з 4,08 ммоль/л на початку дослідження до 2,78 ммоль/л наприкінці дослідження ( $p < 0,01$ ), при верхній межі для клінічного кетозу 3,0 ммоль/л. Тобто, добавка суттєво зменшила кількість кетонів, проте їх концентрація залишалась на відносно високому рівні, що свідчить про зниження інтенсивності перебігу патологічного процесу, але на недостатньому для повного одужання рівні, тобто відбувся перехід захворювання у більш легку субклінічну форму.

Отже, лікувально-профілактична добавка, що містить подрібнені гранули шишок хмелю, вітамін Е та захищені від розщеплення у рубці холін, метіонін і карнітин знижує концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату та збільшує концентрацію глюкози в крові корів. У корів з субклінічною формою кетозу спостерігається нормалізація показників крові, а у хворих на клінічний кетоз корів захворювання переходить у субклінічну форму.

Результати дослідження фракційного складу протеїнів свідчать, що у хворих на кетоз корів спостерігається порушення протеїн-синтезуючої здатності печінки (табл. 3.19). Згідно отриманих нами результатів профілю протеїнового складу плазми крові встановлено, що вміст альбуміну у хворих на клінічний кетоз корів на 26,1 %; ( $p < 0,01$ ), а за субклінічного кетозу – на 22,7 % ( $p < 0,05$ )

нижчий, ніж у клінічно здорових тварин. Альбуміни синтезуються печінкою, отже зниження кількості альбумінів у хворих на кетоз корів свідчить про порушення функції гепатоцитів, а саме – здатності до належного синтезу альбумінової фракції.

Таблиця 3.19

**Фракції загального протеїну у плазмі крові корів  
до та після лікування; г/л, M±m**

Показник		Здорові n=10	Субклінічний кетоз; n=10	Клінічний кетоз n=4	
Альбуміни	Перед	34,13±0,23	28,06 ±0,84*	26,05±1,07**	
	Після	35,51±1,12	33,21±0,89 <sup>##</sup>	30,07±1,04* <sup>##</sup>	
Глобуліни	α-	Перед	10,50±0,54	10,91±1,06	
		Після	10,28 ±0,76	12,14 ±0,45	
	β-	Перед	11,10±0,43	13,11±0,56*	18,02±0,66***
		Після	10,08±0,19	12,51±0,91	14,05±0,21* <sup>#</sup>
	γ-	Перед	22,20±0,68	28,06±0,14*	29,13±0,29**
		Після	20,18 ±0,46	19,93±1,02 <sup>###</sup>	20,97 ±0,11 <sup>##</sup>
Альбуміни / глобуліни	Перед	0,78±0,18	0,52±1,06***	0,45±1,02***	
	Після	0,87±0,11 <sup>#</sup>	0,77±0,89* <sup>##</sup>	0,65±0,98* <sup>##</sup>	

З іншого боку, нами встановлено збільшення частки глобулінової фракції протеїнів хворих на клінічну форму кетозу. Зокрема, кількість β- та γ-глобулінів при клінічному кетозі зросла на 23,3 % (p<0,001) та 32,4 % (p<0,01), порівняно до відповідних показників корів контрольної групи. Збільшення вмісту β- та γ-глобулінів у фракційному складі протеїнів за субклінічного перебігу кетозу було не таке суттєве і становило відповідно 13,5 % та 26,8 % (p<0,05).

У результаті зростання кількості глобулінів і зниження кількості альбумінів у плазмі крові хворих корів відбувається суттєве зниження співвідношення альбуміни/глобуліни. Встановлене нами зниження фракційного

протеїнового коефіцієнта дозволяє припустити наявність патологічних змін у печінці кетозних корів.

Після лікування встановлені позитивні зміни у метаболізмі протеїнів хворих корів. В протеїновому складі плазми крові обох груп корів, хворих як на клінічний, так і на субклінічний кетоз відбулося зростання частки альбумінів відповідно на 15,41 % та 18,35 % ( $p < 0,01$ ), порівняно між початком та закінченням досліджу, що є позитивним результатом, який свідчить про покращення функціонального стану печінки, зокрема її альбумін-синтезуючої здатності. Проте, кількість альбумінів у плазмі крові хворих на клінічний кетоз корів після лікування була відносно низькою, тоді як у корів хворих на субклінічний кетоз рівень альбумінів майже досяг рівня здорових корів.

Про ефективність добавки свідчить також зниження кількості  $\beta$ - та  $\gamma$ -глобулінів у фракційному складі протеїнів крові хворих корів після лікування. За кетозу різниця у кількості  $\beta$ - і  $\gamma$ -глобулінів на початок і кінець досліджу перевищувала відповідний показник у здорових корів відповідно на 22,03 % ( $p < 0,01$ ) та 28,01 % ( $p < 0,001$ ), а за субклінічного кетозу на 4,57 % ( $p < 0,05$ ) та 28,97 % ( $p < 0,01$ ), відповідно.

Зростання альбумінів та зниження глобулінів спричинило суттєвого зростання альбуміно-глобулінового коефіцієнта на 44,4 % при клінічному кетозі та 48 % за його субклінічного перебігу.

Одночасно встановлено зростання протеїнів альбумінової фракції і у корів, хворих на клінічний кетоз, що є позитивним результатом. На ефективність лікування вказує також збільшення альбуміно-глобулінового коефіцієнта у крові корів наприкінці досліджу після проведеного лікування.

Загалом, одержані результати свідчать про порушення обміну протеїнів і посилення деструктивних процесів в організмі корів при розвитку кетозу у його клінічній формі.

Перед лікуванням клінічного та субклінічного кетозу вміст загального кальцію у крові корів був на 7,2 %, та 8,8 %, ( $p < 0,05$ ), а вміст неорганічного

фосфору – на 23 % ( $p<0,01$ ) та 32,4 % ( $p<0,05$ ) нижчим, ніж у здорових корів контрольної групи (табл. 3.20).

Таблиця 3.20

**Загальний кальцій та неорганічний фосфор  
в плазмі крові здорових та хворих корів, ммоль/л,  $M\pm m$**

Показники	Початок дослідю	Кінець дослідю
	Здорові n=10	
Загальний кальцій	2,38±0,05	2,50±0,11
Неорганічний фосфор	1,80±0,09	2,12±0,10*
	Субклінічний кетоз n=10	
Загальний кальцій	2,09±0,08 <sup>#</sup>	2,32±0,13*
Неорганічний фосфор	1,18±0,05 <sup>##</sup>	1,51±0,09 <sup>**#</sup>
	Клінічний кетоз n=4	
Загальний кальцій	2,21±0,06 <sup>#</sup>	2,30±0,09
Неорганічний фосфор	1,45±0,12 <sup>#</sup>	1,84±0,08 <sup>**#</sup>

Значне зниження концентрації загального кальцію та неорганічного фосфору у плазмі крові хворих на кетоз корів, як за субклінічної так і за клінічної форми перебігу, вказує на ймовірність формування у їх організмі вторинної остеодистрофії, яка переважно викликається зниженням функціональної здатності організму до належного метаболізму Кальцію та Фосфору. Ефективність обміну Кальцію та Фосфору можна оцінити за активністю лужної фосфатази, ензиму, який каталізує вивільнення Фосфору і забезпечує його транспорт у крові. Зокрема, у плазмі крові хворих на кетоз тварин на тлі гіпокальціємії та гіпофосфатемії виявлено високу активність лужної фосфатази, яка у корів хворих на клінічний кетоз перевищує відповідний показник плазми крові групи здорових корів удвічі, а при субклінічному кетозі у півтора рази ( $p<0,001$ ). Зростання лужної фосфатази при клінічному кетозі удвічі вище, ніж у

контрольній групі корів вказує на виникнення остеомалачії, яка може призводити до формування вторинної остедистрофії.

Застосування для покращення фізіологічного стану та метаболічного профілю крові корів лікувально-профілактичної добавки позитивно вплинуло на показники кальцієво-фосфорного обміну у хворих корів, після лікування, наприкінці досліду, показники вмісту загального кальцію та неорганічного фосфору у плазмі крові корів зросли і наблизилися до фізіологічних величин. Так, зростання вмісту загального кальцію наприкінці досліду становило 10,5 % ( $p < 0,01$ ) за клінічного кетозу та 10,7 % ( $p < 0,05$ ) у корів з симптомами субклінічного кетозу, а Фосфору – 28,6 % ( $p < 0,05$ ) та 39,8 % ( $p < 0,05$ ), відповідно. При цьому варто звернути увагу, що у корів хворих на клінічний кетоз вміст загального кальцію у плазмі крові перебували на нижній межі фізіологічної норми.

На позитивний вплив застосування лікувально-профілактичної кормової добавки вказує також виявлене у крові хворих корів зниження активності лужної фосфатази. Різниця у активності цього ензиму на початку та у кінці досліду становила 36,8 % ( $p < 0,01$ ) при клінічному кетозі та 35,5 % ( $p < 0,01$ ), за його субклінічного перебігу. Внаслідок цього знижувалось співвідношення лужна фосфатаза/кальцій як за субклінічного ( $p < 0,001$ ), так і за клінічного кетозу ( $p < 0,01$ ).

Основною причиною позитивного впливу лікувально-профілактичної добавки на показники загального кальцію та неорганічного фосфору у плазмі крові корів, скоріш за усе, є її дія на нормалізацію функціонального стану печінки, яка, серед іншого, бере участь у мінеральному метаболізмі. Додатковим чинником може бути зниження концентрації кетонових тіл у крові, оскільки останні зв'язуються катіонами кальцію і виводять його з організму. При розгляді співвідношення активності лужної фосфатази та концентрації Кальцію у плазмі крові досліджуваних корів встановлено, що цей показник у хворих тварин вищий, ніж у здорових.

За кетозу у корів виявлено зміни у секреції гормонів відповідальних на вуглеводний та мінеральний обмін (табл. 3.21). Зокрема встановлено зростання у хворих корів секреції у кров паратгормону та зниження секреції кальцитоніну. Концентрація паратгормону у плазмі крові тварин хворих на клінічний кетоз було на 40,9 % ( $p<0,01$ ), а при субклінічному кетозі на 36,3 % ( $p<0,05$ ) вища порівняно зі здоровими коровами. У той же час, концентрація у плазмі крові корів хворих на клінічний кетоз кальцитоніну була на 12,9 % ( $p<0,01$ ), а у плазмі крові корів з субклінічним кетозом на 5,7 % ( $p<0,05$ ) нижча за відповідний показник корів контрольної групи.

Таблиця 3.21

**Вміст гормонів у плазмі крові корів до та після лікування, пмоль/л**

Показники	Початок дослідю	Кінець дослідю
	Здорові n=10	
Кальцитонін	3,88±0,09	4,64±0,11*
Паратгормон	7,36±0,04	5,87±0,06*
Інсулін	111,90±4,59	120,03±5,28
Кортизол	88,44±2,97	84,93±1,82
	Субклінічний кетоз n=10	
Кальцитонін	3,67±0,07	4,37±0,04*
Паратгормон	9,98±0,11 <sup>##</sup>	8,50±0,32 <sup>*##</sup>
Інсулін	79,97±3,20 <sup>###</sup>	97,22±2,94 <sup>**###</sup>
Кортизол	115,09±4,62 <sup>##</sup>	97,70±2,81 <sup>**#</sup>
	Клінічний кетоз n=4	
Кальцитонін	3,38±0,76 <sup>#</sup>	3,89±0,23 <sup>*#</sup>
Паратгормон	10,77±0,04 <sup>##</sup>	9,80±0,06 <sup>*##</sup>
Інсулін	55,95±2,49 <sup>###</sup>	80,12±3,81 <sup>**###</sup>
Кортизол	124,85±6,11 <sup>###</sup>	101,45±5,39 <sup>*#</sup>

Концентрація кальцитоніну та паратгормону змінювалась протягом дослідю у плазмі крові здорових корів, тобто вона залежала від терміну лактації.

Зокрема, у плазмі крові корів цієї групи наприкінці досліду виявлено на 19,6 % більше кальцитоніну ( $p < 0,05$ ) та 20,3 % менше паратгормону ( $p < 0,05$ ). За кетозу ця тенденція зберігалась, а саме – за субклінічної форми наприкінці досліду, тобто після лікування, кальцитоніну у плазмі крові цих корів було більше на 19,1 % ( $p < 0,05$ ), а паратгормону менше на 14,8 % ( $p < 0,05$ ). За клінічного кетозу ці зміни становили, відповідно, 15,1 % та 9,0 % ( $p < 0,05$ ). При цьому виявлені особливості у концентрації цих гормонів у крові здорових і хворих корів на початку та наприкінці досліду. Так, за субклінічного кетозу кількість кальцитоніну у здорових і хворих тварин особливо не відрізнялась при порівнянні цього показника як на початку, так й у кінці досліду, а у тварин хворих на клінічний кетоз і на початку і в кінці досліду кількість кальцитоніну була вірогідно меншою ніж у здорових корів ( $p < 0,05$ ). Концентрація паратгормону при порівнянні між здоровими і хворими тваринами на початку досліду та між здоровими і хворими тваринами наприкінці досліду була вищою, причому для корів з клінічним кетозом ці різниці були суттєвішими ( $p < 0,01$ ).

Встановлені також зміни концентрацій інсуліну та кортизолу у плазмі крові досліджуваних корів. Перш за все, слід звернути увагу на значно більшу концентрацію інсуліну та нижчу концентрацію кортизолу в крові хворих корів порівняно зі здоровими. Так, у плазмі крові корів з субклінічним кетозом до лікування секреція інсуліну була меншою на 28,5 % ( $p < 0,001$ ), а секреція кортизолу – більшою на 30,1 % ( $p < 0,01$ ). У плазмі крові хворих на клінічний кетоз корів інсуліну було менше на 50,1 % ( $p < 0,001$ ), а кортизолу більше на 85,9 % ( $p < 0,01$ ). Таким чином ми спостерігали різку зміну секреції у кров'яне русло цих двох гормонів, викликану змінами метаболізму та його регуляції за обох форм кетозу, при клінічному кетозі вони більш значні.

Після лікування цих корів вказані вище тенденції збереглись, хоча виражені вони були меншою мірою. У плазмі крові хворих на субклінічний кетоз корів секреція інсуліну була нижчою на 17,9 % ( $p < 0,01$ ), а концентрація кортизолу вищою на 15,0 % ( $p < 0,01$ ). За клінічного кетозу плазма крові містила на 33,2 % ( $p < 0,01$ ) менше інсуліну та на 19,5 % більше кортизолу ( $p < 0,01$ ).



Якщо аналізувати зміни у кожній з груп протягом дослідження, ми бачимо що у здорових корів за цей період секреція інсуліну та кортизолу не змінилась, тоді як у крові корів з субклінічним кетозом внаслідок лікування концентрація інсуліну збільшилась на 21,6 % ( $p < 0,01$ ), а концентрація кортизолу зменшилась на 15,0 %. У корів з клінічною формою кетозу після лікування концентрація інсуліну стала більшою на 43,2 % ( $p < 0,001$ ), а концентрація кортизолу меншою на 18,7 % ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, запропонована лікувально-профілактична кормова добавка недостатньо ефективна з точки зору регулювання гормонального статусу, особливо якщо це стосується інсуліну та кортизолу, проте часткове покращення відбулося.

### ***Підсумки до підрозділу 3.3.***

У вмісті рубця хворих на кетоз корів виявлено більшу, порівняно до корів контрольної групи, концентрацію аміаку та меншу кількість загального азоту ( $p < 0,05$ ). Після згодовування лікувально-профілактичної добавки вказані показники у дослідних корів наблизились до показників контрольних корів. Концентрація загального протеїну у плазмі крові корів перебувала у межах клінічної норми, проте концентрація сечовини наприкінці згодовування добавки була нижчою на 24,9 % і на 15,7 % ( $p < 0,05$ ) у корів з клінічним і субклінічним кетозом. Лікувально-профілактична добавка, що містить подрібнені гранули шишок хмелю, вітамін Е та захищені від розщеплення у рубці холін, метіонін і карнітин знижує концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату та збільшує концентрацію глюкози в крові корів після отелення.

Досліджувана лікувально-профілактична добавка вплинула на показники ліпідного обміну. Зокрема, у плазмі крові корів з субклінічним кетозом на 30,3 % зросла концентрація триацилгліцеролів ( $p < 0,05$ ) та на 48,3 % знизилась концентрація неестерифікованих жирних кислот ( $p < 0,001$ ). Після згодовування добавки, у плазмі крові корів з клінічною формою кетозу концентрація

триацилгліцеролів зросла у 2,2 рази ( $p < 0,01$ ), а концентрація неестерифікованих жирних кислот, навпаки, удвічі зменшилась ( $p < 0,001$ ).

Порушення протеїнового обміну у хворих корів свідчить про відхилення від норми функції печінки. Застосування лікувально- профілактичної добавки нормалізувало функціональну здатність печінки, зокрема синтез альбуміну та сечовини, що вказує на наявність гепатопротекторної дії розробленої нами добавки. У крові хворих корів спостерігалось підвищення активності амінотрансфераз, що свідчить про пошкодження мембран гепатоцитів та інших клітин організму. Внаслідок лікування у крові корів знизилась активність аспартатамінотрансферази ( $p < 0,01$ ).

На початку досліджу у хворих на кетоз корів виявлено зміни гормональної регуляції: секреції інсуліну та кортизолу, активності лужної фосфатази, лактадегідрогенази і кальцитоніну, що супроводжується порушеннями вуглеводного, ліпідного та мінерального обміну. Застосування лікувально- профілактичної кормової добавки позитивно вплинуло на обмінні процеси в організмі хворих корів. У корів з субклінічною формою кетозу спостерігається нормалізація показників крові, а у хворих на клінічний кетоз корів захворювання переходить у субклінічну форму.

#### **Результати цього розділу опубліковані [56, 57, 278]:**

1. **Сачко, С.** (2020). Застосування шишок хмелю та гепатопротекторів для лікування субклінічного кетозу корів. *Матеріали XIX Всеукраїнської науково-практичної конференції «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченої 90-річчю від дня народження Яновича Вадима Георгійовича (1930–2011), 3–4 грудня 2020 р., Львів, Біологія тварин, 22(4), 100.* [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2020\\_22\\_4\\_81](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2020_22_4_81)
2. Vudmaska, I., Petrukh, I., **Sachko, S.**, Vlizlo, V., Kosenko, Y., Kozak, M., & Petruk, A. (2021). Using hop cones, vitamin E, methionine, choline and carnitine for treatment of subclinical ketosis in transition dairy cows. *Advances in Animal*

*and Veterinary Sciences*, 9(1): 55–62.  
<http://doi.org/10.17582/journal.aavs/2021/9.1.55.62>

3. Сачко, С. Р. (2023). Вплив лікувально-профілактичної кормової добавки на рубцеву ферментацію хворих на кетоз корів. *Біологія тварин*, 25(1), 39–45. <https://doi.org/10.15407/animbiol25.01.039>

#### **3.4. Виробнича перевірка комплексної лікувально-профілактичної протикетозної кормової добавки для корів.**

Апробацію протикетозної кормової добавки проведено у ФГ «Аміла» Турійського району Волинської області на 60 коровах української чорно-рябої молочної породи.

Метою дослідження було визначити ефективність кормової добавки, яка містить шишки хмелю, вітамін Е та захищених від руйнування бактеріями рубця холіну, метіоніну та карнітину для нормалізації метаболізму при лікуванні субклінічного кетозу у транзитних молочних корів.

Для перевірки сформовано дві групи корів: контрольна (30 гол.) та дослідна (30 гол.). Коровам дослідної групи додавали до комбікорму розроблену нами лікувально-профілактичну кормову добавку протягом 3 тижнів після отелення. Добавка містить подрібнені гранули шишок хмелю – 20 г, DL- $\alpha$ -токоферол – 3 г та захищені від розщеплення у рубці карнітин – 1 г, холін – 20 г, метіонін – 20 г. Контролем слугували корови, умови утримання та годівлі яких були аналогічними, яким згодовували корми основного раціону без лікувально-профілактичної протикетозної кормової добавки. Проводили загальні клінічні дослідження корів та відбір проб крові. Молочну продуктивність досліджували через місяць після отелення.

Кров брали з хвостової вени відразу після отелення та через 1 місяць після отелення. У цільній крові визначали концентрацію глюкози та  $\beta$ -гідроксибутирату за допомогою глюкокетометра CareSens Dual, використовуючи тест-смужки CareSens PRO для глюкози та KetoSens для  $\beta$ -гідроксибутирату.

Як видно з наведених у таблиці 3.22 результатів, кількість глюкози і  $\beta$ -гідроксибутират у цільній крові та активність аспартатамінотрансферази у плазмі крові в корів до застосування лікувально-профілактичної кормової добавки перебували на приблизно на одному рівні. Концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату вказує на наявність у них субклінічного кетозу.

Таблиця 3.22

**Показники крові корів ( $M \pm m$ ,  $n=30$ )**

Показники	Групи тварин	
	Контрольна	Дослідна
Початок перевірки		
Глюкоза, ммоль/л	2,36 $\pm$ 0,16	2,41 $\pm$ 0,19
$\beta$ -Гідроксибутират, ммоль/л	1,86 $\pm$ 0,11	1,78 $\pm$ 0,14
АсАТ, нкат/л	1358,77 $\pm$ 45,67	1292,30 $\pm$ 63,18
Кінець перевірки		
Глюкоза, ммоль/л	2,91 $\pm$ 0,16	3,44 $\pm$ 0,12**
$\beta$ -Гідроксибутират, ммоль/л	1,72 $\pm$ 0,16	0,83 $\pm$ 0,15***
АсАТ, нкат/л	1173,23 $\pm$ 51,18	739,70 $\pm$ 0,34**

Наприкінці досліду виявлено значні зміни за вказаними показниками у крові контрольних корів і корів, які отримували добавку. Концентрація глюкози у корів дослідної групи була на 18,2 % ( $p < 0,01$ ) більшою, а концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату на 48,3 % меншою ( $p < 0,001$ ), порівняно з відповідними показниками у корів, які слугували контролем. Це свідчить про наявність у добавки протикетозної дії. Разом з тим у плазмі крові дослідних корів була на 63,1 % нижчою активність аспартатамінотрансферази ( $p < 0,01$ ), вказує на гепатопротекторну дію добавки.

При дослідженні молочної продуктивності корів також виявлено позитивні зміни (табл. 3.23). Застосування добавки збільшувало середньодобові надої корів наприкінці першого -початку другого місяця лактації. Зокрема, надій корів після лікування був на 10,2 % вищим ніж у корів контрольної групи, до яких лікування

не застосовувалось. Хоча цей ефект не був статистично вірогідним, проте якщо оцінювати молочну продуктивність за перерахованим у базисну жирність надоєм, кількість отриманого молока вірогідно збільшилась на 16,6 % ( $p < 0,05$ ). Це зумовлено дещо більшим вмістом жиру у молоці корів дослідної групи. Хоча ця зміна статистично не вірогідна, це вплинуло, однак, на обсяг надою у перерахунку на базисну жирність. Крім того, у молоці корів після лікування зростав відсоток протеїну, що також покращує якість молока. Внаслідок вищої жирності та більшого вмісту протеїну у молоці, зріс вихід молочного протеїну та жиру ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.23

**Показники молочної продуктивності корів ( $M \pm m$ ,  $n=30$ )**

Показники	Групи корів	
	Контрольна	Дослідна
Добовий надій, кг	21,36±1,19	23,54±2,05
Надій на базисну жирність 3,4 %, кг	22,62±0,95	26,37±1,38*
Жир, %	3,60±0,14	3,81±0,09
Протеїн, %	3,09±0,07	3,38±0,12*
Лактоза, %	4,62±0,11	4,49±0,07
Вихід жиру, кг/добу	0,79±0,03	0,89±0,05*
Вихід протеїну, кг/добу	0,66±0,02	0,80±0,04*
Вихід лактози, кг/добу	0,98±0,02	1,05±0,03

Таким чином, застосування запропонованої лікувально-профілактичної кормової добавки позитивно впливає на показники крові хворих на субклінічний кетоз корів зменшуючи концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату та збільшуючи концентрацію глюкози. Вказані показники ключові при кетозі, тому вони засвідчують протикетозну її дію. Одночасно досягається гепатопротекторний ефект, про що свідчить зниження активності аспартатамінотрансферази, показника яких вказує на стан печінки.

## РОЗДІЛ 4

### АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Печінка високопродуктивних корів під час транзитного періоду перебуває в стані підвищеного метаболічного навантаження, що супроводжується порушеннями її морфологічної структури, фізіологічної функції, біохімічного стану та часто завершується жировим переродженням гепатоцитів. У цей період корови мають такі основні метаболічні проблеми: недостатній синтез глюкози у печінці, надмірне надходження у печінку жирних кислот з жирової тканини, недостатньо інтенсивне виведення синтезованих з цих жирних кислот триацилгліцеролів з печінки у кров та недостатньо інтенсивне перетворення печінкою утвореного у рубці аміаку на сечовину крові.

Виникнення кожного з цих порушень обміну речовин посилює прояв усіх інших. Зокрема, оскільки інтоксикація організму аміаком посилює інтенсивність синтезу сечовини - це створює надмірне навантаження на печінку і пригнічує синтез глюкози та метаболізм жирних кислот. Стеатоз, у свою чергу, пригнічує синтез глюкози та сечовини, а інтенсивний гліюконеогенез знижує здатність печінки метаболізувати аміак та жирні кислоти [4, 104, 285]. Таким чином, усі функції печінки пригнічуються і виникає субклінічний кетоз, який за несприятливих умов може перерости в клінічну форму. Профілактика та лікування кетозу вимагають комплексної одночасної регуляції цих метаболічних процесів у печінці, жировій тканині та інших органах і тканинах корів.

Гіпотеза наших досліджень передбачала, що лікувальний ефект є не лише наслідком дії окремих компонентів добавки на певні ланки обміну речовин, а й результатом загального покращення фізіологічного та метаболічного стану організму корів.

Однією з цілей нашої роботи було дослідження впливу введення монензину в останні три тижні сухостою і перші тижні лактації на рубцеву ферментацію, обмін речовин та молочну продуктивність корів. На даний час у

світі, головним чином у США, проведено ряд досліджень щодо використання монензину для молочних корів, які узагальнені у оглядових статтях [127-129, 186, 241]. Проте є дуже мало публікацій, які б узагальнювали результати щодо введення монензину коровам протягом перехідного періоду для профілактики кетозу [186].

Бактерії гіпер-продуценти аміаку (НАВ), є основним джерелом аміаку в рубці. НАВ належать до грам-позитивних видів, які інгібуються іонофорами та  $\beta$ -кислотами хмелю [134, 139, 141]. Інгібування вироблення аміаку позитивно впливає на обмін речовин у корів, оскільки захищає протеїн корму від руйнування рубця, запобігаючи інтоксикацію аміаком тварин та зменшує метаболічне навантаження печінки [104]. У результаті інгібування  $\beta$ -кислотами відбувається зменшення продукції молочної кислоти, що знижує небезпеку ацидозу рубця. У той же час бактерії, що продукують пропіонат (*M. elsdenii* та ін.) належать до грам-негативних, тобто вони не чутливі до дії іонофорів. Внаслідок цього, частка пропіонату в складі летких жирних кислот збільшується [280], що є важливим для синтезу глюкози в печінці. Проте, целюлолітичні бактерії є грам-позитивними і підлягають впливу іонофорів, що призводить до пригнічення гідролізу клітковини та зменшення утворення у рубці оцтової кислоти.

Основна дія монензину спрямована на мікроорганізми рубця, він, як і інші іонофори, порушує натрій-калієвий баланс у цитоплазмі бактерій, внаслідок чого клітина витрачає більше енергії АТФ для відновлення катіонного балансу, що призводить до дефіциту енергії, пригнічення метаболічних процесів та загибелі бактерії. Цей вплив спрямований головним чином на грам-позитивні бактерії, змінюючи популяційний склад мікробіоти рубця [186, 251]. Більшість досліджень інших науковців не виявили впливу монензину на загальну концентрацію летких жирних кислот у вмісті рубця [121, 186, 200, 251].

У нашому досліді ми отримали подібний результат. Загальна концентрація ЛЖК у вмісті рубця корів, яким додавали монензин практично не відрізнялась від показника корів контрольної групи. З літературних даних відомо, що

монензин сприяє зростанню концентрації пропіонату та зниженню концентрації ацетату у рубцевій рідині [121, 186, 251], проте ми не визначали ці показники. Однак, нами встановлено помірне зниження целюлозолітичної та статистично вірогідне зростання амілолітичної активності ( $p < 0,05$ ) у вмісті рубця корів, які отримували монензин. Оскільки целюлозолітичні бактерії продукують більшою мірою ацетат, а амілолітичні бактерії ферментують вуглеводи корму переважно до пропіонату, можна зробити припущення, що у наших дослідженнях під впливом монензину також зростала частка пропіонової кислоти і зменшувалась частка оцтової кислоти.

Згідно літературних даних вплив монензину на рН рубцевої рідини корів неоднозначний. Він може бути відсутній [137, 200, 205], може зростати [149] або знижуватись [228]. Ми виявили зниження показника рН у вмісті рубця корів дослідної групи ( $p < 0,05$ ). Очевидно, вплив монензину на рН рубця залежить від багатьох чинників, у першу чергу він пов'язаний зі змінами концентрації у рубці лактату, як основної сполуки яка впливає на кислотність рубцевого вмісту. У нашому випадку виявлено зростання концентрації лактату ( $p < 0,05$ ), що й було причиною зміни рН. На перший погляд така дія нелогічна, оскільки молочнокислі бактерії грам-позитивні і мали б пригнічуватись монензимом. Проте, слід враховувати зростання у вмісті рубця амілолітичної активності. Амілолітичні бактерії розщеплюють полісахариди корму не лише до пропіонової кислоти, частково вони продукують й молочну кислоту і інтенсивність цього процесу залежить від багатьох годівельних та фізіологічних умов. Очевидно саме вони спричинили зниження показника рН.

Так само у різних дослідників виявлені суперечливі результати щодо вмісту аміаку в рідині рубця за дії монензину. Кілька проаналізованих робіт повідомляють про значне зниження вмісту аміаку [200, 228], що свідчить про менший протеоліз у рубці та більшу частку білків, що досягли тонкого кишківника. Проте, інші автори повідомили про відсутність змін в аміаку в рубці [121, 149, 251].



У наших дослідженнях встановлено суттєве зниження концентрації аміаку у вмісті рубця ( $p < 0,001$ ). Отже, наявне характерне для монензину пригнічення активності протеолітичних бактерій рубцевої мікробіоти. Відомо, що серед протеолітичних бактерій рубцевого вмісту найбільш чутлива до дії іонофорів є малочисельна але дуже активна група гіперпродуцентів аміаку [205], зменшення популяції якої ймовірно викликала меншу продукцію аміаку. Зниження інтенсивності розщеплення у рубці протеїнів корму підтверджується більшою кількістю у рубці дослідних корів білкового азоту ( $p < 0,05$ ), за незмінної кількості мікробного азоту, тобто більша частка протеїну корму надходила у сичуг та кишківник корів.

Більшість проаналізованих досліджень вказують на покращення енергетичного забезпечення метаболічних процесів у корів, які одержували монензин [186]. Основну увагу при цьому приділяють таким ключовим показникам крові, як рівень кетонових тіл, неестерифікованих жирних кислот та глюкози які характеризують стан енергетичного балансу та ймовірність виникнення кетозу у жуйної тварини. Результати отримані багатьма дослідниками свідчать про зниження за використання монензину рівня  $\beta$ -гідроксибутирату у крові корів перед та після отелення [124, 138, 153]. Цей зміни мають важливе значення, оскільки в цілому вони підтверджують ефективність застосування іонофорів для лікування та профілактики кетозу у корів.

Нами встановлено значний вплив монензину на концентрацію кетонових тіл у крові корів після отелення, тоді як до отелення дія монензину на цей аспект метаболізму був незначною. Зокрема наприкінці сухостійного періоду у крові корів, які отримували монензин виявлено лише зниження концентрації ацетоацетату ( $p < 0,05$ ), хоча концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату також дещо знижувалась, ця зміна не була статистично вірогідною. У результаті, не вірогідно, зменшилась сумарна кількість кетонових тіл. Натомість, через тиждень після отелення зміни були набагато виразніші. У крові корів, що отримували монензин концентрації ацетоацетату,  $\beta$ -гідроксибутирату і, відповідно, суми кетонових тіл були на 30,0, 27,1 та 27,2 % меншими ніж у корів

контрольної групи ( $p < 0,01$ ). При цьому слід звернути увагу на те, що порівняно з відповідними показниками до отелення концентрація ацетоацетату у крові корів контрольної групи зростала ( $p < 0,01$ ), а у дослідних корів залишалась без змін. У той же час, вміст  $\beta$ -гідроксибутирату у корів які отримували монензин був більшим після отелення у корів обох груп порівняно до показника сухостійного періоду ( $p < 0,001$ ). Тобто, монензин знижує концентрацію ацетоацетату до рівня який був перед отеленням, а концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату все таки зростає, хоча й не так інтенсивно як у корів контрольної групи.

Аналіз наукової літератури показав, що монензин зменшує концентрацію неестерифікованих жирних кислот та збільшує концентрацію глюкози у крові корів, проте ця дія проявляється не завжди [124, 138, 153, 186].

Результати нашого дослідження свідчать про відсутність впливу монензину на вміст глюкози та неестерифікованих жирних кислот у крові корів за 1-2 тижні до отелення та про суттєвий його вплив на ці показники на початку лактації. Після отелення у крові корів спостерігається значне зниження концентрації глюкози та зростання концентрації неестерифікованих жирних кислот, що фізіологічно цілком закономірно, такі зміни обміну речовин характерні для корів, вони зумовлені гормональними змінами та витратою поживних та енергетичних речовин на молокоутворення, що узагальнюється терміном "здоювання з тіла". Цими ж причинами пояснюється й зростання концентрації кетонів у крові корів після отелення про що вказано вище. У наших дослідженнях ми також отримали подібні зміни концентрацій глюкози та неестерифікованих жирних кислот, викликані переходом від сухостою до лактації. Проте, показники у корів різних груп відрізнялися. Концентрація глюкози у плазмі крові корів контрольної групи після отелення була меншою на 26,6 % порівняно до відповідного показника до отелення ( $p < 0,01$ ), а у корів, які отримували монензин або шишки хмелю зниження цього показника становило лише 13,9 % та 18,7 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Ще більші різниці виявлено для неестерифікованих жирних кислот. Зокрема, у плазмі крові корів контрольної

групи концентрація неестерифікованих жирних кислот після отелення була більшою у 2,6 рази ( $p < 0,001$ ), а у корів дослідних груп у 2,3 рази ( $p < 0,001$ ).

При порівнянні концентрації глюкози у плазмі крові після отелення у корів контрольної групи і групи, що отримувала монензин її зростання у дослідних корів 20,1 % ( $p < 0,05$ ). Концентрація неестерифікованих жирних кислот у плазмі крові корів після отелення за дії монензину знизилась на 29,8 % ( $p < 0,01$ ).

Згідно повідомлень ряду дослідників монензин впливає на рівень сечовини у плазмі крові корів [124, 130, 169, 289]. Таку дію пояснюють збільшенням надходження нерозщеплених у рубці протеїнів до сичуга та кишківника [130].

Супліддя (шишки) хмелю містять ряд компонентів: поліфеноли, ефірні олії, смоли, які володіють значною біологічною активністю і виявляють притимікробну, антиоксидантну, протизапальну, антиканцерогенну, естрогенну дію (168). Найбільш виражена протимікробна активність характерна для поліфенольних сполук хмелю: хумулону і лупулону (інша назва  $\alpha$ - і  $\beta$ -кислоти) та їх похідних. Ці сполуки вибірково пригнічують життєдіяльність грам-позитивних бактерій, впливаючи на транспорт іонів через бактеріальну мембрану за механізмами подібними до дії антибіотиків-іонофорів, тому їх часто називають фітоіонофорами.

Наші дослідження та дослідження інших наукових колективів вказують на наявність регуляторного впливу біологічно активних компонентів шишок хмелю та їх екстрактів на ферментативні процеси в рубці та схожість виявленої дії з антибіотиками-іонофорами (141, 168). Іонофорні антибіотики та  $\beta$ -кислоти хмелю пригнічують активність грам-позитивних бактерій у рубці. Грам-негативні бактерії переважно не чутливі до дії іонофорів (168).

Згідно літературних даних [209] дія біологічно активних речовин шишок хмелю на рубцеву ферментацію залежить від складу раціону, зокрема від вмісту у ньому грубих і концентрованих кормів. Цими авторами у дослідях з вмістом рубця *in vitro* встановлено, що за використання у якості субстрату грубих кормів біологічно активні сполуки хмелю знижують кількість мікробного азоту і азоту аміаку, а за використання як субстрату ячмінної дерті – кількості мікробного та

аміачного азоту зростають. При цьому, концентрація летких жирних кислот за дії біологічно активних речовин шишок хмелю за використання грубих кормів не змінюється, а за використання зерна ячменю дещо зростає за рахунок масляної та розгалужених кислот.

Результати нашого дослідження свідчать про незначне статистично не вірогідне збільшення кількості мікробного азоту та суттєве зниження концентрації аміаку ( $p < 0,001$ ) у вмісті рубця корів, які отримували шишки хмелю. Цікаво, що ці зміни були навіть дещо більшими, ніж зміни за дії монензину. на сумарну концентрацію летких жирних кислот шишки хмелю, так само як й монензин, не вплинули.

Зменшення концентрації аміаку у рубцевій рідині корів як за дії шишок хмелю, так і під впливом монензину пояснюється виявленим нами зниженням у рубці протеолітичної активності ( $p < 0,01$  і  $p < 0,001$ ). Як вже вказувалось, найвищою протеолітичною активністю серед рубцевої мікробіоти володіє група бактерій гіперпродуцентів аміаку, які є грам-позитивними і дуже чутливими до дії іонофорів. Отже, зменшення концентрації аміаку, скоріш за усе – результат дії шишок хмелю та монензину на ці бактерії. Разом з тим, загальна кількість бактерій, про що свідчить незмінна кількість у рубці мікробного азоту, відрізнялась незначно, очевидно зростала кількість інших груп бактерій. що ми, на жаль, не визначали. Побічно про це може свідчити зростання під впливом шишок хмелю амілолітичної активності, хоча й воно було дещо меншим ніж за дії монензину.

Лавренчич та ін., які додавали до корму м'ясної худоби 6 г та 11 г шишок хмелю на кілограм сухої речовини раціону, отримали підвищення рівня глюкози в крові та зменшення концентрації неестерифікованих жирних кислот при незмінній концентрації  $\beta$ -гідроксибутирату та сечовини [180]. Хміль не впливає на виведення Нітрогену із сечею, викиди аміаку, надій та склад молока корів [142].

У нашому експерименті встановлено відсутність впливу шишок хмелю на досліджувані нами біохімічні показники крові корів наприкінці сухостійного

періоду і значні зміни цих показників на початку лактації, що у цілому збігалось з результатами отриманими при застосуванні монензину.

Через тиждень після отелення у крові корів, які отримували шишки хмелю спостерігалось збільшення рівня глюкози ( $p < 0,01$ ) і незначне та статистично невірогідне зменшення рівня неестерифікованих жирних кислот. Це можна пояснити особливостями обміну речовин у корів після отелення, що виявляється у значних порушеннях вуглеводного, ліпідного та білкового обміну. За змінами концентрації глюкози хміль подіяв інтенсивніше ніж монензин, проте щодо неестерифікованих жирних кислот дія була значно слабшою.

Подібний ефект виявлено й для вмісту кетонових тіл у крові корів. Як і монензин, шишки хмелю не впливали на цей параметр до отелення, тоді як після отелення виявлено суттєві зміни. Вплив шишок хмелю на вміст кетонових тіл у крові корів за дії шишок хмелю був меншим ніж вплив монензину, проте він наявний і для  $\beta$ -гідроксибутирату статистично вірогідний. Встановлено зниження у крові дослідних корів концентрації  $\beta$ -гідроксибутирату ( $p < 0,05$ ) та менш виражене і статистично не вірогідне зниження концентрації ацетоацетату. Таким чином, біологічно активні компоненти шишок хмелю володіють помірною протикетозною дією. При цьому слід зазначити, що при порівнянні концентрації у крові кетонових тіл спостерігалось значне її збільшення у корів усіх груп – як контрольної, так і тих, що отримували монензин або шишки хмелю. Зростання концентрації кетонових тіл після отелення характерне для корів, важливо що кров корів дослідних груп містила їх менше ніж кров корів контрольної групи. Також після отелення у крові корів знизилась концентрація лактату, причому така дія була характерна як для шишок хмелю, так і для монензину ( $p < 0,05$ ). Очевидно, це пояснюється кращим забезпеченням організму глюкозою, що зменшує необхідність продукування лактату. Крім того, зменшення кількості лактату у крові свідчить про інтенсифікацію аеробного гліколізу, що сприяє підвищенню енергетичного забезпечення та зниженню вивільнення жирних кислот з жирової тканини у кров'яне русло.

Для шишок хмелю характерна антиоксидантна дія [87, 298]. Найвищими антиоксидантними властивостями володіють поліфенольні сполуки, кверцетин, міріцетин, кемпферол [168, 213, 232, 249]. Крім того, антиоксидантний ефект виявляють окремі сполуки шишок хмелю (галова кислота, кварцетин, катехін, ксантохумулон, хумулон, лупулон), які за своєю антиоксидантною активністю перевищують дію  $\alpha$ -токоферолу та аскорбінової кислоти [168, 173, 203].

Наші дослідження виявили зростання інтенсивності пероксидних процесів у корів після отелення, що притаманне тваринам у родовий період і є наслідком родового стресу та перебудови обмінних процесів організму у зв'язку з зміною фізіологічного стану. Разом з тим, встановлено наявність антиоксидантного впливу додавання до корму корів шишок хмелю на показники пероксидного окиснення у крові. Як до отелення, так і через тиждень після нього, у крові корів які отримували шишки хмелю спостерігалось зменшення кількості гідропероксидів ліпідів, дієнових кон'югатів ліпідів та ТБК-активних продуктів ( $p < 0,05$ ).

З наукової літератури відомо про регуляторну дію збільшення вмісту вітаміну Е в раціоні жуйних на активність бактерій рубця [231], зокрема про стимулюючий вплив  $\alpha$ -токоферолу на целюлозолітичні бактерії.

Виходячи з цього, однією з цілей наших досліджень було встановлення спільної дії введення до складу раціону корів у перед- та післяродовий період шишок хмелю та вітаміну Е на ферментацію у рубці.

Як і у досліді з додавання до корму корів лише шишок хмелю, у вмісті рубця корів виявлено значне зменшення концентрації аміаку ( $p < 0,01$ ), що узгоджується зі зниженням у рубці цих корів протеолітичної активності ( $p < 0,01$ ), що викликано іонофорною дією шишок хмелю. Зміни інших ензиматичних активностей мікрофлори рубця за сумісного застосування шишок хмелю та вітаміну Е. Зокрема, за використання комплексу шишки хмелю +  $\alpha$ -токоферол посилення амілолітичної активності у рубці корів було виражене дещо меншою мірою, проте встановлено помірне зростання целюлозолітичної активності, що є наслідком стимулюючої дії вітаміну Е на целюлозолітичні бактерії рубця.

Зниження протеолітичної активності підтверджується більшою кількістю білкового азоту у рубці дослідних корів ( $p < 0,05$ ) за незмінної кількості мікробного азоту, тобто протеїни корму у цих корів підлягали протеолізу меншою мірою. Впливу на концентрацію лактату і показних рН рубцевої рідини не виявлено.

Як було показано вище, при дослідженні впливу монензину та шишок хмелю на концентрацію глюкози у крові корів виявлено її підвищення через тиждень після отелення та відсутність ефекту наприкінці сухостійного періоду. Коли ж ми використовували кормову добавку, що містить шишки хмелю та великі дози вітаміну Е, були одержані подібні зміни також лише у перший тиждень після отелення, тоді як через місяць ефект добавки був відсутній (246).

За іншими досліджуваними показниками плазми крові, за сумісного додавання коровам шишок хмелю і вітаміну Е, отримано зміни через тиждень та місяць після отелення за відсутності змін перед отеленням.

Вітамін Е, за перорального введення жуйним у великих дозах, регулює ферментативні процеси у рубці, впливаючи на засвоєння сухої та органічної речовини, травлення клітковини, утворення легких жирних кислот і лактату та гідрогенізацію ненасичених жирних кислот [156, 212, 231, 281] Високі дози кормового вітаміну Е змінюють ферментаційні процеси у рубці корів [231]. Високі дози вітаміну Е стимулюють целюлозолітичну активність у рубці, що є важливим, враховуючи пригнічення деградації клітковини шишками хмелю. Зниження активності *Streptococcus bovis* зменшує вироблення лактату та запобігає ацидозу жуйних. Доповнення раціону кормів вітаміном Е на рівні 4000, 8000 або 12000 МО/день покращує перетравність корму, зменшує розщеплення протеїну та підвищує співвідношення ацетат: пропіонат у рубці [156].

Застосування комплексу шишок хмелю та вітаміну Е призводило до зростання вмісту триацилгліцеролів у плазмі крові, через тиждень після отелення ( $p < 0,05$ ), тоді як через місяць після отелення цей ефект відсутній. Що стосується неестерифікованих жирних кислот, їх кількість знижувалась як через тиждень, так через місяць після отелення ( $p < 0,05$ ), причому через місяць після отелення

вміст НЕЖК у плазмі крові корів дослідної групи знизився до рівня показника отриманого у цих же корів до отелення, тоді як у корів контрольної групи кількість НЕЖК через місяць після отелення була більшою ніж перед отеленням ( $p < 0,01$ ). Це важливий нюанс, оскільки зростання кількості неестерифікованих жирних кислот у крові після отелення характерне для молочних корів, особливо високопродуктивних, воно викликане посиленням розщеплення триацилгліцеролів жирової тканини. Таким чином, у корів контрольної групи ознаки негативного енергетичного балансу, тоді як за додавання коровам шишок хмелю та вітаміну Е вирівняло енергетичний баланс до кінця першого місяця лактації. Такий висновок підтверджується результатами дослідження концентрації глюкози у плазмі крові, яка через місяць після отелення зросла до рівня показника, отриманого до отелення.

Додавання коровам комплексу шишки хмелю та вітамін Е знижувало концентрацію лактату у плазмі крові, причому цей ефект був виражений більшою мірою ніж за використання лише шишок хмелю. Це свідчить про ефективніше використання глюкози в енергетичних процесах і повніше її окиснення у циклі трикарбонових кислот.

На концентрацію кетонових тіл у крові корів до отелення ні монензин, ні шишки хмелю окремо, ані шишки хмелю у комплексі з вітаміном Е не впливали.

У останні 2-3 дні перед отеленням і протягом декількох тижнів після нього у крові корів, як правило, підвищується концентрація кетонових тіл, яке може коливатись у широких межах – від незначних субклінічних форм до рівня клінічної форми кетозу. У нашому випадку, в досліді де ми вивчали вплив комплексного препарату, що містив шишки хмелю та вітамін Е, в корів через тиждень після отелення спостерігалась легка форма субклінічного кетозу (рівень  $\beta$ -гідроксибутирату в крові – 1,31, а сумарний рівень ацетоацетату та  $\beta$ -гідроксибутирату – 1,81 ммоль/л). Застосовувана добавка знизил ці показники до припустимого рівня клінічної норми (0,80 і 1,23 ммоль/л) ( $p < 0,05$  і  $p < 0,01$  відповідно), тобто нами встановлено позитивну терапевтичну дію сумісного застосування шишок хмелю та вітаміну Е. Через місяць після отелення



концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату була у межах норми і досліджувана знижувало його незначно і статистично не вірогідно.

Додавання коровам шишок хмелю та вітаміну Е позитивно впливало на антиоксидантний статус. Як вказувалось нами раніше, шишки хмелю володіють антиоксидантними властивостями за інтенсивністю дію близькою до вітаміну Е та аскорбінової кислоти [168, 173, 203].

У досліді з додаванням лише шишок хмелю встановлено помірно, проте статистично вірогідне зниження концентрації гідропероксидів ліпідів, ТБК активних продуктів та дієнових кон'югатів у крові корів як перед отеленням, так і після нього ( $p < 0,05$ ). У випадку спільного додавання шишок хмелю та вітаміну Е цей ефект проявлявся більшою мірою ( $p < 0,05-0,001$ ), що цілком закономірно, враховуючи, що обидва компоненти добавки володіють антиоксидантною дією.

Кетоз переважно супроводжується стеатозом [4, 104, 285], тому поліпшення функції печінки сприяє кращому метаболізму глюкози, сечовини та інших метаболічних шляхів. Наступним етапом наших досліджень було встановлення профілактичної та лікувальної дії комплексної протикетозної та протистеатозної кормової добавки. Використовувана добавка містила, крім шишок хмелю та вітаміну Е, компоненти які впливають на функцію печінки: метіонін, холін та карнітин – відомі гепатопротектори, які застосовуються для профілактики та лікування дисфункцій печінки, включаючи стеатоз. Карнітин транспортує жирні кислоти до мітохондрій для подальшого  $\beta$ -окислення [199, 240] Холін і метіонін беруть участь у синтезі фосфатидилхоліну, сприяють утворенню ліпопротеїдів дуже низької щільності та виведенню з печінки триацилгліцеринів [163, 253, 296]. Жодна з цих сполук не має вираженого впливу на біохімічні показники, пов'язані з кетозом, у крові клінічно здорової худоби [160, 199, 240, 253, 296], проте захист печінки за умов кетозу є важливим аспектом комплексу лікувальних заходів.

Для досліді підібрано 2 групи корів на початку лактації: з ознаками кетозу (концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові  $> 3,0$  ммоль/л) – 4 голови,

з субклінічним кетозом (концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові 1,3-2,2 ммоль/л) – 10 голів та клінічно здорові (концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові 0,2–1,1 ммоль/л) – 10 голів. Хворим на кетоз коровам протягом місяця до комбікорму додавали лікувально-профілактичну добавку, що містить подрібнені гранули шишок хмелю – 20 г, вітамін Е – 3 г, та захищені від розщеплення у рубці холін – 50 г, метіонін – 20 г, і карнітин – 1 г. Клінічно здорові корови були контролем.

Згідно отриманих нами даних, за клінічного кетозу у рубці корів знижуються амілолітична, целюлозолітична та ліполітична активності ( $p < 0,05$ – $0,001$ ), що очевидно пов'язано із загальним погіршенням фізіологічного стану організму, травлення та кормової поведінки. Відомо, що за кетозу, як і за багатьох інших хворіб, зменшується споживання коровами грубих кормів, проте целюлозолітична активність знижувалась менше за інші активності, хоча й ця зміна й була статистично вірогідною. Незважаючи на зниження амілолітичної активності концентрація лактату у рубці корів з клінічним кетозом зростала ( $p < 0,001$ ). Очевидно, це відбувалось внаслідок зростання активності молочнокислих а не амілолітичних бактерій, тобто пропіонатний шлях катаболізму вуглеводів корму пригнічувався, а лактатний активізувався. Це підтверджується тим, що концентрація летких жирних кислот у рубці цих корів була значно нижчою ніж у здорових тварин ( $p < 0,001$ ), що узгоджується зі зниженням амілолітичної та целюлозолітичної активностей.

Цікаво, що рН рубцевої рідини не змінювався, тобто ацидозу не спостерігалось. Це свідчить про збереження достатньої буферної ємності рубцевої рідини.

На відміну від амілолітичної, целюлозолітичної та ліполітичної активностей, протеолітична активність у рубці зростала. Це характерно для хворих на кетоз корів і зумовлено зі зміною співвідношення споживання ними грубих і концентрованих кормів на користь останніх, що містять багато крохмалю та протеїну. Крохмаль, як видно з отриманих нами результатів, розщеплюється з посиленням утворенням у якості кінцевого продукту молочної

кислоти, а більша частка протеїну в раціоні призводить до активування протеолітичних бактерій, на що вказує зростання концентрації аміаку у рубці цих корів. Важливо, що зростала кількість саме аміаку ( $p < 0,001$ ), тоді як кількість мікробного азоту зменшувалась ( $p < 0,05$ ), тобто розщеплення протеїну корму до аміаку відбувалось інтенсивно, а його використання для ресинтезу мікробних протеїнів було уповільнено. З цього можна зробити висновок, що зниження амілолітичної, целюлозолітичної та ліполітичної активностей відбувалось внаслідок зменшення чисельності відповідних бактерій. Теоретично можна припустити, що популяція протеолітичних бактерій також зменшувалась, а зростання протеолітичної активності відбулось за рахунок життєдіяльності малочисельної, але ензиматично дуже активної групи бактерій гіперпродуцентів аміаку. До речі, кількість білкового азоту в рубці хворих на клінічний кетоз корів також була меншою ніж у здорових ( $p < 0,05$ ), що вказує на зниження апетиту та зменшення споживання корму.

У корів з субклінічною формою кетозу зміни ензиматичних активностей у рубці мали такі ж тенденції, проте виражені вони були значно менше, хоча й переважно статистично вірогідно ( $p < 0,05$ ), за винятком целюлозолітичної активності, яка у цих корів не відрізнялась від показника здорових тварин. Як і за клінічного кетозу, у рубці корів з субклінічним кетозом виявлено зростання концентрації аміаку та лактату ( $p < 0,05$ ), але ці зміни були меншими. Крім того, рубцева рідина цих корів містила менше, порівняно з здоровими коровами, летких жирних кислот, проте на відміну від корів хворих на клінічний кетоз це різниця не була статистично вірогідною. Кількість білкового та мікробного азоту у рубці корів з субклінічним кетозом не відрізнялась від показників корів контрольної групи.

Застосування комплексної лікувальної кормової добавки, що містить гранули шишок хмелю, вітамін Е, холін, метіонін і карнітин вплинуло на рубцеву ферментацію та, відповідно, на субстратний склад вмісту рубця. У корів з субклінічним кетозом амілолітична та целюлозолітична активності вмісту рубця вирівнялись з відповідними активностями рубця корів контрольної групи, а

протеолітична активність стала навіть нижчою, ніж у контрольних корів. У корів з ознаками клінічного кетозу ця дія була слабшою, але тенденції у цілому зберігались. Найменший вплив спостерігався для амілолітичної активності, яка й надалі залишалась значно нижчою порівняно з здоровими коровами та при порівнянні амілолітичної активності у рубці цих корів до та після лікування ( $p < 0,05$ ). Найбільші різниці у показниках до та після лікування виявлені для протеолітичної активності у рубці як корів з субклінічним кетозом, так й для корів з ознаками клінічного кетозу ( $p < 0,01$ ). Це пояснюється тим, що у вмісті рубця діючими речовинами комплексної добавки є лише шишки хмелю і вітамін Е, оскільки холін, метіонін та карнітин у її складі були у захищеній від мікроорганізмів рубця формі і, відповідно, біологічно активної дії не виявляли.

Таким чином, ми отримали виражену іонофорну пригнічуючу дію шишок хмелю на грам-позитивну мікрофлору рубця, у першу чергу на протеолітичні бактерії, і помірну стимулюючу дію вітаміну Е на целюлозолітичні бактерії.

Комплексна лікувальна кормова добавка сприяла зниженню концентрації аміаку і підвищенню загальної концентрації летких жирних кислот у рубці корів. Для корів з субклінічним кетозом її дія була достатньо ефективною, вказані показники вирівнялись з показниками здорових корів. Це пояснюється сумарною дією шишок хмелю і вітаміну Е на ензиматичну активність мікрофлори, що заселяє рубець, що підтверджується результатами досліджень інших науковців [103, 152, 208, 210, 297]. На рубцеву ферментацію у корів з клінічною формою кетозу добавка діяла подібно, але менш ефективно, у даному випадку після лікування кількість летких жирних кислот та аміаку в рубці змінювались у такому ж напрямі, проте концентрація ЛЖК усе одно залишалась меншою ( $p < 0,01$ ), а концентрація аміаку більшою ( $p < 0,05$ ), ніж у здорових корів.  $\beta$ -Кислоти шишок хмелю пригнічують життєдіяльність грам-позитивних бактерій *S. bovis*, які продукують значну частку лактату рубця жуйних [140]. Ми також отримали такий ефект після лікування, концентрація лактату у рубці корів з кетозом знизилась, проте кількісно цей вплив був незначним та статистично не вірогідним.

Встановлення концентрації глюкози і  $\beta$ -гідроксибутирату є важливими і зручними для дослідження маркерами кетозу, оскільки наявні на даний час портативні глюко- і кетометри з діагностичними смужками дають змогу оперативно перевіряти корів у перший тиждень після отелення на наявність кетозу і надавати їм своєчасну допомогу. Ми застосовували для виявлення хворих тварин тестер CareSens Dual, який може визначати концентрації як глюкози, так і  $\beta$ -гідроксибутирату. У хворих на кетоз корів спостерігалась характерна для цього метаболічного захворювання картина біохімічних показників крові, які у першу чергу полягали у зростанні кількості кетонових тіл та неестерифікованих жирних кислот і зниженні кількості глюкози, що є специфічним лабораторним маркером кетозу.

Звичайно, найсуттєвіші зміни виявлено у тварин з клінічним кетозом. Слід зазначити, що кетоз у цих корів перебігав у помірно клінічній формі без різко виражених клінічних симптомів, проте зміни біохімічних показників вказували саме на цей діагноз. Основним показником, який свідчив про наявність клінічного кетозу була висока концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові, яка у середньому по групі становила 4,08 ммоль/л, а клінічний кетоз діагностується коли вказаний показник перевищує рівень 3,0 ммоль/л. Інші маркерні показники також значно відрізнялись від таких у здорових тварин, зокрема порівняно зі здоровими коровами у хворих на клінічний кетоз концентрація неестерифікованих жирних кислот була вищою на 52,3 % ( $p < 0,001$ ), а концентрація глюкози нижчою на 19,4 % ( $p < 0,01$ ). При цьому слід враховувати, що концентрація глюкози й неестерифікованих жирних кислот у здорових корів вже перебували на критичному рівні, що характерно для корів відразу після отелення і є наслідком негативного енергетичного балансу, характерного для усіх високопродуктивних корів.

Пропонована лікувально-профілактична добавка позитивно вплинула на обмін речовин у хворих на кетоз корів. Зокрема, внаслідок лікування у плазмі крові корів як з субклінічною, і з клінічною формою кетозу зростала концентрація глюкози ( $p < 0,01$ ) та триацилгліцеролів ( $p < 0,05$ ) та знижувалась

концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату ( $p < 0,01$ ), неестерифікованих жирних кислот ( $p < 0,001$ ), лактату ( $p < 0,05$ ) та сечовини ( $p < 0,05$ ), знижувалась активність аспартатамінотрансферази ( $p < 0,01$ ) і лужної фосфатази ( $p < 0,05$ ). Таким чином, досягнута мета за усіма передбачуваними напрямками. По-перше виявлена дія на порушення пов'язані з негативним енергетичним балансом і, відповідно, причиною кетозу: знизилось вивільнення неестерифікованих жирних кислот з жирової тканини, покращився синтез глюкози і, як наслідок – зменшилось утворення кетонових тіл. По-друге, досягнений гепатопротекторний ефект, про що свідчить нижча активність маркерних ензимів крові, які вивільнюються з клітин при їх руйнуванні, тобто можна припустити про краще функціонування печінки після лікування. Додатково про це свідчить збільшення у плазмі крові кількості триацилгліцеролів, які синтезуються печінкою з неестерифікованих жирних кислот. Отже, хоча використані гепатопротектори не мають прямого впливу на попередження негативних проявів за кетозу [160, 199, 240, 253, 296], додатковий позитивний ефект на стан печінки покращує її функціонування, від чого залежить полегшення перебігу кетозу.

Порушення обміну речовин, у тому числі й кетоз, як правило, супроводжуються оксидативним стресом. Добавка, використана в цьому дослідженні, містила три компоненти з антиоксидантними властивостями: вітамін Е, шишки хмелю [168] та метіонін [296]. Таким чином, запобігання окисного стресу за допомогою цих антиоксидантних сполук може бути одним із позитивних факторів у лікуванні метаболічних порушень.

Монензин переважно не впливає на секрецію інсуліну у жуйних [127, 186, 205, 224]. Даних щодо впливу біологічно активних речовин хмелю на експресію інсуліну ми не знайшли. За використання досліджуваної лікувально-профілактичної добавки виявлено зростання секреції інсуліну у хворих тварин після лікування ( $p < 0,01$ ). Слід зазначити, що вміст інсуліну протягом досліду зростав й у крові здорових корів, але це підвищення було значно меншим і статистично не вірогідним. Протилежний ефект спостерігався для кортизолу, секреція якого за дії добавки знижувалась ( $p < 0,05-0,01$ ). При цьому слід

враховувати, що досліджуваний нами препарат був комплексним і містив ряд інших компонентів, що може бути причиною виявлених змін.

При цьому слід враховувати, що дія добавки залежала від важкості перебігу захворювання. У корів з субклінічним кетозом лікування призводило до суттєвого покращення стану, більшість показників стабілізувались, хоча деякі з них перебували на межі до рівня клінічної та фізіологічної норми. Зокрема, концентрація ключового маркера кетозу –  $\beta$ -гідроксибутирату в крові хворих на субклінічний кетоз корів становила 1,06 ммоль/л, тоді як межа діагностування субклінічного кетозу за  $\beta$ -гідроксибутиратом 1,2 ммоль/л.

При захворюванні на клінічний кетоз добавка також діяла, але окремі параметри крові корів після лікування усе одно дещо виходили за фізіологічні межі. Хоча концентрація глюкози у них вирівнялась з здоровими коровами, вміст  $\beta$ -гідроксибутирату, незважаючи на зменшення порівняно з початком дослідження, залишався на відносно високому рівні – 2,78 ммоль/л, що свідчить про наявність субклінічного кетозу.

Отже, запропонована лікувально-профілактична протикетозна кормова добавка, яка містить шишки хмелю, вітамін Е, та захищені від розщеплення у рубці холін, метіонін і карнітин може бути застосована для лікування субклінічного кетозу, але недостатньо ефективна при клінічній формі кетозу корів.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі викладені, порівняні та проаналізовані результати дослідження метаболічної дії монензину, шишок хмелю, шишок хмелю разом з вітаміном Е та комплексної лікувально-профілактичної кормової добавки, що містить подрібнені гранули шишок хмелю, вітамін Е та захищені від розщеплення у рубці холін, метіонін і карнітин для профілактики і лікування кетозу та стеатозу корів.

1. За регуляторною дією на рубцеву ферментацію у корів шишки хмелю близькі до іонофорного антибіотику монензину, тобто володіють властивостями природного фітоіонофору. Дія шишок хмелю на кетогенез менш виражена, а антиоксидантні властивості вищі, порівняно до дії монензину.

2. Додавання коровам монензину або шишок хмелю пригнічує протеолітичну ( $p < 0,01-0,001$ ) та ліполітичну ( $p < 0,01$ ) активність у рубці корів. Внаслідок цього, у вмісті рубця знижується концентрація аміаку ( $p < 0,001$ ), що важливо для нормалізації рубцевої ферментації та попередження інтоксикації аміаком у перші тижні після отелення. Зниження концентрації аміаку супроводжується зростанням кількості білкового азоту ( $p < 0,05$ ), що свідчить про зменшення розщеплення у рубці протеїну корму. Одночасне додавання до корму корів шишок хмелю та вітаміну Е спричиняє таку ж дію на протеолітичну активність, але при цьому підвищується целюлозолітична активність ( $p < 0,05$ ).

3. У плазмі крові корів, яким дають монензин після отелення зростає концентрація глюкози та знижується концентрація кетонових тіл ( $p < 0,01$ ), лактату, сечовини ( $p < 0,05$ ). Додавання шишок хмелю незначно впливало на більшість біохімічних показників крові, проте виявлено зменшення концентрації  $\beta$ -гідроксибутирату ( $p < 0,05$ ) та продуктів пероксидного окиснення ( $p < 0,05$ ). До отелення монензин та шишки хмелю на біохімічні показники плазми крові корів не впливали.



4. Введення до раціону корів протягом транзитного періоду шишок хмелю та токоферолу ацетату стимулює синтез глюкози печінкою, зменшує інтенсивність вивільнення жирних кислот з жирової тканини, пригнічує процеси пероксидного окиснення та кетогенезу. У крові цих корів, на відміну від корів яким давали лише шишки хмелю, зростала концентрація глюкози ( $p < 0,01$ ) і знижувалась концентрація НЕЖК і лактату ( $p < 0,05$ ). Спільне застосування шишок хмелю та вітаміну Е ефективніше знижувало концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату ( $p < 0,01$ ) та дієнових кон'югатів ( $p < 0,01$ ).

5. У вмісті рубця хворих на кетоз корів, порівняно до здорових корів контрольної групи, виявлено більшу концентрацію аміаку та меншу кількість загального азоту ( $p < 0,05$ ). Після згодовування комплексної лікувально-профілактичної добавки, що містить подрібнені гранули шишок хмелю, вітамін Е та захищені від розщеплення у рубці холін, метіонін і карнітин вказані показники у дослідних корів наблизились до показників контрольних корів.

6. За додаванням хворим на клінічний та субклінічний кетоз комплексної лікувально-профілактичної добавки спостерігалось зростання у крові концентрації глюкози ( $p < 0,01$ ) і зниження концентрації  $\beta$ -гідроксибутирату ( $p < 0,01$ ), НЕЖК ( $p < 0,001$ ), сечовини, лактату та ТБК-активних продуктів ( $p < 0,05$ ), що зумовлено дією шишок хмелю і вітаміну Е. Крім того, наявність гепатопротекторних компонентів призвела до зниження у крові активності АсАТ, лактатдегідрогенази та лужної фосфатази ( $p < 0,05-0,01$ ).

7. Лікувально-профілактична добавка знижує концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату та збільшує концентрацію глюкози в крові корів після отелення. У корів з субклінічною формою кетозу спостерігається нормалізація показників крові, а у хворих на клінічний кетоз корів захворювання переходить у субклінічну форму. Вказана кормова добавка може застосовуватись для профілактики метаболічних порушень обміну речовин корів, зокрема для попередження виникнення кетозу та жирового переродження печінки.

## **ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

Для профілактики захворювання корів на кетоз і стеатоз та лікування субклінічної форми кетозу пропонується застосування комплексної лікувально-профілактичної кормової добавки, що містить подрібнені гранули шишок хмелю, вітамін Е та захищені від розщеплення у рубці холін, метіонін і карнітин.

Розроблена лікувально-профілактична добавка може використовуватись як окремо, так й у комплексі з іншими лікувальними засобами.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ**

1. Антоненко, П. П., Сулова, Н. І., & Розорьонова, К. А. (2014). Ефективність використання комплексної терапії за лікувально-профілактичних заходів субклінічного кетозу у корів. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*, 29(2), 254–256. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm\\_2014\\_29%282%29\\_63](http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm_2014_29%282%29_63)
2. Бойків, Д. П., Бондарчук, Т. І., Іванків, О. В., & Складаров, О. Я. (ред.). (2006). *Клінічна біохімія: підручник*. Київ, Медицина, 432 с.
3. Влізло, В. В., Симонов, М. Р., & Подоляк, В. П. (2013). Гормональний статус у здорових и больных кетозом коров. *Lucrari Stiintifice: Medicina veterinara*, (35), 117–120.
4. Влізло В. В. (1998). *Жировий гепатоз у високопродуктивних корів* [автореф. дис. д. вет. н. 16.00.01 «Діагностика і терапія тварин»]. Київ, 34 с.
5. Влізло, В. В. (ред.). (2012). *Лабораторні методи досліджень у біології тваринництві та ветеринарній медицині: довідник*. Львів, Сполом, 764 с.
6. Влізло, В. В., & Сімонов, М. Р. (2011). Білоксинтезувальна функція печінки та обмін амінокислот у корів, хворих на кетоз. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*, 13(4/50/1), 42–45. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu\\_2011\\_13\\_4%281%29\\_9](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2011_13_4%281%29_9)
7. Влізло, В. В., & Суходольська, М. І. (2004). Стан кислотно-основного балансу в корів, хворих на кетоз. *Вісник Білоцерківського державного аграрного університету*, 25(2), 24–27.
8. Влізло, В. В., Куртяк, Б. М., Вудмаска, І. В., Віщур, О. І., & Петрук, А. П. (2015). *Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині та тваринництві: монографія*. Сполом, 2015, 436 с.
9. Влізло, В. В., Сімонов, М. Р., & Гульцяєва, О. В. (2014). Ліпомобілізаційний синдром у молочних корів. *Ветеринарна медицина України*, 11(225), 23–26.
10. Влізло, В. В., Сімонов, М. Р., & Петрух, І. М. (2010). Показники мінерального обміну у корів, хворих на кетоз. *Ветеринарна медицина*, (94), 220–221.

11. Влізло, В. В., Сімонов, М. Р., & Петрух, І. М. (2010). Функціональний стан щитоподібної та прищитоподібних залоз у здорових та хворих на кетоз корів. *Науковий вісник ветеринарної медицини*, 5(78), 41–43.
12. Влізло, В. В., Сімонов, М. Р., & Петрух, І. М. (2012). Вміст вільних амінокислот та активність антиоксидантної системи у крові здорових і хворих на кетоз високопродуктивних корів. *Вісник аграрної науки*, (10), 28–30.
13. Влізло, В. В., Сімонов, М. Р., & Петрух, І. М. (2012). Гормональна регуляція молокоутворення у корів. *Вісник аграрної науки*, (5), 26–29.
14. Влізло, В. В., Янович, В. Г., & Ратич, І. Б. (2010). Фізіолого-біохімічні основи високої продуктивності великої рогатої худоби. *Вісник аграрної науки*, (9), 11–14.
15. Влізло, В. В., Сімонов, М. Р., Петрух, І. М., Остапів, Д. Д., & Козак, М. І. (2020). *Метаболічні процеси в організмі корів у транзитний період і за розвитку кетозу: методичні рекомендації*. Інститут біології тварин НААН, Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького, 40 с.
16. Вудмаска, І. В., Сачко, С. Р., Гудима, В. Ю., Голова, Н. В., & Пахолків Н. І. (2019). Вплив шишок хмелю і вітаміну Е на рубцеву ферментацію у корів після отелення. *НТБ Інститут біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок*, 20(2), 42–47. <https://doi.org/10.36359/sciwp.2019-20-2.05>
17. Вудмаска, І. В., Сачко, С. Р., Петрук, А. П., Пахолків, Н. І., Гудима, В. Ю., & Скорохід А. В. (2019). Корекція біохімічних показників крові корів у перед- і післяотельний періоди шишками хмелю та вітаміном Е. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького, серія: Ветеринарні науки*, 21(95): 117–121. <https://doi.org/10.32718/nvlvet9522>
18. Герун, І. В. (2020). Амінокислотний склад молока здорових корів та хворих на кетоз. *Вісник Сумського національного аграрного університету, серія: Ветеринарна медицина*, (3), 3–8.

19. Дерев'янку, І. Д., & Дячинський, А. С. (ред.). (2009). *Фізіологія сільськогосподарських тварин: підручник*. Київ, Центр учбової літератури, 568 с.
20. Караванський, М. О., Рудь, В. О., & Тарасенко, Л. О. (2022). Зміни біохімічних показників крові високопродуктивних корів за субклінічного кетозу та його вплив на молочну продуктивність. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, серія: Ветеринарні науки*, 24(106), 168–171. <https://doi.org/10.32718/nvlvet10625>
21. Кібкало, Д. В. (2017). Аналіз цитокінового статусу сироватки крові корів за субклінічної форми кетозу. *Біологія тварин*, 19(3), 50–54. <http://doi.org/10.15407/animbiol19.03.050>
22. Кравченко, С. О. (2017). Профілактика кетозу високопродуктивних корів у весняний період. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, (4), 94–96. <https://doi.org/10.31210/visnyk2017.04.19>
23. Кременчук, І., & Трач, В. (2021). Морфологічні та біохімічні показники крові корів за кетозу. *Аграрний вісник Причорномор'я*, (99). <https://doi.org/10.37000/abbsl.2021.99.08>
24. Крюков, В. С., & Зінов'єв, С. В. (2011). Управління годуванням корів у перехідний період — шлях до збереження високопродуктивного стада. *Тваринництво*. <http://www.webfarmerstvo.org.ua/tvarynnyctvo/upravlinnja-goduvannjam-koriv-u-perehidnyj-period---shljah-do-zberezhennja-vysokoproduktyvnogo-stada.php>
25. Куртяк Б. М., & Янович, В. Г. (2004). *Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині і тваринництві*. Львів, Тріада плюс, 426 с.
26. Левченко, В. І. (2009). Кетоз високопродуктивних корів: етіологія, діагностика і лікування. *Здоров'я тварин і ліки*, (2), 14–15.
27. Левченко, В. І. (ред.), Влізло, В. В., Кондрахін, І. П., Карпуть, І. М., Слівінська, Л. Г., Богатко, Л. М., & Мельник, А. Ю. (2015). *Внутрішні хвороби тварин: ч. 2*. Білоцерківський національний аграрний університет, 610 с. [https://rep.btsau.edu.ua/bitstream/BNAU/450/3/Vnutrishni\\_hvoroby\\_tvaryn.pdf](https://rep.btsau.edu.ua/bitstream/BNAU/450/3/Vnutrishni_hvoroby_tvaryn.pdf)

28. Левченко, В. І. (ред.), Влізло, В. В., Кондрахін, І. П., Мельник, Й. Л., Судаков, М. О., Чумаченко, В. Ю., Безух, В. М., Богатко, Л. М., Головаха, В. І., Лисенко, В. В., & Сахнюк, В. В. (2004). *Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин*. Білоцерківський національний аграрний університет, 608 с.  
[https://rep.btsau.edu.ua/bitstream/BNAU/428/1/Klinichna\\_diagnostyka\\_vnutrishnih\\_hvorob\\_tvaryn.pdf](https://rep.btsau.edu.ua/bitstream/BNAU/428/1/Klinichna_diagnostyka_vnutrishnih_hvorob_tvaryn.pdf)
29. Левченко, В. І. (ред.), Кондрахін, І. П., Влізло, В. В., Головаха, В. І., Судаков, М. О., Мельник, Й. Л., Чумаченко, В. Ю., Богатко, Л. М., Лисенко, В. В., & Папченко, І. В. (2012). *Внутрішні хвороби тварин: ч. 1*. Білоцерківський національний аграрний університет, 528 с.  
[https://rep.btsau.edu.ua/bitstream/BNAU/451/1/Vnutrishni\\_hvoroby\\_tvaryn\\_pidruchnyk.pdf](https://rep.btsau.edu.ua/bitstream/BNAU/451/1/Vnutrishni_hvoroby_tvaryn_pidruchnyk.pdf)
30. Левченко, В. І., & Петренко, О. С. (2010). Динаміка змін показників фосфорно-кальцієвого обміну у корів та їх діагностична інформативність за патології. *Науковий вісник ветеринарної медицини*, 5(78), 90–96.
31. Левченко, В. І., & Сахнюк, В. В. (2000). Кетоз високопродуктивних корів. *Вісник Білоцерківського державного аграрного університету*, (11), 69–73.
32. Левченко, В. І., & Сахнюк, В. В. (2002). Кетоз високопродуктивних корів: етіологія і діагностика. *Ветеринарна медицина України*, (2), 18.
33. Левченко, В. І., Галяс, В. Л. (ред.), Влізло, В. В., Кондрахін, І. П., Мельничук, Д. О., Апуховська, Л. І., Головаха, В. І., Сахнюк, В. В., Томчук, В. А., Грищенко, В. А., & Цвіліховський М. І. (2002). *Ветеринарна клінічна біохімія*. Білоцерківський державний аграрний університет, 400 с.  
<https://www.pdau.edu.ua/sites/default/files/node/4317/klinbioximialevchenko01.pdf>
34. Леньо, М. І. (2006). *Кислотно-основний баланс у здорових та хворих на кетоз корів* [дис. к. вет. н. 16.00.01 «Діагностика і терапія тварин»]. Біла Церква, 22 с.
35. Леньо, М. І., Леньо, Ю. М., & Влізло, В. В. (2013). Кореляційна залежність між показниками кислотно-основного балансу крові та сечі корів, хворих на кетоз. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної*

- медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*, 15(1/1), 89–93.  
[http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu\\_2013\\_15\\_1%281%29\\_17](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2013_15_1%281%29_17)
36. Личук, М. Г., Слівінська, Л. Г., & Паска, М. З. (2017). Функціональний стан печінки високопродуктивних корів за субклінічного кетозу. *Біологія тварин*, 19(4), 125. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2017\\_19\\_4\\_48](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2017_19_4_48)
37. Митрофанов, О. В., Маслак, Ю. В., Маценко, О. В., Могільовський, В. М., Щепетільников, Ю. О., Митрофанов, О. О., Собакар, А. В., & Фурда, І. В. (2017). Показники, що характеризують стан печінки, нирок та органів травлення за кетозу корів. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*, 34(2), 144–150. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm\\_2017\\_34%282%29\\_33](http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm_2017_34%282%29_33)
38. Науменко, В. В., Дячинський, А. С., Демченко, В. Ю., & Дерев'янка, І. Д. (2009). *Фізіологія сільськогосподарських тварин: підручник*. Київ, Центр учбової літератури, 568 с.
39. Ніжинська-Астапенко, З. П. (2016). Місце гепатопротекторного препарату в комплексній терапії діабетичного кетозу — кетоацидозу. *Практикуючий лікар*, 5(4), 47–50. <https://plr.com.ua/index.php/journal/article/view/181>
40. Овсієнко, С. М. (2019). Порушення обміну речовин у високопродуктивних корів та біологічний спосіб запобігання розвитку кетозу. *Аграрна наука та харчові технології*, 4(107/1), 3–15.  
<http://techfood.vsau.org/storage/articles/May2021/sQf9OvfAU1KOq57xLvbQ.pdf>
41. Петрух, І. М. (2012). Стан вуглеводної та сечовиноутворювальної функцій печінки у клінічно здорових та хворих на кетоз корів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*, 14(2/1), 279–283.  
[http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu\\_2012\\_14\\_2%281%29\\_54](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2012_14_2%281%29_54)
42. Петрух, І. М. (2013). Показники білкового обміну у корів, хворих на кетоз. *Біологія тварин*, 15(4), 95–99. <https://aminbiol.com.ua/index.php/archive/94-archive/bt4-15-2013/1541>

43. Петрух, І. М., & Сімонов, М. Р. (2010). Особливості метаболізму білків в організмі корів, хворих на кетоз. *Біологія тварин*, 12(2), 313–317. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2010\\_12\\_2\\_51](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2010_12_2_51)
44. Петрух, І. М., & Сімонов, М. Р. (2011). Стан перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантної системи у хворих на кетоз корів. *Інноваційний розвиток національної економіки: Матеріали міжнародної науково-практичної інтернет-конференції*, 7–8 квітня 2011 р., Україна, 79–80.
45. Петрух, І. М., & Сімонов, М. Р. (2012). Гормональний статус корів до та після отелення. *Розвиток країн в умовах глобалізації: технологічні, економічні, соціальні та екологічні проблеми: Матеріали міжнародної науково-практичної інтернет-конференції*, 15–16 березня 2012 р., Україна, (1), 151–152.
46. Петрух, І. М., & Сімонов, М. Р. (2014). Дослідження показників молока у здорових та хворих на кетоз корів. *Інтеграційна система освіти, науки і виробництва в сучасному інформаційному просторі: Матеріали міжнародної науково-практичної інтернет-конференції*, 29–30 квітня 2014 р., Україна, 112–113.
47. Петрух, І. М., Влізло, В. В., Остапів, Д. Д., Вудмаска, І. В., & Сачко, С. Р. (2019). Показники ліпідного обміну при метаболічних захворюваннях молочних корів. *Матеріали XII Українського біохімічного конгресу*, 30 вересня – 4 жовтня 2019 р., Тернопіль (Україна), *Медична та клінічна хімія*, 21(3), 316–317.
48. Петрух, І. М., Сімонов, М. Р., & Влізло, В. В. (2010). Стан антиоксидантної системи у корів, хворих на кетоз. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*, 11(2–3), 254–258.
49. Петрух, І. М., Сімонов, М. Р., & Влізло, В. В. (2015). Показники гемопоезу за лікування корів, хворих на кетоз. *Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції*, 2–3 жовтня 2015 р., Львів (Україна). *Біологія тварин*, 17(3), 195. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2015\\_17\\_3\\_73](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2015_17_3_73)



50. Петрух, І. М., Сімонов, М. Р., & Влізло, В. В. (2018). Концентрація інсуліноподібного фактора росту та лептину за метаболічних хвороб. *Біологія тварин*, 20(3), 151. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2018\\_20\\_3\\_71](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2018_20_3_71)
51. Петрух, І. М., Сімонов, М. Р., Влізло, В. В., & Каплінський, В. В. (2017). Концентрація кортизолу та кетогенних амінокислот у крові корів за лікування кетозу. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин НААН*, 18(2), 165–169. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntbibt\\_2017\\_18\\_2\\_30](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntbibt_2017_18_2_30)
52. Петрух, І. М., Сімонов, М. Р., Влізло, В. В., Буцяк, В. І., Козак, М. Р. (2019). Протеїновий обмін та ензимна активність у високопродуктивних молочних корів за метаболічних порушень. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин НААН*, 20(1), 14–21. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntbibt\\_2019\\_20\\_1\\_4](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntbibt_2019_20_1_4)
53. Петрух, І. М., Сімонов, М. Р., Шаран, М. М., & Влізло, В. В. (2009). Вміст загального білка, його фракцій та активність трансаміназ сироватки крові високопродуктивних корів у післяродовий період. *Біологія тварин*, 11(1–2), 227–230. <http://archive.inenbiol.com.ua:8080/bt/09/30a.html>
54. Сахнюк, В., & Левченко, В. (2013). Високопродуктивне стадо без кетозу. *Пропозиція*, (12), 181–185.
55. Сачко, С. (2019). Використання шишок хмелю для регулювання рубцевої ферментації та профілактики метаболічних порушень у корів. *Матеріали XVIII Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених*, 5–6 грудня 2019 р., Львів (Україна), *Біологія тварин*, 21(3), 149. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2019\\_21\\_3\\_71](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2019_21_3_71)
56. Сачко, С. (2020). Застосування шишок хмелю та гепатопротекторів для лікування субклінічного кетозу корів. *Матеріали XIX Всеукраїнської науково-практичної конференції «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченої 90-річчю від дня*

народження Яновича Вадима Георгійовича (1930–2011), 3–4 грудня 2020 р., Львів (Україна), *Біологія тварин*, 22(4), 100. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2020\\_22\\_4\\_81](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2020_22_4_81)

57. Сачко, С. Р. (2023). Вплив лікувально-профілактичної кормової добавки на рубцеву ферментацію хворих на кетоз корів. *Біологія тварин*, 25(1), 39–45. <https://doi.org/10.15407/animbiol25.01.039>
58. Сачко, С. Р., Вудмаска, І. В., Невоструєва, І. В., Сачко, Р. Г., & Петрук, А. П. (2021). Вплив шишок хмелю і вітаміну Е на кетогенез та антиоксидантний статус корів. *Біологія тварин*, 23(2): 37–40. <https://doi.org/10.15407/animbiol23.02.037>
59. Сачко, С. Р., Петрук, А. П., & Вудмаска І. В. Регуляція ензиматичної активності бактерій рубця корів іонофорами. *Матеріали XII Українського біохімічного конгресу*, 30 вересня – 4 жовтня 2019 р., Тернопіль (Україна), *Медична та клінічна хімія*, 21(3), 322.
60. Сачко, С., & Пахолків, Н. (2022). Застосування монензину для профілактики кетозу корів у транзитний період. *Матеріали XX Всеукраїнської науково-практичної конференції «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченої 90-річчю від дня народження Макара Івана Арсентійовича*, 19 травня 2022 р. Львів (Україна), *Біологія тварин*, 24(2), 65. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2022\\_24\\_2\\_50](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2022_24_2_50)
61. Симонов, М. Р., Влизло, В. В., Буцяк, В. И., & Петрух, И. М. (2017). Гормональний статус в молочних коров до- и послеотельного периодов. *Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины»*, 53(2), 130–137.
62. Сімонов, М. Р. (2010). Зміни деяких показників вуглеводного обміну у крові хворих на кетоз та здорових корів. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*, 11(1), 175–178.
63. Сімонов, М. Р. (2011). Концентрація інсуліну, кортизолу та окремих амінокислот у крові хворих на кетоз високопродуктивних корів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З.*

*Гжицького*, 13(2/48/1), 246–249.  
[http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu\\_2011\\_13\\_2%281%29\\_50](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2011_13_2%281%29_50)

64. Сімонов, М. Р. (2011). Особливості білкового обміну у корів молочного напрямку продуктивності у зимово-стійловий та літньо-пасовищний періоди. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*, 12(1–2), 61–65.
65. Сімонов, М. Р. (2013). Зміни активності ензимів у сироватці крові високопродуктивних корів за умови кетозу. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*, 15(3/57/1), 277–282.  
[http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu\\_2013\\_15\\_3%281%29\\_54](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2013_15_3%281%29_54)
66. Сімонов, М. Р. (2016). Активність щитоподібної залози у високопродуктивних корів за кетозу та його лікування. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин НААН*, 17(1), 87–94.
67. Сімонов, М. Р., & Влізло, В. В. (2012). Показники вуглеводного обміну у молочних корів до та після отелення. *Вісник Житомирського національного агроєкологічного університету*, 3(1/32/2), 178–182.
68. Сімонов, М. Р., Влізло, В. В., & Петрух, І. М. (2014). Кетоз молочних корів: методичні рекомендації. Інститут біології тварин НААН, 36 с.
69. Сімонов, М. Р., Влізло, В. В., & Петрух, І. М. (2014). Функціональний стан печінки та активність антиоксидантної системи у високопродуктивних корів, хворих на кетоз, ендометрит та дисфункцію яєчників. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*, 15(1), 100–105.
70. Сімонов, М. Р., Гультяєва, О. В., Пилипець, А. З., & Влізло, В. В. (2014). Порушення ліпідного обміну у молочних корів, хворих на кетоз. *Вісник аграрної науки*, (12), 24–28.

71. Сімонов, М. Р., Петрух, І. М., & Влізло, В. В. (2013). Особливості вуглеводного обміну у високопродуктивних молочних корів, хворих на кетоз. *Ветеринарна медицина*, (97), 355–356.
72. Сімонов, М. Р., Петрух, І. М., & Влізло, В. В. (2014). Вплив препарату “Ремівітал” на функціональний стан печінки у корів, хворих на кетоз. *Науковий вісник ветеринарної медицини*, 13(108), 231–235. <http://nvvm.btsau.edu.ua/uk/content/vplyv-preparatu-remivital-na-funkcionalnyy-stand-pechinky-u-koriv-hvoryh-na-ketoz>
73. Скляр, О. І. (2018). Годівля корів як один із факторів захворювання на кетоз і вплив на якість та безпечність молока. *Вісник Сумського національного аграрного університету, серія: Ветеринарна медицина*, (1), 249–252.
74. Тодоров, М. І. (2017) Причини та поширення кетозу корів у ООО АФ «Дністровська». *Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки*, 83: 258-262.
75. Тодоров, М. І. (2018). Ефективність лікувально-профілактичних заходів у разі кетозу корів. *Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки*, (91), 148–151. <https://abbsl.osau.edu.ua/index.php/visnuk/article/view/47>
76. Тодоров, М. І., Кушнір В. Ю. (2020). Вплив введення до раціону корів пропіленгліколю та ста-холу на деякі біохімічні показники плазми крові. *Аграрний вісник Причорномор'я*, 96: 52-58.
77. Тодоров, М. І., Телятніков, А. В., Кушнір В. Ю. (2019) Енергетична корекція раціону вівцематок у разі кетозу. *Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки*, 93: 136-139.
78. Удовенко, Я. С. (2011). Білковий обмін у високопродуктивних корів. *Вісник Сумського національного аграрного університету, серія: Ветеринарна медицина*, (2), 93–95.
79. Улько, Л. Г. (2005). Динаміка зміни показників антиоксидантного захисту у корів при експериментально індукованому кетозі. *Вісник Сумського національного аграрного університету*, 1–2(13–14), 195–197.

80. Фотіна, Т. І., Шкромада, О. І., Фотіна, Г. А., Нечипоренко, О. Л., Петров, Р. В., Шульга, А. Р., & Марченков, Ф. С. (2021). Використання *Vacillus rutilus* для профілактики кетозу у корів. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин НААН*, 22(2), 387–394. <https://doi.org/10.36359/scivp.2021-22-2.46>
81. Цвіліховський, М., Береза, В., & Погурський, І. (2005). Етіопатогенез, принципи терапії та профілактики ацидозу, кетозу і вторинної остеодистрофії високопродуктивних корів. *Ветеринарна медицина України*, (1), 15.
82. Шкромада, О. І., & Власенко, Є. К. (2023). Захворювання, викликані метаболічними зрушеннями, у корів сухостійного та післяпологового періоду. *Вісник Сумського національного аграрного університету, серія: Ветеринарна медицина*, 4(59), 70–75. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.4.11>
83. Югай, К. Д. (2009). О румено-гепатической циркуляции азота в организме жвачных животных. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*, 19(2/2), 166–170.
84. Янович, В. Г., & Сологуб, Л. І. (2000). *Біохімічні основи трансформації поживних речовин у жуйних тварин*. Львів, Тріада плюс, 376 с.
85. Alaedin, M., Ghaffari, M. H., Sadri, H., Meyer, J., Dänicke, S., Frahm, J., ... & Sauerwein, H. (2021). Effects of dietary L-carnitine supplementation on the response to an inflammatory challenge in mid-lactating dairy cows: hepatic mRNA abundance of genes involved in fatty acid metabolism. *Journal of dairy science*, 104(10), 11193–11209. <http://doi.org/10.3168/jds.2021-20226>
86. Almaguer, C., Schönberger, C., Gastl, M., Arendt, E. K., & Becker, T. (2014). Humulus lupulus—a story that begs to be told. A review. *Journal of the Institute of Brewing*, 120(4), 289–314. <http://doi.org/10.1002/jib.160>
87. Almeida, A. D. R., Maciel, M. V. D. O. B., Machado, M. H., Bazzo, G. C., de Armas, R. D., Vitorino, V. B., ... & Barreto, P. L. M. (2020). Bioactive compounds and antioxidant activities of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. *International*

*Journal of Food Science & Technology*, 55(1), 340-347.  
<http://doi.org/10.1111/ijfs.14311>

88. Alonso-Esteban, J. I., Pinela, J., Barros, L., Ćirić, A., Soković, M., Calhella, R. C., ... & Ferreira, I. C. (2019). Phenolic composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of hop (*Humulus lupulus* L.) Seeds. *Industrial Crops and Products*, 134, 154-159. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.001>.
89. Alvesalo, J., Vuorela, H., Tammela, P., Leinonen, M., Saikku, P., & Vuorela, P. (2006). Inhibitory effect of dietary phenolic compounds on *Chlamydia pneumoniae* in cell cultures. *Biochemical pharmacology*, 71(6), 735-741. <http://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.12.006>
90. Appuhamy, J. R. N., Strathe, A. B., Jayasundara, S., Wagner-Riddle, C., Dijkstra, J., France, J., & Kebreab, E. (2013). Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef cattle: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 96(8), 5161-5173. <http://doi.org/10.3168/jds.2012-5923>
91. Arieli, A., Dicken, U., Dagoni, I., Spirer, Y., & Zamwel, S. (2008). Production and health of cows given monensin prepartum and a high-energy diet postpartum. *Journal of dairy science*, 91(5), 1845-1851. <http://doi.org/10.3168/jds.2007-0795>.
92. Arshad, U., Husnain, A., Poindexter, M. B., Zimpel, R., Nelson, C. D., & Santos, J. E. P. (2023). Rumen-protected choline reduces hepatic lipidosis by increasing hepatic triacylglycerol-rich lipoprotein secretion in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 106(11), 7630-7650. <http://doi.org/10.3168/jds.2022-23182>.
93. Arshad, U., Zenobi, M. G., Staples, C. R., & Santos, J. E. P. (2020). Meta-analysis of the effects of supplemental rumen-protected choline during the transition period on performance and health of parous dairy cows. *Journal of dairy science*, 103(1), 282-300. <http://doi.org/10.3168/jds.2019-16842>.
94. Artegoitia, V. M., Middleton, J. L., Harte, F. M., Campagna, S. R., & De Veth, M. J. (2014). Choline and choline metabolite patterns and associations in blood and milk during lactation in dairy cows. *PloS one*, 9(8), e103412. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103412>

95. Astray, G., Gullón, P., Gullón, B., Munekata, P. E., & Lorenzo, J. M. (2020). *Humulus lupulus* L. as a natural source of functional biomolecules. *Applied Sciences*, *10*(15), 5074. <http://doi.org/10.3390/app10155074>.
96. Azzaz, H. H., Murad, H. A., & Morsy, T. A. (2015). Utility of ionophores for ruminant animals: a review. *Asian Journal of Animal Sciences*, *9*(6), 254-265. <http://doi.org/10.3923/ajas.2015.254.265>.
97. Baggio, M., Gouvêa, V. N., Barroso, J. P. R., Miszura, A. A., Limede, A. C., Soares, L. C., ... & Pires, A. V. (2023). Different combinations of monensin and narasin on growth performance, carcass traits, and ruminal fermentation characteristics of finishing beef cattle. *Frontiers in Veterinary Science*, *10*, 1117639. <http://doi.org/10.3389/fvets.2023.1117639>.
98. Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, *17*(4), 3989-4006. <http://doi.org/10.3390/molecules17043989>.
99. Batista, P. A., de Paula Werner, M. F., Oliveira, E. C., Burgos, L., Pereira, P., da Silva Brum, L. F., & Dos Santos, A. R. S. (2008). Evidence for the involvement of ionotropic glutamatergic receptors on the antinociceptive effect of (-)-linalool in mice. *Neuroscience Letters*, *440*(3), 299-303. <http://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.05.092>.
100. Beck, P., Galyen, W., Galloway, D., Kegley, E. B., Rorie, R., Hubbell, D., ... & Nichols, C. (2016). Effect of supplementation of developing replacement heifers with monensin or bambarmycins on gain and pregnancy rates. *The Professional Animal Scientist*, *32*(5), 619-626. <http://doi.org/10.15232/pas.2016-01525>.
101. Bell, N. L., Anderson, R. C., Callaway, T. R., Franco, M. O., Sawyer, J. E., & Wickersham, T. A. (2017). Effect of monensin inclusion on intake, digestion, and ruminal fermentation parameters by *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* steers consuming bermudagrass hay. *Journal of animal science*, *95*(6), 2736-2746. <http://doi.org/10.2527/jas.2016.1011>.
102. Berge, A. C., & Vertenten, G. (2014). A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with

- ketosis in western European dairy herds. *Journal of dairy science*, 97(4), 2145-2154. <http://doi.org/10.3168/jds.2013-7163>.
103. Blaxland, J. A., Watkins, A. J., & Baillie, L. W. J. (2021). The ability of hop extracts to reduce the methane production of *Methanobrevibacter ruminantium*. *Archaea*, 2021. <http://doi.org/10.1155/2021/5510063>.
104. Bobe, G., Young, J. W., & Beitz, D. C. (2004). Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *Journal of dairy science*, 87(10), 3105-3124. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73446-3](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73446-3).
105. Bolton, J. L., Dunlap, T. L., Hajirahimkhan, A., Mbachu, O., Chen, S. N., Chadwick, L., ... & Dietz, B. M. (2019). The multiple biological targets of hops and bioactive compounds. *Chemical research in toxicology*, 32(2), 222-233. <http://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.8b00345>
106. Bradford, B. J., Yuan, K., Farney, J. K., Mamedova, L. K., & Carpenter, A. J. (2015). Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. *Journal of dairy science*, 98(10), 6631-6650. <http://doi.org/10.3168/jds.2015-9683>.
107. Bretschneider, G., Elizalde, J. C., & Pérez, F. A. (2008). The effect of feeding antibiotic growth promoters on the performance of beef cattle consuming forage-based diets: A review. *Livestock Science*, 114(2-3), 135-149. <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.12.017>.
108. Briggs, D. E. Boulton C.A., Brookes P.A., Stevens R.C. (2004). *Brewing: science and practice* (Vol. 108). Woodhead Publishing. <http://doi.org/10.1201/9780203024195>.
109. Buckwold, V. E., Wilson, R. J., Nalca, A., Beer, B. B., Voss, T. G., Turpin, J. A., ... & Ptak, R. (2004). Antiviral activity of hop constituents against a series of DNA and RNA viruses. *Antiviral research*, 61(1), 57-62. [http://doi.org/10.1016/S0166-3542\(03\)00155-4](http://doi.org/10.1016/S0166-3542(03)00155-4).
110. Chai, J., Weiss, C. P., Beck, P. A., Zhao, W., Li, Y., & Zhao, J. (2024). Diet and monensin influence the temporal dynamics of the rumen microbiome in stocker and



- finishing cattle. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 15(1), 12. <http://doi.org/10.1186/s40104-023-00967-5>.
111. Chandler, T. L., & White, H. M. (2017). Choline and methionine differentially alter methyl carbon metabolism in bovine neonatal hepatocytes. *PloS one*, 12(2), e0171080. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171080>
112. Chirivi, M., Cortes, D., Rendon, C. J., & Contreras, G. A. (2024). Lipolysis inhibition as a treatment of clinical ketosis in dairy cows: Effects on adipose tissue metabolic and immune responses. *Journal of Dairy Science*. <http://doi.org/10.3168/jds.2023-23998>
113. Chirivi, M., Cortes-Beltran, D., Munsterman, A., O'Connor, A., & Contreras, G. A. (2023). Lipolysis inhibition as a treatment of clinical ketosis in dairy cows: A randomized clinical trial. *Journal of Dairy Science*, 106(12), 9514-9531. <http://doi.org/10.3168/jds.2023-23409>
114. Compton, C. W. R., Young, L., & McDougall, S. (2015). Efficacy of controlled-release capsules containing monensin for the prevention of subclinical ketosis in pasture-fed dairy cows. *New Zealand veterinary journal*, 63(5), 249-253. <http://doi.org/10.1080/00480169.2014.999842>.
115. Crawford, R. G., Leslie, K. E., Bagg, R., Dick, C. P., & Duffield, T. F. (2005). The impact of controlled release capsules of monensin on postcalving haptoglobin concentrations in dairy cattle. *Canadian journal of veterinary research*, 69(3), 208. [PMID: 16187551](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16187551/)
116. Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174-181. <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>.
117. Dembitsky, V. M. (2022). Natural polyether ionophores and their pharmacological profile. *Marine Drugs*, 20(5), 292. <http://doi.org/10.3390/md20050292>.
118. Díaz-Gómez, R., Toledo-Araya, H., López-Solís, R., & Obreque-Slier, E. (2014). Combined effect of gallic acid and catechin against *Escherichia coli*. *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 896-900. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.049>.
119. Diepersloot, E. C., Pupo, M. R., & Ferraretto, L. F. (2024). Effect of monensin and live-cell yeast supplementation on lactation performance, feeding behavior, and total

- tract nutrient digestibility by dairy cows. *Journal of Dairy Science*. <http://doi.org/10.3168/jds.2023-24125>.
120. Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8(10), 429. <http://doi.org/10.3390/antiox8100429>.
121. Drong, C., Meyer, U., Von Soosten, D., Frahm, J., Rehage, J., Breves, G., & Dänicke, S. (2016). Effect of monensin and essential oils on performance and energy metabolism of transition dairy cows. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 100(3), 537-551. <http://doi.org/10.1111/jpn.12401>.
122. Drong, C., Meyer, U., Von Soosten, D., Frahm, J., Rehage, J., Schirrmeier, H., ... & Dänicke, S. (2017). Effects of monensin and essential oils on immunological, haematological and biochemical parameters of cows during the transition period. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 101(4), 791-806. <http://doi.org/10.1111/jpn.12494>.
123. Duffield, T. F., & Bagg, R. N. (2000). Use of ionophores in lactating dairy cattle: a review. *The Canadian veterinary journal*, 41(5), 388. PMID: 10816832.
124. Duffield, T. F., LeBlanc, S., Bagg, R., Leslie, K., Ten Hag, J., & Dick, P. (2003). Effect of a monensin controlled release capsule on metabolic parameters in transition dairy cows. *Journal of dairy science*, 86(4), 1171-1176. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73700-X](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73700-X).
125. Duffield, T. F., Lissemore, K. D., McBride, B. W., & Leslie, K. E. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of dairy science*, 92(2), 571-580. <http://doi.org/10.3168/jds.2008-1507>.
126. Duffield, T. F., Merrill, J. K., & Bagg, R. N. (2012). Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *Journal of Animal Science*, 90(12), 4583-4592. <http://doi.org/10.2527/jas.2011-5018>.
127. Duffield, T. F., Rabiee, A. R., & Lean, I. J. (2008). A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. *Journal of dairy science*, 91(4), 1334-1346. <http://doi.org/10.3168/jds.2007-0607>.

128. Duffield, T. F., Rabiee, A. R., & Lean, I. J. (2008). A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 2. Production effects. *Journal of Dairy Science*, *91*(4), 1347-1360. <http://doi.org/10.3168/jds.2007-0608>.
129. Duffield, T. F., Rabiee, A. R., & Lean, I. J. (2008). A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 3. Health and reproduction. *Journal of Dairy Science*, *91*(6), 2328-2341. <http://doi.org/10.3168/jds.2007-0801>.
130. Duffield, T. F., Sandals, D., Leslie, K. E., Lissemore, K., McBride, B. W., Lumsden, J. H., ... & Bagg, R. (1998). Efficacy of monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, *81*(11), 2866-2873. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75846-1](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75846-1).
131. Einhellig, F. A., Galindo, J. C. G., Molinillo, J. M. G., & Cutler, H. G. (2004). Mode of allelochemical action of phenolic compounds. *Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals*, 217-238. <http://doi.org/10.1201/9780203492789.ch11>.
132. Ellis, J. L., Dijkstra, J., Bannink, A., Kebreab, E., Hook, S. E., Archibeque, S., & France, J. (2012). Quantifying the effect of monensin dose on the rumen volatile fatty acid profile in high-grain-fed beef cattle. *Journal of Animal Science*, *90*(8), 2717-2726. <http://doi.org/10.2527/jas.2011-3966>.
133. Ensley, S. (2020). Ionophore use and toxicosis in cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, *36*(3), 641-652. <http://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.07.001>.
134. Eschenlauer, S. C. P., McKain, N., Walker, N. D., McEwan, N. R., Newbold, C. J., & Wallace, R. J. (2002). Ammonia production by ruminal microorganisms and enumeration, isolation, and characterization of bacteria capable of growth on peptides and amino acids from the sheep rumen. *Applied and environmental microbiology*, *68*(10), 4925-4931. <http://doi.org/10.1128/AEM.68.10.4925-4931.2002>.
135. European Council. Council Regulation (EC) No 108/2007 of 5 February 2007. Amending Regulation (EC) No 1356/2004 as Regards the Conditions for Authorisation of the Feed Additive Elancoban, Belonging to the Group of Coccidiostats and Other Medicinal Substances (Text. with EEA Relevance). Off. J. Eur. Union 2007, 4–5.

136. European Medicine Agency. Advice on Implementing Measures under Article 57(3) of Regulation (EU) 2019/6 on Veterinary Medicinal Products-Report on Specific Requirements for the Collection of Data on Antimicrobial Medicinal Products Used in Animals. 2019.
137. Fairfield, A. M., Plaizier, J. C., Duffield, T. F., Lindinger, M. I., Bagg, R., Dick, P., & McBride, B. W. (2007). Effects of prepartum administration of a monensin controlled release capsule on rumen pH, feed intake, and milk production of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *90*(2), 937-945. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71577-1](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71577-1).
138. Fiore, E., Perillo, L., Ganesella, M., Giannetto, C., Giudice, E., Piccione, G., & Morgante, M. (2021). Comparison between two preventive treatments for hyperketonaemia carried out pre-partum: Effects on non-esterified fatty acids,  $\beta$ -hydroxybutyrate and some biochemical parameters during peripartum and early lactation. *Journal of Dairy Research*, *88*(1), 38-44. <http://doi.org/10.1017/S0022029921000108>.
139. Flythe, M. D. (2009). The antimicrobial effects of hops (*Humulus lupulus* L.) on ruminal hyper ammonia-producing bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, *48*(6), 712-717. <http://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02600.x>.
140. Flythe, M. D., & Aiken, G. E. (2010). Effects of hops (*Humulus lupulus* L.) extract on volatile fatty acid production by rumen bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, *109*(4), 1169-1176. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04739.x>.
141. Flythe, M. D., Kagan, I. A., Wang, Y., & Narvaez, N. (2017). Hops (*Humulus lupulus* L.) bitter acids: modulation of rumen fermentation and potential as an alternative growth promoter. *Frontiers in veterinary science*, *4*, 131. <http://doi.org/10.3389/fvets.2017.00131>.
142. Focant, M., Froidmont, E., Archambeau, Q., Van, Q. D., & Larondelle, Y. (2019). The effect of oak tannin (*Quercus robur*) and hops (*Humulus lupulus*) on dietary nitrogen efficiency, methane emission, and milk fatty acid composition of dairy cows fed a low-protein diet including linseed. *Journal of dairy science*, *102*(2), 1144-1159. <http://doi.org/10.3168/jds.2018-15479>.

143. Fouani, L., Kovacevic, Z., & Richardson, D. R. (2019). Targeting oncogenic nuclear factor kappa B signaling with redox-active agents for cancer treatment. *Antioxidants & Redox Signaling*, 30(8), 1096-1123. <http://doi.org/10.1089/ars.2017.7387>.
144. Fritz, S. A., & Hall, J. O. (2023). Ionophores. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, S0749-0739. <http://doi.org/10.1016/j.cveq.2023.08.001>.
145. Gerhäuser, C. (2005). Broad spectrum antiinfective potential of xanthohumol from hop (*Humulus lupulus* L.) in comparison with activities of other hop constituents and xanthohumol metabolites. *Molecular nutrition & food research*, 49(9), 827-831. <http://doi.org/10.1002/mnfr.200500091>.
146. Girisa, S., Saikia, Q., Bordoloi, D., Banik, K., Monisha, J., Daimary, U. D., ... & Kunnumakkara, A. B. (2021). Xanthohumol from Hop: Hope for cancer prevention and treatment. *IUBMB life*, 73(8), 1016-1044. <http://doi.org/10.1002/iub.2522>.
147. Golder, H. M., & Lean, I. J. (2016). A meta-analysis of lasalocid effects on rumen measures, beef and dairy performance, and carcass traits in cattle. *Journal of Animal Science*, 94(1), 306-326. <http://doi.org/10.2527/jas.2015-9694>.
148. Gordon, J. L., LeBlanc, S. J., & Duffield, T. F. (2013). Ketosis treatment in lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 29(2), 433-445. <https://DOI.org/10.1016/j.cvfa.2013.03.001>
149. Green, B. L., McBride, B. W., Sandals, D., Leslie, K. E., Bagg, R., & Dick, P. (1999). The impact of a monensin controlled-release capsule on subclinical ketosis in the transition dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 82(2), 333-342. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75240-9](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75240-9).
150. Grisouard, J., Bouillet, E., Timper, K., Radimerski, T., Dembinski, K., Frey, D. M., ... & Christ-Crain, M. (2012). Both inflammatory and classical lipolytic pathways are involved in lipopolysaccharide-induced lipolysis in human adipocytes. *Innate immunity*, 18(1), 25-34. <http://doi.org/10.1177/1753425910386632>.
151. Guan, H., Wittenberg, K. M., Ominski, K. H., & Krause, D. O. (2006). Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. *Journal of animal science*, 84(7), 1896-1906. <http://doi.org/10.2527/jas.2005-652>.

152. Harlow, B. E., Bryant, R. W., Cohen, S. D., O'Connell, S. P., & Flythe, M. D. (2016). Degradation of spent craft brewer's yeast by caprine rumen hyper ammonia-producing bacteria. *Letters in applied microbiology*, 63(4), 307-312. <http://doi.org/10.1111/lam.12623>.
153. Hausmann, J., Deiner, C., Patra, A. K., Immig, I., Starke, A., & Aschenbach, J. R. (2018). Effects of a combination of plant bioactive lipid compounds and biotin compared with monensin on body condition, energy metabolism and milk performance in transition dairy cows. *PloS one*, 13(3), e0193685. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0193685>.
154. Henno, M., Ling, K., Kaart, T., Ariko, T., Karis, P., Jaakson, H., ... & Ots, M. (2021). Effect of monensin on milk fatty acid profile in dairy cows and on the use of fatty acids for early diagnosis of elevated blood plasma concentrations of nonesterified fatty acids and hyperketonemia. *Journal of Dairy Science*, 104(9), 10355-10362. <http://doi.org/10.3168/jds.2020-20041>
155. Herdt, T. H., & Emery, R. S. (1992). Therapy of diseases of ruminant intermediary metabolism. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 8(1), 91-106. [https://DOI.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30761-1](https://DOI.org/10.1016/S0749-0720(15)30761-1)
156. Hernández-Mendo, O., Ramírez-Mella, M., Ramírez-Bribiesca, J. E., Crosby-Galván, M. M., & Burgueño-Ferreira, J. A. (2017). Effect of vitamin E on ruminal fermentation and nutrient digestion in steers supplemented with microencapsulated conjugated linoleic acid. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 17(2), 293-301. <http://doi.org/10.5958/0974-181X.2017.00028.2>.
157. Horst, E. A., Kvidera, S. K., Hagerty, S., French, P. D., Carlson, D. B., Dhuyvetter, K., & Holloway, A. W. (2024). Effect of monensin on milk production efficiency and milk composition in lactating dairy cows fed modern diets. *Journal of Dairy Science*, 107(3), 1441-1449. <http://doi.org/10.3168/jds.2023-23849>.
158. Hsu, C. C., Lai, W. L., Chuang, K. C., Lee, M. H., & Tsai, Y. C. (2013). The inhibitory activity of linalool against the filamentous growth and biofilm formation in *Candida albicans*. *Medical Mycology*, 51(5), 473-482. <http://doi.org/10.3109/13693786.2012.743051>.

159. Hubner, A. M., Canisso, I. F., Peixoto, P. M., Coelho Jr, W. M., Ribeiro, L., Aldridge, B. M., & Lima, F. S. (2022). A randomized controlled trial examining the effects of treatment with propylene glycol and injectable cyanocobalamin on naturally occurring disease, milk production, and reproductive outcomes of dairy cows diagnosed with concurrent hyperketonemia and hypoglycemia. *Journal of Dairy Science*, *105*(11), 9070-9083. <http://doi.org/10.3168/jds.2021-21328>.
160. Humer, E., Bruggeman, G., & Zebeli, Q. (2019). A meta-analysis on the impact of the supplementation of rumen-protected choline on the metabolic health and performance of dairy cattle. *Animals*, *9*(8), 566. <http://doi.org/10.3390/ani9080566>.
161. Husz, T. C., Smith, W. N., Lockard, C. G., Homolka, M. N., Anderson, P. T., Gentry, W. W., ... & Jennings, J. S. (2021). Comparison of monensin sodium sources for finishing beef cattle. *Translational Animal Science*, *5*(2), txab090. <http://doi.org/10.1093/tas/txab090>.
162. Imhasly, S., Bieli, C., Naegeli, H., Nyström, L., Ruetten, M., & Gerspach, C. (2015). Blood plasma lipidome profile of dairy cows during the transition period. *BMC veterinary research*, *11*, 1-14. <http://doi.org/10.1186/s12917-015-0565-8>
163. Jayaprakash, G., Sathiyabarathi, M., Robert, M. A., & Tamilmani, T. (2016). Rumen-protected choline: A significance effect on dairy cattle nutrition. *Veterinary World*, *9*(8), 837. <http://doi.org/10.14202/vetworld.2016.837-841>.
164. Jiang, C. H., & Li, W. Q. (2018). Anticancer activity and mechanism of xanthohumol: a prenylated flavonoid from hops (*Humulus lupulus* L.). *Frontiers in pharmacology*, *9*, 364824. <http://doi.org/10.3389/fphar.2018.00530>.
165. Jirovetz, L., Bail, S., Buchbauer, G., Denkova, Z., Slavchev, A., Stoyanova, A., ... & Geissler, M. (2006). Antimicrobial testings, gas chromatographic analysis and olfactory evaluation of an essential oil of hop cones (*Humulus lupulus* L.) from Bavaria and some of its main compounds. *Scientia Pharmaceutica*, *74*(4), 189. <http://doi.org/10.3797/scipharm.2006.74.189>.
166. Karabín, M., Haimannová, T., Fialová, K., Jelínek, L., & Dostálek, P. (2021). Preparation of hop estrogen-active material for production of food supplements. *Molecules*, *26*(19), 6065. <http://doi.org/10.3390/molecules26196065>

167. Karabin, M., Hudcova, T., Jelinek, L., & Dostalek, P. (2015). Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. *Biotechnology advances*, 33(6), 1063-1090. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.009>.
168. Karabín, M., Hudcová, T., Jelínek, L., & Dostálek, P. (2016). Biologically active compounds from hops and prospects for their use. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 542-567. <http://doi.org/10.1111/1541-4337.12201>.
169. Kasap, S., Erturk, M., Mecitoglu, Z., Dulger, H., Babaeski, S., & Kennerman E. (2020). Determination of the effect of a monensin capsule (continuous-release capsules) on metabolic parameters in transition dairy cows. *Med. Weter.* 76 (9), 512-516. <http://doi.org/10.21521/mw.6435>.
170. Kennerman, E., Şentürk, S., & Biricik, H. (2006). Effect of monensin controlled release capsules on blood metabolites in periparturient dairy cows. *Australian veterinary journal*, 84(8), 282-284. <http://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2006.00013.x>.
171. Kevin Ii, D. A., Meujo, D. A., & Hamann, M. T. (2009). Polyether ionophores: broad-spectrum and promising biologically active molecules for the control of drug-resistant bacteria and parasites. *Expert opinion on drug discovery*, 4(2), 109-146. <http://doi.org/10.1517/17460440802661443>.
172. Khatib, N., Varidi, M. J., Mohebbi, M., Varidi, M., & Hosseini, S. M. H. (2020). Replacement of nitrite with lupulon–xanthohumol loaded nanoliposome in cooked beef-sausage: Experimental and model based study. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 2629-2639. <http://doi.org/10.1007/s13197-020-04299-4>.
173. Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 50(13), 3713-3717. <http://doi.org/10.1021/jf020071c>.
174. Kobus-Cisowska, J., Szymanowska-Powałowska, D., Szczepaniak, O., Kmiecik, D., Przeor, M., Gramza-Michałowska, A., ... & Szulc, P. (2019). Composition and in vitro effects of cultivars of *Humulus lupulus* L. hops on cholinesterase activity and microbial growth. *Nutrients*, 11(6), 1377. <http://doi.org/10.3390/nu11061377>.
175. Koetter, U., & Biendl, M. (2010). Hops (*Humulus lupulus*): A review of its historic and medicinal uses. *HerbalGram*, 87(5), 44-57.



<https://www.herbalgram.org/resources/herbalgram/issues/87/table-of-contents/article3559>

176. Kotan, R., Kordali, S., & Cakir, A. (2007). Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 62(7-8), 507-513. <http://doi.org/10.1515/znc-2007-7-808>.
177. Lacetera, N., Scalia, D., Franci, O., Bernabucci, U., Ronchi, B., & Nardone, A. (2004). Effects of nonesterified fatty acids on lymphocyte function in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 87(4), 1012-1014. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73246-4](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73246-4).
178. Lavrenčič, A., Levart, A., Košir, I. J., & Čerenak, A. (2014). Influence of two hop (*Humulus lupulus* L.) varieties on in vitro dry matter and crude protein degradability and digestibility in ruminants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(6), 1248-1252. <http://doi.org/10.1002/jsfa.6407>.
179. Lavrenčič, A., Levart, A., Košir, I. J., & Čerenak, A. (2015). In vitro gas production kinetics and short-chain fatty acid production from rumen incubation of diets supplemented with hop cones (*Humulus lupulus* L.). *animal*, 9(4), 576-581. <http://doi.org/10.1017/S1751731114002936>.
180. Lavrencic, A., Pirman, T. A. T. J. A. N. A., & Zgur, S. (2018). Use of hop cones in growing beef cattle nutrition. *Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW. Animal Science*, (57 [2]). <http://doi.org/10.22630/AAS.2018.57.2.12>.
181. Li, G., De Oliveira, D. M., & Walker, M. J. (2022). The antimicrobial and immunomodulatory effects of ionophores for the treatment of human infection. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 227, 111661. <http://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111661>.
182. Limede, A. C., Marques, R. S., Polizel, D. M., Cappellozza, B. I., Miszura, A. A., Barroso, J. P. R., ... & Pires, A. V. (2021). Effects of supplementation with narasin, salinomycin, or flavomycin on performance and ruminal fermentation characteristics of *Bos indicus* Nellore cattle fed with forage-based diets. *Journal of Animal Science*, 99(4), skab005. <http://doi.org/10.1093/jas/skab005>.

183. Liu, H., Lin, S., Jacobsen, K. M., & Poulsen, T. B. (2019). Chemical syntheses and chemical biology of carboxyl polyether ionophores: Recent highlights. *Angewandte Chemie International Edition*, 58(39), 13630-13642. <http://doi.org/10.1002/anie.201812982>.
184. Lo Cantore, P., Shanmugaiah, V., & Iacobellis, N. S. (2009). Antibacterial activity of essential oil components and their potential use in seed disinfection. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(20), 9454-9461. <http://doi.org/10.1021/jf902333g>.
185. Macchioni, V., Picchi, V., & Carbone, K. (2021). Hop Leaves as an Alternative Source of Health-Active Compounds: Effect of Genotype and Drying Conditions. *Plants*, 11(1), 99. <http://doi.org/10.3390/plants11010099>.
186. Mammi, L. M., Guadagnini, M., Mechor, G., Cainzos, J. M., Fusaro, I., Palmonari, A., & Formigoni, A. (2021). The use of monensin for ketosis prevention in dairy cows during the transition period: A systematic review. *Animals*, 11(7), 1988. <http://doi.org/10.3390/ani11071988>.
187. Marei, G. I. K., Rasoul, M. A. A., & Abdelgaleil, S. A. (2012). Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pesticide biochemistry and physiology*, 103(1), 56-61. <http://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.03.004>.
188. Markantonatos, X., & Varga, G. A. (2017). Effects of monensin on glucose metabolism in transition dairy cows. *Journal of dairy science*, 100(11), 9020-9035. <http://doi.org/10.3168/jds.2016-12007>.
189. Marques, R. D. S., & Cooke, R. F. (2021). Effects of ionophores on ruminal function of beef cattle. *Animals*, 11(10), 2871. <http://doi.org/10.3390/ani11102871>.
190. Marumo, J. L., LaPierre, P. A., & Van Amburgh, M. E. (2023). Enteric methane emissions prediction in dairy cattle and effects of monensin on methane emissions: A meta-analysis. *Animals*, 13(8), 1392. <http://doi.org/10.3390/ani13081392>.
191. McCarthy, M. M., Yasui, T., Ryan, C. M., Mechor, G. D., & Overton, T. R. (2015). Performance of early-lactation dairy cows as affected by dietary starch and monensin supplementation. *Journal of Dairy Science*, 98(5), 3335-3350. <http://doi.org/10.3168/jds.2014-8820>.

192. McCarthy, M. M., Yasui, T., Ryan, C. M., Pelton, S. H., Mechor, G. D., & Overton, T. R. (2015). Metabolism of early-lactation dairy cows as affected by dietary starch and monensin supplementation. *Journal of dairy science*, *98*(5), 3351-3365. <http://doi.org/10.3168/jds.2014-8821>.
193. McDougall, S., Parker, K. I., Weir, A. M., & Compton, C. W. R. (2008). Effect of application of an external teat sealant and/or oral treatment with a monensin capsule pre-calving on the prevalence and incidence of subclinical and clinical mastitis in dairy heifers. *New Zealand Veterinary Journal*, *56*(3), 120-129. <http://doi.org/10.1080/00480169.2008.36820>.
194. McGarvey, J. A., Place, S., Palumbo, J., Hnasko, R., & Mitloehner, F. (2019). Dosage-dependent effects of monensin on the rumen microbiota of lactating dairy cattle. *Microbiologyopen*, *8*(7), e00783. <http://doi.org/10.1002/mbo3.783>.
195. McGuffey, R. K., Richardson, L. F., & Wilkinson, J. I. D. (2001). Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. *Journal of Dairy Science*, *84*, E194-E203. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)70218-4](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70218-4).
196. Mečionytė, I., Palubinskas, G., Anskienė, L., Japertienė, R., Juodžentytė, R., & Žilaitis, V. (2022). The Effect of Supplementation of Rumen-Protected Choline on Reproductive and Productive Performances of Dairy Cows. *Animals*, *12*(14), 1807. <https://doi.org/10.3390/ani12141807>.
197. Melendez, P., Goff, J. P., Risco, C. A., Archbald, L. F., Littell, R. C., & Donovan, G. A. (2006). Effect of administration of a controlled-release monensin capsule on incidence of calving-related disorders, fertility, and milk yield in dairy cows. *American journal of veterinary research*, *67*(3), 537-543. <http://doi.org/10.2460/ajvr.67.3.537>.
198. Melendez, P., Gonzalez, G., Benzaquen, M., Risco, C., & Archbald, L. (2006). The effect of a monensin controlled-release capsule on the incidence of retained fetal membranes, milk yield and reproductive responses in Holstein cows. *Theriogenology*, *66*(2), 234-241. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.11.006>.
199. Meyer, J., Daniels, S. U., Grindler, S., Tröscher-Mußotter, J., Alaedin, M., Frahm, J., ... & Dänicke, S. (2020). Effects of a dietary L-carnitine supplementation on

- performance, energy metabolism and recovery from calving in dairy cows. *Animals*, 10(2), 342. <http://doi.org/10.3390/ani10020342>.
200. Mezzetti, M., Piccioli-Cappelli, F., Bani, P., Amadori, M., Calamari, L., Minuti, A., ... & Trevisi, E. (2019). Monensin controlled-release capsule administered in late-pregnancy differentially affects rumination patterns, metabolic status, and cheese-making properties of the milk in primiparous and multiparous cows. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 1271-1283. <http://doi.org/10.1080/1828051X.2019.1645623>.
201. Milligan, S. R. (2009). Reproductive and estrogenic effects of 8-prenylnaringenin in hops. In *Beer in Health and Disease Prevention* (pp. 711-723). Academic Press.
202. Milligan, S. R., Kalita, J. C., Pocock, V., Van De Kauter, V., Stevens, J. F., Deinzer, M. L., ... & De Keukeleire, D. (2000). The endocrine activities of 8-prenylnaringenin and related hop (*Humulus lupulus* L.) flavonoids. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*, 85(12), 4912-4915. <http://doi.org/10.1210/jcem.85.12.7168>
203. Miranda, C. L., Stevens, J. F., Ivanov, V., McCall, M., Frei, B., Deinzer, M. L., & Buhler, D. R. (2000). Antioxidant and prooxidant actions of prenylated and nonprenyated chalcones and flavanones in vitro. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(9), 3876-3884. <http://doi.org/10.1021/jf0002995>.
204. Mukai, R. (2018). Prenylation enhances the biological activity of dietary flavonoids by altering their bioavailability. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82(2), 207-215. <http://doi.org/10.1080/09168451.2017.1415750>.
205. Mullins, C. R., Mamedova, L. K., Brouk, M. J., Moore, C. E., Green, H. B., Perfield, K. L., ... & Bradford, B. J. (2012). Effects of monensin on metabolic parameters, feeding behavior, and productivity of transition dairy cows. *Journal of dairy science*, 95(3), 1323-1336. <http://doi.org/10.3168/jds.2011-4744>.
206. Muzykiewicz, A., Nowak, A., Zielonka-Brzezicka, J., Florkowska, K., Duchnik, W., & Klimowicz, A. (2019). Comparison of antioxidant activity of extracts of hop leaves harvested in different years. *Herba Polonica*, 65(3), 1-9. <https://DOI.org/10.2478/hepo-2019-0013>.

207. Nagaraja, T. G., & Lechtenberg, K. F. (2007). Acidosis in feedlot cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(2), 333-350. <http://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.04.002>.
208. Narvaez, N., Wang, Y., & McAllister, T. (2013). Effects of extracts of *Humulus lupulus* (hops) and *Yucca schidigera* applied alone or in combination with monensin on rumen fermentation and microbial populations in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(10), 2517-2522. <http://doi.org/10.1002/jsfa.6068>.
209. Narvaez, N., Wang, Y., Xu, Z., & McAllister, T. (2011) Effects of hops on in vitro ruminal fermentation of diets varying in forage content. *Livestock Science*, 138(1), 193-201. <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.12.028>.
210. Narvaez, N., Wang, Y., Xu, Z., Alexander, T., Garden, S., & McAllister, T. (2013). Effects of hop varieties on ruminal fermentation and bacterial community in an artificial rumen (rusitec). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(1), 45-52. <http://doi.org/10.1002/jsfa.5725>.
211. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. (2016). Nutrient requirements of beef cattle. The 8th Revised Edition. Washington, The National Academies Press: DC, USA, 2016. ISBN 978-0-309-31702-3.
212. Naziroğlu, M., Güler, T., & Yüce, A. (2002). Effect of vitamin E on ruminal fermentation in vitro. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 49(5), 251-255. <http://doi.org/10.1046/j.1439-0442.2002.00418.x>.
213. Nemzer, B. V., Rodriguez, L. C., Hammond, L., DiSilvestro, R., Hunter, J. M., & Pietrzkowski, Z. (2011). Acute reduction of serum 8-iso-PGF<sub>2</sub>-alpha and advanced oxidation protein products in vivo by a polyphenol-rich beverage; a pilot clinical study with phytochemical and in vitro antioxidant characterization. *Nutrition journal*, 10, 1-11. <http://doi.org/10.1186/1475-2891-10-67>.
214. Nesse, L. L., Bakke, A. M., Eggen, T., Hoel, K., Kaldhusdal, M., Ringø, E., ... & Krogdahl, Å. (2019). The risk of development of antimicrobial resistance with the use of coccidiostats in poultry diets. <http://doi.org/10.9734/ejnfs/2019/v11i130127>.
215. Nikmaram, N., Budaraju, S., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Cox, R. B., Mallikarjunan, K., & Roohinejad, S. (2018). Application of plant extracts to improve the shelf-life,

- nutritional and health-related properties of ready-to-eat meat products. *Meat science*, 145, 245-255. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.031>.
216. Nionelli, L., Pontonio, E., Gobetti, M., & Rizzello, C. G. (2018). Use of hop extract as antifungal ingredient for bread making and selection of autochthonous resistant starters for sourdough fermentation. *International journal of food microbiology*, 266, 173-182. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.002>.
217. Nowak, B., Poźniak, B., Popłoński, J., Bobak, Ł., Matuszewska, A., Kwiatkowska, J., ... & Szelağ, A. (2020). Pharmacokinetics of xanthohumol in rats of both sexes after oral and intravenous administration of pure xanthohumol and prenylflavonoid extract. *Advances in Clinical & Experimental Medicine*, 29(9). <http://doi.org/10.17219/acem/126293>.
218. Obara, K., Mizutani, M., Hitomi, Y., Yajima, H., & Kondo, K. (2009). Isohumulones, the bitter component of beer, improve hyperglycemia and decrease body fat in Japanese subjects with prediabetes. *Clinical Nutrition*, 28(3), 278-284. <http://doi.org/10.1016/j.clnu.2009.03.012>.
219. Odongo, N. E., Bagg, R., Vessie, G., Dick, P., Or-Rashid, M. M., Hook, S. E., ... & McBride, B. W. (2007). Long-term effects of feeding monensin on methane production in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(4), 1781-1788. <http://doi.org/10.3168/jds.2006-708>.
220. Ogunade, I., Schweickart, H., Andries, K., Lay, J., & Adeyemi, J. (2018). Monensin alters the functional and metabolomic profile of rumen microbiota in beef cattle. *Animals*, 8(11), 211. <http://doi.org/10.3390/ani8110211>.
221. Okada, Y., & Ito, K. (2001). Cloning and analysis of valerophenone synthase gene expressed specifically in lupulin gland of hop (*Humulus lupulus* L.). *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 65(1), 150-155. <http://doi.org/10.1271/bbb.65.150>.
222. Ospina, P. A., Nydam, D. V., Stokol, T., & Overton, T. R. (2010). Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. *Journal of dairy science*, 93(8), 3595-3601. <http://doi.org/10.3168/jds.2010-3074>.

223. Paraiso, I. L., Tran, T. Q., Magana, A. A., Kundu, P., Choi, J., Maier, C. S., ... & Stevens, J. F. (2021). Xanthohumol ameliorates diet-induced liver dysfunction via farnesoid X receptor-dependent and independent signaling. *Frontiers in pharmacology*, *12*, 643857. <http://doi.org/10.3389/fphar.2021.643857>.
224. Petersson-Wolfe, C. S., Leslie, K. E., Osborne, T., McBride, B. W., Bagg, R., Vessie, G., ... & Duffield, T. F. (2007). Effect of monensin delivery method on dry matter intake, body condition score, and metabolic parameters in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *90*(4), 1870-1879. <http://doi.org/10.3168/jds.2006-402>.
225. Petruh, I., Simonov, M., Stybel, V., Kozak, M., & Vlizlo, V. (2021). Metabolic disorders in cows with ketosis. *Proceedings of the XX. Middle European Buiatric Congress*, Ptuj (Slovenia), 34.
226. Petruh, I., Simonov, M., Vlizlo, V., & Ostapiv, D. (2018). The role of insulin-like growth factor and leptin in the pathogenesis of internal non-contagious pathology of dairy cows. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, *1*(2), 19–22. <https://doi.org/10.32718/ujvas1-2.05>
227. Pirestani, A., & Aghakhani, M. (2018). The effects of rumen-protected choline and l-carnitine supplementation in the transition period on reproduction, production, and some metabolic diseases of dairy cattle. *Journal of Applied Animal Research*, *46*(1), 435-440. <http://doi.org/10.1080/09712119.2017.1332632>.
228. Plaizier, J. C., Martin, A., Duffield, T., Bagg, R., Dick, P., & McBride, B. W. (2000). Effect of a prepartum administration of monensin in a controlled-release capsule on apparent digestibilities and nitrogen utilization in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *83*(12), 2918-2925. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75192-7](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75192-7).
229. Pohjanvirta, R., & Nasri, A. (2022). The potent phytoestrogen 8-prenylnaringenin: a friend or a foe?. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(6), 3168. <http://doi.org/10.3390/ijms23063168>.
230. Polizel, D. M., Cappellozza, B. I., Hoe, F., Lopes, C. N., Barroso, J. P., Miszura, A., ... & Pires, A. V. (2020). Effects of narasin supplementation on dry matter intake and

- rumen fermentation characteristics of *Bos indicus* steers fed a high-forage diet. *Translational Animal Science*, 4(1), 118-128. <http://doi.org/10.1093/tas/txz164>.
231. Pottier, J., Focant, M., Debier, C., De Buysser, G., Goffe, C., Mignolet, E., ... & Larondelle, Y. (2006). Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high-fat diets. *Journal of Dairy Science*, 89(2), 685-692. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72131-2](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72131-2).
232. Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2013). Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacological research*, 68(1), 125-131. <http://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.10.018>.
233. Raboisson, D., & Barbier, M. (2017). Economic synergy between dry cow diet improvement and monensin bolus use to prevent subclinical ketosis: an experimental demonstration based on available literature. *Frontiers in veterinary science*, 4, 35. <http://doi.org/10.3389/fvets.2017.00035>.
234. Raboisson, D., Barbier, M., & Maigné, E. (2016). How metabolic diseases impact the use of antimicrobials: A formal demonstration in the field of veterinary medicine. *PLoS One*, 11(10), e0164200. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0164200>.
235. Raboisson, D., Mounié, M., & Maigné, E. (2014). Diseases, reproductive performance, and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: A meta-analysis and review. *Journal of dairy science*, 97(12), 7547-7563. <http://doi.org/10.3168/jds.2014-8237>.
236. Raboisson, D., Mounié, M., Khenifar, E., & Maigné, E. (2015). The economic impact of subclinical ketosis at the farm level: Tackling the challenge of over-estimation due to multiple interactions. *Preventive veterinary medicine*, 122(4), 417-425. <http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.07.010>.
237. Reis, L. F., Sousa, R. S., Oliveira, F. L. C., Rodrigues, F. A. M. L., Araújo, C. A. S. C., Meira-Júnior, E. B. S., ... & Ortolani, E. L. (2018). Comparative assessment of probiotics and monensin in the prophylaxis of acute ruminal lactic acidosis in sheep. *BMC veterinary research*, 14, 1-8. <http://doi.org/10.1186/s12917-017-1264-4>.
238. Rezaei Ahvanooei, M. R., Norouzian, M. A., Piray, A. H., Vahmani, P., & Ghaffari, M. H. (2024). Effects of monensin supplementation on rumen fermentation, methane



- emissions, nitrogen balance, and metabolic responses of dairy cows: A systematic review and dose-response meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 107(1), 607-624. <http://doi.org/10.3168/jds.2023-23441>.
239. Richards, B. F., Vasquez, J. A., Perfield, K. L., Kvidera, S. K., & Drackley, J. K. (2022). Rumen effects of monensin in dry cow diets varying in energy density. *Journal of Dairy Science*, 105(10), 8008-8015. <http://doi.org/10.3168/jds.2022-21917>.
240. Ringseis, R., Keller, J., & Eder, K. (2018). Regulation of carnitine status in ruminants and efficacy of carnitine supplementation on performance and health aspects of ruminant livestock: a review. *Archives of animal nutrition*, 72(1), 1-30. <http://doi.org/10.1080/1745039X.2017.1421340>.
241. Robinson, P. H. (2020). Impacts of feeding monensin sodium on production and the efficiency of milk production in dairy cows fed total mixed rations: evaluation of a confounded literature. *Canadian journal of animal science*, 100(3), 391-401. <http://doi.org/10.1139/cjas-2019-0184>.
242. Roehrer, S., Behr, J., Stork, V., Ramires, M., Médard, G., Frank, O., ... & Minceva, M. (2018). Xanthohumol C, a minor bioactive hop compound: Production, purification strategies and antimicrobial test. *Journal of Chromatography B*, 1095, 39-49. <http://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.07.018>.
243. Roy, A., & Talukdar, P. (2021). Recent advances in bioactive artificial ionophores. *ChemBioChem*, 22(20), 2925-2940. <http://doi.org/10.1002/cbic.202100112>.
244. Rozalski, M., Micota, B., Sadowska, B., Stochmal, A., Jedrejek, D., Wieckowska-Szakiel, M., & Rozalska, B. (2013). Antiadherent and antibiofilm activity of *Humulus lupulus* L. derived products: new pharmacological properties. *BioMed research international*, 2013. <http://doi.org/10.1155/2013/101089>.
245. Russell, J. B., & Houlihan, A. J. (2003). Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. *FEMS microbiology reviews*, 27(1), 65-74. [http://doi.org/10.1016/S0168-6445\(03\)00019-6](http://doi.org/10.1016/S0168-6445(03)00019-6).
246. Sachko, S., & Vudmaska, I. (2019). Use of hop cones and vitamin E to prevent metabolic disorders in transition dairy cows. *Proceedings of the XIX Middle-European*

- Buiatrics Congress*, May 22–25, 2019, Lviv (Ukraine), *The Animal Biology*, 21(2), 132. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2019\\_21\\_2\\_76](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2019_21_2_76)
247. Sachko, S., & Vudmaska, I. (2021). Effect of hop cones and vitamin E on ketogenesis and some blood parameters in transition dairy cows. *The 1<sup>st</sup> Ukrainian-Polish Scientific forum Agrobioprospectives*, 29–30 September 2021, Lviv (Ukraine), *The Animal Biology*, 23(3), 99. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv\\_2021\\_23\\_3\\_95](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bitv_2021_23_3_95)
248. Sakamoto, K., & Konings, W. N. (2003). Beer spoilage bacteria and hop resistance. *International journal of food microbiology*, 89(2-3), 105-124. [http://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00153-3](http://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00153-3).
249. Sandoval-Acuña, C., Ferreira, J., & Speisky, H. (2014). Polyphenols and mitochondria: An update on their increasingly emerging ROS-scavenging independent actions. *Archives of biochemistry and biophysics*, 559, 75-90. <http://doi.org/10.1016/j.abb.2014.05.017>.
250. Sarmikasoglou, E., Sumadong, P., Roesch, L. F. W., Halima, S., Arriola, K., Yuting, Z., ... & Faciola, A. (2024). Effects of cashew nut shell extract and monensin on in vitro ruminal fermentation, methane production, and ruminal bacterial community. *Journal of Dairy Science*, 107(2), 840-856. <http://doi.org/10.3168/jds.2023-23669>.
251. Schären, M., Drong, C., Kiri, K., Riede, S., Gardener, M., Meyer, U., ... & Dänicke, S. (2017). Differential effects of monensin and a blend of essential oils on rumen microbiota composition of transition dairy cows. *Journal of dairy science*, 100(4), 2765-2783. <http://doi.org/10.3168/jds.2016-11994>.
252. Sendamangalam, V., Choi, O. K., Kim, D., & Seo, Y. (2011). The anti-biofouling effect of polyphenols against *Streptococcus mutans*. *Biofouling*, 27(1), 13-19. <http://doi.org/10.1080/08927014.2010.535897>.
253. Shahsavari, A., Michael, J. D., & Al Jassim, R. (2016). The role of rumen-protected choline in hepatic function and performance of transition dairy cows. *British Journal of Nutrition*, 116(1), 35-44. <http://doi.org/10.1017/S0007114516001641>.

254. Sigel, E., & Steinmann, M. E. (2012). Structure, function, and modulation of GABAA receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 287(48), 40224-40231. <http://doi.org/10.1074/jbc.R112.386664>.
255. Simjee, S., Heffron, A. L., Pridmore, A., & Shryock, T. R. (2012). Reversible monensin adaptation in *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* and *Clostridium perfringens* of cattle origin: potential impact on human food safety. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(10), 2388-2395. <http://doi.org/10.1093/jac/dks236>.
256. Simonov, M. R., & Vlizlo, V. V. (2013). Some indicators of protein metabolism in blood of cows under ketosis. *Біологія тварин*, (15, №3), 120-124. <http://doi.org/10.15407/animbiol15.03.120>.
257. Simonov, M. R., & VV, V. (2013). Content of free amino acids and some parameters of the functional state of the liver in blood plasma of healthy and ketotic dairy cows. *Folia Vet*, 57(3-4), 166-171. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20143171343>
258. Simonov, M., & Vlizlo, V. (2015). Some blood markers of the functional state of liver in dairy cows with clinical ketosis. *Bulg. J. Vet. Med*, 18(1), 74-82. <http://doi.org/10.15547/bjvm.814>.
259. Simonov, M., Stybel, V., Petruh, I., & Vlizlo, V. (2019). Status of carbohydrate metabolism in dairy cows with ketosis. *Proceedings of the XIX Middle-European Buiatrics Congress, May 22–25, 2019, Lviv (Ukraine), The Animal Biology*, 21(3), 74–78. <https://doi.org/10.15407/animbiol21.03.074>
260. Singh, D., Hatwar, B., & Nayak, S. (2011). Herbal plants and *Propionibacterium acnes*: An overview. *Int. J. Biomed. Res*, 2, 486-498. <http://doi.org/10.7439/ijbr.v2i9.164>.
261. Siragusa, G. R., Haas, G. J., Matthews, P. D., Smith, R. J., Buhr, R. J., Dale, N. M., & Wise, M. G. (2008). Antimicrobial activity of lupulone against *Clostridium perfringens* in the chicken intestinal tract jejunum and caecum. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(4), 853-858. <http://doi.org/10.1093/jac/dkn024>.
262. Sławińska-Brych, A., Mizerska-Kowalska, M., Król, S. K., Stepulak, A., & Zdzisińska, B. (2021). Xanthohumol impairs the PMA-driven invasive behaviour of

- lung cancer cell line A549 and exerts anti-EMT action. *Cells*, *10*(6), 1484. <http://doi.org/10.3390/cells10061484>.
263. Soares, L. C. B., Marques, R. S., Vaz Pires, A., Cruz, V. A., Limede, A. C., Maia, K. D. S., ... & Polizel, D. M. (2021). Effects of narasin supplementation frequency on intake, ruminal fermentation parameters, and nutrient digestibility of *Bos indicus* Nellore steers fed with forage-based diets. *Translational Animal Science*, *5*(3), txab125. <http://doi.org/10.1093/tas/txab125>.
264. Solorzano-Santos, F., & Miranda-Navales, M. G. (2012). Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, *23*(2), 136-141. . <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.005>
265. Štulíková, K., Karabín, M., Nešpor, J., & Dostálek, P. (2018). Therapeutic perspectives of 8-prenylnaringenin, a potent phytoestrogen from hops. *Molecules*, *23*(3), 660. <http://doi.org/10.3390/molecules23030660>.
266. Sun, F., Cao, Y., Cai, C., Li, S., Yu, C., & Yao, J. (2016). Regulation of nutritional metabolism in transition dairy cows: Energy homeostasis and health in response to post-ruminal choline and methionine. *PloS one*, *11*(8), e0160659. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0160659>.
267. Suriyasathaporn, W., Heuer, C., Noordhuizen-Stassen, E., & Schukken, Y. (2000). Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review. *Veterinary research*, *31*(4), 397-412. <http://doi.org/10.1051/vetres:2000128>.
268. Swartz, T. H., Bradford, B. J., Malysheva, O., Caudill, M. A., Mamedova, L. K., & Estes, K. A. (2022). Effects of dietary rumen-protected choline supplementation on colostrum yields, quality, and choline metabolites from dairy cattle. *JDS communications*, *3*(4), 296-300. <http://doi.org/10.3168/jdsc.2021-0192>.
269. Swartz, T. H., Bradford, B. J., Mamedova, L. K., & Estes, K. A. (2023). Effects of dietary rumen-protected choline supplementation to periparturient dairy cattle on inflammation, metabolism, and performance during an intramammary lipopolysaccharide challenge. *Journal of Dairy Science*, *106*(12), 8561-8582. <http://doi.org/10.3168/jds.2023-23259>.

270. Tagasgira, M., Watanabe, M., & Uemitsu, N. (1995). Antioxidative activity of hop bitter acids and their analogues. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 59(4), 740-742. <http://doi.org/10.1271/bbb.59.740>.
271. Tedeschi, L. O., Fox, D. G., & Tylutki, T. P. (2003). Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. *Journal of environmental quality*, 32(5), 1591-1602. <http://doi.org/10.2134/jeq2003.1591>.
272. Trejo, B., Russell, M., Bartelt-Hunt, S., Beni, N. N., Snow, D. D., & Messer, T. L. (2023). Occurrence and persistence of antibiotics administered to cattle in a newly established feedlot (Vol. 52, No. 6, pp. 1193-1205). <http://doi.org/10.1002/jeq2.20516>.
273. Tronina, T., Popłoński, J., & Bartmańska, A. (2020). Flavonoids as phytoestrogenic components of hops and beer. *Molecules*, 25(18), 4201. <http://doi.org/10.3390/molecules25184201>.
274. Vanholder, T., Papen, J., Bemers, R., Vertenten, G., & Berge, A. C. B. (2015). Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. *Journal of dairy science*, 98(2), 880-888. <http://doi.org/10.3168/jds.2014-8362>.
275. Villalobos-Delgado, L. H., Caro, I., Blanco, C., Bodas, R., Andrés, S., Giráldez, F. J., & Mateo, J. (2015). Effect of the addition of hop (infusion or powder) on the oxidative stability of lean lamb patties during storage. *Small Ruminant Research*, 125, 73-80. <http://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.02.008>.
276. Vlizlo, V., & Simonov, M. (2017). Concentration of insuline-like growth factor and leptin in plasma of dry and early lactation dairy cows. *XVII. Middle European Buiatrics Congress*, May 3–6, 2017, Strbske Pleso, High Tatras (Slovakia), 90–94.
277. Vlizlo, V., Petruh, I., Simonov, M., & Slivinska, L. (2018). Hormonal regulation of energy metabolism in ketotic cows. *XVIII. Middle-European Buiatrics Congress*, May 30 – June 2, 2018, Eger (Hungary), 294–298.
278. Vudmaska, I., Petrukh, I., Sachko, S., Vlizlo, V., Kosenko, Y., Kozak, M., & Petruk, A. (2021). Using hop cones, vitamin E, methionine, choline and carnitine for treatment of subclinical ketosis in transition dairy cows. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 9(1), 55–62. <http://doi.org/10.17582/journal.aavs/2021/9.1.55.62>

279. Vudmaska, I., Salyha, Yu., & Sachko, S. (2024). Ionophore antibiotics and hop cones as regulators of digestion and metabolism in ruminants. *Studia Biologica*, 18(1), 155–170. <http://doi.org/10.30970/sbi.1801.759>
280. Wang, Y., Chaves, A. V., Rigby, F. L., He, M. L., & McAllister, T. A. (2010). Effects of hops on ruminal fermentation, growth, carcass traits and shedding of *Escherichia coli* of feedlot cattle. *Livestock Science*, 129(1-3), 135-140. <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.01.015>.
281. Wei, C., Lin, S. X., Wu, J. L., Zhao, G. Y., Zhang, T. T., & Zheng, W. S. (2015). Effects of supplementing vitamin E on in vitro rumen gas production, volatile fatty acid production, dry matter disappearance rate, and utilizable crude protein. *Czech Journal of Animal Science*, 60(8), 335-341. <http://doi.org/10.17221/8402-CJAS>.
282. Wei, S., Sun, T., Du, J., Zhang, B., Xiang, D., & Li, W. (2018). Xanthohumol, a prenylated flavonoid from Hops, exerts anticancer effects against gastric cancer in vitro. *Oncology reports*, 40(6), 3213-3222. <http://doi.org/10.3892/or.2018.6723>.
283. Weimer, P. J., Stevenson, D. M., Mertens, D. R., & Thomas, E. E. (2008). Effect of monensin feeding and withdrawal on populations of individual bacterial species in the rumen of lactating dairy cows fed high-starch rations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80, 135-145. <http://doi.org/10.1007/s00253-008-1528-9>.
284. Weiskirchen, R., Mahli, A., Weiskirchen, S., & Hellerbrand, C. (2015). The hop constituent xanthohumol exhibits hepatoprotective effects and inhibits the activation of hepatic stellate cells at different levels. *Frontiers in physiology*, 6, 144873. <http://doi.org/10.3389/fphys.2015.00140>.
285. West, H. J. (1997). Clinical and pathological studies in cattle with hepatic disease. *Veterinary research communications*, 21, 169-185. <http://doi.org/10.1023/A:1005828211506>.
286. World Health Organisation. Collaborating Centre for Drug Statistics and Methodology. Available online: <https://www.whocc.no> (accessed on 13 January 2021).
287. Yap, P. S. X., Yiap, B. C., Ping, H. C., & Lim, S. H. E. (2014). Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. *The open microbiology journal*, 8, 6. <http://doi.org/10.2174/1874285801408010006>.

288. Ye, D., Karnati, S. K. R., Wagner, B., Firkins, J. L., Eastridge, M. L., & Aldrich, J. M. (2018). Essential oil and monensin affect ruminal fermentation and the protozoal population in continuous culture. *Journal of dairy science*, *101*(6), 5069-5081. <http://doi.org/10.3168/jds.2017-13646>.
289. Zahra, L. C., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Overton, T. R., Putnam, D., & LeBlanc, S. J. (2006). Effects of rumen-protected choline and monensin on milk production and metabolism of periparturient dairy cows. *Journal of dairy science*, *89*(12), 4808-4818. [http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72530-9](http://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72530-9).
290. Zanolli, P., & Zavatti, M. (2008). Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. *Journal of ethnopharmacology*, *116*(3), 383-396. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2008.01.011>.
291. Zenobi, M. G., Scheffler, T. L., Zuniga, J. E., Poindexter, M. B., Campagna, S. R., Gonzalez, H. C., ... & Staples, C. R. (2018). Feeding increasing amounts of ruminally protected choline decreased fatty liver in nonlactating, pregnant Holstein cows in negative energy status. *Journal of dairy science*, *101*(7), 5902-5923. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13973>.
292. Zhang, N., Liu, Z., Han, Q., Chen, J., & Lv, Y. (2010). Xanthohumol enhances antiviral effect of interferon  $\alpha$ -2b against bovine viral diarrhea virus, a surrogate of hepatitis C virus. *Phytomedicine*, *17*(5), 310-316. <http://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.08.005>.
293. Zhang, Y., Bobe, G., Miranda, C. L., Lowry, M. B., Hsu, V. L., Lohr, C. V., ... & Gombart, A. F. (2021). Tetrahydroxanthohumol, a xanthohumol derivative, attenuates high-fat diet-induced hepatic steatosis by antagonizing PPAR $\gamma$ . *Elife*, *10*, e66398. <http://doi.org/10.7554/eLife.66398>.
294. Zhang, Z. W., Wang, Y. L., Chen, Y. Y., Wang, W. K., Zhang, L. T., Luo, H. L., & Yang, H. J. (2019). Nitroethanol in comparison with monensin exhibits greater feed efficiency through inhibiting rumen methanogenesis more efficiently and persistently in feedlotting lambs. *Animals*, *9*(10), 784. <http://doi.org/10.3390/ani9100784>.
295. Zhang, Z. W., Wang, Y. L., Chen, Y. Y., Zhang, L. T., Zhang, Y. J., Liu, Y. Q., ... & Yang, H. J. (2021). The dietary supplemental effect of nitroethanol in comparison

- with monensin on methane emission, growth performance and carcass characteristics in female lambs. *Animals*, 11(2), 327. <http://doi.org/10.3390/ani11020327>.
296. Zhou, Z., Vailati-Riboni, M., Trevisi, E., Drackley, J. K., Luchini, D. N., & Looor, J. J. (2016). Better postpartal performance in dairy cows supplemented with rumen-protected methionine compared with choline during the peripartal period. *Journal of dairy science*, 99(11), 8716-8732. <http://doi.org/10.3168/jds.2015-10525>.
297. Zmora, P., Cieslak, A., Jedrejek, D., Stochmal, A., Pers-Kamczyc, E., Oleszek, W., ... & Szumacher-Strabel, M. (2012). Preliminary in vitro study on the effect of xanthohumol on rumen methanogenesis. *Archives of animal nutrition*, 66(1), 66-71. <http://doi.org/10.1080/1745039X.2011.644917>.
298. Zugravu, C. A., Bohiltea, R. E., Salmen, T., Pogurschi, E., & Otelea, M. R. (2022). Antioxidants in Hops: Bioavailability, Health Effects and Perspectives for New Products. *Antioxidants*, 11(2), 241. <http://doi.org/10.3390/antiox11020241>.

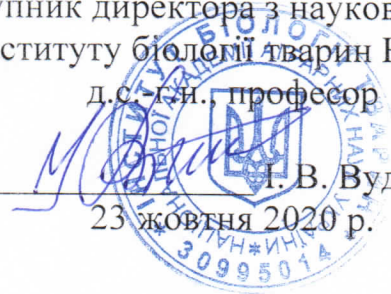


ЗАТВЕРДЖУЮ:  
Директор ФГ "АМІЛА"  
Турійського району,  
Волинської області



І. В. Січковська  
23 жовтня 2020 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ:  
Заступник директора з наукової роботи  
Інституту біології тварин НААН,  
д.с.-г.н., професор



І. В. Вудмаска  
23 жовтня 2020 р.

### А К Т

#### *виробничої перевірки завершених науково-дослідних і дослідно-конструкторських робіт*

1. Підрозділ установи-розробника: Лабораторія обміну речовин і лабораторія молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин НААН  
( дослідна станція, КБ, відділ, лабораторія та інші )
2. Назва закінчених НДР і ДКР, які поставлені на виробничу перевірку: Кормова добавка для лікування і профілактики субклінічного кетозу корів
3. Автори завершених НДР і ДКР: д.с.-г.н., професор Вудмаска І.В., аспірант Сачко С. Р.  
( п. і. б., посада, звання, вчений ступінь )
4. Завершені НДР і ДКР, рекомендовані до виробничої перевірки рішенням вченої ради ( науково-методичної комісії ) Інституту біології тварин НААН протокол № 4 від 25.02.2020 р.  
( НДІ, дослідні станції та інші )
5. Виробнича перевірка проводилась у ФГ "АМІЛА" Турійського району, Волинської області  
( назва господарства, установи, його відомча підпорядкованість, місцезнаходження )
6. Відповідальні за проведення виробничої перевірки: від ІБТ НААН – с.н.с. Сачко Р. Г., с.н.с. Петрух І.М., аспірант Сачко С.Р.; від ФГ «Аміла» зоотехнік Богдан С. А., ветеринарний фельдшер Скулінець М. В.  
( п. і. б., посада, установа, господарство )
7. Умови проведення перевірки: годівля, утримання та режим експлуатації тварин відповідали технологічним вимогам  
( ґрунтово-кліматичні, господарсько-економічні, агротехнічні, відповідно поставленим вимогам )
8. Обсяг виробничої перевірки 60 корів  
( гектарів, центнерів, машин, пристроїв, голів і т. п. )
9. Терміни проведення виробничої перевірки 20 липня – 20 жовтня 2020 р.  
( рік, місяць, початок і завершення в кожному окремому випадку )
10. Методика виробничої перевірки. Коровам до комбікорму додавали лікувально-профілактичну протикетозну та гепатопротекторну добавку, що містить подрібнені гранули шишок хмелю, вітамін Е, захищені від розщеплення у рубці холін, метіонін і карнітин. Контролем слугували корови, умови утримання та годівлі яких були аналогічними. Для лабораторних досліджень використано кров та молоко. У сироватці крові визначали вміст глюкози, кетонових тіл, загального протеїну, сечовини, загальних ліпідів, триацилгліцеролів, НЕЖК, холестерину, Кальцію, Фосфору, активність амінотрансфераз за допомогою діагностичних наборів. Обліковували надої та склад молока.  
( коротка характеристика прийнятого методу перевірки )

11. З яким контролем проводилося порівняння завершених НДР і ДКР

Отримані результати досліджень порівнювали з результатами, одержаними від корів цього ж господарства.

12. Результати обліку, які характеризують ефективність НДР і ДКР, що перевіряються у порівнянні з контролем:

а) основні господарські дані за результатами перевірки: запропонована лікувально-профілактична добавка знижує концентрацію бета-гідроксибутирату та активність амінотрансфераз і підвищує концентрацію глюкози у крові корів. За згодовування лікувально-профілактичної добавки спостерігається підвищення молочної продуктивності корів.

(підвищення продуктивності тварин і продуктивності праці, якості продукції, зниження витрат, собівартості і т. п.)

б) обґрунтований розрахунок економічного ефекту На 1 гривню витрат отримано 2 гривні прибутку

(на основі якої методики проводився розрахунок, ефект в гривнях на одиницю об'єму проведеної перевірки)

13. Що рекомендується для впровадження у виробництво: Кормова добавка для лікування та профілактики субклінічного кетозу і стеатозу у високопродуктивних корів.

(коротка та чітка рекомендація виробництву)

14. Відповідальні виконавці виробничої перевірки:

від наукової установи (організації)

Сачко С. Р.

Петрух І. М.

Сачко Р. Г.

від виробництва (господарства)

Богдан С. А.

Скулінець М. В.