

Установлено четкую зависимость процессов перекисного окисления липидов и активности системы антиоксидантной защиты от типа высшей нервной деятельности у откормочных бычков волынской мясной породы. Наиболее оптимальные показатели активности системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов выявлены у животных сильного уравновешенного инертного типа.

Ключевые слова: физиология, антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, бычки, высшая нервная деятельность, волынская мясная порода, откорм.

It is set a clear dependence of lipid peroxidation and antioxidant system activity on the type of higher nervous activity in fattening bull-calves Volyn meat breed. The most optimal performance of antioxidant system activity and lipid peroxidation were found in animals of a strong equilibrium of inert type.

Key words: physiology, antioxidant system, lipid peroxidation, bull-calves, higher nervous activity, Volyn meat breed, fattening.

Дата надходження в редакцію: 07.12.11 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Камбур М.Д.

УДК 619:615.355

ВПЛИВ МЕТИФЕНУ НА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЇ ТА ІМУННОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ ПОРОСЯТ ЗА НІТРАТНОГО НАВАНТАЖЕННЯ

Х.Я. Леськів, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжцького

У статті описана динаміка показників антиоксидантної системи та стану резистентності організму поросят, а саме, клітинних та гуморальних факторів при нітратно - нітритному навантаженні. Крім того, досліджено вплив антиоксиданту Метіфену, котрий при задаванні у корм в дозі 0,9 мг/кг., позитивно впливає на стан антиоксидантної та імунної системи при нітратному навантаженні.

Ключові слова: антиоксидантна система, імунна система, Метіфен, перекисне окислення ліпідів, свині.

Індустріалізація народного господарства та інтенсифікація рослинництва пов'язані з викидом в навколишнє середовище значної кількості окисів азоту і широким застосуванням добрив, які, з одного боку, дають можливість підвищувати врожай с.-г. культур, а з другого - призводять до нагромадження нітратів у фунті, воді, рослинах і продуктах харчування, що є токсичними для людей і тварин. [1]

Випадки отруєння свиней нітратами і нітридами трапляються часто. Причиною цього переважно, буває поїдання коренеплодів, кормових буряків, вирощених на ґрунтах, багатих азотом. [2] Також описані випадки отруєння водою з високими дозами азотних сполук [3]. Відомо, що при концентрації нітритів понад 1,5%, настає нітратно-нітритна інтоксикація, яка часто закінчується загибеллю тварин [5]

Токсичність нітратів небезпечна через їхню метгемоглобінотворювальну здатність, де двовалентне залізо гемоглобіну окиснюється до тривалентного [3]. В теперішній час патогенез цієї проблеми токсикозу розкритий достатньо, залишається не вивчене питання впливу нітратів на основні системи захисту організму: імунну та антиоксидантну систему (АОС). Оскільки, при окисненні гемоглобіну утворюється цілий ряд радикальних метаболітів, які є активними окисниками

біологічних субстратів, надають виражену цитотоксичну дію, ініціюють процеси перекисного окиснення ліпідів. У процесі окиснення оксигемоглобіну, активні форми кисню включаються як безпосередні учасники елементарних стадій, продуценти токсичного для організму перекису водню, які також беруть участь в реакціях окиснення оксигемоглобіну. Оксидативний стрес супроводжується порушенням балансу між інтенсивністю процесів вільно радикального окиснення та системою антиоксидантного захисту [2].

Відомо, що неспецифічна резистентність організму забезпечує першу ланку захисту організму до шкідливих факторів і лежить в основі природного імунітету. Вона включається на початкових стадіях захворювань, тоді як функція специфічного імунітету проявляється на пізніших етапах [5].

Досі актуальною проблемою є розробка ветеринарних препаратів, здатних підвищувати імунну резистентність організму тварин, нормалізувати процеси метаболізму у тканинах, відновлювати структуру та функції органів і систем. Серед них великого поширення набули різні специфічні й неспецифічні біологічно активні препарати: імуноглобуліни, вітаміни, макро- та мікроелементи, різні тканинні препарати. Проте арсенал використовуваних у ветеринарній медицині імуномодулювальних препаратів для корекції імунодефіци-

тного стану організму сільськогосподарських тварин є недостатнім [4].

На кафедрі фармакології та токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького, розроблено антиоксидантний препарат Метіфен, який у своєму складі містить Фенарон, що затримує окиснення ліпідів і знижує вміст перекисних радикалів, забезпечує збереження біологічно активних речовин у вітамінних препаратах і кормових добавках [4]. В організмі тварин Фенарон стимулює перетворення перекисів у неактивні метаболіти, що сприяє підвищенню неспецифічної резистентності організму. Окрім Фенарону, вищезгаданий антиоксидант містить у своєму складі метіонін-донатор металевих груп для утворення біологічно активних речовин, необхідних для метаболічних процесів у синтезі білків [4]. Крім того, він попереджає розвиток жирової

інфільтрації печінки.

Мета дослідження. Враховуючи вищенаведenu характеристику компонентів "Метіфену" наші дослідження були скеровані на вивчення ефективності цього препарату на стан організму свиней за умов нітратно-нітритного навантаження. Оскільки дана стаття є фрагментом дисертаційної роботи, метою наших досліджень було вивчити вплив даного антиоксиданта на імунну та антиоксидантну системи захисту

Матеріали та методи дослідження. Об'єктами досліджень були 20 поросят великої білої породи тримісячного віку. Дослідження проводили у ННВЦ Комарнівський Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. За методом груп-аналогів було сформовано 4 групи: контрольна та три дослідні. Схема досліду наведена у таблиці 1.

Таблиця 1

К, контрольна	Поросята даної групи знаходились на звичному раціоні для господарства, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,3 NO.r/кг маси тіла один раз на добу протягом місяця.
Д ₁ дослідна	Поросята даної групи знаходились на звичному раціоні для господарства з додатковим згодовуванням метіфену у дозі 1 мг/кг.+ нітрат натрію у дозі 0,3 NO г/кг маси тіла один раз на добу протягом місяця.
Д ₂ дослідна	Поросята даної групи знаходились на звичному раціоні для господарства з додатковим згодовуванням метіфену у дозі 0,9 мг/кг + нітрат натрію у дозі 0,3 NO г/кг маси тіла один раз на добу протягом місяця.
Д ₃ дослідна	Поросята даної групи знаходились на звичному раціоні для господарства з додатковим згодовуванням метіфену у дозі 0,85 мг/кг + нітрат натрію у дозі 0,3 NO г/кг маси тіла один раз на добу протягом місяця .

Кров для досліджень брали з краніальної порожнистої вени на 10, 30, 60, 90 добу після згодовування нітрату натрію. Для визначення стану резистентності організму свиней досліджували клітинні та гуморальні її фактори за показниками фагоцитарної активності (ФА), інтенсивності (індексу) фагоцитозу (ФІ), загальну кількість Т-лімфоцитів (Е-РУК) -методом спонтанного розетко утворення з еритроцитами барана за M. Jondal et al., загальну кількість В-лімфоцитів - за N.F. Mendes et al. (1973). (Чумаченко ВЕ. и др., 1990). Досліджували бактерицидну активність сироватки крові (БАСК) за методом О.В. Смирнової, Т.А. Кузьміної (1966), лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК) - фотоелектроколориметричним методом в реакції аглютинації (Чумаченько В.Е. и др., 1990). Стан антиоксидантної системи при нітратно- нітратному навантаженні оцінювали за активністю у крові ферментів: активність глутатіонпероксидази (ГП-К.Ф. 1.11.1.9) - визначали за методикою Моїна (1986) активність супероксиддисмутази (КТ 1.11.1.6.) визначали за методом Чеварі, активність каталази (КТ-К.Ф.

1.11.1.6.) - за методикою Баха і Зубкової.

Результати й обговорення досліджень.

Активність ферментів супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ) та глутатіонпероксидази (ГПО) є одними з основних показників, які вказують про стан антиоксидантної системи.

Уникнути різноманітних ускладнень при перебігу захворювань можна шляхом своєчасного блокування пускового механізму патології, тобто зниженням інтенсивності ПОЛ в організмі шляхом використання антиоксидантів, які попереджують утворення вільних радикалів, здатних пошкоджувати клітину. Саме тому, дані дослідження дають змогу вивчити захисний вплив Метіфену на стан антиоксидантної системи при нітратно-нітритному навантаженні. Відомо, що каталаза відновлює перекис водню до води. До активного центру ферменту входить тривалентне залізо, протопорфрин, який взаємодіє з перекисом водню за каталазним, або по пероксидазним механізмом, залежно від концентрації субстрату.

Отримані результати досліджень наведені у таблицях: 2, 3, 4, 5.

Таблиця 2

Активність каталази в еритроцитах крові поросят, нмоль/хв х мг білка $M \pm m$, $n = 5$.

Група	На початку	Доба			
		10	30	60	90
1 К	1,28 \pm 0,08	1,18 \pm 0,07	1,21 \pm 0,08	1,24 \pm 0,08	1,25 \pm 0,08
2 Д	1,33 \pm 0,05*	1,32 \pm 0,02***	1,32 \pm 0,02**	1,29 \pm 0,07*	1,30 \pm 0,07***
3 Д	1,38 \pm 0,07*	1,37 \pm 0,05***	1,35 \pm 0,08***	1,34 \pm 0,08***	1,34 \pm 0,08**
4 Д	1,38 \pm 0,06*	1,36 \pm 0,07***	1,35 \pm 0,08**	1,31 \pm 0,05*	1,33 \pm 0,05**

У цій та наступних таблицях ступінь вірогідності, порівняно з даними контрольних груп:

* $p < 0,05$; ** $p < 0,02$; *** $p < 0,001$

Аналізуючи отримані результати таблиці 2, активність каталази у тварин дослідних групи, яким поряд з нітритами у раціон вводили антиоксидант Метіфен була в межах величин 1,31-1,38 нмоль/хв на мг білка. У тварин контрольної групи, яким метіфен не згодовували активність каталази почала знижуватись до 1,18-1,28 нмоль/хв на мг білка.

На підставі лише активності каталази важко робити висновок про ступінь негативного впливу

нітратів і нітритів на систему антиоксидантного захисту організму свиней.

Як відомо, глутатіонпероксидаза - каталізує розклад гідроперекисів ліпідів нерадикальним шляхом за допомогою глутатіону відновленого, а саме каталізує розпад перекису водню і окиснює глутатіон. Глутатіонпероксидаза разом з іншими антиоксидантами сприяє видаленню первинних продуктів частково редукованого кисню.

Таблиця 3

Активність глутатіонпероксидази в еритроцитах крові поросят, УО/хв х мг білка, $M \pm m$, $n = 5$

Група	На початку	Доба			
		10	30	60	90
1 К	34,20 \pm 0,18	33,80 \pm 0,18	31,46 \pm 0,18	28,21 \pm 0,15	29,01 \pm 0,11
2 Д	35,14 \pm 0,16	35,13 \pm 0,14*	35,12 \pm 0,166**	35,14 \pm 0,17**	35,14 \pm 0,17**
3 Д	35,18 \pm 0,18	35,18 \pm 0,18*	35,19 \pm 0,15***	35,20 \pm 0,17**	35,21 \pm 0,18**
4 Д	35,21 \pm 0,15	35,18 \pm 0,18*	35,17 \pm 0,15**	35,17 \pm 0,15**	35,18 \pm 0,18**

Супероксиддисмутаза - це ключовий фермент антирадикального захисту. Вона дисмутує супероксидрадикал до менш токсичного перекису водню. Залежно від мікроелементу, що знаходиться в активному центрі ферменту, виділяють Fe-, Zn-Cu- та Mn-залежні СОД. Метали викону-

ють каталітичну функцію. Вони послідовно відновлюються і окиснюються в активному центрі ферменту. Fe-залежна СОД у більшій кількості знаходиться в еритроцитах, Zn-Cu-залежна - у цитоплазмі, а Mn-залежна - у мітохондріях.

Таблиця 4

Активність супероксиддисмутази в еритроцитах крові поросят, нмоль/хв х мг білка $M \pm m$, $n = 5$.

Група	На початку	Доба			
		10	30	60	90
1 К	35,39 \pm 0,27	34,30 \pm 0,29	29,68 \pm 0,32	27,10 \pm 0,29	30,05 \pm 0,31
2 Д	35,81 \pm 0,38**	34,48 \pm 0,29**	34,28 \pm 0,36**	34,17 \pm 0,35**	34,20 \pm 0,31*
3 Д	35,80 \pm 0,16***	34,44 \pm 0,30**	34,30 \pm 0,27**	34,27 \pm 1,4**	34,40 \pm 0,36**
4 Д	35,82 \pm 0,19**	34,42 \pm 0,37**	34,39 \pm 0,38**	34,22 \pm 0,34**	34,24 \pm 0,27**

При визначенні активності ферментів глутатіонпероксидази та супероксиддисмутази, ступінь негативного впливу нітратного навантаження на організм свиней проявляється повніше. Так, у тварин дослідних групи показники активності ферментів знаходилися в межах величин: глутатіонпероксидази 35,12-35,21 УО/хв х мг білка, супероксиддисмутази 34,17-35,82 нмоль/хв х мг білка. Ці показники були в 1,5 раза вищими від показників контрольної групи.

У тварин дослідних груп, не встановлено вірогідного зниження активності ферментів антиоксидантної системи. Це вказує на позитивний вплив метіфену.

У тварин контрольної групи, встановлено пригнічення активності ферментів антиоксидантної системи: глутатіонпероксидази на 18%, глутатіонредуктази на 16% та каталази на 13%. Це

вказує про зниження антиоксидантного захисту.

На початку дослідження встановлена активація імунної системи, про що вказують усі показники резистентності з таблиці 5. У наступні доби дослідження, спостерігали зниження показників імунної системи.

Відсоток В-лімфоцитів від їх загальної кількості в нормі становить у свиней – 15-35 %. З даних наведених у таблиці 2 видно, що у всіх групах тварин, яким згодовували нітрат натрію цей показник був нижчим величини фізіологічної норми, так у тварин контрольної групи на 60-ту добу, він був нижчим на 10%. Відсоток Т-лімфоцитів від їх загальної кількості в нормі становить у свиней – 40-85 %. Динаміка цього показника найкращою була у тварин 2 гої дослідної групи, поросяткам якої згодовували з основним раціоном Метіфен у дозі 0,0009 г/кг. + 0,3 г NO г/кг м.т., що поясню-

ється на нашу думку позитивними властивостями антиоксиданту Метіфену, тобто здатністю організму відповідати на дію подразнювальних факторів.

Поруч з Т- і В-лімфоцитами в імунних реакціях важливу роль відіграють клітини фагоцитарної системи, попередником яких є міелоїдна стовбурна клітина кісткового мозку. Із факторів неспецифічної резистентності першою у тварин виявляється фагоцитарна активність лейкоцитів як найбільш давня і стабільна форма клітинного імунітету, спрямована на збереження постійності внутрішнього середовища організму. З даних наведених у таблиці 2 видно, що гуморальні показники резистентності змінювалися впродовж до-

сліду у контрольній групі, поросяткам котрої згодували основний раціон + 0,3 г NO₂/кг. м. т., а саме бактерицидна активність, лізоцимна активність, фагоцитарна активність, фагоцитарний індекс. Ці показники були вірогідно нижчими ніж в дослідній групі, поросяткам котрої згодували основний раціон + Метіфен у дозі 0,9 мг/кг.тв + 0,3 NO₂ г /кг. м.т. Найнижчими ці показники були на 60 добу досліді. Так, бактерицидна активність сироватки крові була на 9 % нижчою у контрольній групі у порівнянні з 2-гою дослідною групою, лізоцимна активність, в 1,07 рази нижчою у порівнянні з дослідною групою, що пояснюється на нашу думку позитивними властивостями антиоксиданту Метіфену.

Таблиця 5

Показники неспецифічної резистентності крові поросят (M±t, n=5)

Показники	Групи тварин					
	Початок	10 доба	30 доба	60 доба	90 доба	
Бактерицидна активність (НБА) %	К	26,44±0,49	29,41±0,60	25,13±0,65	24,04±0,54	24,83±0,50
	Д ₁	25,91±0,48	28,64±0,65	25,26±0,50	25,53±0,52	25,42±,49
	Д ₂	26,28±0,50	28,55±0,63	26,06±0,61**	26,41±0,55**	26,35±0,61
	Д ₃	25,79±0,49	28,79±0,50	25,20±0,49	24,91±0,50	25,05±0,56
Лізоцимна активність, %	К	41,12±0,61	42,89±0,63	39,41±0,60	38,31±0,72	40,21±0,70
	Д ₁	41,24±0,61	41,60±0,75	40,15±0,63	39,22±0,60	39,98±0,65
	Д ₂	41,08±0,60	41,55±0,64	40,81±0,60	41,02±0,75	41,20±0,60
	Д ₃	41,33±0,70	41,64±0,60	39,86±0,65	38,92±0,54	39,23±0,70
Фагоцитарна активність, %	К	89,85±0,50	90,41±0,52	87,74±0,50	86,42±0,51	87,31±0,55
	Д ₁	90,20±0,55	90,34±0,50	88,54±0,60	87,75±0,50	88,61±0,60
	Д ₂	89,54±0,62	90,06±0,60	89,12±0,54	89,40±0,50	90,11±0,58
	Д ₃	90,14±0,57	90,29±0,53	88,13±0,51	87,08±0,53	87,96±0,50
Фагоцитарний індекс	К	12,27±0,90	12,65±0,90	11,65±1,85	11,18±1,90	11,53±1,90
	Д ₁	12,51±0,94	12,59±0,85	11,89±1,90	11,72±1,85	11,96±1,89
	Д ₂	12,45±0,95	12,54±0,80	12,11±0,94**	12,40±1,87**	12,51±1,84**
	Д ₃	12,32±0,95	12,58±1,94	11,70±1,91	11,41±1,92	11,64±1,90
ЦІК, мМ/мл	К	79,28±3,13	79,35±3,10	79,91±3,11	80,32±3,13	79,86±3,11
	Д ₁	79,39±3,10	79,41±3,11	79,68±3,12	79,75±3,13	79,42±3,10
	Д ₂	79,15±3,11	79,19±3,10	79,42±3,12	79,27±3,11	79,20±3,12
	Д ₃	79,31±3,10	79,34±3,13	79,74±3,13	79,86±3,10	79,51±3,10
Т-лімфоцити, %	К	42,1±0,51	43,5±0,50	39,6±0,55	38,1±0,52	38,8±0,50
	Д ₁	42,4±0,50	42,7±0,51	40,0±0,51	39,6±0,55	40,1±0,54
	Д ₂	41,8±0,52	42,3±0,54*	40,3±0,55	40,9±0,52**	41,7±0,52
	Д ₃	42,3±0,50	43,0±0,55*	39,8±0,50	38,9±0,51	39,8±0,52*
В-лімфоцити, %	К	12,0±0,32	13,3±0,35	11,1±0,33	10,9±0,40	11,2±0,37
	Д ₁	12,3±0,30	12,8±0,32	11,4±0,30	11,3±0,35	11,6±0,30
	Д ₂	12,1±0,40	12,5±0,35	11,5±0,36	11,7±0,30	12,0±0,40*
	Д ₃	12,2±0,25	13,0±0,40	11,3±0,35	11,1±0,34	11,5±0,32

Висновки.

1. Згодовування нітрату натрію поросяткам у дозі 0,3 г NO₂ г/кг. м.т. сприяє розвитку хронічного нітритно - нітратного токсикозу, що проявляється пригніченням активності ферментів антиоксидантної системи : каталази, глутатіонпероксидази та супероксиддисмутази. Також починаючи з 60-тої доби досліді спостерігали зниження показників імунної системи, що вказує на виснажуючи дію нітратів на імунну систему.

2. При нітратному навантаженні, згодовування у раціон свиней антиоксиданту Метіфену у дозі 0,9 мг/кг. м. т. тв. позитивно впливає на стан активності ферментів антиоксидантної та імунної систем захисту організму поросят

3. Оскільки дана стаття є лише фрагментом дисертаційної роботи, отримані результати досліджень будуть застосовані у подальшому вивченні активності системи АОЗ-ПОЛ та імунної системи захисту організму поросят при нітратному навантаженні.

Список використаної літератури:

1.Баженов С.В. Ветеринарная токсикология. Ленинград ст.П 1.

2. Горобець А.І. Шляхи вирішення нітратної проблеми в птахівництві. Міжвідомчий науковий тематичний збірник "Птахівництво" Випуск 62
3. Гутий Б.В. Гуфрій Д.Ф. Система антиоксидантного захисту та перекисне окиснення ліпідів за умов впливу середньо токсичної дози нітрату натрію // Науково-технічний бюлетень Львів 2005 В.6, №3,4. С. 116-120.
4. Гунчак В.М. Новий антиоксидант "Метифен" та його застосування для профілактики нітратно-нітритного токсикозу у курей // Сільський господар. -2004.-№7.-С. 13-15
5. Калита - Леськів Х.Я. Вплив метифену на гематологічні показники крові поросят // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. Том 12 № 3 (45), частина 1, Львів - 2010. - С. 82.
6. Bruning C.S., Kaneene J.B. The effects of nitrate, nitrite and N-nitrosocompounds of animal health // Veterinary and Human Toxicology. -1993.-Vol. 35,№3.- P. 237-253.
7. Peskowitz M.D. Immunology of the pig. Handbook of Vertebrate. Immunology. -London:Acad.Pres. - 1988. - P. 373-420.

В статье описана динамика показателей антиоксидантной системы и состояния резистентности организма поросят, а именно, клеточных и гуморальных факторов при нитритно - нитратной нагрузке. Кроме того, исследовано влияние антиоксиданта Метифена, который при скармливании в корм в дозе 0,9 мг/кг., положительно влияет на состояние антиоксидантной и иммунной системы при нитратной нагрузке.

The article describes the dynamics of antioxidant system and resistance of the pigs body, namely, cellular and humoral factors in nitrate - nitrite load. In addition, the influence of antioxidant Metifen, which was given in the feed at a dose of 0.9 mg.kg. made positive effect on antioxidant status and immune system under nitrate load.

Дата надходження в редакцію: 07.12.11 р.
Рецензент: д.вет.н., професор Камбур М.Д.