

Фізіологія сільськогосподарських тварин

УДК 619:615.37:616-097.3:636.4

ІМПУЛЬСНА АКТИВАЦІЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ТЕЛЯТ В РАННЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ

Рецензенти: канд.біол.наук Федотова Л.М.; ст. наук. співроб. Кузьміна Н.І.

О.В. Ахтирський, С.О. Шаповалов

Інститут тваринництва УААН

І.А. Іонов, А.С. Григор'єва, Н.Ф. Конахович, М.Г. Бухаріна

Інститут фармакології та токсикології АМН України

У роботі наведені дані щодо впливу мікроелементовмісної композиції «Біотам» на основні процеси перекисного окиснення ліпідів у крові молочних телят за умов перорального введення. Авторами було показано вірогідне збільшення перекисної резистентності еритроцитів по відношенню до контролю, збільшення активності СОД на 24,7 %, зниження активності каталази на 18,9 % та зниження рівня МДА у плазмі крові на 15,9 %. Введення препарату «Біотам» децю зменшує кількість відновленого глутатіону.

Ключові слова: **СОД, координаційні сполуки, мікроелементи, ДК, МДА, ПРЕ, АЗО, ПОЛ.**

Ефективність активації захисних сил організму тварин перш за все залежить від становлення загальної резистентності та системи антиоксидантного захисту в ранньому постнатальному онтогенезі. При певних умовах в організмі тварин відбувається оксидативний стрес, що порушує роботу багатьох життєво необхідних систем окремо чи одночасно [1].

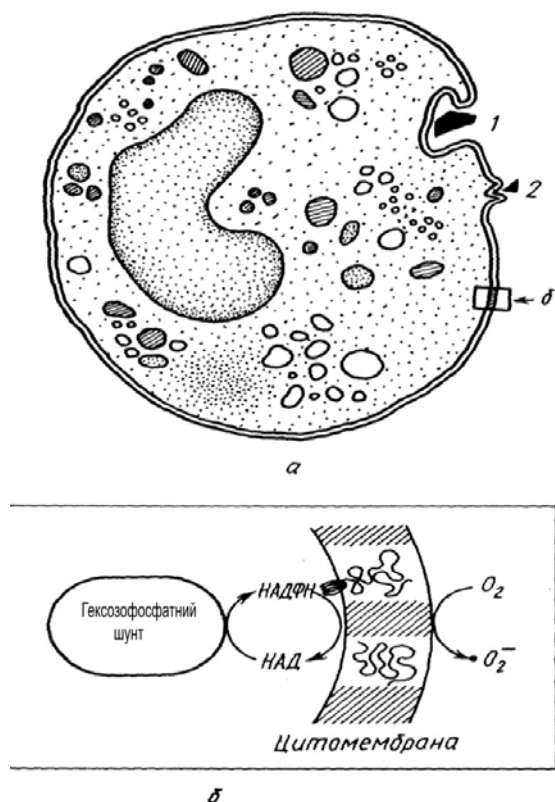
Оксидативний стрес - процес пошкодження біологічних структур, що відбувається за участю активних форм кисню у вільному стані чи у поєднанні з іншими активними формами елементів у вигляді супероксидних радикалів, наприклад:

1. $^1\text{O}_2$ Синглетний кисень
2. $\bullet\text{O}_2^-$ Супероксидний радикал
3. H_2O_2 Пероксид водню
4. $\bullet\text{OH}$ Гідроксильний радикал
5. ClO^- Гіпохлорит
6. ONOO^- Пероксинітрит
7. Радикали ліпідів
 1. $\text{L}\bullet$ Алкіл
 2. $\text{LO}\bullet$ Алкоксил
 3. $\text{LOO}\bullet$ Діоксил (пероксил)

Виражається оксидативний стрес:

- у надлишковій продукції активних форм кисню (АФК) та вільних радикалів;
- у недостатньому ступеню антиоксидантного захисту;
- у порушенні співвідношення активності анти- та прооксидантної системи в бік останньої;

Основним джерелом супероксидних (вільних) радикалів у живих організмах є клітини-фагоцити, до яких відносять гранулоцити й моноцити крові та макрофаги тканин (рис.1). Коли фагоцит зустрічає чужорідні агенти, наприклад, бактерії, він



прикріплюється до неї і починає виділяти активні форми кисню, перша з яких супероксидний радикал.

Рис.1. Активація фагоцита зовнішнім стимулом:

*а - схематичне зображення клітини фагоцита;
1 - захоплення клітиною чужорідної частинки (фагоцитоз);
2 - активація клітини хімічною речовиною, наприклад, хемоатрактантом;
б - ділянка клітинної мембрани; НАДФН, що утворюється при пентозофосфатному шляху окиснення глюкози (гексозомонофосфатний шунт), окиснюється ферментним комплексом цитоплазматичної мембрани з утворенням супероксидних радикалів.*

До основних властивостей вільних радикалів (ВР) слід віднести наступні:

– ВР постійно утворюються в органах і тканинах, як у результаті природних метаболічних процесів, так і під впливом зовнішніх чинників, та виконують важливі фізіологічні функції;

– ВР присутні як в ліпідній фазі (біомембрани), так і у водній фазі (цитозоль, міжклітинна рідина);

– ВР досить нестабільні та легко вступають у хімічні реакції з біомолекулами;

– ВР при взаємодії із різноманітними речовинами перетворюють їх також на ВР, у результаті чого відбуваються ланцюгові реакції.

Здатність ВР пошкоджувати біологічні структури та хімічні сполуки слід відокремити від інших властивостей ВР. Особливо небезпечним є той факт, що ВР можуть пошкоджувати:

- клітинні структури(до самої загибелі клітини);
- ферментні системи;
- генетичний апарат;
- окислювати ліпопротеїди (LDL).

Для компенсації небезпечних для організму ефектів роботи оксидантної системи існує система-антагоніст – антиоксиданта, що в комплексі з оксидантною системою забезпечує баланс утворення та утилізації АФК та ВР.

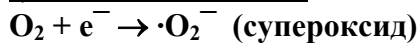
Умовно біомолекули, що складають основу антиоксидантної системи, можливо поділити на групи:

1) ферментна - супероксиддисмутаза, каталаза, метіонінредуктаза, глутатіонпероксидаза;

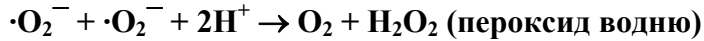
2) неферментна – церулоплазмін, альбуміни плазми, гама-глобуліни, гаптаглобін, ліпопротеїди високої щільності, гепарин, токоферолі, аскорбінова кислота, білірубін, відновлена форма тіолів, деякі амінокислоти.

Метаболізм супероксидного радикала за участю цілої низки ферментів приведено у реакціях 1-7.

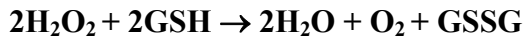
1) NADPH – оксидаза:



2) Супероксиддисмутаза (СОД):



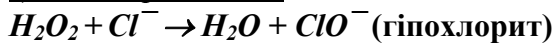
3) Глутатіонпероксидаза:



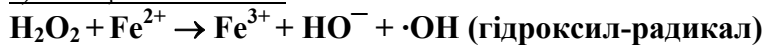
4) Каталаза:



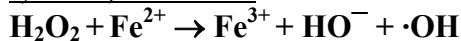
5) Мієлопероксидаза:



6) Реакція Фентона:



7) Реакція з HOCl:



Метаболізм пероксидного радикалу та нітрокису представлено на рис.2.

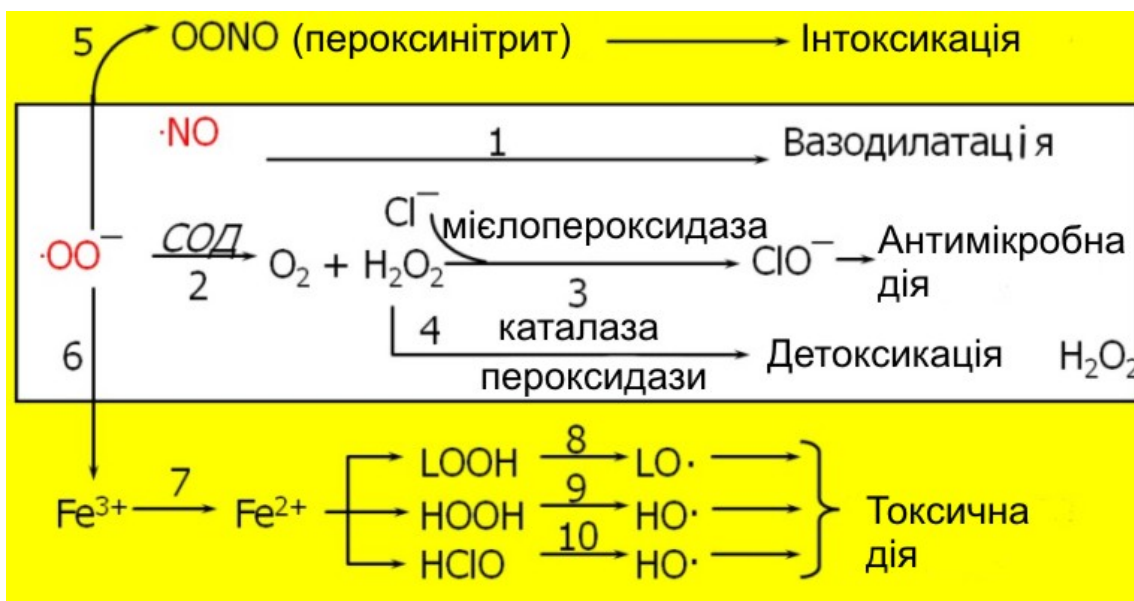


Рис.2. Метаболізм пероксидного радикала та нітрокису.

У перші години життя основними факторами, що сприяють утворенню вільних радикалів, зокрема супероксиду, мітохондріями є:

- Отруєння дихального ланцюга;
- Інгібування цитохромоксидази (наприклад, нітрокислом);
- Набухання мітохондрій та вихід цитохрому;
- Вихід цитохрому C через мегапори при апоптозі.

Збалансоване співвідношення активності про- та антиоксидантних систем є необхідною умовою для підтримання організму тварини в здоровому стані. Ці системи починають функціонувати ще до народження, але в пренатальному стані



антиоксидантна система організму пов'язана із материнською і автономно починає функціонувати тільки з народження. У перші дні життя, коли тварина переходить на інший тип живлення та змінює середовище проживання, повноцінне функціонування системи антиоксидантного захисту набуває особливого значення. Тому, від того як ефективно відбудеться активація процесів антиоксидантного захисту, залежить подальший розвиток організму тварини. Природним шляхом активації цих систем є своєчасне отримання якісного молозива в перші години та дні життя. Якщо рівень надходження біологічно-активних речовин із молозивом є недостатнім, можливе неефективне функціонування або навіть порушення роботи цих систем, що спричинює підвищення рівня захворюваності тварин і як наслідок зменшення показника збереженості в стаді.

За цих умов ефективним способом активації системи антиоксидантного захисту є штучна стимуляція відповідних механізмів за допомогою введення біологічно-активних добавок, що містять необхідні для роботи ферментних механізмів речовини [2-9].

Матеріали і методи досліджень. Експериментальні дослідження були проведені у 2008-2009 роках. Аналітичні дослідження виконані на базі лабораторії якості кормів та продукції тваринного походження ІТ УААН.

До складу композиції «Біотам» входять координаційно зв'язані з N-2,3-диметилфенілантраніловою кислотою іони металів - Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , та V^{5+} , Mo^{6+} , Se^{4+} у вигляді натрієвих солей Na_2SeO_3 , $NaVO_3$, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$. В 1 г препарату міститься: Zn^{2+} - 17 мг, Cu^{2+} - 3,7 мг, Co^{2+} - 0,35 мг, Cr^{3+} - 0,3 мг, Fe^{3+} - 14,5 мг, Mn^{2+} - 4 мг, V^{5+} - 0,05 мг, Mo^{6+} - 0,75 мг, Se^{4+} - 0,25 мг N-2,3-диметилфенілантранілової кислоти - 412 мг. Композиція була виготовлена на Київському вітамінному заводі.

Препарат вводили у вигляді желатинових капсул масою 0,25 г, щоденно, індивідуально кожній тварині за наступною схемою (табл.1):

1. Схема введення препарату «Біотам»

№	Група	Характер годівлі та доза введення композиції
1	Контрольна	Молозиво
2	Дослідна	Молозиво + «Біотам» 20 мг/кг живої маси/на 1 добу per os

Для досліду було відібрано 10 клінічно здорових бугайців від народження, української чорно-рябої породи живою масою від 26 до 28 кг. Усіх тварин утримували в аналогічних умовах. Було сформовано 2 групи тварин за методом пар-аналогів, по 5 голів у кожній: контрольну, яка отримувала тільки молозиво, та дослідну.

Кров відбирали шприцом із яремної вени (починаючи від народження тварин) до введення препарату і на 1, 5, 7, 10-й добу від початку експерименту. Гепаринізовані зразки крові (50 од. активності) 10 хвилин центрифугували при 1500 g, плазму відбирали, а виділені еритроцити тричі відмивали охолодженим фізіологічним розчином. Дієнові кон'югати (ДК) та малоновий діальдегід (МДА) визначали за методом Osakawa T. et all. [10], активність каталази за методом Королюка М.А. [11]. Отримані дані опрацьовували статистично, з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати досліджень. Результати досліджень за динамікою показників ПОЛ і АЗО у крові телят у ранній постнатальний період свідчать, що після народження в обох групах зростає активність супероксиддисмутази (СОД) до 10-ої доби на 0,61 ум.од/хв та 1,15 ум.од/хв на 1 мг Нв для контрольної та дослідної груп відповідно (табл.2).

Активність каталази на 10-у добу досліді зростала у контрольній на 16,6 % та знижувалась на 4,9 % у дослідній групі. В дослідній групі протягом досліді спостерігалася тенденція до зниження активності глутатіонпероксидази на фоні одночасного зменшення рівня відновленого глутатіону (на 8,1 %). При цьому рівень ТБК-активних продуктів (МДА) в дослідній групі був нижчий за контроль на 15,9%. У плазмі крові дослідних тварин також спостерігається зниження вмісту ДК по відношенню до контролю на 16,4 %. При введенні препарату «Біотам» з'являється достовірна тенденція стабілізації мембран еритроцитів до дії перекисів і на 10-у добу досліді цей показник у дослідній групі був на 8,4 % більший ніж у контролі.

2. Показники перекисного окиснення ліпідів (M±m)

№	Група	Доба від початку введення препарату				
		до введення	1-а	3-я	7-а	10-а
МДА, нМоль/см ³ плазми						
1	К	3,61±0,08	3,68±0,06	4,53±0,12	4,24±0,12	4,59±0,09
2	Д	3,20±0,11	3,41±0,09	3,52±0,08	3,62±0,05	3,86±0,14
ДК, мкМоль/см ³ плазми						
1	К	5,62±0,09	6,73±0,14	5,89±0,06	6,67±0,14	6,51±0,07
2	Д	5,04±0,12	5,08±0,09	4,91±0,10	5,14±0,09	5,44±0,15
Активність каталази, мМоль Н ₂ О ₂ /год/ на 1мг Нб еритроцитів						
1	К	56,41±0,73	62,48±0,61	59,10±0,51	63,12±0,43	65,79±0,68
2	Д	58,17±0,55	59,22±0,47	56,47±0,66	58,94±0,61	55,31±0,55
Перекисна резистентність еритроцитів, % гемолізу						
1	К	38,93±0,43	44,18±0,34	40,62±0,71	38,31±0,22	35,28±0,54
2	Д	42,21±0,51	43,75±0,29	37,19±0,44	35,87±0,49	32,29±0,37
Нб, г/дм ³						
1	К	121,1±4,00	125,0±7,21	135,6±10,2	132,8±3,8	128,1±10,2
2	Д	125,00±7,21	135,6±10,2	157,50±3,06*	186,65±7,70*	137,4±6,9*
Глутатіон відновлений, мг%						
1	К	131,97±5,69	135,4±2,55	140,73±2,66*	128,80±4,43	135,38±3.15**
2	Д	130,40±2,41	125,18±3,45	130,40±2,41	119,74±8.48*	124,43±1.88*
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв./ на 1 мг Нб еритроцитів						
1	К	523,7±24,7	571,3±24,4**	586,4±34,1	680,8±46,2*	561,4±22,7
2	Д	535,9±26,4	434,7±15,6*	478,4±33,9	545,9±36,1	499,3±17,4
СОД, ум.од/хв./ на 1 мг Нб						
1	К	1,90±0.25	2,22±0,33	2,49±0,26	2,77±0,14	2,51±0,23
2	Д	1,98±0,19	2,54±0,27	2,63±0,38	3,26±0,24**	3,13±0,32**

Примітка. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; Нб – гемоглобін.

Висновки:

1. Препарат «Біотам» підвищує стабільність мембран еритроцитів телят до дії перекисів;
2. Уведення препарату «Біотам» телятам молочного віку дещо знижує активність каталази еритроцитів;



3. Застосування препарату «Біотам» знижує рівень накопичення продуктів ПОЛ в плазмі крові телят.

Бібліографічний список

1. Перекисное окисление и стресс / [В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голотин, Ю.Б. Кудряшов]. – Ленинград: Наука, 1991. – 160 с.
2. Стецько Т.І. Особливості живлення телят у період ставлення румінантного типу травлення / Т.І. Стецько // Науково-технічний бюлетень ІБТ ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок УААН. – 2006. – №1,2. – С. 30-41.
3. Барабой В.А. Биоантиоксиданты / В.А. Барабой - Москва: Книга плюс, 2006. – 513 с.
4. Yuan Y.V. Endogenous antioxidants: role of antioxidant enzymes in biological systems / Y.V. Yuan, D.D. Kitts // In : Shahidi F., ed. Natural antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications. – 1997. – P.258-270.
5. Вальдман А.Р. Витамины в питании животных / П.Ф. Сурай, И.А. Ионов, Сахацкий Н.И. – Х.: РИП «Оригинал», 1993. – С.124-125.
6. Материалы 7 конференции Балтийских стран по птицеводству. – Рига. –1999. – С.34-38.
7. Кандиба В.М. Фізіолого-біохімічні аспекти дії преміксів на продуктивність і життєздатність молодняка великої рогатої худоби / В.М. Кандиба, О.М. Маменко, В.М. Маранець // Наук. зб. Інституту біології тварин. – 1999. – Т.1, №1, – С.71-75.
8. Гусейнов Г. М. Участие селена в регуляции перекисного окисления липидов биомембран и активность глутатионпероксидазы / Г. М. Гусейнов, Э. М. Насибов, А. И. Джафаров // Биохимия. – 1990. – Т. 55, № 3. – С.499-507.
9. Свеженцов А.И. Нетрадиционные кормовые добавки для животных и птицы: Монография / А.И. Свеженцов, В.Н. Коробко. – Д.: АРТ-ПРЕСС, 2004. – 296 с.
10. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi // Anal. Biochem. – 1979. – V. 95. – P. 351 – 358.
11. Метод определения активности каталазы / М.А. Кролюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова [и др.]. // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16 – 19.

ИМПУЛЬСНАЯ АКТИВАЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ТЕЛЯТ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Ахтырский А.В., Шаповалов С.О., Институт животноводства УААН

Ионов И.А., Григорьева А.С., Конахович Н.Ф., Бухарина М.Г., Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины

В работе приведены данные о влиянии микроэлементсодержащей композиции «Биотам» на основные процессы перекисного окисления липидов в крови молочных телят при условии перорального введения. Авторами было показано достоверное увеличение перекисной резистентности эритроцитов по отношению к контролю, увеличение активности СОД на 24,7 %, уменьшение активности каталазы на 18,9 % и уменьшение уровня МДА в плазме крови на 15,9 %. Введение препарата «Биотам» незначительно уменьшает содержание восстановленного глутатиона.

Ключевые слова: СОД, координационные соединения, микроэлементы, ДК, МДА, ПРЭ, АЗО, ПОЛ.

IMPULSE ACTIVATION OF ANTIOXIDATION PROTECTION OF CALF IN EARLY POSTNATAL ONTOGENESIS

Akhtyrskiy A.V., Shapovalov S.O.; Institute of animal science of UAAS

Ionov I.A., Grigoreva A.S., Konahovich N.F., Buharina M.G., Institute of pharmacology and toxicology AMS of Ukraine.

This article presents the test data on 'Biotam' preparation impact on the main processes of lipid peroxidation in calves blood by oral dosing. By authors was showed reliable increase of peroxide resistance of erythrocytes in experimental group, increase of SOD activity on the 24,7 %, decrease of catalase activity on the 18,9 % and decrease of content of MDA in blood serum on the 15,9 %. Introduction of "Biotam" insignificantly decreasing content of reduced glutathione.

Key words: SOD, coordination compounds, microelements, DC, MDA, PRE, APO, LP.

УДК 612.79-015-092.18-092.9:615.916'175

НО-ЗАЛЕЖНІ ЗМІНИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ШКІРІ ТВАРИН ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО НАДХОДЖЕННЯ В ОРГАНІЗМ НІТРАТУ НАТРІЮ

Рецензент: канд. с.-г. наук, д.-тор філос. за фахом «фізіологія людини та тварин» Денисенко М.В.

О.П. Оренчук, В.О. Костенко

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

В експерименті на 40 білих щурах виявлено, що в динаміці хронічної інтоксикації нітратом натрію в шкірі спостерігається прогресуюче збільшення продукції оксиду азоту і супероксидного аніон-радикала. Основними джерелами останнього є мітохондріальний і мікросомальний електронно-транспортні ланцюги. Продукція супероксидного аніон-радикала НАДФН-оксидазою лейкоцитів у тканинах шкіри білих щурів обмежена часовим проміжком (на 14-30 добу). Хронічна інтоксикація нітратом натрію сприяє істотній активації процесів вільнорадикального пероксидного окиснення ліпідів і виснаженню антиоксидантного потенціалу в шкірі щурів уже на 30 добу інтоксикації. Зміна активності антиоксидантних ферментів у тканинах шкіри білих щурів носить фазний характер. На 14 добу інтоксикації активність супероксиддисмутази та каталази зростає, а надалі знижується (каталази – на 30 добу, супероксиддисмутази – після 3-місячного введення нітрату натрію).

Ключові слова: оксид азоту, нітрати, окислювальний метаболізм, супероксидний аніон-радикал, шкіра.

Широке використання нітратів і нітритів у промисловості та сільському господарстві нерідко обумовлює надходження цих сполук в організм тварин і людини у концентраціях, що значно перевищують гранично припустимі [1]. Типовим механізмом дії нітрат-іонів вважається їхнє відновлення до нітрит-іонів, а тих, у свою чергу, до оксиду азоту (NO) [2-3].

В останні роки повідомляється про роль NO у фізіологічній регуляції функцій шкіри [4-5]. Оксид азоту і NO-синтази виявлені у кератиноцитах, меланоцитах, клітинах Лангерганса, фібробластах і ендотеліоцитах [4]. На поверхні шкіри NO здатний утворюватися неферментативно внаслідок ацидифікації чи шляхом