

УДК 619:615.9:619
© 2013

*Леськів Х. Я., аспірант **

Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького

СПОСОБИ КОРЕКЦІЇ БІОХІМІЧНИХ ЗМІН В ОРГАНІЗМІ ТВАРИН ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОГО НІТРАТНО-НІТРИТНОГО ТОКСИКОЗУ

Рецензент – доктор біологічних наук В. І. Завірюха

Розкритий вплив нітратного навантаження на біохімічні показники крові поросят, а також запропоновані способи корекції патогенезу токсикозу наступними антиоксидантами: «Фенароном», «Метіфеном» та «Метіоніном». Застосування поросят в умовах розвитку нітратно-нітратного токсикозу «Метіоніну», «Фенарону» та «Метіфену» сприяло нормалізації морфологічних і біохімічних показників крові піддослідних поросят. Крайню нормалізуючу дію на організм поросят, яким здійснювали нітратне навантаження, проявляв «Метіфен» у дозі 0,9 мг/кг.

Ключові слова: хронічний нітратно-нітритний токсикоз, «Фенарон», «Метіфен», «Метіонін».

Постановка проблеми. Використання кормів із підвищеним вмістом у них нітратів призводить до хронічних і гострих отруєнь, особливо у свиней. Крім того із нітритів за наявності амінів можуть утворюватися N-нітрозаміни, що мають канцерогенну активність. Це може сприяти утворенню ракових пухлин [2]. Саме тому нітритно-нітратні токсикози – одна з найбільш актуальних проблем ветеринарної медицини [4].

Аналіз останніх досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. Отруєння тварин нітратами – одна з найбільш складних проблем сучасної практики ветеринарної медицини. Актуальність цього питання зумовлена широким розповсюдженням нітратів у навколишньому середовищі, високим рівнем інтоксикації тварин та загибелі їх від отруєння

цими речовинами. Препарат «Метіфен» рекомендовано для використання у тваринництві за умов наявності в кормах нітратів понад максимально допустимий рівень. До складу «Метіфену» входять препарати «Фенарон» та «Метіонін» [1].

Склад крові – відносно сталий показник, що є водночас однією з лабільних систем організму поросят. Фізіологічні процеси, які відбуваються в організмі, суттєво позначаються на якісному складі крові. Гематологічні дослідження дають можливість глибше вивчати вплив «Метіоніну», «Фенарону» та «Метіфену» на організм поросят за розвитку хронічного нітритно-нітратного токсикозу [3, 5, 6].

Метою дослідження було вивчити вплив антиоксидантів «Фенарон», «Метіфен» та «Метіонін» на морфологічні та біохімічні показники крові поросят за умов розвитку хронічного нітритно-нітратного токсикозу. **Завдання дослідження:** визначити вплив нітратного навантаження на біохімічні показники крові поросят; запропонувати способи корекції патогенезу токсикозу за допомогою антиоксидантів.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктами досліджень були 30 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 й три дослідні. Схема дослідів наведена у таблиці 1.

1. Схема дослідів

К	Поросятм згодовували нітрат натрію у дозі 0,3 г NO ₃ ⁻ /кг маси тіла один раз на добу протягом досліджень (контрольна)
Д ₁	Поросятм згодовували «Метіонін» у дозі 4 мг/кг тв. + нітрат натрію у дозі 0,3 г NO ₃ ⁻ /кг маси тіла один раз на добу протягом досліджень
Д ₂	Поросятм згодовували «Фенарон» у дозі 1,20 мг/кг тв. + нітрат натрію у дозі 0,3 г NO ₃ ⁻ /кг маси тіла один раз на добу протягом досліджень
Д ₃	Поросятм згодовували «Метіфен» у дозі 0,9 мг/кг тв. + нітрат натрію у дозі 0,3 г NO ₃ ⁻ /кг маси тіла один раз на добу протягом досліджень

* Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор Д. Ф. Гуфрій

Кров для досліджень брали з краніальної порожнистої вени на початку досліду та на 10-у, 30-у, 60-у, 90-у добу після згодовування нітрату натрію. У крові визначали наступні показники: кількість лейкоцитів – за допомогою сітки Горєва у лічильній камері; кількість еритроцитів – фотоелектроколометрично за методикою Є. С. Гаврилець і співавт. (1966). У сироватці крові досліджували: активність аспартат-амінотрансферази (АсАТ) (К.Ф. 2.6.1.1.) і аланін-амінотрансферази (АлАТ) (К.Ф. 2.6.1.2.) – за методом Райтмана й Френкеля в модифікації К. Г. Капетанакі (1962).

Результати досліджень. Результати досліджень впливу нітратів на кількість еритроцитів, лейкоцитів, активність аспартат- та аланінамінотрансферази у крові поросят наведені у таблицях 2–5.

Основну масу елементів крові становлять еритроцити. Як видно з даних таблиці 5, за згодовування поросятм нітрату натрію у дозі 0,3 г NO₃⁻/кг маси тварини на 10-у добу досліду кількість еритроцитів збільшилася на 3 % відносно початкових величин. На 30-у добу досліду кількість еритроцитів продовжувала зростати й відносно початкових величин зросла на 6 %. Найвищою була кількість еритроцитів у крові поросят контрольної групи тварин на 60-у добу досліду, де, відповідно, вона становила (7,21±0,12)×10¹²/л.

Висока кількість еритроцитів у крові поросят контрольної групи, вірогідно зросла як захисно-приспосувальна реакція організму внаслідок високого рівня метгемоглобіну. Це спрямовано на

постачання кисню до тканин внаслідок розвитку гемічної гіпоксії.

Згодовування поросятм препаратів-антиоксидантів сприяло нормалізації кількості еритроцитів у крові дослідних тварин. Вірогідні зміни кількості еритроцитів встановлено на 30-у і 60-у доби досліду в усіх дослідних групах тварин. Так, на 30-у добу досліду кількість еритроцитів у крові дослідної групи тварин, яким згодовували «Фенарон», знизилася до (7,00±0,13)×10¹²/л, а у крові тварин, яким згодовували «Метіфен», відповідно, до (6,89±0,11)×10¹²/л. На 60-ту добу досліду встановлено найнижчу кількість еритроцитів у крові дослідної групи тварин, яким згодовували з кормом «Метіфен».

Результати досліджень на поросятх показали, що після згодовування нітрату натрію кількість лейкоцитів у їх крові поступово зростала протягом усього досліду: на 10-у добу зросла на 7 %, на 30-у добу – на 11 %, на 60-у добу – на 15 %, на 90-у добу – на 10 %. Після згодовування поросятм «Метіоніну», «Фенарону» та «Метіфену» за хронічного нітратно-нітритного токсикозу кількість лейкоцитів у крові дослідних тварин знижувалася: на 10-у добу на 4,6 % у поросят дослідної групи Д₁ та на 3,7 % – у поросят дослідної групи Д₂ і Д₃ тварин. На 30-у добу кількість лейкоцитів крові у дослідних поросят дещо зросла й, відповідно, становила (11,0±0,32)×10⁹/л у поросят, яким згодовували «Метіонін», (10,9±0,25)×10⁹/л – у поросят, яким згодовували

2. Вплив «Метіоніну», «Фенарону» та «Метіфену» на кількість еритроцитів у крові поросят за хронічного нітратно-нітритного токсикозу, ×10¹²/л (M±m, n = 5)

Групи	Періоди дослідження				
	На початку досліду	10-а доба	30-а доба	60-а доба	90-а доба
К	6,66 ± 0,28	6,89±0,11	7,08±0,11	7,21±0,12	7,13±0,12
Д ₁	6,71 ± 0,25	6,87± 0,12	7,03± 0,11	7,12±0,12	7,07± 0,12
Д ₂	6,68 ± 0,21	6,82± 0,22	7,00± 0,13	7,04± 0,11	7,01± 0,13
Д ₃	6,70 ± 0,23	6,79± 0,21**	6,89± 0,11	6,99± 0,12**	7,00± 0,13

Примітка: у цій та наступних таблицях ступінь вірогідності, порівняно з даними контрольних груп: * p ≤ - 0,05; ** p ≤ - 0,02 ; *** p ≤ 0,001

3. Вплив «Метіоніну», «Фенарону» та «Метіфену» на кількість лейкоцитів у крові поросят за хронічного нітратно-нітритного токсикозу, ×10⁹/л (M±m, n = 5)

Групи	Періоди дослідження				
	На початку досліду	10-а доба	30-а доба	60-а доба	90-а доба
К	10,1 ± 0,19	10,9 ± 0,38	11,2 ± 0,40	11,6 ± 0,37	11,1 ± 0,41
Д ₁	10,4 ± 0,15	10,4± 0,25	11,0± 0,32	11,3± 0,31	10,9± 0,28
Д ₂	10,2 ± 0,24	10,5± 0,19	10,9± 0,25	11,0± 0,34	10,7± 0,30
Д ₃	10,5 ± 0,18	10,5± 0,15	10,7± 0,30	10,8± 0,25	10,5± 0,20

«Фенарон», та $(10,7 \pm 0,30) \times 10^9$ /л у поросят, яким згодовували «Метіфен».

Отже, згодовування поросят «Метіоніну», «Фенарону» та «Метіфену» за умов розвитку хронічного нітратно-нітритного токсикозу, нормалізується кількість лейкоцитів у крові. Функцію печінки в разі розвитку хронічного нітратно-нітритного токсикозу досліджували за визначенням у сироватці крові активності ферментів групи амінотрансфераз, зокрема, аспартат- і аланін-амінотрансферази.

Встановлено, що за розвитку хронічного нітратно-нітритного токсикозу в крові поросят зростає аспартат-амінотрансфераза: на 10-у добу дослідження вона підвищилася на 5,3 %, а на 30-у добу, відповідно, на 8,9 % відносно вихідних величин. На 60-у добу дослідження активність АсАТ у крові контрольної групи тварин, яким задавали нітрат натрію, становила $0,426 \pm 0,11$ ммоль/л/год, що на 18,3 % більше початкових величин у крові поросят взятих ще до згодовування нітрату натрію. На 90-у добу дослідження активність АсАТ продовжувала зростати й, відповідно, становила $0,429 \pm 0,15$ ммоль/л/год. Згодовування з кормом метіоніну сприяло зниженню активності АсАТ у крові дослідних тварин, яким здійснювали нітратне навантаження, вже починаючи з 10-ї доби дослідження. Так, у тварин дослідної групи Д₁ активність ферменту становила $0,361 \pm 0,14$ ммоль/л/год., тоді як у контрольній групі вона становила $0,379 \pm 0,10$ ммоль/л/год., тобто активність АсАТ зросла на 4,7 %. На 30-у добу дослідження активність АсАТ у крові дослідної групи Д₁ у відношенні до 10-ї години зросла,

проте порівняно з контрольною групою тварин вона знизилася на 4,8 %. Максимального значення активність ферменту досягала на 60-у добу дослідження, де, відповідно, вона становила $0,397 \pm 0,14$ ммоль/л/год., що менше на 6,8 % порівняно з контрольною групою тварин. На 90-у добу дослідження активність АсАТ досягала величин крові, взятої на 10-у добу дослідження.

Після згодовування тваринам «Фенарону» активність АсАТ у їх крові на 10-у добу дослідження знизилася на 5,2 % відносно величин контрольної групи тварин. На 30-у і 60-у доби дослідження активність ферменту у крові Д₁, відповідно, знизилася на 9,2 і 10,6 %. На 90-у добу дослідження активність АсАТ у крові дослідних поросят досягала $0,361 \pm 0,12$ ммоль/л/год. Аналізуючи активність АсАТ у крові поросят, яким згодовували «Метіфен», можна відзначити, що на 10-у добу дослідження активність ферменту знизилася на 5,8 %, на 30-у добу дослідження знизилася на 19,5 %, а на 60-у добу дослідження знизилася на 13,6 % відносно величин контрольної групи тварин. На 90-у добу дослідження активність АсАТ у крові дослідної групи Д₃ становила $0,358 \pm 0,13$ ммоль/л/год. У таблиці 4 наведено дані про зміни активності аланін-амінотрансферази у крові поросят за умов хронічного нітратно-нітритного токсикозу та впливу препаратів-антиоксидантів. У поросят, яким ще не здійснювали нітратне навантаження, активність АлАТ коливалася у межах величин $0,215 \pm 0,11 \dots 0,222 \pm 0,12$ ммоль/л/год. Після згодовування нітрату натрію у дозі 0,3 г NO₃/кг маси тіла активність АлАТ у крові поросят

4. Вплив «Метіоніну», «Фенарону» та «Метіфену» на активність аспартат-амінотрансферази у крові поросят за хронічного нітратно-нітритного токсикозу, ммоль/л/год (M±m, n = 5)

Групи	Періоди дослідження				
	На початку дослідження	10-а доба	30-а доба	60-а доба	90-а доба
К	$0,360 \pm 0,13$	$0,379 \pm 0,10$	$0,392 \pm 0,12$	$0,426 \pm 0,11$	$0,429 \pm 0,15$
Д ₁	$0,355 \pm 0,14$	$0,361 \pm 0,14$	$0,373 \pm 0,12$	$0,397 \pm 0,14$	$0,369 \pm 0,13^*$
Д ₂	$0,350 \pm 0,16$	$0,359 \pm 0,12$	$0,356 \pm 0,11^{**}$	$0,381 \pm 0,13^{**}$	$0,361 \pm 0,12^{**}$
Д ₃	$0,356 \pm 0,12$	$0,357 \pm 0,13^{**}$	$0,362 \pm 0,11^{**}$	$0,368 \pm 0,12^{**}$	$0,358 \pm 0,13^{***}$

5. Вплив «Метіоніну», «Фенарону» та «Метіфену» на активність аланін-амінотрансферази у крові поросят за хронічного нітратно-нітритного токсикозу, ммоль/л/год (M±m, n = 5)

Групи	Періоди дослідження				
	На початку дослідження	10-а доба	30-а доба	60-а доба	90-а доба
К	$0,220 \pm 0,11$	$0,286 \pm 0,13$	$0,320 \pm 0,11$	$0,334 \pm 0,11$	$0,337 \pm 0,12$
Д ₁	$0,218 \pm 0,11$	$0,238 \pm 0,10$	$0,259 \pm 0,11^*$	$0,267 \pm 0,13^*$	$0,270 \pm 0,11^*$
Д ₂	$0,222 \pm 0,12$	$0,230 \pm 0,12^{**}$	$0,240 \pm 0,12^{**}$	$0,250 \pm 0,10^{**}$	$0,247 \pm 0,12^{**}$
Д ₃	$0,215 \pm 0,11$	$0,223 \pm 0,11^{**}$	$0,231 \pm 0,10^{**}$	$0,238 \pm 0,13^{**}$	$0,225 \pm 0,11^{**}$

групи К₁ на 10-у добу досліду зросла на 30 %, на 30-у добу досліду – на 45 %, на 60-у добу досліду – на 51,8 %, на 90-у добу досліду – на 53,2 % відносно вихідних величин.

Порівнюючи отримані дані дослідної групи тварин Д₁ із контрольною групою тварин, виявлено суттєве зниження активності ферменту АлАТ протягом усього досліду.

Так, на 10-у добу досліду активність ферменту знизилася до 0,238±0,10 ммоль/л/год, а на 30-у добу досліду відносно контролю знизилася на 19 %.

На 60-у добу досліду відзначаємо більшу різницю активності АлАТ між дослідною Д₁ та контрольною К групами, на 90-у добу досліду активність ферменту, відповідно, знизилася на 20 %. У разі згодовування поросят «Фенарону» і «Метіфену» встановлено аналогічні зміни активності АлАТ у крові тварин дослідних груп Д₂ і Д₃, як і за згодовування «Метіоніну», проте активність ферменту була дещо нижчою. На 10-у добу досліду активність АлАТ у дослідних групах коливалась у межах величин 0,223±0,11...0,230±0,12 ммоль/л/год, тоді як у контрольній групі тварин вона становила 0,286±0,13 ммоль/л/год.

На 30-у добу досліду встановлено зниження активності ферменту відносно контрольної групи тварин, у дослідній групі Д₂ – на 25 % та у дослідній групі Д₃ – на 28 % відповідно.

На 60-у добу досліду активність АлАТ у дослідних групах тварин дещо зросла у відношенні з попередньою добою досліду, однак порівняно з контрольною групою тварин вона знизилася на 25 і 29 %, відповідно.

На 90-у добу досліду активність АлАТ доходила до меж величин фізіологічної норми тільки у тварин, яким задавали з кормом «Метіфен».

Виходячи із результатів досліджень можна вважати: в разі розвитку хронічного нітритно-нітратного токсикозу активність аланін-амінотрансферази підвищується дещо більше, ніж активність аспартат-амінотрансферази.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Гунчак В. М. Новий антиоксидант «Метіфен» та його застосування для профілактики нітратно-нітритного токсикозу у курей // Гунчак В. М. // Сільський господар. – 2004. – №7. – С. 13–15.
2. Гутий Б. В., Винярска А. В., Гуфрій Д. Ф. [та ін.] Показники крові бичків при хронічному нітратно-нітритному токсикозі / Гутий Б. В., Винярска А. В., Гуфрій Д. Ф. [та ін.] // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. – Дніпропетровськ, 2005. – С. 246–249.

Це зумовлено тим, що АлАТ навіть за незначних деструктивних уражень мембрани гепатоцитів, вона легко виділяється з них і проникає у кров'яне русло.

Натомість фермент АсАТ міститься у мітохондріях гепатоцитів, а тому проникнення його у кров ускладнюється ще й тим, що крім поверхневої оболонки клітини фермент повинен проходити ще й через мітохондріальну мембрану.

Зростання активності амінотрансфераз – аланін- і аспартат-амінотрансферази у крові дослідних поросят, можливо, зумовлене тим, що нітриди пошкоджують біологічні мембрани клітин, у результаті чого з гепатоцитів у кров проникають дані ферменти. І чим глибші структурні пошкодження біологічних мембран, тим вища активність амінотрансфераз у сироватці крові.

Однак, застосування препаратів метіоніну, фенарону та метіфену дослідним поросят за умов хронічного нітратно-нітритного навантаження блокують токсичну дію нітратів і нітритів на печінку поросят, на що вказує зниження активності амінотрансфераз у їх крові.

Висновки:

1. Згодовування поросят із кормом нітрату натрію у дозі 0,3 г NO₃⁻/кг сприяло зростанню кількості еритроцитів і лейкоцитів та активності амінотрансфераз.

2. Застосування поросят в умовах розвитку нітратно-нітритного токсикозу «Метіоніну», «Фенарону» та «Метіфену» сприяло нормалізації морфологічних і біохімічних показників крові піддослідних поросят.

3. Кращу нормалізуючу дію на організм поросят, яким здійснювали нітратне навантаження, проявляв «Метіфен» у дозі 0,9 мг/кг.

Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення впливу антиоксидантів: «Метіфену», «Фенарону» та «Метіоніну» на стан антиоксидантного та імунного захисту свиней за хронічного нітратно-нітритного токсикозу.

3. Гуфрій Д. Ф. Нитраты и активность ферментов / Гуфрий Д. Ф. // Тез. докл. науч. конф. Казан. вет. ин-та. «Экологические проблемы фармакологии и токсикологии». – Казань, 1990. – С. 25.

4. Хмельницький Г. А. Интенсификация земледелия и проблемы нитратов в животноводстве и ветеринарии / Хмельницький Г. А. // Тез. докладов конф. – К., 1990. – С. 18–19.

5. *Skorochid V., Hunchak V., Khomyk R., Guphrij D.* Patogenesis of nitrat and nitrite roisonong of the introduction of nitrates into their organism with fodded or water. / Skorochid V., Hunchak V., Khomyk R., Guphrij D. // Ukrainian-Austrian symp. «Agriculture: Science and Practice». – Lviv, 1996. – P. 113.

6. *Norton J. H., Hogan J. P.* Lack of association between abortion and blood ammonia and methaemoglobin concentrations in dairy cow grazing improved pastures on the Atherton Tableland // Australian Veterinary Journal. – 1993 – Vol. 70, № 5. – P. 194–195.