

ВПЛИВ УРСОВІТ-АДЕС ТА СЕЛЕНІТУ НАТРІЮ НА АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ БИЧКІВ ПРИ ГОСТРОМУ НІТРАТНО-НІТРИТНОГО ТОКСИКОЗИ

В.О. Губерук

Б.В. Гутий, д.вет.н., доцент

Д.Ф. Гуфрій, д.вет.н., професор

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

У статті наведено результати досліджень впливу нітрату натрію на показники глутатіонової системи антиоксидантного захисту у молодняку великої рогатої худоби, а саме на активність глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Встановлено, що згодовування бичкам даного токсиканту у дозі 0,45 NO₃ /кг маси тіла активність ензимів у крові дослідних тварин упродовж усього досліду знижується. За умов нітратного навантаження, молодняку великої рогатої худоби застосовували препарати урсовіт АДЕС та селеніт натрію. Виявлено стимулювальний вплив препаратів на активність глутатіонової системи антиоксидантного захисту. Зокрема, встановлено вірогідне підвищення активності глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. в крові молодняку великої рогатої худоби, яким здійснювали нітратне навантаження.

Ключові слова: нітрати, бички, антиоксиданти, токсикологія, антиоксидантна система.

У сучасній токсикології активація перекисного окиснення ліпідів розглядається як універсальна відповідь живого організму на дію екстремальних факторів [2]. Загалом, прооксидантно-антиоксидантний статус організму тварин відбиває баланс між двома протилежно спрямованими діями в організмі, а саме: антиоксидантними властивостями (захист) та утворенням вільних радикалів (пошкодження). Вплив екстремальних чинників, включно токсикантів, призводить до порушення рівноваги між ними у прооксидантний бік і розвитку так званого "окиснювального стресу" [1].

Забрудненість навколишнього середовища нітратами і нітритами та їхній негативний вплив на організм тварин роблять проблему вивчення механізму нітратно-нітритного токсикозу у сільськогосподарських тварин особливо актуальною, що має теоретичне та практичне значення.

На фоні опублікованих наукових праць, присвячених вивченню нітратно-нітритного токсикозу у сільськогосподарських тварин є повідомлення, які стверджують, що токсична дія нітратів проявляється у двох взаємообумовлених напрямках. На першому етапі відбувається метгемоглобіноутворення і активація вільних радикалів, які на другому етапі ініціюють процеси перекисного окиснення ліпідів [1-3]. Інтенсивність вільнорадикального перекисного окиснення в організмі тварин залежить від концентрації кисню в тканинах, а також від активності ензимних і неензимних систем.

Саме тому **метою** наших досліджень було вивчити вплив урсовіту-АДЕС та селеніту натрію на активність ензимної системи антиоксидантного захисту організму молодняку великої рогатої худоби за гострого нітратно-нітритного токсикозу.

Матеріали та методи досліджень. Досліди проводились на бичках шестимісячного віку, чорно-рябї породи, які були сформовані у 3 групи по 5 тварин у кожній.

Бичкам контрольної групи згодовували з кормом одноразово нітрат натрію у дозі

0,45 NO₃ /кг маси тіла. Бичкам першої дослідної групи одноразово згодовували нітрат натрію у дозі 0,45 NO₃ /кг маси тіла та через три години внутрішньом'язово вводили урсовіт АДЕС у дозі 4 мл/тварину. Бичкам другої дослідної групи одноразово згодовували нітрат натрію у дозі 0,45 NO₃ /кг маси тіла та через три години внутрішньом'язово вводили урсовіт АДЕС у дозі 4 мл та 0,5 % розчин селеніту-натрію у дозі 1 мл.

Венозну кров відбирали на початку досліду та через 3 години після згодовування бичкам нітрату натрію, а також через 1, 2, 3, 6, 9, 12 годин після введення вітамінних препаратів.

Активність глутатіонпероксидази (ГП) (К.Ф.1.11.1.9.) та глутатіонредуктази (ГР) (К.Ф.1.6.4.2.) визначали за методом В.В. Лемешко і співавт. [4], активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) (К.Ф.1.1.1.49.) – за методом N.Z. Vaquezetal [5].

Результати власних досліджень. У патогенезі різних токсикозів бере участь перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантна система, що у фізіологічних умовах забезпечує функціонування системи регуляції клітинного гомеостазу. Тому при гострому нітратно-нітритному токсикозі ми застосовували препарати, які володіють як прямою так і непрямою антиоксидантною дією на активні форми кисню та продукти перекисного окиснення ліпідів.

Важливою системою антиоксидантного захисту є глутатіонова система, яка представлена ензимною системою: глутатіонредуктазою, глутатіонпероксидазою, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназою.

Зміни активності глутатіонредуктази при гострому нітратно-нітритному токсикозі молодняку великої рогатої худоби та впливу вітамінного препарату та селеніту натрію наведені у таблиці 1.

На початку досліду активність ГР у сироватці крові бичків була у межах фізіологічних величин. Після згодовування нітрату натрію активність даного ферменту у контрольній групі почала коливатися у межах 1,71±0,045-1,20±0,033 нмоль

NADPH/хв. на 1 мг білка. Лише на третю годину відмічаємо активізацію ферменту, де порівняно з

контрольними величинами, активність ферменту зросла на 9,6, 6,3 та 4,3 %.

Таблиця 1

Активність глутатіонредуктази у сироватці крові бичків після застосування Урсовіт-АДЕС та селеніту натрію за гострого нітратно-нітритного токсикозу, нмоль NADPH/хв. на 1мг білка (M±m, n=5)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин		
	Контрольна	Дослідна 1	Дослідна 2
	До згодовування нітрату натрію		
Контроль	1,56±0,050	1,58±0,06	1,60±0,056
	Після згодовування нітрату натрію		
Третя година	1,71±0,045	1,68±0,057	1,67±0,035
	Після введення антиоксидантів		
	—	Урсовіт-АДЕС	Урсовіт-АДЕС+0,5% розчинселеніту-натрію
Перша година	1,57±0,065	1,53±0,045	1,62±0,048
Друга година	1,48±0,048	1,54±0,042*	1,59±0,045*
Третя година	1,23±0,024	1,47±0,037*	1,54±0,035**
Шоста година	1,20±0,033	1,47±0,031**	1,53±0,025**
Восьма година	1,25±0,026	1,50±0,034**	1,57±0,035**

Примітка. Ступінь вірогідності порівняно з даними контрольної групи – $p < 0,05$ *, $p < 0,001$ **

Після введення препаратів в організм хворих бичків, активність ензиму ГР у сироватці крові зростала. При застосуванні вітамінного препарату Урсовіт-АДЕС у тварин групи Д₁ на другу годину дослідження активність ГР зросла на 4 %, тоді як на шосту годину вона відповідно зросла на 22 %. На восьму годину активність ГР доходила меж фізіологічних величин. При сукупному застосуванні Урсовіт-АДЕС та селеніту натрію активність ензиму ГР протягом усього дослідження була у межах величин 1,62±0,048-1,51±0,035 нмоль NADPH/хв. на 1мг білка.

Другий важливий фермент глутатіонової системи – це глутатіопероксидаза, яка каталізує розклад гідроперексидів ліпідів нерадикальним шляхом за допомогою відновленого глутатіону. Активність даного ензиму у сироватці крові бичків після застосування Урсовіт-АДЕС та селеніту

натрію за гострого нітратно-нітритного токсикозу наведена у таблиці 2.

До згодовування нітрату натрію активність ГП у сироватці крові дослідних груп тварин була у межах 37,10±1,1-37,18±1,2 нмоль NADPH/хв. на 1мг білка. Після згодовування нітрату натрію бичкам, відмічали на третю годину дослідження незначне підвищення, однак у контрольній групі тварин, активність ГП у подальшому знижувалась до 28,25±1,1 нмоль NADPH/хв. на 1мг білка. При введенні вітамінного препарату та селеніту натрію бичкам дослідних груп, активність ензиму підвищувалась порівняно з контрольною групою. Так, у дослідній групі бичків Д₁ активність ензиму на третю годину дослідження зросла на 19 %, на шосту годину – на 28 %, тоді як у дослідній групі Д₂ активність зросла відповідно на 24 і 31 % відносно величин контрольної групи тварин.

Таблиця 2

Активність глутатіонпероксидази у сироватці крові бичків після застосування Урсовіт-АДЕС та селеніту натрію за гострого нітратно-нітритного токсикозу, нмоль NADPH/хв. на 1мг білка (M±m, n=5)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин		
	Контрольна	Дослідна 1	Дослідна 2
	До згодовування нітрату натрію		
Контроль	37,17±1,2	37,18±1,2	37,10±1,1
	Після згодовування нітрату натрію		
Третя година	38,10±1,1	38,15±1,3	38,04±1,1
	Після введення антиоксидантів		
	—	Урсовіт-АДЕС	Урсовіт-АДЕС+0,5% розчинселеніту-натрію
Перша година	34,98±1,0	35,42±1,3	35,67±1,4
Друга година	32,46±1,1	34,32±1,2	35,96±2,5*
Третя година	29,43±1,0	35,06±1,1**	36,59±1,2**
Шоста година	28,25±1,1	36,18±1,4**	36,87±1,3**
Восьма година	31,68±1,2	36,44±1,5*	37,05±1,4*

Примітка. Ступінь вірогідності порівняно з даними контрольної групи – $p < 0,05$ *, $p < 0,001$ **

Отже, застосування вітамінного препарату Урсовіт-АДЕС та селеніту натрію сприяло нормалізації активності глутатіонпероксидази краще ніж застосування самого Урсовіт-АДЕС, це можливо пов'язано з тим, що у селеніт натрію входить важливий елемент антиоксидантного захисту селен, а він у свою чергу входить до складу ферменту,

що досліджувався.

Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази за гострого нітратно-нітритного токсикозу та застосуванні антиоксидантів наведена у табл. 3. До згодовування бичкам нітрату натрію, активність Г-6-ФДГ знаходилася в межах величин 0,72±0,024-0,73±0,024 нмоль NADPH/хв. на 1мг білка.

Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у сироватці крові бичків після застосування Урсовіт-АДЕС та селеніту натрію за гострого нітратно-нітритного токсикозу, нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка (M±m, n=5)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин		
	Контрольна	Дослідна 1	Дослідна 2
	До згодовування нітрату натрію		
Контроль	0,72±0,025	0,73±0,024	0,72±0,024
	Після згодовування нітрату натрію		
Третя година	0,83±0,035	0,86±0,031	0,85±0,032
	Після введення антиоксидантів		
	—	Урсовіт-АДЕС	Урсовіт-АДЕС+0,5% розчинселеніту-натрію
Перша година	0,56±0,021	0,61±0,022	0,63±0,021
Друга година	0,52±0,021	0,56±0,020	0,61±0,020*
Третя година	0,50±0,017	0,57±0,018*	0,64±0,023**
Шоста година	0,44±0,016	0,53±0,015*	0,69±0,021**
Восьма година	0,53±0,013	0,57±0,021**	0,73±0,019**

Примітка. Ступінь вірогідності порівняно з даними контрольної групи – p<0,05-, p<0,001-***

Після згодовування бичкам з комбікормом нітрату натрію у дозі 0,45 г NO₃⁻/кг маси тіла, активність ензиму почала змінюватися. Зокрема, на третю годину дослідів, активність Г-6-ФДГ становила 0,83±0,035-0,86±0,031 нмоль NADPH/хв. на 1 мг білка. У контрольній групі бичків, яким не задавали антиоксидантів, активність ензиму продовжувала знижуватися і на четверту годину дослідів відповідно знизилася на 22 % відносно початкових величин.

Введення Урсовіту-АДЕС та селеніту натрію в організм хворих бичків, супроводжувало збільшенню активності Г-6-ФДГ у їх крові. Найвірогідніші зміни ферменту були на шосту годину дослідів, де у дослідній групі Д₁ він був нижчим на 20 %, а у групі Д₂ – на 57 %.

Отже, сукупне введення Урсовіту-АДЕС та селеніту натрію сприяло кращій нормалізації ензиму, що пов'язано із синергічними властивостями даних препаратів, які посилюють і продовжують дію один одного.

Висновки. 1. Застосування препаратів антиоксидантів за умов розвитку гострого нітратно-нітритного токсикозу бичків сприяли підвищенню активності ензимної ланки глутатионової системи антиоксидантного захисту (глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази) у крові дослідних тварин.

2. Сукупне введення урсовіту-АДЕС та селеніту натрію проявляло кращу дію на глутатионову систему антиоксидантного захисту організму бичків ніж застосування лише урсовіту-АДЕС.

Список використаної літератури:

1. Гутий Б.В. Нітратне навантаження організму бичків і стан антиоксидантної системи їх крові за цих умов / Б.В. Гутий // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С.С. Гжицького. – Том 6 (№ 3), частина 1, Львів – 2004. – С. 88-94.
2. Гутий Б.В. До методики вивчення впливу нітратів на стан антиоксидантної системи бичків / Гутий Б.В., Гуфрій Д.Ф. // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С.С. Гжицького. – Львів, 2004. – Т. 6 (№ 2), частина 2. – С. 48-52.
3. Гуфрій Д.Ф. Содержания нитратов и нитритов в химусе двенадцатиперстной кишки после введения бычкам нитрата натрия в разных дозах / Д.Ф. Гуфрій // Тезисы докладов Респ. конференции "Проблема нитратов в животноводстве и ветеринарии". – Киев, 1990. – С.28.
4. Лемешко В.В. Ферменты утилизации гидропероксидов и O₂ в миокарде крыс разного возраста / Лемешко В.В., Никитенко Ю.В., Ланкин В.З. // Бюл. экп. биол. и мед. – 1985. – № 5. – С.563-565.
5. Vaquezetal N.Z., Tevary K., Krishman P.S. // Arch. Biochem. Biophys. – 1967. – Vol. 120, № 1. – P. 22-34.

Губерук В.А., Гутый Б.В., Гуфрий Д.Ф. Влияние урсовита-адес и селенита натрия на активность ферментов глутатионової системи антиоксидантної зашиты организма бычков при остром нитратно-нитритном токсикозе

В статье приведены результаты исследований влияния нитрата натрия на показатели глутатионової системи антиоксидантної зашиты у молодняка крупного рогатого скота, а именно на активность глутатіонредуктазы, глутатіонпероксидазы и глюкозо-6-фосфатдегідрогеназы. Установлено, что скармливание бычкам данного токсиканта в дозе 0,45 NO₃⁻/кг массы тела активность ферментов в крови подопытных животных в течение всего опыта снижался. В условиях нитратной нагрузки, молодняка крупного рогатого скота применяли препараты урсовит АДЕС и селенит натрия. Установлено стимулирующее влияние препаратов на активность глутатионової системи антиоксидантної зашиты. В частности, установлено достоверное повышение активности глутатіонредуктазы, глутатіонпероксидазы и глюкозо-6-фосфатдегідрогеназы в крови молодняка крупного рогатого скота за нитратной нагрузки.

Ключевые слова: нитраты, бычки, антиоксиданты, токсикология, антиоксидантная система.

Huberuk V., Gutyj B., Hufriy D. The influence of ursovit-ades and sodium selenite on the activity of enzymes hlutations system of antioxidant defense of calves organism under conditions of nitrate-nitrite toxicosis

The results of studies of the effect of sodium nitrate in performance hlutationovoyi antioxidant defense system in young cattle, namely the activity of glutathione reductase, glutathione peroxidase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. Found that feeding bulls of the toxicant at a dose of 0.45 NO₃⁻/ kg activity of enzymes in the blood of experimental animals throughout the experiment decreased. When nitrate load of young cattle used drugs ursovit ADES and sodium selenite. Found stimulating effects on the activity of antioxidant hlutationovoyi. In particular, it was found significant increase in glutathione reductase activity, glutathione peroxidase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. Blood young cattle, which carried nitrate loading.

Keywords: calves, nitrates, antioxidants, toxicology, antioxidant system.

Дата надходження до редакції: 04.01.2015 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Березовський А.В.