

Харьков: НТМГ, 2007. – С. 23-44.

5. Agar A.W. The story of European commercial electron microscopes / Agar A.W. // Mulvey T. (ed) The Growth of electron microscopy. – 1996. – P. 30-34.

6. Микроскопическая техника: руководство / под ред. Д. С. Саркисова и Ю. Л. Перова. – М.: Медицина, 1996. – с.247-250.

7. Левченко А.Г. Особливості прояву маститу у корів у господарствах з різними технологіями та розробка комплексних профілактично-лікувальних заходів: дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.03 "Ветеринарна мікробіологія, епізоотологія, інфекційні хвороби та імунологія" / А.Г.Левченко. – Київ, 2015. – 20 с.

8. Краевский А.И. Бактериальный мастит у коров: монография / А.И. Краевский, М.В. Рубленко, Г.П. Дюльгер. – Сумы, 2014. – С.12-29.

Фотина Т. И., Левченко А. Г., Ивченко В. Д. Подготовка образцов *Staphylococcus aureus* для исследования методом растровой электронной микроскопии.

Приведена методика подготовки *Staphylococcus aureus* для исследования растровым электронным микроскопом (РЭМ-106 И). Подобрано оптимальное время контакта образцов микроорганизмов с фиксирующими реагентами, параметры центрифугирования и схема обезвоживания, что позволяет получить качественные электронно-микроскопические изображения при минимизации затрат времени на пробоподготовку.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, электронная микроскопия, глутаральдегидный фиксатор, центрифугирование, обезвоживание, растровый электронный микроскоп.

Fotina T. I., Levchenko A. G., Ivchenko V. D. Sample preparation *Staphylococcus aureus* for the study by scanning electron microscopy.

The technique of preparation of *Staphylococcus aureus* for the study of scanning electron microscope (SEM-106 II). Choose the optimum contact time of samples of microorganisms from fixing agents, the parameters of centrifugation and dehydration scheme that allows to obtain high-quality electron microscope images, while minimizing time-consuming sample preparation.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, electron microscopy, glutaraldehyde lock, centrifugation, dehydration, a scanning electron microscope.

Рецензент: д.вет.н., професор Улько Л. Г.

Дата надходження до редакції: 28.12.2015 р.

УДК 546.48

ВПЛИВ УРСОВІТУ-АДЕС ТА МЕВЕСЕЛУ-ІН'ЕКЦІЙНОГО НА ЕНЗИМНУ ЛАНКУ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ БИЧКІВ ЗА ГОСТРОГО КАДМІЄВОГО ТОКСИКОЗУ

Б. В. Гутий, д.вет.н., професор, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Ґжицького

Досліджено ензимну активність глутатіонної системи антиоксидантного захисту організму бичків за гострого кадмієвого токсикозу. Встановлено, що за розвитку кадмієвого токсикозу активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у сироватці крові бичків протягом усього досліджу знизувалась. Науково обґрунтовано доцільність використання Урсовіту-АДЕС і Мевеселу-ін'єкційного для корекції рівноваги у комплексі антиоксидантної системи та перекисного окиснення ліпідів у крові бичків за умов розвитку гострого кадмієвого токсикозу. Згадані препарати володіють антиоксидантними властивостями, про що вказує збільшення активності ензимів глутатіонної системи у сироватці крові бичків за кадмієвого навантаження. За гострого кадмієвого токсикозу бичків кращу дію на активність ензимів системи антиоксидантного захисту організму бичків проявляє Мевесел-ін'єкційний, порівняно з Урсовітом-АДЕС.

Ключові слова: кадмій, токсикологія, бички, кров, ензими, система антиоксидантного захисту, Урсовіт-АДЕС, Мевесел-ін'єкційний.

Постановка проблеми у загальному вигляді та аналіз основних досліджень і публікацій. Дія кадмію на організм тварин проявляється хронічними та гострими інтоксикаціями, які супроводжуються порушенням обміну речовин, фізіологічних функцій, зниженням рези-

стентності, продуктивності та здатності до відтворення [1, 10]. Універсальним механізмом, який відіграє ключову роль у розвитку кадмієвого токсикозу є активація вільнорадикальних процесів. Механізм ушкодження клітин радикальними метаболітами полягає у їх здатності ініціювати

перекисне окиснення ліпідів. До того ж ковалентно зв'язуватися з біомакромолекулами, а також генерувати активні форми кисню, які є високотоксичними і здатні започатковувати нові ланцюги вільнорадикальних реакцій [2, 8]. Вираженість ушкоджувальної дії радикальних продуктів залежить від інтенсивності їх продукування та швидкості знешкодження антиоксидантною системою [3-5]. Саме тому, важливим є розробка ефективної схеми лікування молодняка великої рогатої худоби за кадмієвої інтоксикації.

Метою наших досліджень було вивчити вплив Урсовіту-АДЕС та Мевеселу-ін'єкційного на ензимну ланку глутатіонової системи антиоксидантного захисту бичків за гострого кадмієвого токсикозу.

Матеріали і методи досліджень. Досліди проводились на бичках шестимісячного віку, які були сформовані у 3 групи по 5 тварин у кожній. Бичкам контрольної групи згодовували з кормом одноразово кадмію хлорид у дозі 0,3 мг/кг маси тіла. Бичкам першої дослідної групи одноразово згодовували кадмію хлорид у дозі 0,3 мг/кг маси тварини та через чотири години внутрішньом'язово вводили урсовіт АДЕС у дозі 4 мл/тварину. Бичкам другої дослідної групи одноразово згодовували кадмію хлорид у дозі 0,3 мг/кг маси тварини та через чотири години внутрішньом'язово вводили мевесел-ін'єкційний у дозі 10 мл/тварину.

Венозну кров відбирали на початку досліду та за 4 години після згодовування бичкам хлори-

ду кадмію, а також на 1, 2, 3, 6 та 9 години 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. [9]; активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ; К.Ф.1.1.1.49.) – за методом N. Z. Vaquezetal [11];

Результати власних досліджень. Важливе значення при дослідженні глутатіонової ланки антиоксидантної системи, має визначення ензиму глутатіонпероксидази.

Із даних, наведених у таблиці 1 видно, що за умов гострого кадмієвого токсикозу активність глутатіонпероксидази у сироватці крові тварин дослідних груп на четверту годину досліду коливалася у межах 32,1±1,15 - 32,4±1,16 нмоль NADPH/хв на 1мг білка.

У крові дослідної групи бичків, яким застосовували Урсовіт-АДЕС, встановлено підвищення активності глутатіонпероксидази на першу годину досліду на 2 %, на другу годину досліду – 7 %. На третю годину досліду активність ензиму зросла на 12 % відносно показників контрольної групи тварин, яким згодовували тільки хлорид кадмію. На шосту годину досліду активність ензиму у дослідної групи Д₂ була у межах 33,9±1,16 нмоль NADPH/хв на 1 мг білка. На десяту годину досліду активність глутатіонпероксидази у сироватці крові бичків, яким застосовували Урсовіт-АДЕС, була найвищою і відповідно становила 34,1±1,14 нмоль NADPH/хв на 1 мг білка.

Таблиця 1

Активність глутатіонпероксидази в сироватці крові бичків після ін'єкції Урсовіту-АДЕС за гострого кадмієвого токсикозу (нмоль NADPH/хв на 1мг білка, M±m, n=5)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин		
	Контрольна	Дослідна 1	Дослідна 2
	До згодовування хлориду кадмію		
Контроль	36,1±1,20	36,3±1,18	36,1±1,23
	Після згодовування хлориду кадмію		
Четверта година	32,1±1,15	32,4±1,16	32,2±1,15
	Після введення антиоксидантів		
	—	Урсовіт-АДЕС	Мевесел-ін'єкційний
Перша година	31,5±1,15	32,2±1,14	32,6±1,15
Друга година	30,6±1,15	32,8±1,15	33,9±1,14*
Третя година	29,8±1,15	33,4±1,18*	35,4±1,17*
Шоста година	27,2±1,20	33,9±1,16*	36,2±1,15**
Десята година	29,1±1,18	34,1±1,14*	36,1±1,16*

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

Після застосування Мевеселу-ін'єкційного у бичків відзначали подібні зміни активності глутатіонпероксидази у сироватці крові тварин як і після застосування Урсовіту-АДЕС, однак слід відзначити, що активність даного ензиму була значно вищою. Зокрема, на першу годину досліду активність глутатіонпероксидази збільшилася на 3 %, на другу годину – на 11 %, на третю годину – на 19 %. На шосту і десяту годину досліду, після внутрішньом'язової ін'єкції Мевеселу-ін'єкційного, активність ензиму у сироватці крові тварин дослідної групи Д₂ доходила до фізіологічних вели-

чин.

Отже, застосування вітамінного препарату Мевеселу-ін'єкційного сприяло нормалізації активності глутатіонпероксидази краще ніж застосування Урсовіту-АДЕС, це можливо, пов'язано з тим, що до складу Мевеселу-ін'єкційного додатково входить селен, а він з даних літератури є складовою частиною ензиму, що досліджувався.

Після згодовування дослідним бичкам хлориду кадмію у дозі 0,3 мг/кг маси тіла тварини активність глутатіонредуктази в сироватці крові

контрольної та двох дослідних груп тварин на четверту годину дослідження знижувалася (табл. 2). У подальшому відзначали поступове зниження ак-

тивності даного ензиму у сироватці крові контрольної групи тварин упродовж усього дослідження.

Таблиця 2

Активність глутатіонредуктази в сироватці крові бичків після ін'єкції Урсовіту-АДЕС за гострого кадмієвого токсикозу (нмоль NADPH/хв на 1 мг білка, $M \pm m$, n=5)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин		
	Контрольна	Дослідна 1	Дослідна 2
	До згодовування хлориду кадмію		
Контроль	1,62±0,035	1,62±0,040	1,59±0,025
	Після згодовування хлориду кадмію		
Четверта година	1,40±0,030	1,42±0,026	1,41±0,024
	Після введення антиоксидантів		
	—	Урсовіт-АДЕС	Мевесел-ін'єкційний
Перша година	1,36±0,030	1,43±0,026	1,42±0,024
Друга година	1,30±0,026	1,43±0,025*	1,45±0,025*
Третя година	1,26±0,038	1,45±0,020*	1,51±0,026**
Шоста година	1,19±0,020	1,46±0,022**	1,62±0,022**
Десята година	1,25±0,035	1,48±0,024**	1,61±0,025**

Примітка: ступінь вірогідності порівняно з даними контрольної групи – $p < 0,05$ - *, $p < 0,001$ - **

Введення Урсовіту-АДЕС в організм хворих бичків через чотири години, супроводжувало зростання активності глутатіонредуктази у їх крові. Вірогідні зміни активності ензиму спостерігаємо вже з першої години дослідження, де порівняно з контрольною групою тварин, вона знизилася на 5 %. На другу і третю годину дослідження активність ензиму коливалася у межах величин 1,43±0,025 - 1,45±0,020 нмоль NADPH/хв на 1 мг білка. Найвищою активність глутатіонредуктази у сироватці крові бичків дослідної групи Д₁ була на шосту і десяту години дослідження, де порівняно з контрольною групою тварин, активність ензиму зросла відповідно на 23 і 18 %.

У бичків, яким за умов розвитку гострого кадмієвого токсикозу, застосовували Мевесел-ін'єкційний, активність глутатіонредуктази була високою протягом усього дослідження. На першу годину дослідження, активність ензиму у сироватці крові тварин дослідної групи Д₂ становила 1,42±0,024

нмоль NADPH/хв на 1 мг білка. На другу і третю годину дослідження активність ензиму збільшилася відповідно на 12 і 20 % відносно показників контрольної групи тварин. На шосту і десяту години дослідження активність глутатіонредуктази коливалася у межах фізіологічних величин.

Отже, за умов кадмієвого навантаження, Мевесел-ін'єкційний та Урсовіт-АДЕС сприяли підвищенню активності глутатіонредуктази у крові бичків. Виходячи із даних таблиці 2 видно, що застосування Мевеселу-ін'єкційного сприяло більшому підвищенню активності ензиму, порівняно з Урсовітом-АДЕС.

Наступний ензим глутатіонової системи, який ми досліджували була глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа. На початку дослідження активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази коливалася у межах величин 0,71±0,024 - 0,73±0,021 нмоль NADPH/хв на 1 мг білка (табл. 3).

Таблиця 3

Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в сироватці крові бичків після ін'єкції Урсовіту-АДЕС за гострого кадмієвого токсикозу (нмоль NADPH/хв на 1 мг білка, $M \pm m$, n=5)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин		
	Контрольна	Дослідна 1	Дослідна 2
	До згодовування хлориду кадмію		
Контроль	0,73±0,021	0,71±0,025	0,71±0,020
	Після згодовування хлориду кадмію		
Четверта година	0,58±0,022	0,60±0,024	0,59±0,020
	Після введення антиоксидантів		
	—	Урсовіт-АДЕС	Мевесел-ін'єкційний
Перша година	0,56±0,020	0,59±0,021	0,61±0,021
Друга година	0,54±0,025	0,62±0,023*	0,62±0,025*
Третя година	0,52±0,020	0,63±0,025*	0,65±0,023*
Шоста година	0,46±0,021	0,65±0,024**	0,70±0,025**
Десята година	0,54±0,020	0,66±0,022*	0,72±0,024**

Примітка: ступінь вірогідності порівняно з даними контрольної групи – $p < 0,05$ - *, $p < 0,001$ - **

Після згодовування з кормом хлориду кадмію у токсичній дозі, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази на четверту годину дослідження зросла на 20% відносно початкових величин.

Застосування антиоксидантів бичкам спри-

яло корекції активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Введення Урсовіт-АДЕС в організм хворих бичків, супроводжувало зростання активності Г-6-ФДГ у їх крові. Найвірогідніші зміни ензиму були на третю, шосту та десяту го-

дини досліду, де відповідно вона становила $0,63 \pm 0,025$, $0,65 \pm 0,024$ та $0,66 \pm 0,022$ нмоль NADPH/хв на 1 мг білка та порівнюючи з показниками контрольної групи тварин у вказані періоди збільшилася активність ензиму на 21, 41 і 24 % відповідно.

Введення бичкам Мевеселу-ін'єкційного, за умов кадмієвого токсикозу, сприяло поступовому підвищенню активності Г-6-ФДГ у сироватці крові бичків дослідної групи Д₂, починаючи з першої, до десятої години досліду. На першу годину досліду, після введення антиоксиданту, у тварин дослідної групи Д₂ активність Г-6-ФДГ підвищилася на 9%. На другу і третю годину досліду активність ензиму коливалась у межах $0,62 \pm 0,025$ - $0,65 \pm 0,023$ нмоль NADPH/хв на 1 мг білка. На

шосту і десяту години досліду активність Г-6-ФДГ у сироватці крові дослідної групи Д₂ доходила до фізіологічних величин

Висновки. Препарати «Урсовіт-АДЕС» та «Мевесел-ін'єкційний» за гострого кадмієвого токсикозу активують ензимну глутатионову систему антиоксидантного захисту організму бичків, на що вказує підвищення активності глутатионпероксидази, глутатионредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, каталази, супероксиддисмутази. За гострого кадмієвого токсикозу бичків кращу дію на активність ензимів системи антиоксидантного захисту організму бичків проявляє Мевесел-ін'єкційний, порівняно з Урсовітом-АДЕС.

Список використаної літератури:

1. Богомазов М.Я. Особенности метаболизма кадмия при различных путях его поступления в организм / М.Я. Богомазов, Н.А. Волкова // Гигиена и санитария. – 1994. – № 5. – 95 с.
2. Боріков О.Ю. Вплив хлориду кадмію та пероксиду водню на процеси пероксидного окиснення і фракційний склад ліпідів у гепатоцитах щурів / О.Ю. Боріков, П.А. Каліман // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 76, № 2. – С. 107-111.
3. Вплив гострого нітратно-нітритного токсикозу на активність системи антиоксидантного захисту та інтенсивність перекисного окиснення ліпідів у крові бугайців / В.М. Гунчак, Д.Ф. Гуфрій, Б.В. Гутий [та ін.] // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. – Т. 12 № 3 (45), Ч. 1, 2010 – С. 35-43.
4. Вплив сполук важких металів на процеси перекисного окиснення ліпідів та функціональну активність ферментів — антиоксидантів в еритроцитах тварин: збірник наукових праць «Теорія та практика сучасного природознавства» / Г.Л. Антоняк, Н.Є. Панас, О.І. Першин [та ін.]. — Херсон: ПП Вишемирський В.С., 2005. — С. 7–11.
5. Гутый Б.В. Влияние кадмиевой интоксикации на активность системы антиоксидантной защиты и уровень продуктов перекисного окисления липидов у крови бычков / Б.В. Гутый // Научно-практический журнал. Ученые Записки. – Витебск, 2013. – Вып. 1, Т. 49, Ч. 1. – С. 107-111.
6. Гутый Б.В. Дослідження токсичності препарату «Мевесел-ін'єкційний» в хронічному досліді / Б.В. Гутый // Наук. вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. – Львів, 2014. – Т. 16, № 2 (59), Ч. 1. – С. 42-47.
7. Гутый Б.В., Гуфрій Д.Ф., Харів І.І. і співавт. Технічні умови України: ТУ У 21.2-00492990-003:2013 Препарат «Мевесел-ін'єкційний»; Затв. Державною ветеринарною та фітосанітарною службою України від 21.10.2013. – Львів, 2013. – 35 с.
8. Деклараційний патент України на корисну модель № 76539. Спосіб оцінки негативного впливу кадмію на активність ферментної системи антиоксидантного захисту організму молодняка великої рогатої худоби / Гутий Б.В. – № u2012 06860; Заявл. 05.06. 2012; Опубл. 10.01.2013, Бюл. № 1.
9. Лемешко В.В. Ферменты утилизации гидропероксидов и O₂ в миокарде крыс разного возраста / В.В. Лемешко, Ю.В. Никитенко, В.З. Ланкин // Бюл. эксп. биол. и мед. – 1985. – № 5. – С. 563-565.
10. Мурадова Г.Р. Влияние ионов кадмия и свинца на некоторые показатели липидного обмена и систему антиоксидантной защиты карпа (*Cyprinus carpio* L.) : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Г.Р. Мурадова // Махачкала, 2007. – 22 с.
11. Baquezetal N.Z., Tevary K., Krishman P.S. // Arch. Biochem. Biophys. – 1967. – Vol. 120, № 1. – P. 22-34.

Гутый Б. В. Влияние Урсовита-АДЕС и Мевесела-инъекционного на энзимное звено глутатионовой системы антиоксидантной защиты бычков при остром кадмиевом токсикозе.

Исследована энзимная активность глутатионовой системы антиоксидантной защиты организма бычков при остром кадмиевом токсикозе. Установлено, что при развитии кадмиевого токсикоза активность глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в сыворотке крови бычков в течении всего опыта снижалась. Научно обоснована целесообразность использования Урсовита-АДЕС и Мевесела-инъекционного для коррекции равновесия в комплексе антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в крови бычков в условиях развития острого кадмиевого токсикоза. Упомянутые препараты обладают анти-

оксидантними свойствами, о чем указывает увеличение активности энзимов глутатионової системи в сыворотке крови бычков при кадмиевой нагрузке. При остром кадмиевом токсикозе лучшее действие на активность энзимов системы антиоксидантной защиты организма бычков проявляет Мевесел-инъекционный по сравнению с Урсовитом-АДЕС.

Ключевые слова: кадмий, токсикология, бычки, кровь, энзимы, система антиоксидантной защиты, Урсовит-АДЕС, Мевесел-инъекционный.

Gutyj B. V. The influence of Ursovites-ADEC and Mevesel-injection on enzyme link of glutathione system of antioxidant bulls protection at acute cadmium toxicosis.

The enzyme activity of glutathione system of antioxidant protection of bulls organism at acute cadmium toxicity was analyzed. It was found out that for the toxicity of cadmium activity of glutathione peroxidase, glutathionereductase and glucose-6-phosphatedehydrogenase in the blood serum of calves during the experiment was reduced. The expediency of using Ursovites-ADEC and Mevesel-injection for the correction of the balance in a complex of antioxidant system and lipid peroxidation in the blood of bulls in conditions of acute cadmium toxicity was scientifically justified. The aforementioned drugs have antioxidant properties, which indicates the increased activity of enzyme of glutathione systems in bulls serum at cadmium load. At acute cadmium toxicity of bulls, Mevesel-injection, compared with Ursovites-ADEC has better effect on the activity of enzyme system of antioxidant protection of bulls organism.

Keywords: cadmium, toxicology, bulls, blood, enzymes, antioxidant protection, Ursovites-ADEC, Mevesel-injection.

Рецензент: д.вет.н., професор Камбур М. Д.
Дата надходження до редакції: 24.12.2015 р.