

ВПЛИВ МЕТИФЕНУ ТА ВІТАМІКСУ SE НА РІВЕНЬ ВІТАМІНІВ А І Е У КРОВІ БИЧКІВ ЗА НІТРАТНО-КАДМІЄВОГО НАВАНТАЖЕННЯ

Н. В. Назарук, к.вет.н., доцент

Б. В. Гутий, д.вет.н., професор

С. Д. Мурська, к.вет.н., доцент

Д. Ф. Гуфрій, д.вет.н., професор

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

Досліджено рівень вітамінів А і Е за умов хронічного нітратно-нітритного токсикозу з кадмієвим навантаженням. Встановлено, що за нітратно-кадмієвого навантаження у плазмі крові молодняка великої рогатої худоби знижується рівень вітамінів А і Е. На 20-ту добу досліду рівень вітамінів А і Е у крові бичків за умов нітратно-кадмієвого навантаження був найнижчим. Застосування метіфену і вітамікс Se дослідним тваринам сприяло активізації неферментної системи антиоксидантного захисту організму, на що вказує високий рівень вітамінів А і Е у їх плазмі крові. Встановлено, що застосування метіфену у дозі 0,28 г/кг комбікорму та вітамікс Se у дозі 0,3 г/кг маси тварини за умов навантаження бичків нітратами та Кадмієм, запобігає розвитку хронічного нітратно-кадмієвого токсикозу та оксидативного стресу.

Ключові слова: нітрати, нітрити, кадмій, вітаміни А і Е, метіфен, вітамікс Se, бички.

Постановка проблеми у загальному вигляді та аналіз основних досліджень і публікацій. В умовах прогресування техногенного забруднення навколишнього середовища одним із пріоритетних напрямків токсикології та ветеринарної медицини залишається вивчення особливостей і механізмів комбінованої дії поширених токсикантів – важких металів і азотовмісних речовин [1-3]. Одним із особливо шкідливих хімічних елементів є Кадмій, який за потрапляння в організм тварин сприяє активації процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Слід відзначити, що солі Кадмію блокують сульфгідрильні групи білків, у тому числі ензимів-антиоксидантів, і таким чином пригнічують їх активність [5].

У літературі є лише поодинокі наукові праці, що стосуються механізмів сукупної токсичної дії солей Кадмію та нітритів, і тільки на лабораторних тваринах. Результати досліджень, отримані на вищезгаданих тваринах, не повністю розкривають патогенез комбінованої дії солей Кадмію та нітратів у субтоксичних дозах, тому відсутні дані щодо впливу на організм бичків. Усе це є на часі та визначає актуальність проведених нами експериментальних досліджень.

Встановивши, що в процесі нітратно-кадмієвого токсикозу настають розлади перекисного окиснення ліпідів, ми дійшли висновку, що при дії нітратів і кадмію, для пригнічення надмірних вільнорадикальних реакцій в організмі тварин, необхідно застосовувати препарати з вираженою антиоксидантною дією, здатних пригнічувати процеси перекисного окиснення ліпідів. З великої кількості антиоксидантів, при нітратно-нітритному токсикозі з кадмієвим навантаженням у бичків, ми вивчали профілактичну дію препаратів «Метіфен» та «Вітамікс-Se». Дані препарати блокують вільні радикали та запобігають розвитку оксидативного стресу у тварин [6, 7].

Метою наших досліджень було встановити

вплив препаратів «Метіфен» та «Вітамікс-Se» на рівень вітамінів А і Е у крові бичків за умов хронічного нітратно-нітритного токсикозу з кадмієвим навантаженням.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводились на базі навчально-науково-виробничого центру „Комарнівський” Городоцького району Львівської області на 20 бугайцях шестимісячного віку, чорно-рябої молочної породи, які були сформовані у 4 групи по 5 тварин у кожній

Бичкам контрольної групи згодовували з кормом протягом місяця нітрат натрію у дозі 0,15 гNO₃ /кг маси тіла разом з хлоридом кадмію у дозі 0,02 мг/кг маси тіла тварини. Бичкам першої дослідної групи протягом місяця згодовували нітрат натрію та хлорид кадмію у вказаних вище дозах та задавали до раціону метіфен у дозі 0,28 г/кг комбікорму. Бичкам другої дослідної групи з кормом протягом місяця згодовували нітрат натрію та хлорид кадмію у вказаних вище дозах та задавали до раціону вітамікс Se у дозі 0,03 г/кг маси тіла. Бичкам третьої дослідної групи з кормом протягом місяця згодовували нітрат натрію та хлорид кадмію у вказаних вище дозах та задавали до раціону метіфен та вітамікс Se.

При проведенні досліджень дотримувалися правил, обов'язкових при виконанні зоотехнічних дослідів щодо підбору та утримання тварин-аналогів у групи, технології заготівлі, використання й обліку спожитих кормів. Раціон тварин був збалансований за поживними і мінеральними речовинами, які забезпечували їх потребу в основних елементах живлення.

Дослід тривав упродовж 30-и діб. Кров для аналізу брали з яремної вени на 1-, 5-, 10-, 15-, 20- і 30-ту добу досліду.

Рівень вітамінів А і Е визначали у плазмі крові методом вискоєфективної рідинної хроматографії [4].

Результати власних досліджень. Встановлено, що при розвитку хронічного нітратно-нітритного токсикозу із кадмієвим навантаженням тварин, вміст вітаміну А у їх крові знижується. Як видно з даних таблиці 1, вміст вітаміну А після згодовування нітратів і кадмію почав знижуватися на першу добу на 10 %, на п'яту добу – на 6 %, на десяту добу – на 13 %, на п'ятнадцяту добу досліді – на 17 % відносно початкових величин. На двадцяту добу досліді вміст вітаміну А у крові

контрольної групи тварин складав $0,61 \pm 0,015$ мкмоль/л.

Застосування дослідним тваринам антиоксидантів метіфену і вітаміксу Se супроводжувало зростання вмісту вітаміну А у крові бичків хворих на хронічний нітратно-кадмієвий токсикоз. Починаючи з першої доби досліді встановлено поступове зростання вмісту вітаміну А у крові дослідних груп тварин Д₁ і Д₂ відносно показників контрольної групи тварин.

Таблиця 1

Вміст вітаміну А у крові бичків після введення метіфену та вітаміксу Se при хронічному нітратно-нітритному токсикозі з кадмієвим навантаженням ($M \pm m$, n=5)

Час дослідження крові (доби)	Вітамін А (мкмоль/л)			
	Групи тварин			
	Контрольна (нітрати+кадмії)	Дослідна 1 (нітрати+кадмії) метіфен	Дослідна 2 (нітрати+кадмії) вітамікс Se	Дослідна 3 (нітрати+кадмії) метіфен+ вітамікс Se
Вихідні величини	$0,83 \pm 0,030$	$0,87 \pm 0,035$	$0,84 \pm 0,020$	$0,86 \pm 0,031$
1 доба	$0,75 \pm 0,025$	$0,78 \pm 0,031$	$0,76 \pm 0,027$	$0,83 \pm 0,028$
5 доба	$0,78 \pm 0,015$	$0,80 \pm 0,030$	$0,80 \pm 0,030$	$0,86 \pm 0,030$
10 доба	$0,72 \pm 0,018$	$0,75 \pm 0,020$	$0,77 \pm 0,024$	$0,85 \pm 0,027^*$
15 доба	$0,69 \pm 0,014$	$0,78 \pm 0,022^*$	$0,79 \pm 0,021^*$	$0,84 \pm 0,030^{**}$
20 доба	$0,61 \pm 0,015$	$0,74 \pm 0,020^{**}$	$0,76 \pm 0,018^{**}$	$0,83 \pm 0,032^{**}$
30 доба	$0,70 \pm 0,018$	$0,79 \pm 0,027^*$	$0,80 \pm 0,020^*$	$0,85 \pm 0,025^*$

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

На п'ятнадцяту добу досліді вміст вітаміну А у крові дослідної групи Д₁ становив $0,78 \pm 0,022$ мкмоль/л, у дослідної групи Д₂ відповідно становив $0,79 \pm 0,021$ мкмоль/л, тоді як у контрольної групи тварин цей показник становив $0,69 \pm 0,014$ мкмоль/л. На двадцяту добу досліді вміст вітаміну А зріс на 21 і 25 % відносно контрольної групи тварин.

Застосування метіфену разом з вітаміксу Se сприяли нормалізації вмісту вітаміну А у крові тварин дослідної групи Д₃ протягом усього досліді. Вміст вітаміну А у крові даної групи тварин коливався у межах величин фізіологічної норми, а саме від $0,83 \pm 0,028$ до $0,85 \pm 0,025$ мкмоль/л.

Важливе значення в антиоксидантній системі відноситься вітаміну Е, який захищає мембрани клітин від атаки вільних радикалів та активних форм кисню. Його вміст у крові тварин при хронічному нітратно-нітритному токсикозі з кадмієвим навантаженням наведений у таблиці 2. Згодовування токсикантів сприяло зниженню вмісту вітаміну Е у крові тварин протягом усього досліді. Так, на десяту добу досліді вміст

вітаміну становив $3,4 \pm 0,08$ мкмоль/л, що є нижчим на 23 % відносно початкових величин. На п'ятнадцяту добу досліді вміст вітаміну Е продовжував знижуватися і відносно величин крові, взятої на початку досліді, тобто до згодовування бичкам нітрату натрію та кадмію хлориду, знизився на 32 %, на двадцяту добу досліді вміст вітаміну Е знизився на 36 %, на тридцяту добу досліді вміст вітаміну Е у крові контрольної групи тварин становив $3,1 \pm 0,11$ мкмоль/л.

Застосування метіфену і вітаміксу Se сприяло зростанню вітаміну, який досліджувався у крові дослідних груп тварин Д₁ і Д₂, яким згодовували токсиканти. На десяту добу досліді встановлено підвищення вмісту вітаміну Е відносно величин контрольної групи тварин у крові дослідної групи Д₁ на 11,7 %, у дослідної групи Д₂ – на 14,7 % відповідно. Найвірогідніше підвищення вітаміну спостерігали на двадцяту добу досліді, де відповідно у крові дослідної групи Д₁ він становив $3,7 \pm 0,09$ мкмоль/л, а у групи Д₂ становив $4,0 \pm 0,06$ мкмоль/л.

Таблиця 2

Вміст вітаміну Е в крові бичків після введення метіфену та вітаміксу Se при хронічному нітратно-нітритному токсикозі з кадмієвим навантаженням ($M \pm m$, n=5)

Час дослідження крові (доби)	Вітамін Е (мкмоль/л)			
	Групи тварин			
	Контрольна (нітрати+кадмії)	Дослідна 1 (нітрати+кадмії) метіфен	Дослідна 2 (нітрати+кадмії) вітамікс Se	Дослідна 3 (нітрати+кадмії) метіфен+ вітамікс Se
Вихідні величини	$4,4 \pm 0,10$	$4,0 \pm 0,12$	$4,3 \pm 0,10$	$4,2 \pm 0,11$
1 доба	$3,9 \pm 0,11$	$4,1 \pm 0,11$	$4,2 \pm 0,09$	$4,5 \pm 0,10^*$
5 доба	$3,8 \pm 0,11$	$4,0 \pm 0,11$	$4,4 \pm 0,07^*$	$4,9 \pm 0,12^{**}$
10 доба	$3,4 \pm 0,08$	$3,8 \pm 0,08^*$	$3,9 \pm 0,08^*$	$4,6 \pm 0,08^{**}$
15 доба	$3,0 \pm 0,11$	$3,9 \pm 0,10^*$	$4,1 \pm 0,10^{**}$	$4,5 \pm 0,10^{**}$
20 доба	$2,8 \pm 0,10$	$3,7 \pm 0,09^*$	$4,0 \pm 0,06^{**}$	$4,2 \pm 0,11^{**}$
30 доба	$3,1 \pm 0,11$	$3,9 \pm 0,05^*$	$4,0 \pm 0,10^*$	$4,3 \pm 0,09^{**}$

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

Отже, застосування вітамінксу Se тваринам, у яких розвивався хронічний нітратно-нітритний токсикоз на фоні кадмієвого навантаження, корекція вітаміну E проходила краще, ніж застосування метифену. Вміст вітаміну E у крові дослідної групи тварин D₂ був вищим за контрольну і дослідної D₁ групи, однак відносно фізіологічних меж він був нижчим.

Застосування метифену з вітамінксом Se тваринам за умов нітритно-кадмієвого навантаження, сприяли кращій корекції вітаміну E у крові дослідних тварин. Так, починаючи з першої доби досліді вміст вітаміну E поступово зростав і на п'яту добу відповідно становив 4,9±0,12 мкмоль/л. На п'яту добу досліді вміст вітаміну E коливався у межах величин фізіологічної норми.

Отже, сукупне застосування метифену і вітамінксу Se бичкам, які знаходяться в умовах нітратно-кадмієвого навантаження, сприяло підвищенню вмісту антиоксидантів неферментної

системи антиоксидантного захисту, а саме вітаміну A і вітаміну E.

Висновки. Застосування метифену у дозі 0,28 г/кг комбікорму та вітамінксу Se у дозі 0,3 г/кг маси тварини за умов навантаження бичків нітратами та Кадмієм, запобігає розвитку хронічного нітратно-кадмієвого токсикозу та оксидативного стресу.

Сукупне застосування метифену і вітамінксу Se тваринам сприяє кращій активації неензимної системи антиоксидантного захисту організму бичків, на що вказує підвищення рівня вітамінів A і E у їх плазмі крові.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати досліджень будуть застосовані у подальшому вивчені системи антиоксидантного захисту та процесів перекисного окиснення ліпідів у крові бичків для розробки антидотного препарату для лікування тварин при нітратно-кадмієвому токсикозі.

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. 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.
3. Гутий Б.В. Вплив нітрату натрію в токсичній дозі на перекисне окиснення ліпідів // Наук. Вісн. Львів. нац. акад. вет. мед. ім. С.З. Гжицького, Львів. – 2005. – Т. 7 (№ 2), Ч. 1. – С. 16-19.
4. Довідник: Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / Відпов. редак. В.В. Влізло. – Львів, 2004. – 399 с.
5. Назарук Н.В. До методики вивчення токсичної дії кадмію на організм тварин (огляд літератури) / Н.В. Назарук // Науковий вісник Сумського національного аграрного університету. – Суми, 2009. – № 6 (25). – С. 92-97.
6. Назарук Н.В. Вплив метифену та вітамінксу Se на рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів бичків при хронічному нітратно-нітритному токсикозі з кадмієвим навантаженням / Н.В. Назарук., Б.В. Гутий., Д.Ф. Гуфрій // Науковий вісник ЛНУВМ та БТ імені С.З. Гжицького. – 2012. – Т. 14, № 2 (52). – Ч. 1. – С. 265-269.
7. Патент України на КМ, МПК А61D7/00, А61К 31/355, А61К 31/095. Спосіб корекції системи антиоксидантного захисту організму бичків при лікуванні хронічного нітратно-кадмієвого токсикозу / Назарук Н.В., Гутий Б.В., Гуфрій Д.Ф.; заявник та патентовласник Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького – № u2012 00939., Заявл. 30.01.12. Опубл. 10.08.12. Бюл. № 15.

Назарук Н. В., Гутий Б. В., Мурська С. Д., Гуфрій Д. Ф. Влияние Метифена и Витамикса Se на уровень витаминов А и Е в крови бычков при нитратно-кадмиевой нагрузке.

Исследован уровень витаминов А и Е в условиях хронического нитратно-нитритного токсикоза с кадмиевой нагрузкой. Установлено, что при нитратно-кадмиевой нагрузке в плазме крови молодняка крупного рогатого скота снижается уровень витаминов А и Е. На 20-е сутки опыта уровень витаминов А и Е в крови бычков при условиях нитратно-кадмиевой нагрузке был низким. Применение метифена и витаминкс Se опытным животным способствовало активизации неферментной системы антиоксидантной защиты организма, на что указывает высокий уровень витаминов А и Е в плазме крови. Установлено, что применение метифена в дозе 0,28 г/кг комбикорма и витаминкс Se в дозе 0,3 г/кг массы животного при нагрузке бычков нитратами и Кадмием, предотвращает развитие хронического нитратно-кадмиевого токсикоза и оксидационного стресса.

Ключевые слова: нитраты, нитриты, кадмий, витамины А и Е, метифен, витаминкс Se, бычки.

Nazaruk N., Gutiy B., Murska S., Hufriy D. The influence of Metifen and Vitamix Se on the levels

of vitamins A and E in blood of bull-calves at nitrate-cadmium loading.

Investigated levels of vitamins A and E under conditions of chronic nitrate-nitrite toxicosis with cadmium loading. It is established that if the nitrate-cadmium burden in the blood plasma of young cattle reduces the level of vitamins A and E. On 20-th day of the experiment the level of vitamins A and E in blood of bull-calves under conditions of nitrate-cadmium load was low. Application Metifen and vitamix Se experienced animals stimulated no enzyme system of antioxidant defenses, as indicated by high levels of vitamins A and E in plasma. Found that the use metifen at a dose of 0,28 g/kg of feed and vitamix Se at a dose of 0,3 g/kg animal weight for the loading conditions bulls nitrates and Cadmium, prevents the development of chronic nitrate-cadmium toxicosis and stress oxidizing.

Keywords: nitrates, nitrites, cadmium, vitamins A and E, metifen, vitamix Se, bulls.

Рецензент: д.вет.н., професор Камбур М. Д.
Дата надходження до редакції: 08.12.2015 р.

УДК 636.7:612.419:57.086.13

ЗБЕРІГАННЯ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ СОБАК

Л. А. Водоп'янова, к.біол.н., доцент, Харківська державна зооветеринарна академія

Процес кріоконсервування без застосування кріозахисту є дуже несприятливим для клітин, це зумовлює застосування кріопротекторів при заморожуванні. Використовували кінцеві концентрації ДМСО – 10 %, 7 %, 5 %, ПЕО-400 – 10 %, 15 %, 20 %, гліцерин – 10 %, 20 %, 30 %. Гліцерин виявився менш ефективним кріопротектором з досліджених. При застосуванні ДМСО зберігається більш 80 % клітин.

Ключові слова: клітини кісткового мозку, збереження клітин, кріопротектори.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Трансплантація клітин кісткового мозку (ККМ), що мають здатність розвиватися у різні клітини крові, використовуються у сучасній ветеринарній медицині як ефективний засіб лікування різноманітних захворювань кровотворної системи [7]. Потреба у ККМ тварин збільшується щороку та вимагає створення ефективних методів зберігання клітин. Низькотемпературне консервування (при -196°С) ККМ людини, дозволяє зберігати матеріал до трансплантування впродовж декількох років [6], але у ветеринарній практиці подібні методи лише розробляються. Дослідження способів зберігання ККМ собак під захистом різних кріопротекторів, дозволить розробити ефективну методику їх кріоконсервування і довгострокового зберігання для подальшого застосування терапії тварин.

Мета досліджень. Вивчення впливу факторів кріоконсервування на збереженість ККМ собак.

Матеріали і методи досліджень. ККМ собак отримували від статевозрілих самців 3-4 лет (n=8) у відповідності із «Загальними принципами експериментів на тваринах», що погоджені І Національним конгресом по біоетиці (Київ, 2001) методом кістковомозгової пункції [5].

При виборі кріопротекторів піймали до уваги дані по ефективності використання розчинів діметилсульфоксиду (ДМСО), гліцерину, поліети-

леноксид з М.м. 400 (ПЕО-400) при кріоконсервуванні ККМ людини. Кріоконсервування проводили в присутності кріопротекторів у наступних кінцевих концентраціях: ДМСО – 10 %, 7 %, 5 %, ПЕО-400 – 10 %, 15 %, 20 %, гліцерин 10 %, 20 %, 30 %. Інкубація клітин ДМСО – 10 хвилин, ПЕО та гліцерином – 30 хвилин при температурі 4°С. Заморожування проводили двоступово: перший етап – занурення в пари рідкого азоту (-80°С, температура контролювалася термопарою), другий етап занурення в рідкий азот (-196°С). Розморожування проводили через 24 години, на водяній бані 41°С при постійному похитуванні в продовж 1-3 хвилин.

Кріопротектори вилучали шляхом додавання до ККМ розчину, що складається з 199 середовища, цитрату натрію, сировотки крові ембріональної телячої, з подальшим центрифугуванням.

Визначення збереженості ККМ собак проводили за допомогою суправітальної окраски трипановим синім по стандартній методиці [2, 3] в свіжоотриманій суспензії (контроль), відмитих від кріопротектору після інкубації та заморожування-відігріву суспензіях клітин.

Результати власних досліджень. По показникам, що представлені на малюнку 1 видно, що всі досліджені розчини кріопротекторів на стадії інкубації, оказують негативний невеликий вплив на збереженість ККМ собак, що більш виражено в присутності ДМСО в концентрації 10 %.