

СТАН СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АСКАРОЗУ ПОРОСЯТ

С. С. Шмаюн

Білоцерківський національний аграрний університет

У статті наведені дані з вивчення стану системи антиоксидантного захисту (АОЗ) за експериментального аскарозу поросят. Встановлено, що аскарозна інвазія у тварин викликає зміни в системі АОЗ, які супроводжуються прогресуючим зниженням у крові активності ферментів-антиоксидантів супероксиддисмутази (СОД) і каталази з подальшим виснаженням і декомпенсацією вільнорадикальних механізмів захисту хазяїна проти паразита. Зміни в системі АОЗ мають дозозалежний характер: чим більше інвазійних яєць аскарисів надходить в організм тварин, тим помітнішим у них відбувається зниження активності супероксиддисмутази та каталази. Компенсаторні можливості антиоксидантних реакцій за аскарозу поросят значною мірою обумовлені стадією розвитку хвороби: зростанням активності СОД та каталази в міграційну стадію та поступовим її зниженням у кишкову стадію.

Ключові слова: АСКАРОЗ СВИНЕЙ, АСКАРОЗНА ІНВАЗІЯ, ІНВАЗІЙНИЙ МАТЕРІАЛ, ПОРОСЯТА, СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗА, КАТАЛАЗА, СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ

Актуальною проблемою сучасного свинарства України є аскароз, який завдає значних економічних збитків галузі. Встановлено, що відхід свиней за аскарозу досягає — 30–50 % [6].

Неодмінною умовою успіху боротьби з хворобою є впровадження нових ефективних оздоровчих заходів, розробка яких базується на поглибленому вивченні питань її патогенезу. Як відомо, важливе місце в забезпеченні гомеостазу організму належить прооксидантно-антиоксидантним механізмам [1], інформація про особливості яких за розвитку аскарозу свиней у науковій літературі є надто уривчастою та обмеженою [4], що є стримуючим фактором у розшифровці патогенетичних механізмів цього захворювання і подальшій ефективній терапії. Зокрема, не розкритими залишаються питання впливу аскарисів на систему антиоксидантного захисту (АОЗ), роботу якої доцільно характеризувати за активністю ключових ферментів-антиоксидантів — супероксиддисмутази (СОД), що каталізує реакцію дисмутації супероксидного радикала, та каталази, яка руйнує пероксид водню без участі акцепторів кисню. Саме за рахунок активності цих ферментів система здатна протистояти ушкоджувальній дії вільних радикалів та перемінних сполук, утримуючи процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) на стаціонарному базальному рівні, який забезпечує нормальну життєдіяльність. Утворена таким чином прооксидантно-антиоксидантна рівновага є важливішим механізмом гомеостазу [10].

Однак при багатьох хворобах різного генезу така рівновага порушується. Причиною цього є підвищене утворення в організмі вільних радикалів кисню та посилення процесів ПОЛ (яке іноді називають оксидативним стресом), що призводить до зміни властивостей біологічних мембран [2]. При цьому велике значення має мембранотоксичний та цитотоксичний вплив активних форм кисню (АФК) [11], а також здатність АФК викликати генні [14, 15] і хромосомні мутації [13], метилування ДНК клітин [12]. Такі порушення спостерігаються як у соматичних, так і в генеративних клітинах ссавців та людини [16, 17].

Зважаючи на особливості перебігу гельмінтозів у різних видів тварин та на неоднозначність наукових даних, вважаємо, що вивчення стану системи АОЗ за аскарозу свиней значно розширить уявлення про суть патологічних процесів за цього гельмінтозу і є необхідним для розробки ефективних методів боротьби та профілактики захворювання з можливою корекцією антиоксидантного статусу організму.

Мета роботи — визначити активність СОД і каталази в процесі розвитку експериментального аскарозу поросят.

Матеріали і методи

Для проведення експериментальних досліджень за принципом аналогів було відібрано 40 клінічно здорових поросят великої білої породи 1,5-місячного віку, з яких створено чотири групи по 10 тварин — контрольна та три дослідних. Умови догляду й утримання були однаковими. Тривалість досліду становила 75 діб. За тиждень до досліджень проводили дегельмінтизацію тварин препаратом «Івермектин» згідно з настановою по застосуванню. Поросят 1-, 2- та 3-ї дослідних груп заражали індивідуально перорально різними дозами інвазійного матеріалу (відповідно, 500, 1000 та 1500 інвазійних яєць аскарисів з розрахунку на 1 кг маси тіла). Приготування інвазійних яєць та зараження ними тварин проводили згідно методичних рекомендацій [7]. Поросята контрольної групи були інтактними (не зараженими). Через місяць після зараження, а потім через кожну неділю тварин досліджували флотаційним стандартизованим методом Г. А. Котельникова та В. М. Хренова [8] на наявність яєць аскарисів. Перед зараженням та на 7-, 14-, 21-, 28-, 35-, 42-, 50-, 60- і 75-у доби після зараження вранці перед годівлею від поросят відбирали зразки крові пункцією орбітального синуса для лабораторних досліджень. З метою дослідження інтенсивності процесів ліпопероксидації за аскарозою інвазії у крові тварин визначали активність ферментів-антиоксидантів: супероксиддисмутази [9] та каталази [5].

Отриманий цифровий матеріал обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми з визначенням середньої арифметичної (M), статистичної помилки середньої арифметичної (m), вірогідність різниці (p) між середніми арифметичними двох варіаційних рядів за критерієм вірогідності (t) і за таблицями Стьюдента.

Результати й обговорення

Аналіз результатів досліджень з вивчення активності ключових антиоксидантних ферментів СОД і каталази за розвитку експериментального аскарозу поросят дозволив встановити її змінний характер (табл. 1 і 2).

Так, якщо перед початком експерименту активність СОД та каталази у крові поросят усіх дослідних груп вірогідно не відрізнялася від контролю, то після зараження тварин різними дозами інвазійних яєць *Ascaris suum* спостерігалися зміни активності цих ферментів у всіх дослідних групах упродовж періоду експерименту (75 діб).

Зокрема, на 7-у добу спостережень відмічали різке підвищення активності СОД у 1-, 2- та 3-й групах інвазованих тварин, відповідно, на 23,5, 33,6 ($p < 0,01$) та 42,9 % ($p < 0,001$) проти контролю (табл. 1).

Варто зазначити, що активність цього ферменту в цей період була вірогідно вищою в групах тих поросят, які отримували більшу дозу інвазійного матеріалу (2 і 3 група).

На 14-у добу експерименту супероксиддисмутазна активність крові, навпаки, знизилася у всіх заражених поросят, і її показники у 1-, 2- та 3-й групах тварин були нижчими проти контролю, відповідно, на 2,12, 13,4 та 23,1 % ($p < 0,05$). Необхідно відмітити, що в цей період активність СОД була нижчою у тих тварин, яким вводили більшу дозу інвазійних яєць аскарисів (3 група).

Ще більше зниження активності СОД відмічали на 21-у добу після інвазії, коли її показники в уражених поросят 1-, 2- та 3-ї групи досягли найнижчого рівня за весь дослідний період і були, відповідно, на 36,8, 50,3 та 63,4 % вірогідно нижчими від контролю. Слід зазначити, що на цей момент тварини, які отримали найбільшу дозу інвазійного матеріалу (3 група), характеризувалися найнижчою супероксиддисмутазною активністю порівняно з тими свинями, яким ввели менші дози інвазійних яєць аскарисів.

Таблиця 1

Динаміка активності супероксиддисмутази (СОД) у крові поросят за аскарозної інвазії, ум. од./мг гемоглобіну ($M \pm m$, $n=10$)

Термін досліджень	Групи поросят			
	контрольна	1 дослідна	2 дослідна	3 дослідна
До зараження	4,14±0,29	4,00±0,33	3,97±0,38	3,54±0,28
7 доба	3,87±0,26	4,78±0,39	5,17±0,34**	5,53±0,30***
14 доба	4,25±0,25	4,16±0,26	3,68±0,35	3,27±0,24*
21 доба	4,37±0,28	2,76±0,33**	2,17±0,28***	1,60±0,10***
28 доба	3,98±0,17	3,80±0,21	3,46±0,33	3,08±0,25**
35 доба	3,79±0,15	3,80±0,20	3,56±0,21	3,35±0,19
42 доба	3,99±0,23	3,90±0,24	3,69±0,26	3,46±0,18
50 доба	4,04±0,21	3,93±0,19	3,75±0,23	3,60±0,29
60 доба	3,73±0,19	3,40±0,22	3,27±0,26	2,99±0,19*
75 доба	3,92±0,29	3,28±0,26	2,94±0,18**	2,82±0,19**

Примітки: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

У наступні терміни досліджень (28-, 35-, 42- та 50-а доби), по мірі розвитку захворювання найбільш характерною була тенденція до поступового підвищення активності СОД у всіх групах інвазованих поросят. Однак на 28 добу у 3-й дослідній групі, де тварини були найбільш уражені аскарисами, показники активності цього ферменту все ще залишалися вірогідно нижчими, ніж у контролі (на 22,6 %). На 50-у добу супероксиддисмутазна активність вірогідно не відрізнялася від такої у контролі та від значень, які характеризували її в період до зараження тварин. Слід відмітити, що зростання рівня активності СОД відбувалося швидше у групах тих свиней, які отримали меншу дозу інвазійного матеріалу. 60-а доба експерименту характеризувалася повторним зниженням активності СОД у 1-, 2- та 3-й групах інвазованих поросят, відповідно, на 8,85 %, 12,3 % та 19,8 % проти контролю, причому у 3-й групі тварин така зміна була вірогідною.

На кінець досліду (75 доба) супероксидазна активність інвазованих поросят ще більше знизилася і її показники у 1-, 2- та 3-й групах були, відповідно на 16,3, 25,0 % ($p < 0,01$) та 28,1 % ($p < 0,01$) нижчими від величин у контролі та не досягали значень, що характеризували активність ферменту в період перед зараженням цих тварин. Дещо інші зміни спостерігалися в каталазній активності. Зокрема, на 7-у добу після інвазії відмічали підвищення її показників у 1-, 2- та 3-й групах уражених поросят, відповідно, на 13,9, 19,0 та 28,3 % ($p < 0,05$) проти контролю. Ще вищим виявився рівень цієї активності у свиней цих груп на 14 добу досліджень, коли її показники вірогідно зросли і були, відповідно, на 24,2, 39,5 та 78,4 % вищими, ніж у тварин контрольної групи. Звертає увагу на себе те, що в ці періоди спостережень найвищий рівень активності каталази спостерігався у тих поросят, які були уражені найбільшими дозами інвазійних яєць аскарисів (3 група, $p < 0,001$) (табл. 2).

На 21-у добу відмічали подальше вірогідне зростання активності каталази у 1-й дослідній групі, де вона була, відповідно, на 39,1 % вищою проти контролю ($p < 0,01$) та початок її зниження у 2- і 3-й дослідних групах тварин, де її показники хоч і були, відповідно, на 26,4 і 11,2 % вищими проти контролю, але все ж нижчими, ніж у попередній термін досліджень (14 доба).

Динаміка активності каталази у крові поросят за аскарозної інвазії ($M \pm m$, $n=10$), мккат

Термін досліджень	Групи поросят			
	контрольна	1 дослідна	2 дослідна	3 дослідна
До зараження	59,41±4,37	66,60±6,04	54,61±7,14	63,27±5,18
7 доба	60,20±4,43	68,59±3,58	71,66±8,64	77,25±5,59*
14 доба	61,01±4,74	75,79±3,34*	85,11±7,05*	108,82±4,91***
21 доба	63,0±3,36	87,64±5,33**	79,65±7,08*	70,06±5,69
28 доба	60,87±2,85	67,92±3,057	64,90±3,98	62,07±2,18
35 доба	66,20±2,12	63,00±2,63	60,60±2,69	59,53±1,56*
42 доба	59,80±2,41	57,14±2,33	55,94±2,34	53,54±1,69*
50 доба	58,74±2,85	62,60±2,72	59,54±4,18	54,34±2,56*
60 доба	65,13±3,33	55,68±3,44	50,08±4,43*	44,76±3,19***
75 доба	70,33±3,02	48,22±4,00***	43,51±4,26***	38,49±2,64***

Примітка: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

Упродовж подальших термінів досліджень, починаючи з 28-ї доби та на 35-, 42-у доби активність каталази у заражених поросят 1-, 2- та 3-ї груп поступово знижувалася, на 50-у добу вона дещо зросла, проте на 60-у добу її показники у 2-й та 3-й групах виявилися, відповідно, на 23,1 та 31,3 % вірогідно нижчими проти контролю. На 75-у добу (завершення досліджень) показники активності каталази були найнижчими за весь період експерименту у всіх 3 дослідних групах (відповідно, на 31,4, 38,1 та 45,3 % проти контролю, $p < 0,001$) і не досягали значень, які характеризували активність цього ферменту до зараження тварин. Характерним для цього періоду було те, що на фоні загального зниження активності каталази у всіх трьох групах інвазованих тварин, найпомітнішим воно було у 3-й групі, тварини якої отримали найбільшу дозу інвазійного матеріалу, і в якій вірогідність такого зниження зареєстрована у більш ранні періоди досліджень (35-а доба).

Узагальнюючи результати досліджень щодо оцінки стану системи АОЗ за аскарозу поросят, слід зазначити, що зміни активності її ферментів (СОД і каталази) в першу чергу були пов'язані з інтенсивністю інвазії та стадією розвитку аскарозу. Зокрема, встановлено, що за аскарозної інвазії на ранніх її стадіях відбувалися процеси, які супроводжувалися підвищенням активності СОД та каталази, відповідно, на 7-у добу та на 7-, 14-, 21-у доби, що було характерним для міграційної стадії аскарозу. Саме в цей період у відповідь на введення збільшених доз інвазійного матеріалу організм хазяїна реагував підвищенням активності антиоксидантних ферментів, що, на наш погляд, спричинюється з одного боку більш вираженою антигенною стимуляцією масованих доз мігруючих личинок паразитів та посиленням їх патогенної дії, а з іншого боку — адекватним посиленням захисних антиоксидантних реакцій. Такі зміни можна пояснити відповіддю організму хазяїна на проникнення паразита і запуском вільнорадикальних процесів та вираженими компенсаторними можливостями системи АОЗ, які забезпечують його вигнання.

У пізніші терміни інвазії, що відповідали кишковій стадії аскарозу (21–75-а доби), по мірі досягнення гелмінтами статевої зрілості, спостерігали прогресуюче зниження активності СОД і каталази. Особливо швидко такі зміни відбувалися в організмі хазяїна за більш високої інтенсивності інвазії. На нашу думку, це пояснюється тривалішим періодом патогенної дії аскарисів на організм свиней та виснаженням і декомпенсацією вільнорадикальних механізмів захисту хазяїна проти паразита. Наші дані узгоджуються з результатами інших дослідників, які підтверджують, що при паразитарних інвазіях в організмі хазяїна відбуваються складні процеси в системі паразит-хазяїн із взаємним посиленням вироблення вільних радикалів та активацією або зниженням активності компонентів антиоксидантного захисту. Наслідком таких змін є розвиток оксидативного

стресу, який призводить до пошкодження спадкового апарату соматичних та генеративних клітин хазяїна [3].

Висновки

1. Аскарозна інвазія зумовлює зміни в системі АОЗ у поросят, що супроводжуються прогресуючим зниженням у їх крові активності ферментів-антиоксидантів СОД і каталази з подальшим виснаженням і декомпенсацією вільнорадикальних механізмів захисту хазяїна проти паразита.

2. Зміни активності антиоксидантних ферментів СОД і каталази за аскарозу поросят мають дозозалежний характер. Збільшення дози інвазійного матеріалу посилює пригнічення активності цих ферментів.

3. Компенсаторні можливості антиоксидантних реакцій за аскарозу поросят значною мірою обумовлені стадією розвитку хвороби: зростанням активності СОД та каталази в міграційну стадію та поступовим її зниженням у кишкову.

Перспективи подальших досліджень. Розроблення та впровадження нових схем комплексної етіотропної та патогенетичної терапії за аскарозу свиней, яка передбачає застосування антигельмінтних та антиоксидантних препаратів

S. S. Shmayun

CONDITION OF SYSTEM OF ANTIOXIDATIC PROTECTION AT THE EXPERIMENTAL ASCARIASIS OF PIGLETS

S u m m a r y

The data concerning studying of antioxidatic protection (AOP) system condition at the experimental ascariasis in piglets are presented in this article. It was established, that ascariasis invasion causes the change at animals in system AOP that are accompanied by progressing decrease blood activity of enzymes-antioxidants superoxidedismutation (SOD) and catalase with the subsequent exhaustion and decompensation of free-radical mechanisms of protection of the owner against parasite. Changes in the system of AOP have the doze depending character: the more invasion ascariasis eggs enter the animals' body, the more considerably will take place in them for reductions of the activities of superoxidedismutation and catalase. The compensatory possibilities of the antioxidant reactions at piglet's ascariasis are substantially caused by stage of illness development of: the increase of the activity SOD and catalase in a migration stage and its gradual decrease in an intestinal stage.

C. C. Шмаюн

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АСКАРИДОЗЕ ПОРОСЯТ

А н н о т а ц и я

В статье приведены данные по изучению состояния системы антиоксидантной защиты (АОЗ) при экспериментальном аскаридозе поросят. Установлено, что аскаридозная инвазия вызывает у животных изменения в системе АОЗ, которые сопровождаются прогрессирующим снижением в крови активности ферментов-антиоксидантов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы с последующим истощением и декомпенсацией свободнорадикальных механизмов защиты хозяина против паразита. Изменения в системе АОЗ имеют дозозависимый характер: чем больше инвазионных яиц аскарид поступает в организм животных, тем заметнее у них происходит снижение активности

супероксиддисмутазы и каталазы. Компенсаторные возможности антиоксидантных реакций при аскаридозе поросят в значительной степени обусловлены стадией развития болезни: повышением активности СОД и каталазы в миграционную стадию и постепенным ее снижением в кишечную стадию.

1. *Антонюк Г. Л.* Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин / Г. Л. Антонюк, Н. О. Бабич, Л. І. Сологуб, В. В. Снітинський // Біологія тварин. — 2000. — Т. 2 (2). — С. 34–43.

2. *Барабой В. А.* Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / В. А. Барабой // Усп. совр. биол. — 1991. — Т. 111, № 6. — С. 922–930.

3. *Бекиш О.-Я. Л.* Свободнорадикальные процессы в системе паразит-хозяин при гельминтозах / О.-Я. Л. Бекиш, В. Я. Бекиш // Вестник ВГМУ. — 2003. — Т. 2, № 4. — С. 67–76.

4. *Гевондян В. С.* Некоторые материалы о патогенезе миграционного аскаридоза / В. С. Гевондян, Г. А. Бояхчян // Проблемы паразитологии : тр. 7 науч. конф. паразитологов Укр. ССР. — Киев, 1972. — Ч. 1. — С. 184–186.

5. *Королюк М. А.* Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. — 1988. — №1. — С. 16–19.

6. *Приходько Ю. О.* Кишкові гельмінтози свиней і собак та експериментальне обґрунтування застосування вітчизняного антгельмінтика альбендазолу : дис. ... доктора. вет. наук УААН / Ю. О. Приходько. — Харків, 2002. — 421 с.

7. *Пономар С. І.* Рекомендації щодо визначення ефективності антгельмінтиків при гельмінтозах свиней / С. І. Пономар, Ю. Г. Артеменко, Л. П. Артеменко, В. Ф. Титаренко. — Біла Церква, 2001. — 28 с.

8. *Пономар С. І.* Рекомендації щодо гельмінтологічних досліджень тварин / С. І. Пономар, Н. М. Сорока, О. П. Литвиненко та ін. — Біла Церква, 2008. — 78 с.

9. *Чевари С.* Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // Лаб. дело. — 1991. — № 10. — С. 9–13.

10. *Шаповал Г. С.* Механизмы антиоксидантной защиты организма при действии активных форм кислорода / Г. С. Шаповал, В. Ф. Громова // Укр. биохим. журн. — 2003. — Т. 75, № 2. — С. 5–13.

11. *Babior B. M.* Membranotoxic and cytotoxic effect of activated oxygen species / B. M. Babior // Blood — 1984. — Vol. 64, № 5. — P. 959–966.

12. *Cerda S.* Influence of oxygen radical injury on DNA methylation / S. Cerda, S. A. Weitzman // Rev. in Mutat Res. — 1997. — Vol. 386. — P. 141–152.

13. *Duell Th.* Effect of activated oxygen species in human lymphocytes / Th. Duell, E. Lengfelder, R. Fink, et al // Mutat. Res. DNA Repair. — 1995. — Vol. 336. — P. 29–38.

14. *Dfaz-Llera.* Hydrogen peroxide induced mutations at the HPRT locus in primary human T-lymphocytes / Dfaz-Llera, A. Podlutzky, A.-M. Osterholm, et al. // Mutat. Res. Gen. Toxic, and Envir. Mutagen. — 2000. — Vol. 469. — P. 51–61.

15. *Mott J. L.* Oxidative stress is not an obligate mediator of disease provoked by mitochondrial DNA mutations / J. L. Mott, D Zhang, M. Stevens, et al // Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen. — 2001. — Vol. 474. — P. 35–45.

16. *Potts R. J.* Seminal plasma reduces exogenous oxidative damage to human sperm, determined by the measurement of DNA strand breaks and lipid peroxidation / R. J. Potts, L. J. Notarianni, T. M. Jefferies // Mutat. Res. Fund, and MoL Mech. of Mutagen. — 2000. — Vol. 447. — P. 249–256.

17. *Shih M. K.* UVA-induced oxidative damage to rat liver nuclei: reduction of iron ions and the relationship between lipid peroxidation and DNA damage / M. K. Shih, M. L. Hu // Mutat. Res. Gen. Toxic. and Envir. Mutagen. — 1999. — Vol. 438. — P. 125–132.

Рецензент: доктор біологічних наук, професор О. М. Клименко, Білоцерківський національний аграрний університет.