

УДК 636.5:615.9:615.015.01

ПРОФІЛАКТИКА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ І КОРЕКЦІЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПТИЦІ ЗА ОТРУЄННЯ НЕОВЕРМОМ

Ю. С. Світлична-Кулак
svetlicnay2204@gmail.com

Харківська державна зооветеринарна академія,
смт Мала Данилівка, Дергачівський район, Харківська обл., 62341, Україна

У статті наведені дані щодо впливу на організм курей нового антигельмінтного препарату «Неоверму» (похідного авермектинів) за умов одноразового введення його у токсичній дозі.

Встановлено, що в результаті утворення підвищеного рівня продуктів ПОЛ у крові птиці недостатньо потенціалу власних ресурсів антиоксидантної системи (АОС) для запобігання впливу АМК і відповідного включення протективних антирадикальних механізмів, але цей процес можна корегувати за допомогою препарату «Е-селен» у 5-кратній дозі.

Механізм прооксидантної дії «Неоверму» у токсичній дозі (0,4 см³/кг маси тіла) полягав у надлишковому утворенні токсичних продуктів ліпопероксидації — дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) — в середньому у 2,5 і 2,2 разу ($P \leq 0,05$) відповідно відносно значень цих показників у контрольної птиці на тлі витрачання ємності власних антиоксидантних ресурсів за гальмуванням активності каталази та зниження рівня структурних антиоксидантів — вітаміну Е, Селену та активності каталази — у 1,9, 0,23 ($P \leq 0,05$) та 2,3 разу ($P \leq 0,01$) відповідно, що є ознакою формування окиснювального стресу в організмі дослідних курей.

За результатами відновлення пулу ендogenous антиоксидантних ресурсів (посилення активності каталази у 1,9 разу ($P \leq 0,01$), ніж у птиці, якій вводили тільки «Неоверм», нормалізації до фізіологічного рівня загальної антиокиснювальної активності, підвищення концентрації структурних складових неферментативної ланки АОС — вітаміну Е і Селену у 6,1 і 1,3 разу ($P \leq 0,001$) відповідно) у крові курей можна стверджувати про виражений антиоксидантний вплив препарату «Е-селен».

Ключові слова: НЕОМЕРМ, КУРИ, ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ (ПОЛ), ДІЄНОВІ КОН'ЮГАТИ (ДК), МАЛОНОВИЙ ДІАЛЬДЕГІД (МДА), АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА (АОС), АНТИОКСИДОВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ (АОА), СЕЛЕН, ВІТАМІН Е, АКТИВНІ ФОРМИ КИСНЮ (АФК)

PROPHYLAXIS OF OXIDATIVE STRESS AND CORRECTION OF ANTIOXIDANT PROTECTION OF POULTRY POISONED BY NEOVERM

Yu. Svitlychna-Kulak
svetlicnay2204@gmail.com

Kharkiv state zooveterinary academy,
Mala Danylivka, Dergachy district, Kharkiv region, 62341, Ukraine

The data on the effect of a new antihelminthic preparation «Neoverm» (a derivative of avermectins) on hens have been presented in the article. The preparation was administered at a single toxic dose.

It has been found out that as a result of the production of a higher level of POL products in the blood of the fowl there was not enough potential of the fowl's own resources of AOS to prevent the influence of AMO and the corresponding inclusion of protective antiradical mechanisms but the above process can be corrected with the help of the preparation «E-selen» at 5-fold dose.

The mechanism of prooxidant action of «Neoverm» at a toxic dose (0.4 cm³/kg body weight) was to form the surplus of toxic products of lipid peroxidation — DC and MDA (on average by 2.5 and 2.2 times ($P \leq 0,05$), respectively, as compared to the values of the above indices in the control hens) — when the fowl's own antioxidant resources were lost because of the inhibition of catalase activity and the reduction of the level of structural antioxidants — vitamin E, selen and catalase activity (by 1.9, 0.23 ($P \leq 0,05$) and 2.3 times ($P \leq 0,01$), respectively) that demonstrates the formation of oxidative stress in the experimental hens.

One can assert the expressed antioxidant effect of the preparation «E-selen» by the results of the restoration of the pool of endogenous antioxidant resources (intensification of catalase activity by 1.9 times ($P \leq 0,01$) as compared to the fowl that received only «Neoverm», the normalization of the general AOA to physiological level, increase in the concentration of structural components of non-fermentative part of AOS — vitamin E and selen by 6.1 and 1.3 times ($P \leq 0,001$), respectively) in the blood of hens.

Keywords: NEOVERM, HENS, PEROXIDATION OF LIPIDS (POL), DIEN CONJUGATES (DC), MALONE DIALDEHYDE (MDA), ANTIOXIDANT SYSTEM (AOS), ANTIOXIDATION ACTYVITY (AOA), E-SELEN, VITAMIN E, ACTIVE FORMS OF OXYGEN (AFO)

ПРОФИЛАКТИКА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И КОРРЕКЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПТИЦЫ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ НЕОВЕРМОМ

Ю. С. Светличная-Кулак
svetlicnay2204@gmail.com

Харьковская государственная зооветеринарная академия,
пгт. Малая Даниловка, Дергачевский район, Харьковская обл., 62341, Украина

В статье представлены данные о воздействии на организм кур нового антигельминтного препарата «Неоверма» (производного авермектинов) при условии однократного введения его в токсической дозе.

Установлено, что в результате образования повышенного уровня продуктов ПОЛ в крови птицы недостаточно потенциала собственных ресурсов антиоксидантной системы (АОС) для предотвращения воздействия АМК и соответственного включения протективных антирадикальных механизмов, но этот процесс можно корректировать при помощи препарата «Е-селен» в 5-кратной дозе.

Механизм прооксидантного воздействия «Неоверма» в токсической дозе (0,4 см³/кг массы тела) заключался в чрезмерном образовании токсичных продуктов липопероксидации — диеновых конъюгатов (ДК) и (МДА) (в среднем в 2,5 и 2,2 раза ($P \leq 0,05$) соответственно относительно значений этих показателей у птицы контрольной группы) — на фоне расхода объема собственных антиоксидантных ресурсов при торможении активности каталазы и снижении уровня структурных антиоксидантов — витамина Е, Селена и активности каталазы (в 1,9, 0,23 ($P \leq 0,05$) и 2,3 раза ($P \leq 0,01$) соответственно), что является признаком формирования окислительного стресса в организме опытных кур.

По результатам восстановления пула эндогенных антиоксидантных ресурсов (усиление активности каталазы в 1,9 раза ($P \leq 0,01$), чем у птицы, которой вводили только «Неоверм», нормализации до физиологического уровня общей антиокислительной активности, повышения концентрации структурных составляющих неферментативного звена АОС — витамина Е и селена в 6,1 и 1,3 раза ($P \leq 0,001$) соответственно) в крови кур можно утверждать о выраженном антиоксидантном воздействии препарата «Е-селен».

Ключевые слова: НЕОМЕРМ, КУРЫ, ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ (ПОЛ), ДИЕНОВЫЕ КОНЬЮГАТЫ (ДК), МАЛОНОВЫЙ ДИАЛЬДЕГИД (МДА), АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА (АОС), АНТИОКИСЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ (АОА), Е-СЕЛЕН, ВИТАМИН Е, АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА (АФК)

Погляди науковців на проблему дослідження потенційних ризиків отруєнь біотичної або ксенобіотичної етіології, на жаль, мають традиційний характер та обмежуються визначенням у біологічних об'єктах низки класичних токсико-біохімічних тестів — оцінювання функціонального стану печінки, системи гемопоезу тощо. Але ці пропуски доповнює цитотоксикологія, яка стверджує, що в основі цитотоксичних ефектів будь-якого

потенційного токсиканту або отрути лежить окиснювальний стрес і запальні реакції [1]. Відомо, що найпершою ушкоджується цитоплазматична мембрана, оскільки вона слугує бар'єром між поза- та внутрішньоклітинним оточенням, що забезпечує селективний транспорт речовин [2]. Активні метаболіти кисню (АМК), які належать до класу найбільш реакційно активних, вважають високотоксичними, здатними ушкоджувати клітинні сис-

теми та їх біомембрани через окиснювальну деградацію ліпідів, білків, ДНК і РНК за вільнорадикальним механізмом, тому навіть відносно невеликі кількості продуктів, зокрема ліпопероксидації, впливатимуть на експресію генів, репараційні, метаболічні та біосинтетичні процеси [3, 4].

Метою досліджень є встановлення токсичної дії на антиоксидантну систему курей нового антигельмінтика неоверму за одноразового його застосування.

Матеріали і методи

У досліді використали 12 курей масою 1100–1200 г, яких утримували на стандартному раціоні. Птицю розділили на дві дослідні (І і ІІ, $n=8$) та контрольну ($n=4$) групи. Кури І групи отримували «Неоверм» одноразово внутрішньошлунково у дозі $0,4 \text{ см}^3/\text{кг}$ маси тіла, кури ІІ групи — $0,4 \text{ см}^3$ «Неоверм» + «Е-селен» (10 см^3 на 1 дм^3 води для випоювання). Птиці контрольної групи препарат не вводили.

Інтенсивність процесів перекисного окиснювання ліпідів (ПОЛ) оцінювали через 7 діб за визначення у плазмі крові концентрації його продуктів — дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) — у гептан-ізопропанольних екстрактах з використанням методики В. Б. Гаврилової і М. І. Мішкорудної (1985) [5, 6]. Стан показників антиокиснювальної системи (АОС) досліджували за активністю каталази (КФ 1.11.1.6) з використанням H_2O_2 спектрофотометрично (*SHIMADZU UV-1800*, Японія) за довжини хвилі 410 нм [5, 7]. Рівень загальної антиокислювальної активності (АОА) ліпідів, екстрагованих з плазми крові, визначали за ступенем їх здатності гальмувати накопичення ТБК-активних продуктів ПОЛ за інкубації суспензії жовткових ліпопротеїдів [5, 8]. Спектр поглинання ТБК-активних продуктів реєстрували спектрофотометрично (*SHIMADZU UV-1800*, Японія) за довжини хвилі 535 нм, виражаючи АОА ліпідів плазми крові у відсотках (%) інгібіції окиснення жовткових ліпопротеїнів. Вміст вітаміну Е у плазмі крові експериментальної птиці ви-

значали так, як описано в методичних рекомендаціях (Куцан О. Т., Оробченко, 2009) [9]. Вміст Селену в плазмі крові птиці досліджували методом рентгенофлуоресцентного аналізу, відповідно до методичних рекомендацій на приладі «Спектроскан-МАКС» [10]. Результати досліджень оброблені статистично з використанням пакета програм *Microsoft Excel 2003 (for Windows XP)*.

Результати й обговорення

Дослідженнями встановлено, що одноразове введення «Неоверму» у 10-кратній (токсичній) дозі у крові курей І дослідної групи спричиняло вірогідне зростання вмісту як первинних (ДК), так й кінцевих продуктів ліпопероксидації (МДА). Так, у плазмі крові курей цієї групи визначено підвищення рівня ДК і МДА в середньому в 2,5 і 2,2 рази ($P \leq 0,05$) відповідно відносно значень цих показників у контрольній птиці.

У плазмі крові курей, які на фоні введення токсичної дози «Неоверму» піддавались лікуванню «Е-селеном», відбувалось уповільнення інтенсивності процесів ліпопероксидації за рівнем утворення її продуктів. Так, за умов застосування «Е-селену» у 5-кратній дозі встановлено вірогідне зниження вмісту ДК і МДА у плазмі крові курей ІІ дослідної групи в середньому у 2,1 і 2,0 рази відносно значень цих показників у птиці І дослідної групи. У той же час встановлений рівень ДК в курей після лікування статистично не відрізнявся від такого у контрольної птиці, тоді як вміст МДА (вторинного продукту ПОЛ) вірогідно перевищував контроль на 11,5 % (Табл. 1).

Відомо, що надлишкове утворення мембранальтеруючих токсичних продуктів ПОЛ відображає зрушення збалансування ферментативної та неферментативної ланок антиокиснювальної системи, якій належить визначальна регуляторна та прогностична роль у захисті мембран клітин. Згідно з цією теорією, розвиток ланцюгових реакцій під дією будь-якого чинника відбувається на фоні ураження або інгібіції активності природної АОС, функція якої полягає у запобіганні

Таблиця 1

**Рівень показників інтенсивності процесів ПОЛ у плазмі крові курей
за одноразового введення токсичної дози «Неоверму» ($M \pm m$; $n=3$)**

Групи тварин	Інтенсивність ПОЛ, продукти	
	ДК, мкмоль/л	МДА, Δ Д
Контроль	17,91 \pm 0,87	2,86 \pm 0,06
I дослідна — «Неоверм», 0,4 см ³ /кг маси тіла	44,09 \pm 1,02**	6,34 \pm 0,17**
II дослідна — «Неоверм» + «Е-селен»	21,06 \pm 1,21 ¹	3,19 \pm 0,07* ¹

Примітки: * — різниця значень вірогідна за $P \leq 0,05$; ** — $P \leq 0,001$ відносно значень такого показника контролю; ¹ — різниця значень вірогідна за $P \leq 0,001$ відносно значень такого показника у I дослідної групи

спонтанному окисненню, а зрушення у роботі призводить через ушкодження біомембран клітин до змін важливих метаболічних процесів і розладу головних систем детоксикації в організмі. Аддитивність взаємодії ензимних та неензимних антиоксидантних систем між собою забезпечує підтримку на стаціонарному рівні концентрації продуктів ліпопероксидації та запобігає активації процесів ПОЛ.

Встановлено, що внаслідок введення «Неоверму» у токсичній дозі (0,4 см³/кг маси тіла) в крові курей (I дослідна) відбувалось гальмування активності каталази. Так, у плазмі крові курей цієї групи рівень активності каталази був знижений в середньому в 2,3 разу ($P \leq 0,01$) відносно значень контролю. Застосування лікувального препарату «Е-селен» призводило до відновлення активності каталази практично до її фізіологічного (контрольного) рівня, а її значення були в середньому в 1,9 разу вищими ($P \leq 0,01$), ніж у птиці, якій вводили «Неоверм».

Отримані результати свідчать, що внаслідок введення «Неоверму» в курей I дослід-

ної групи не було вірогідних змін показника загальної АОА ліпідів плазми крові, значення якого наближались до контрольного рівня. Застосування «Е-Селену» в 5-кратній дозі, навпаки, призводило до підвищення рівня цього показника. Так, відсоток інгібіції ТБК-активних продуктів у крові курей II дослідної групи складав 62,27 \pm 3,20, що було вищим за його значення у птиці контрольної та I дослідної груп у середньому на 14,5 % та 25,5 % ($P \leq 0,01$) відповідно (Табл. 2).

Вміст вітаміну Е в плазмі крові курей I дослідної групи знижувався майже в 1,9 разу ($P \leq 0,05$) відносно його контрольного значення. Застосування «Е-селену» сприяло суттєвому відновленню пулу токоферолів в організмі птиці II дослідної групи. Встановлено, що вміст вітаміну Е у плазмі крові курей цієї групи вірогідно збільшувався як відносно його рівня в контрольній птиці, так і в курей, яким вводили «Неоверм», у середньому в 3,3 і 6,1 разу відповідно.

Антиоксидантна активність Селену зумовлена тим, що він входить до складу відповідних ферментів — глутатіонпероксидази,

Таблиця 2

**Рівень показників функціональності АОС плазми крові курей
за одноразового введення токсичної дози «Неоверму» ($M \pm m$; $n=3$)**

Показники	Групи птиці		
	Контроль	I дослідна — «Неоверм», 0,4 см ³ /кг маси тіла	II дослідна — «Неоверм» + «Е-селен»
Активність каталази, нмоль H ₂ O ₂ /сек мг білка	17,72 \pm 1,44	7,81 \pm 0,77**	14,59 \pm 1,12 ²
Загальна АОА, % інгібіції	54,40 \pm 3,21	49,60 \pm 1,97	62,27 \pm 3,20 ¹
Вітамін Е, мкмоль/дм ³	5,03 \pm 0,39	2,71 \pm 0,39*	16,63 \pm 0,62*** ¹
Селен, мг/дм ³	0,074 \pm 0,004	0,057 \pm 0,004*	0,130 \pm 0,010** ²

Примітки: * — різниця значень вірогідна за $P \leq 0,05$, ** — різниця значень вірогідна за $P \leq 0,01$, *** — $P \leq 0,001$ відносно значень такого показника у контролі; ¹ — різниця значень вірогідна за $P \leq 0,001$, ² — різниця значень вірогідна за $P \leq 0,01$ відносно значень такого показника I дослідної групи

І-йодтиронін-5-дейодинази. Встановлено, що під впливом «Неоверму» за надмірного утворення продуктів ПОЛ у крові курей вміст Селену вірогідно знижувався відносно контрольного рівня у середньому на 23 %. Але у результаті застосування селенвмісного препарату «Е-селену» у плазмі крові дослідних курей (II дослідна група) рівень Селену збільшувався ($P \leq 0,01$) не лише відносно показника у птиці I дослідної групи (в 1,3 разу), а й відносно контрольної (на 75,7 %) ($P \leq 0,01$) відповідно.

Висновки

1. Механізм прооксидантної дії «Неоверму» у токсичній дозі ($0,4 \text{ см}^3/\text{кг}$ маси тіла) полягав у надлишковому утворенні токсичних продуктів ліпопероксидації — ДК і МДА — на тлі витрачання ємності власних антиоксидантних ресурсів за гальмуванням активності каталази та зниженні рівня структурних антиоксидантів — вітаміну Е та Селену ($P \leq 0,01$), що є ознакою формування окиснювального стресу в організмі дослідних курей.

2. За результатами відновлення пулу ендогенних антиоксидантних ресурсів (посилення активності каталази, нормалізації до фізіологічного рівня загальної АОА, підвищення концентрації структурних складових неферментативної ланки АОС — вітаміну Е і Селену ($P \leq 0,01$) у крові курей, можна стверджувати про виражений антиоксидантний вплив препарату «Е-селену» у 5-кратній дозі (II дослідна група), та в подальших дослідженнях — враховувати з метою проведення терапії спрямованої протективної дії.

Перспективи подальших досліджень.

Проведене дослідження дозволить у подальшому запропонувати нові методи корегування антиокислювального захисту організму шляхом підбору різних комбінацій екзогенних препаратів і стимуляції власних антиоксидантних ресурсів.

1. Garcon G., Dagher Z. **Dunkerque City air pollution particulate matter — induced cytotoxicity, oxidative stress and inflammation in human epithelial lung cells.** *Toxicol. in vitro.* 2006, 20, No. 4, p. 519–529.

2. Ajayan, P. M., Zhou O. Z. **Drug delivery and biomolecular transport** *Carbon.* 2005, V. 43, p. 389–415.

3. Dubinina E. E. Role of active forms of oxygen as signal molecules in tissue metabolism at the state of oxidative stress. *Problems of med. chemistry*, 2001, V. 47, № 6, p. 561–581. (in Russian)

4. Zenkov N. A., Lankin V. Z., Menshikova E. B. Oxidative stress: biochemical and pathophysiological aspect. Moscow, *Maik*, 2001, 343 p. (in Russian)

5. Stegnyy B. T., Kovalenko L. V., Romanko M. E. Methods of lipid peroxidation intensity evaluation and its regulation in biological objects: *methodical recommendations*. Kharkiv, 2007, 59 p. (in Ukrainian)

6. Gavrilova V. B., Mishkorudnaya M. I. Spectrophotometric determination of the content of lipid hydroperoxides in blood plasma. *Labor. service*, 1985, № 3, p. 33–35.

7. Korolyuk M. A. Determination of catalase activity. *Labor. service*, 1988, № 1, p. 16–18. (in Ukrainian)

8. Klebanov G. I., Babenkova M. V., Teselkin Yu. O. Evaluation of antioxidant activity of blood plasma with the use of bile lipoproteids. *Labor. service*, 1988, № 5, p. 59–62. (in Russian)

9. Kutsan O. T., Orobchenko O. L. Control of provision and optimization of vitamin E and selen doses when growing laying hens: methodical recommendations. 2009. 47 p. (in Ukrainian)

10. Malinin O. O., Kutsan O. T., Shevtsova G. M. Determination of inorganic elements in biological substrates by X-ray-flourescent analysis: methodical recommendations. 2009, 40 p. (in Ukrainian)