

УДК 636.22/28:612.015.3:636.22/28.087.7

Ракитянський В.М., асистент[©]**Єфімов В.Г.**, кандидат ветеринарних наук (uefimov@ukr.net)

Дніпропетровський державний аграрний університет

**ПЕРОКСИДАЗНА ТА КАТАЛАЗНА АКТИВНІСТЬ КРОВІ У
ГОЛШТИНСЬКОЇ ХУДОБИ ЗА ДІЇ ГІДРОГУМАТУ І
МІКРОЕЛЕМЕНТІВ**

Наводяться зміни каталазної і пероксидазної активності крові голштинської худоби за впливу гідрогумату та мінеральних сполук міді, кобальту і йоду. Встановлено, що згодовування мікроелементів призводить до зростання каталазної активності крові у корів та телят, а гідрогумат окремо і в поєднанні з мікроелементами сприяє її зниженню. Пероксидазна активність крові за сумісної дії гідрогумату і мікроелементів зростає у корів і телят.

Ключові слова: каталазна та пероксидазна активність крові, голштинська худоба, мікроелементи.

Вступ. Активізація процесів обміну речовин неможлива без прискорення окисно-відновних реакцій в організмі, що, безумовно, потребує адекватного рівня оксигенації клітин. Насичення клітин киснем супроводжується утворенням активних його форм, таких як супероксидний ($\bullet\text{O}_2^-$) та гідроксильний радикали ($\bullet\text{OH}^-$), перекис водню (H_2O_2) та синглетний кисень ($\bullet\text{O}_2^-$) [8]. Цей процес відбувається в організмі постійно, і супроводжує цілком природні, життєво важливі внутрішньоклітинні реакції. Зокрема, перехід заліза з дво- на тривалентну форму у структурі гемоглобіну в еритроцитах відбувається з утворенням супероксидного аніону [12].

Активні форми кисню (АФК) ініціюють перекисне окиснення ліпідів, спричиняючи таким чином дестабілізацію біологічних мембран, змінюючи їх фазові властивості та знижуючи їх електричний опір. Відбувається пригнічення рухливих мембранних білків [5, 7]. Зміни, які відбуваються на молекулярному і клітинному рівні, призводять до роз'єднання окиснення і фосфорилування, порушення васкуляризації, оксигенації та трофіки тканин.

На протидію прооксидантним системам, які генерують активні форми кисню, існують антиоксидантні системи. Первинні АФК інактивуються супероксиддисмутазою, каталазою та пероксидазами. Перший з цих ферментів каталізує реакцію дисмутації двох молекул супероксиданіону з утворенням перекису водню та кисню. H_2O_2 є субстратом для каталази та пероксидази, які знешкоджують його з утворенням води та кисню [11, 14]. Пероксидази також каталізують редукцію гідроперекисів жирних кислот. Відомо, що спорідненість цього ферменту до перекису водню вища, ніж у каталази, що пояснює його більшу роль у знешкодженні H_2O_2 за низьких концентрацій, в той час як під час

окиснювального стресу ключова роль в захисті клітин від H_2O_2 належить каталазі [10, 13].

З огляду на роль каталази і пероксидази у підтримці окисного гомеостазу в клітинах організму, нами за мету цієї роботи було поставлено вивчення їх активності в крові високопродуктивних корів та телят 1,5-2-місячного віку, яким згодувалась добавка гумінової природи гідрогумат, а також за усунення дефіциту в раціоні міді, кобальту та йоду.

Матеріал і методи. Дослідження проводились в умовах ТОВ «Агро-Овен» Магдалинівського району Дніпропетровської області на коровах голштинської породи віком 3-6 років на 2-3 місяць після отелення та отриманих від них телятах 1,5-2-місячного віку. Всі тварини споживали основний раціон (ОР), дефіцитний за вмістом міді, кобальту та йоду. Всього було сформовано 4 групи по 10 корів: тварини контрольної отримували ОР, 1-шої дослідної – ОР + гідрогумат (ГГ), 2-ої дослідної – ОР + суміш мікроелементів (МЕ), 3-ої дослідної – ОР + ГГ + МЕ. За такою ж схемою формувалися і групи телят.

Гідрогумат вводився до раціону в дозі 50 мг/кг маси тіла. Суміш мікроелементів складалася із міді сульфату – 0,4 мг, кобальту хлориду – 0,05 мг та калію йодиду – 0,01 мг в перерахунку на 1 кг маси тіла. Такі дози мікроелементів ліквідували їх дефіцит у раціоні худоби.

Добавки задавалися 1 раз на добу, індивідуально. Дослід тривав 30 діб. Кров відбиралася на початку та наприкінці досліду. В крові досліджувалися активність каталази (за методом Баха і Зубкової) та пероксидази (за Сімаковим). Для зручності пероксидазну активність перераховували в умовні одиниці (у.о.) за формулою: $у.о. = 100 / \text{час реакції в секундах}$. Статистична обробка даних проводилася з використанням програми Microsoft Excel 2003.

Результати дослідження. Активність каталази в крові телят коливалася в межах 9,13-9,47 кат. од. і була вірогідно вищою, ніж у корів, у яких він складав 8,08-8,39 кат. од. (рис. 1).

Таку вікову відмінність ми схильні пов'язувати із більшою метаболічною активністю тканин організму у молодому віці, що супроводжується посиленням утворенням АФК. На зв'язок між рівнем метаболізму і активністю каталази вказує Р.Й. Кравців [6]. Нами також протягом досліду було відзначено зростання активності каталази (на 24,8 %; $P < 0,001$). Очевидно, це пов'язане з поступовим підвищенням метаболічної активності тканин організму корів у динаміці лактації, адже в період досліджень спостерігались найвищі добові надой. У телят контрольної групи вірогідних коливань показника протягом досліду не зафіксовано.

Введення до раціону тварин гідрогумату супроводжувалось змінами активності каталази. Зокрема, у корів під час лактації активність цього ферменту знизилась відносно контролю на 19,2 % ($P < 0,001$). Аналогічну спрямованість мала динаміка каталазної активності й у телят, за споживання ними гідрогумату, проте різниця із контролем у 9,4 % не була вірогідною. Це обумовило зниження кількості вільнорадикальних сполук, зокрема перекису водню, який є субстратом для каталази, а відтак і зниження активності останньої. Крім того, як зазначалося раніше, каталаза проявляє свої

антиоксидантні властивості лише за високих концентрацій перекису водню [10]. Це також може доводити зменшення її активності у наших дослідженнях.

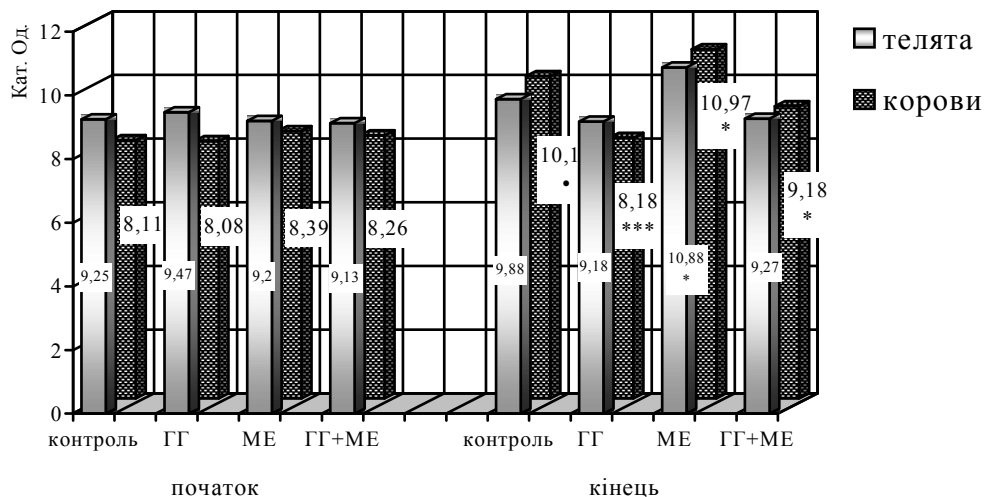


Рис. 1. Активність каталази в крові корів і телят за дії гідрогумату і мікроелементів ($M \pm m$; $n=7-10$)

Примітки: * $P < 0,05$; *** $P < 0,01$ до контролю; • $P < 0,001$ до початку дослідження

Корекція раціонів корів і телят за дефіцитними міддю, кобальтом і йодом, навпаки, сприяла зростанню активності каталази у крові. Зокрема, у корів цей показник був на рівні 10,97, а у телят – 10,88 кат.од., що було більше в порівнянні з контролем відповідно на 8,4 % ($P < 0,05$) та 10,1 % ($P < 0,05$). Таким змінам, можливо, сприяло збільшення концентрації іонів металів зі змінною валентністю, наприклад, міді та заліза [4]. З іншого боку, одна з ізоензимних форм супероксиддисмутази (СОД) має в активному центрі атом міді. Поповнення запасів цього мікроелементу в організмі, відповідно, могло сприяти зростанню її активності, а відтак – і каталази. Крім того, існує думка, що зростання активності каталази пов'язане із посиленням окиснювального фосфорилування та є активатором віддачі кисню крові [9], зв'язаного з гемоглобіном.

Поєднане використання гідрогумату і мікроелементної добавки також відобразилося на активності каталази у крові тварин. Зокрема, було встановлено вірогідне її зниження на 9,3 % у корів 3-ї дослідної групи відносно контрольної. В той же час у телят цей показник також знижувався, проте ці зміни були менш виражені: різниця з контролем складала 6,2 %. Більш помірна динаміка активності каталази у тварин обох вікових груп, напевне, зумовлена покращенням оксигенації тканин та посиленням обмінних процесів в організмі [2], що створило метаболічну ситуацію, яка потребує підвищеного біологічного захисту від надлишку перекисних сполук і руйнації клітинних структур і функціональних молекул. З іншого боку, додані добавки безпосередньо могли діяти як антиоксиданти. Зокрема, фенольні групи, наявні в складі гумінових речовин, здатні бути донорами електронів для вільних радикалів,

перетворюючи останні на молекулярні речовини [7]. До того ж, за дії міді могла зрости активність церулоплазміну, який каталізує перетворення двовалентної форми заліза у тривалентну, знижуючи тим самим рівень утворення супероксиданіон-радикалу. Відомо, що саме Fe^{2+} є одним з потенційних джерел утворення цієї форми кисню [1, 12].

Наступним кроком було вивчення пероксидазної активності крові тварин. На цьому етапі було з'ясовано, що за цим показником кров корів і телят майже не різнилася на початку дослідження (рис. 2).

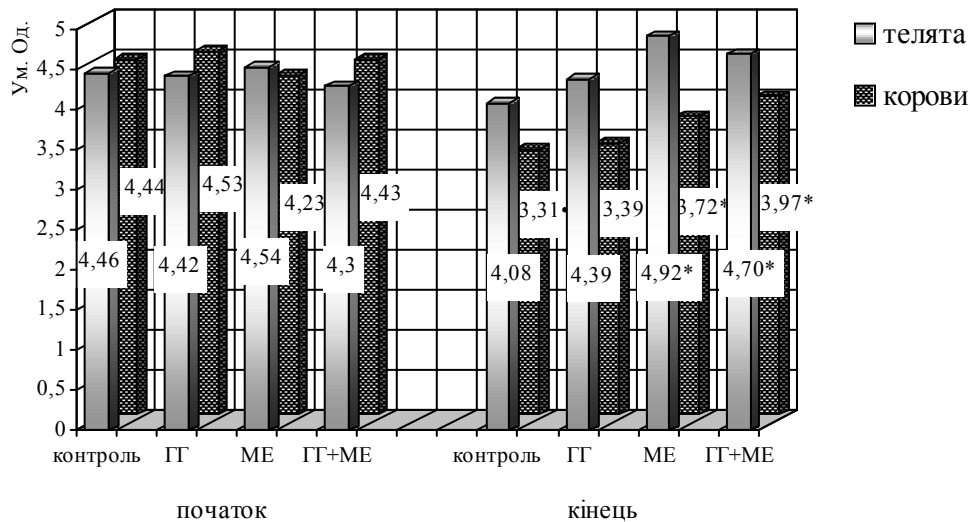


Рис. 2. Пероксидазна активність крові корів і телят за дії гідрогумату і мікроелементів ($M \pm m$; $n=7-10$)

Примітки: * $P < 0,05$ відносно контролю; • $P < 0,001$ до початку дослідження

Однак, протягом наступного місяця (час дослідження) відбулося істотне зниження пероксидазної активності крові корів контрольної групи (на 25,5 %, при $P < 0,001$), чого ми не спостерігали у телят. Рівень цього показника у них залишався на відносно сталому рівні. Такі зміни досліджуваного показника у корів ми схильні пояснювати поступовим зростанням метаболічного напруження протягом лактації, властивим високопродуктивній худобі, особливо з боку енергетичного обміну, і яке досягає максимуму до піку лактації.

Згодовування гідрогумату майже не вплинуло на пероксидазну активність крові корів і телят: різниця з контролем у них була мінімальною – 2,4 та 7,6 % відповідно. Очевидно, за дії гумінових речовин в тканинах знижується утворення перекису водню. До того ж, як зазначають деякі автори [13], роль глутатіонпероксидази в знешкодженні перекису водню менша, ніж каталази.

Вплив суміші міді, кобальту і йоду на пероксидазну активність крові тварин був більш вираженим. Зокрема, у корів 2-ї дослідної групи відбулося зростання цього показника на 12,4 % ($P < 0,05$), а у телят - на 20,6 % ($P < 0,05$).

Такі зміни можна пояснити, з одного боку, певною прооксидантною дією деяких мікроелементів, як наслідок посиленого еритро – та гемоглобінопоезу [3], з іншого – активізацією ліпідного обміну на тлі споживання тваринами мікроелементів. Крім того, за впливу міді, кобальту та йоду, як встановлено нами раніше, зростає рівень вільних (неетерифікованих) жирних кислот у сироватці крові. Відомо, що глутатіонпероксидаза руйнує не лише перекис водню, а й перекисні сполуки, що утворюються внаслідок окиснення ненасичених жирних кислот [1]. Саме вони найшвидше залучаються до процесів пероксидації вільнорадикальними похідними кисню.

Вивчення сумісного застосування гідрогумату і мікроелементів призвело до ще більшого зростання пероксидазної активності крові у корів, порівняно з попередніми дослідними групами. Цей показник сягнув значення $3,97 \pm 0,19$ ум.од., що на 19,9 % ($P < 0,05$) переважало контроль. У телят за дії мікроелементів та гумінових речовин приріст пероксидазної активності крові був дещо нижче, порівняно з використанням самих лише мінеральних речовин, і склав 15,2 % ($P < 0,05$), за абсолютного значення $4,70 \pm 0,17$ ум.од. Головною причиною зростання пероксидазної активності за сумісного згодовування коровам і телятам запропонованих добавок, на нашу думку є, компенсаторна відповідь на посилений енергетичний та ліпідний обміни.

Висновки. 1. Активність каталази крові у корів під час лактації була нижчою порівняно з телятами, поступово зростаючи в динаміці лактації. 2. За дії мікроелементів зростала каталазна активність крові у корів та телят, а також пероксидазна – у телят. 3. За окремого і сумісного з мікроелементами впливу гідрогумату знижувалася активність каталази у корів, тоді як пероксидазна активність за сумісної дії добавок зростала як у корів, так і у телят.

Література

1. Ветеринарна клінічна біохімія / [В.І. Левченко, В.В. Влізло, І.П. Кондрахін та ін.]; за ред. В.І. Левченка та В.Л. Галяса. – Біла Церква, 2002. – 400 с.
2. Грибан В.Г. Використання препаратів гумусової природи у поєднанні з мікроелементами для корекції обміну речовин у корів / В.Г.Грибан, В.Г. Єфімов, В.М. Ракитянський // Науковий вісник НАУ. – К., 2004. – Вип. 78. – С. 64-66.
3. Грибан В.Г. Вплив міді, кобальту та йоду на стан системи еритропоезу в корів голштинської породи / В.Г.Грибан, В.М. Ракитянський, В.Г. Єфімов // Науковий вісник НАУ – К., 2007. – Вип. 108. – С. 154-158.
4. Губерук В.О. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантна система захисту організму (Огляд літератури) / В.О. Губерук // Науковий вісник Львівського НУВМБТ ім. С.З. Гжицького. – 2008. – Т. 10, № 3 (38), Ч. 1. – С. 51-55.
5. Гутий Б.В. Нітратне навантаження організму бичків і стан антиоксидантної системи їх крові за цих умов / Б.В. Гутий // Науковий вісник Львівської НАВМ ім. С.З. Гжицького. – 2004. – Т. 6, №3, Ч. 1. – С. 88-94.
6. Кравцов Р.И. Обмен веществ и мясные качества молодняка крупного рогатого скота при оптимизации системы микроэлементного питания: дисс. В

форме наукового доклада на соис. уч. ст. д.б.н.: спец. 03.00.13 «Физиология человека и животных». – Львов, 1992. – 88 с.

7. Старик Л.І. Антиоксидантна система: природа, склад, механізми гомеостазу (Огляд літератури) / Л.І. Старик // Науковий вісник Львівської НАВМ ім. С.З. Гжицького. – 2007. – Т. 9, № 3 (34), Ч. 2. – С. 172-177.

8. Холод В.М. Клиническая биохимия: Учебное пособие / В.М. Холод, А.П. Курдеко. – Витебск: УО ВГАВМ, 2005. – Ч. 1. – 188 с.

9. Ясинецкая Н.И. Гематологические и биохимические показатели крови лошади пржевальского заповедника «аскания-нова» / Н.И. Ясинецкая // Вісті Біосферного заповідника «Асканія-Нова» ім. Ф.Е.Фальц-Фейна – Асканія-Нова, 1998. – С. 99-109.

10. Johnson R.M Hemoglobin autoxidation and regulation of endogenous H₂O₂ levels in erythrocytes / [R.M. Johnson, G. Goyette, Y. Ravindranath, Y.S. Ho] // Free Radic. Biol. Med. – 2005. – Vol. 39. – P. 1407-1417.

11. Kirkman H.N. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries / H.N. Kirkman, G.F. Gaetani. // Trends Biochem. Sci. – 2007. – Vol. 32. – P. 44-50.

12. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season / [U. Bernabucci, B. Ronchi, N. Lacetera, A. Nardone] // J. Dairy Sci. – 2002. – Vol. 85. – P. 2173-2179.

13. Peroxiredoxin II is essential for sustaining life span of erythrocytes in mice / Lee T.H., Kim S.U., Yu S.L. [et al.] // Blood. – 2003. – Vol. 101. – P. 5033-5038.

14. Saltman P. Oxidative stress: a radical view / P. Saltman // Semin. Hematol. – 1989. – Vol. 26. – P. 249 – 256.

Summary

Rakityansky V., Yefimov V.

PEROXYDASE AND CATALASE ACTIVITY OF BLOOD AT HOLSTEIN CATTLE UNDER INFLUENCE HYDROHUMATE AND TRACE ELEMENTS

Changes of peroxydase and catalase activity of blood at holstein cattle under influence hydrohumate and mineral salts of copper, cobalt and iodine are resulted. It is established, that composition of trace elements to increase catalase activity of blood at cows and calves, and hydrohumate separately and in a combination to trace elements promotes its decrease. Peroxydase activity of blood at complexional action of hydrohumate and trace elements increases both at cows, and at calves.

Key words: *peroxydase and catalase activity of blood, holstein cattle, trace elements.*

Стаття надійшла до редакції 11.03.2010