

УДК 619.09.636:678.048:615.916:631.842:636.4

Леськів Х.Я., аспірантка, Гутий Б.В., к.вет.н., доцент,

Гуфрій Д.Ф., д.вет.н., професор. ©

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

ВПЛИВ МЕТІОНІНУ, ФЕНАРОНУ ТА МЕТІФЕНУ НА СТАН ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПОРОСЯТ ПРИ РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОГО НІТРАТНО-НІТРИТНОГО ТОКСИКОЗУ

У статті описана динаміка показників стану гуморального імунітету поросят при нітратно-нітритному навантаженні. А також досліджено вплив антиоксидантів : метіоніну, фенарону та метіфену, котрі при задаванні у корм позитивно впливають на стан імунної системи за умов хронічного нітратно-нітритного токсикозу.

Ключові слова: *Метіфен, фенарон, метіонін, гуморальний імунітет, нітратно-нітритний токсикоз.*

Вступ. Вивченню питань, пов'язаних з нітратно-нітритним токсикозом у тварин та птиці, присвячена значна кількість наукових робіт як вітчизняних, так і зарубіжних дослідників. Серед них у нашій країні найбільш фундаментальні дослідження проведені С.В.Баженовим, З.П.Скородинським, Г.О.Хмельницьким, А.Й.Мазуркевичем, О.О.Малініним, Д.Ф.Гуфрієм, О.І.Канюкою, В.М. Гунчаком та ін. Даними науковцями було встановлено основні ланки патогенезу нітратно-нітритних токсикозів з різним перебігом у тварин і птиці, зокрема, встановлено особливості процесів обміну речовин, порушення фізіологічних функцій організму [1]. Однак, слід відзначити, що механізм токсичної дії нітратів і нітритів на організм свиней досі вивчено недостатньо, зокрема їхній вплив на імунну систему.

Досі актуальною проблемою при хронічних токсикозах у тварин є розробка ветеринарних препаратів, здатних підвищувати антиоксидантну активність та імунну резистентність організму тварин, нормалізувати процеси метаболізму у тканинах, відновлювати структуру та функції органів і систем. Серед них великого поширення набули різні специфічні й неспецифічні біологічно активні препарати, одним із яких є фенарон, який затримує окиснення ліпідів і знижує вміст вільних радикалів, забезпечує збереження біологічно активних речовин у вітамінних препаратах і кормових добавках. Фенарон - це комплексна сполука, що містить 70% феназан-кислоти та 30% цеоліту. В організмі тварин фенарон стимулює перетворення перекисів у неактивні метаболіти, що сприяє підвищенню неспецифічної резистентності організму тварин.

Механізм дії фенарону при хронічному нітратно-нітритному токсикозі пов'язаний з безпосереднім впливом його складників на інгібування процесів всмоктування метаболітів, які проявляють токсичну дію на мембрани клітин організму тварин, викликаних нітритами. У результаті адсорбуючої дії цеоліту, у травному каналі відбувається зниження концентрації речовин, які утворюються при потрапленні нітратів і нітритів, що можуть бути токсичними для організму та субстратами для посилення процесів перекисного окиснення ліпідів. Даний процес відбувається шляхом осмосу та дифузії цих речовин через капіляри мікрворсинок тонкого кишечника та подальшої їх фіксації на гранулах сорбенту [5]. Попереджаючи надходження токсичних речовин із травного каналу до крові та розвитку запальних реакцій у кишечнику, ентеросорбція опосередковано сприяє функціональному розвантаженню печінки, саме таким чином забезпечує ефективніше функціонування системи антиоксидантного захисту організму тварин. Фенозан-кислота є антиоксидантом прямої дії, яка безпосередньо взаємодіє з продуктами перекисного окиснення ліпідів та вільними радикалами.

Однак, у дослідженнях ряду авторів [2] встановлено, що при надходженні нітратів в організм тварин у великих кількостях, фенарон не здійснював належного корегувального впливу на систему антиоксидантного захисту та нейтралізації продуктів перекисного окиснення ліпідів, що стало поштовхом для розробки нового препарату, який би міг здійснювати належну корегуючу функцію.

На кафедрі фармакології та токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького, було розроблено антиоксидантний препарат Метіфен, який у своєму складі містить препарат фенарон та амінокислоту метіонін [3].

Амінокислота метіонін об'єднує ферментну та неферментну системи протирадикального захисту біологічних мембран клітин. Вона забезпечує перетворення нейтральних жирів у фосфоліпіди, які стабілізують субклітинні мембрани і забезпечують таким чином антиоксидантний захист та підвищують стійкість гепатоцитів проти токсичної дії шкідливих речовин, в тому числі і нітритів. Метіонін також підтримує кальцієвий гомеостаз та запобігає розвитку жирової дистрофії печінки.

Отже, з даних літератури відомо, що при нітратно-нітритному токсикозі у тварин застосовують препарати, які володіють антиоксидантними властивостями, оскільки при нітратно-нітритному токсикозі проходить виснаження антиоксидантної системи та зростання продуктів перекисного окиснення ліпідів. Запропоновані методи лікування тварин при даній інтоксикації стосуються лише птиці та великої рогатої худоби, однак на даний токсикоз також хворіють і свині, тому нагальною проблемою є вивчення патогенезу нітратно-нітритного токсикозу у свиней та розробка ефективного методу лікування та профілактики нітратно-нітритної інтоксикації [4]. Застосування відомих препаратів при хронічному нітратно-нітритному

токсикозі недостатньо вивчена на свинях, власне тому вивчення фенарону, метіфену і метіоніну при нітратно-нітритному токсикозі у свиней є актуальним.

Мета дослідження. Оскільки дана стаття є лише фрагментом дисертаційної роботи, наші дослідження були скеровані на вивчення впливу фенарону, метіфену і метіоніну на гуморальний імунітет при нітратно-нітритному токсикозі у свиней.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктами досліджень були 20 поросят великої білої породи тримісячного віку. Дослідження проводили у ННВЦ Комарнівський Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім С.З. Гжицького. За методом груп-аналогів було сформовано одну контрольну та три дослідні. Схема досліду наведена у таблиці 1.

Таблиця 1

Групи тварин	Доза препарату+NO ₃ ⁻
К	Поросятам згодовували нітрат натрію у дозі 0,3 гNO ₃ ⁻ /кг маси тіла один раз на добу протягом досліджень
Д ₁	Поросятам згодовували метіонін у дозі 4 мг/кг.тв + нітрат натрію у дозі 0,3 гNO ₃ ⁻ /кг маси тіла один раз на добу протягом досліджень
Д ₂	Поросятам згодовували фенарон у дозі 1,20 мг/кг.тв + нітрат натрію у дозі 0,3 гNO ₃ ⁻ /кг маси тіла один раз на добу протягом досліджень
Д ₃	Поросятам згодовували метіфен у дозі 0,9 мг/кг.тв + нітрат натрію у дозі 0,3 гNO ₃ ⁻ /кг маси тіла один раз на добу протягом досліджень

Кров для досліджень брали з краніальної порожнистої вени на початку досліду та на 10, 30, 60, 90 добу. Із гуморальних показників резистентності досліджували бактерицидну активність сироватки крові (НБА) за методом О.В. Смирнової, Т.А. Кузьміної (1966), лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК) – фотоелектроколориметричним методом і титр нормальних антитіл сироватки крові (ТНАСК) в реакції аглютинації (Чумаченко В.Е. и др., 1990).

Результати досліджень.

Результати досліджень впливу фенарону, метіфену і метіоніну на гуморальний імунітет при нітратно-нітритному токсикозі у свиней наведені в таблиці 2.

Відомо, що гуморальний імунітет забезпечується специфічними макромолекулами, які функціонують у внутрішніх рідинах організму тварин. У плазмі крові містяться спеціальні білки, які здатні знешкоджувати мікроорганізми та отруйні продукти їх життєдіяльності, які надходять у рідини організму. Функція імунної системи полягає у розпізнаванні генетично чужорідних антигенів та специфічному реагуванні на них. Основна її мета нейтралізація та руйнування тих антигенів, які стимулюють імунну відповідь.

Як видно із даних таблиці 2, при хронічному нітратно-нітритному токсикозі у поросят антимікробна активність сироватки крові поросят у перші доби дослідження підвищилася, на що вказує підвищення бактерицидної та лізоцимної активності сироватки крові у хворих поросят. Так, на 10-ту добу досліду бактерицидна активність сироватки крові хворих поросят зросла на

11%, тоді як лізоцимна активність сироватки крові у вказаний період зросла на 4%. У подальшому, антимікробна активність сироватки крові поросят, яким згодовували нітрат натрію у токсичній дозі, почала поступово знижуватися, що вказує на пригнічення фізіологічного стану гуморальної ланки імунітету. На 30-ту добу досліду бактерицидна активність сироватки крові у поросят групи К досягала $25,13 \pm 0,65$ %, а лізоцимна активність сироватки крові - $39,41 \pm 0,60$ %. Найнижчу антимікробну активність встановлено на 60-ту добу досліду, де порівняно з початковими величинами, бактерицидна активність знизилася на 9%, а лізоцимна – на 6,8%.

Таблиця 2

**Показники гуморального імунітету поросят
при згодовуванні метіоніну, фенарону та метіфену за умов
хронічного нітратно-нітритного токсикозу ($M \pm m$, $n = 5$)**

Показники	Групи тварин					
	Початок	10 доба	30 доба	60 доба	90 доба	
Бактерицидна активність (НБА) %	К	26,44±0,49	29,41±0,60	25,13±0,65	24,04±0,54	24,83±0,50
	Д1	25,79±0,49	28,79±0,50	25,20±0,49	24,91±0,50*	25,05±0,56
	Д2	25,91±0,48	28,64±0,65	25,26±0,50	25,53±0,52**	25,42±0,49
	Д3	26,28±0,50	28,55±0,63	26,06±0,61	26,41±0,55**	26,35±0,61
Лізоцимна активність, %	К	41,12±0,61	42,89±0,63	39,41±0,60	38,31±0,72	40,21±0,70
	Д1	41,33±0,70	41,64±0,60	39,86±0,65	39,92±0,54***	39,99±0,70
	Д2	41,24±0,61	41,60±0,75	40,15±0,63	40,22±0,60***	40,76±0,65
	Д3	41,08±0,60	41,55±0,64	41,28±0,60	41,12±0,75***	41,20±0,60
ЦІК, мМ/мл	К	79,28±3,13	79,85±3,10	80,91±3,11	84,32±3,13	80,86±3,11
	Д1	79,31±3,10	79,34±3,13	79,74±3,13	82,86±3,10	79,91±3,10
	Д2	79,39±3,10	79,41±3,11	79,68±3,12	80,75±3,13**	79,42±3,10
	Д3	79,15±3,11	79,19±3,10	79,42±3,12	79,27±3,11	79,20±3,12

Ступінь вірогідності, порівняно з даними контрольних груп: * $-p \leq -0,05$; ** $-p \leq -0,02$; *** $-p \leq 0,001$

На 90-ту добу досліду у поросят дослідної групи К встановлено підвищену як бактерицидну, так і лізоцимну активність сироватки крові, на що вказує адаптація організму поросят на тривале надходження нітрату натрію, однак порівнюючи величини з показниками крові взятих на початку досліду антимікробна активність сироватки крові була нижчою.

За фізіологічних умов, утворення та наявність циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у рідинах є одним з проявів імунної відповіді організму на надходження антигенів та важливим чинником, що забезпечує імунітет. Утворені імунні комплекси за цих умов деякий час циркулюють в лімфі і крові, після чого відбувається їх виявлення. Одночасно з цим, ЦІК можуть запускати ланцюги патологічних змін, оскільки тривала циркуляція їх навіть при незначному підвищенні в рідинах організму призводить до нагромадження у тканинах. Це, в свою чергу, зумовлює посилену агрегацію та адгезію тромбоцитів, що призводить до порушення мікроциркуляції крові та облітерації судин гемомікроциркуляторного русла, пошкодження і некрозу тканин.

Сформовані циркулювальні імунні комплекси взаємодіють практично зі всіма клітинами крові, з комплементом, а також рецепторами багатьох клітин органів і тканин: ендотеліального шару судин, клітин гломерулярного апарату нирок тощо. Взаємодія ЦК з імунокомпетентними клітинами призводить до модуляції імунної відповіді.

При дослідженні величин показників гуморального імунітету встановлено, що у хворих поросят у крові рівень циркулювальних імунних комплексів (ЦК) на 30-ту добу досліді складає $80,91 \pm 3,11$ мМ/мл проти $79,28 \pm 3,13$ мМ/мл у клінічно здорових. На 60-ту добу досліді встановлено найвищий рівень циркулювальних імунних комплексів, де відповідно з початковими величинами він зріс на 6%. Високий рівень ЦК у сироватці крові вказує на пригнічення імунореактивної системи організму внаслідок приєднання специфічних антитіл до продуктів метаболізму при хронічному нітратно-нітритному токсикозі.

Тому просте виявлення високого рівня циркулювальних імунних комплексів без наявності клінічних ознак, даних анамнезу вказує лише на стимуляцію імунної відповіді організму поросят, яка спрямована на видалення з організму генетично чужих антигенів.

При дослідженні величин показників гуморального імунітету поросят, яким упродовж 3 місяців згодували метіонін, фенарон та метіфен, встановлено високу антимікробну активність сироватки крові.

Бактерицидна активність сироватки крові поросят, яким разом з нітратом натрію згодували метіонін, складала на 10-ту добу досліді $28,79 \pm 0,50$ %, а на 30-ту добу досліді відповідно $25,20 \pm 0,49$ %. На 60-ту добу досліді бактерицидна активність сироватки крові у даної дослідної групи дещо знизилася, однак порівняно з контрольною групою зросла на 4%. На 90-ту добу досліді даний показник доходив до меж величин фізіологічної норми.

Згодування фенарону та метіфену сприяло кращій нормалізації бактерицидної активності сироватки крові ніж застосування метіоніну. Так, на десятю добу досліді відзначаємо підвищення показника, що досліджувався, відповідно на 10 і 9% порівняно з початковими величинами, однак відносно контрольної групи тварин даний показник був дещо нижчим. На 30-ту добу досліді бактерицидна активність сироватки крові у обох дослідних групах знаходилася у межах величин $25,26 \pm 0,50$ - $26,06 \pm 0,61$ %. На 60-ту добу бактерицидна активність сироватки крові була найвищою у дослідної групи поросят, яким згодували метіфен, де відповідно з контрольною групою тварин вона підвищилася на 10%. На 60-ту добу досліді бактерицидна активність сироватки крові доходила до меж початкових величин.

Лізоцимна активність сироватки крові (ЛАСК) поросят на 10-ту добу досліді у всіх дослідних групах була дещо нижчою за величини контрольної групи тварин, де у дослідної групи поросят Д₁ вона становила $41,64 \pm 0,60$ %, у дослідної групи Д₂ - $41,60 \pm 0,75$ %, у дослідної групи Д₃ - $41,55 \pm 0,64$ %, тоді як у контрольної групи поросят вона складала $42,89 \pm 0,63$ %.

У наступні періоди дослідження ЛАСК у дослідних групах поросят продовжувала знижуватися, однак порівняно з контрольною групою тварин вона дещо зросла, відповідно у поросят, яким згодовували метіонін - на 1,1%, у поросят, яким згодовували фенарон – на 2%, у поросят, яким згодовували метіфен – на 5%. На 60-ту добу досліду встановлено найвірогідніші зміни вказаного вище показника дослідних груп тварин порівняно з контрольною групою. Так, у дослідній групі Д₁ лізоцимна активність зросла на 4%, у дослідній групі Д₂ – на 5% та у дослідній групі Д₃ відповідно зросла на 7%. На 90-ту добу досліду ЛАСК продовжувала зростати, однак початкових величин вона досягла тільки у дослідній групі тварин, яким застосовували метіфен, де відповідно вона становила 41,20±0,60%.

Загалом, одержані результати вказують на певний стимулювальний вплив метіоніну, фенарону та метіфену при додаванні їх до комбікорму поросят, яким здійснювали нітратне навантаження протягом трьох місяців на активність гуморального імунітету у їх крові, а саме бактерицидної та лізоцимної активності сироватки крові.

Встановивши, що при хронічному нітратно-нітритному токсикозі значно зростає ЦК, нами апробовані препарати-антиоксиданти, які володіють гепатопротекторною та дезінтоксикаційною дією. У поросят, яким до отруєння нітратами і нітритами вводили дані препарати, вміст ЦК не змінився порівняно з інтактними тваринами. Відсутність зміни вмісту ЦК в організмі отруєних поросят, які отримували препарат фенарон і метіфен, можливо може вказувати на інтенсивність процесів дезінтоксикації і таким чином зменшення утворення антигенів, що призводить до стабілізації вмісту ЦК у крові.

Висновки:

1. Згодовування нітрату натрію поросят у дозі 0,3 г NO₃⁻/кг. м.т. сприяє розвитку хронічного нітритно – нітратного токсикозу. Нітрати у токсичній дозі, при надходженні в організм поросят упродовж 90-и діб знижують захисні властивості організму.

2. При нітратному навантаженні, згодовування у раціон свиней фенарону, метіфену та метіоніну позитивно вплинуло на стан гуморального імунітету організму поросят, що проявляється високою антимікробною активністю сироватки крові.

3. Оскільки дана стаття є лише фрагментом дисертаційної роботи, отримані результати досліджень будуть застосовані у подальшому вивченні активності системи АОЗ-ПОЛ та імунної системи захисту організму поросят при нітратному навантаженні.

Література

1. Гуфрій Д.Ф. Нитратно-нитритный токсикоз у бычков и изменения активности дыхательных ферментов в их крови // Тез. докл. 4-й Межгосуд. науч.-практ. конф. „Новые фармакологические средства в ветеринарии”, Санкт-Петербург, 1992. – С.69-70

2. Гутий Б.В. Гуфрій Д.Ф. Система антиоксидантного захисту та перекисне окиснення ліпідів за умов впливу середньо токсичної дози нітрату

натрію // Науково-технічний бюлетень Львів 2005 В.6, №3,4. С. 116-120.

3. Гунчак В.М. Новий антиоксидант "Метіфен" та його застосування для профілактики нітратно-нітритного токсикозу у курей // Сільський господар. - 2004. -№7.-С. 13-15

4. Калита – Леськів Х.Я. Вплив метіфену на гематологічні показники крові поросят // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. Том 12 № 3 (45), частина 1, Львів – 2010. – С. 82.

5. Bruning C.S., Kaneene J.B. The effects of nitrate, nitrite and N-nitrasomounds of animal health // Veterinary and Human Toxicology. -1993.-Vol. 35,№ 3.- P. 237-253.

Summary

INFLUENCE OF METIFEN FENARON AND METIFEN ON THE PIGS IMMUNE SYSTEM IN THE DEVELOPMENT OF CHRONIC NITRATE-NITRITE TOXICOS.

The article describes the dynamics of indicators of humoral immunity in pigs under nitrate-nitrite load. Also the effect of antioxidants: methionine, fenaron and metifenu under chronic nitrate-nitrite toxicos, that were entering in the feed. They positively affect on the immune system under nitrate load.

Рецензент – д.вет.н., професор Стибель В.В.