

УДК 636.09: 615.9: 636.2

Старик Л.І., Гутий Б.В., Васів Р.О., Мурська С.Д. Гуфрій Д.Ф. ©*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького***ВПЛИВ СУКУПНОГО ВВЕДЕННЯ ПІРИДОКСИНУ ГІДРОХЛОРИДУ З АСКОРБІНОВОЮ КИСЛОТОЮ НА БІОХІМІЧНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ БИЧКІВ ПРИ ГОСТРОМУ НІТРАТНО-НІТРИТНОМУ ТОКСИКОЗІ**

Встановлено, що сукупне застосування вітамінних препаратів загалом позитивно впливали на морфологічні і біохімічні показники крові при розвитку гострого нітратно-нітритного токсикозу, на що вказує зниження у крові концентрації нітратів, нітритів, метгемоглобіну, кількості лейкоцитів та зростання кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну.

Ключові слова: *вітаміни, токсикологія, нітратно-нітритний токсикоз, кров, бички*

Аналіз доступної вітчизняної та зарубіжної літератури дає підстави заявляти, що у зв'язку з постійно зростаючим викидом азотовмісних сполук у повітряний і водний басейни, питанням токсичності нітратів і нітритів в наш час приділяється значна увага [2, 3]. Необхідно зазначити, що надмірне накопичення нітратів і нітритів у кормах і водах становить реальну загрозу для здоров'я та продуктивності сільськогосподарських тварин, яким використовують дані корми та воду [1]. Наявна література, яка відображає численні результати досліджень впливу нітратів і нітритів на організм тварин, не повністю відображає їх механізм дії. Власне тому наші дослідження були спрямовані на поглиблене вивчення патогенезу нітратно-нітритного токсикозу в молодняку великої рогатої худоби, які мають важливе наукове та практичне значення.

Саме тому **метою** наших досліджень було вивчити сукупне застосування аскорбінової кислоти з піридоксином гідрохлоридом на біохімічні і морфологічні показники крові дослідних тварин.

Матеріали і методи.

Досліди проводились на бичках шестимісячного віку, які були сформовані у 2 групи по 5 тварин у кожній:

1 група – контрольна, бичкам згодовували з кормом нітрат натрію у дозі 0,4 гNO₃⁻/кг маси тіла;

2 група – дослідна 1, бичкам згодовували з кормом нітрат натрію у дозі 0,4 гNO₃⁻/кг маси тіла та через 3 години в/м ввели піридоксину гідрохлорид у дозі 0,00167 г/кг та аскорбінову кислоту в/в у дозі 0,311 г/кг з 200 мл 5% розчину глюкози;

© Старик Л.І., Гутий Б.В., Васів Р.О., Мурська С.Д. Гуфрій Д.Ф., 2012

Кров для аналізу брали з яремної вени на початку досліду та через 3 години після згодовування бичкам нітрату натрію, а також через 1, 2, 3, 6, 9, 12 годин після введення вітамінних препаратів.

Визначали концентрацію нітратів і нітритів – за методикою В.М. Полякової (1979), у модифікації З.П. Скородинського і співавт. (1987): кількість еритроцитів – фотоелектроколометрично за методикою Є.С. Гаврилець і співавт. (1966); концентрацію гемоглобіну – за методом Л.М. Піменової і співавт. (1975); концентрацію метгемоглобіну – за І.Ф. Боярчуком і співавт. (1966).

Результати досліджень. При згодовуванні бичкам нітрату натрію у дозі 0,4 г NO_3^- /кг маси тварини, у них розвивалися клінічні ознаки характерні для нітратно-нітритного токсикозу. Щоб не допустити загибелі тварин ми вводили їм піридоксин гідрохлорид разом з аскорбіновою кислотою. Після введення бичкам вітамінних препаратів у них спостерігали наступні клінічні ознаки: бички були спокійними, реакція на зовнішні подразники у бичків була наявна, частота скорочень рубця становила 3-4 рази за хвилину, жуйка та відрижка були у нормі, дихання нормалізувалося. Крім цього видимі слизові оболонки були блідо-рожевого кольору.

Після того як ми встановили, що нітрати спричиняють розлади гомеостазу у бичків, виникла необхідність дослідження впливу вітамінних препаратів, зокрема піридоксину гідрохлориду і аскорбінової кислоти на нормалізацію біохімічних та морфологічних змін.

З даних, наведених у таблиці 1, встановлено, що рівень нітратів у крові бичків обох дослідних груп був у межах величини фізіологічної норми.

Таблиця 1

Концентрація нітратів у крові бичків після сукупного введення піридоксину гідрохлориду з аскорбіновою кислотою при гострому нітратно-нітритному токсикозу, мг/л; ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин	
	Контрольна (K_1)	Дослідна (D_2)
	До згодовування нітрату натрію	
Контроль	0,03±0,001	0,02±0,001
	Після згодовування нітрату натрію	
Третя година	1,79±0,08	1,84±0,07
	Після введення вітамінів	
	—	Аскорбінова кислота + піридоксину гідрохлорид
Перша година	2,16±0,06	0,95±0,010***
Друга година	2,67±0,07	0,47±0,009***
Третя година	3,12±0,08	0,11±0,005***
Шоста година	1,58±0,06	0,08±0,001***

При згодовуванні бичкам контрольної та дослідної груп нітрату натрію концентрація нітратів у їх крові зростала. Після сукупного введення піридоксину гідрохлориду та аскорбінової кислоти концентрація нітратів у

крові дослідної групи тварин почала знижуватись. Так, на першу годину досліді після введення згаданих вище вітамінних препаратів концентрація нітратів знизилась у 2,3 раза відносно контрольної групи тварин, на другу годину досліді відповідно знизилась у 5,7 раза, на третю годину – у 28 разів. На шосту годину досліді концентрація нітратів у крові дослідної групи тварин становила $0,08 \pm 0,001$ мг/л.

Проводячи аналіз змін концентрації нітритів наведених у таблиці 2 ми виявили, що до згодовування нітрату натрію у піддослідних бичків концентрація нітритів у крові була відсутня.

Таблиця 2

Концентрація нітритів у крові бичків після сукупного введення піридоксину гідрохлориду з аскорбіновою кислотою при гострому нітратно-нітритному токсикозу, мг/л; ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин	
	Контрольна (K_1)	Дослідна (D_2)
	До згодовування нітрату натрію	
Контроль	0	0
	Після згодовування нітрату натрію	
Третя година	$0,084 \pm 0,003$	$0,079 \pm 0,002$
	Після введення вітамінів	
	—	Аскорбінова кислота + піридоксину гідрохлорид
Перша година	$0,097 \pm 0,002$	$0,036 \pm 0,002^{***}$
Друга година	$0,109 \pm 0,002$	$0,021 \pm 0,0004^{***}$
Третя година	$0,120 \pm 0,003$	$0,009 \pm 0,0002^{***}$
Шоста година	$0,080 \pm 0,002$	$0,005 \pm 0,0001^{***}$

Однак після згодовування нітрату натрію у відповідній дозі концентрація нітритів у крові почала зростати і на третю годину досліді була у межах величин $0,084 \pm 0,003 - 0,079 \pm 0,002$ мг/л.

Після введення піридоксину гідрохлориду сукупно з аскорбіновою кислотою встановлено, що концентрація нітритів у бичків дослідної групи знижувалась упродовж усього досліді. На першу годину досліді після введення згаданих вище вітамінних препаратів тваринам встановлено зниження концентрації нітратів у 2,7 раза відносно величин контрольної групи тварин, на другу і третю години досліді встановлено зниження концентрації нітритів у крові дослідної групи тварин відповідно у 5 і 13 разів. На шосту годину досліді концентрація нітритів у крові піддослідних тварин становила $0,005 \pm 0,0001$ мг/л.

У таблиці 3 наведені зміни рівня метгемоглобіну у крові бичків при розвитку нітратно-нітритного токсикозу та застосуванню вітамінних препаратів. При згодовуванні нітрату натрію рівень метгемоглобіну у крові бичків контрольної та дослідної груп тварин поступово зростав і на третю годину досліді був у межах величин $17,35 \pm 0,17 - 18,10 \pm 0,17$ %.

У подальшому рівень метгемоглобіну у крові бичків контрольної групи тварин продовжував зростати, однак у бичків дослідної групи при введенні піридоксину гідрохлориду сукупно з аскорбіновою кислотою рівень

метгемоглобіну поступово знижувався протягом усього дослідження. Так, на першу годину дослідження знизився на 20%, на другу годину – у 2 рази, а на третю годину – майже у 3 рази відносно величин контрольної групи.

Узагальнюючи вищевикладене, робимо висновок, що введення аскорбінової кислоти та піридоксину гідрохлориду сприяло гальмуванню розвитку гострого нітратно-нітритного токсикозу, на що вказує зниження концентрації нітратів, нітритів і рівня метгемоглобіну у крові дослідної групи бичків.

Таблиця 3

Рівень метгемоглобіну у крові бичків після сукупного введення піридоксину гідрохлориду з аскорбіновою кислотою при гострому нітратно-нітритному токсикозу, %; (M±m, n = 5)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин	
	Контрольна (К ₁)	Дослідна (Д ₂)
	До згодовування нітрату натрію	
Контроль	4,4±0,07	3,8±0,06
	Після згодовування нітрату натрію	
Третя година	17,35±0,17	18,10±0,17
	Після введення вітамінів	
	—	Аскорбінова кислота + піридоксину гідрохлорид
Перша година	20,48±0,20	16,34±0,15***
Друга година	25,62±0,20	11,56±0,11***
Третя година	27,71±0,22	8,26±0,11***
Шоста година	10,83±0,16	7,13±0,10***

Проводячи аналіз змін рівня гемоглобіну (табл. 4), ми виявили, що на початку дослідження рівень даного показника був у межах величин фізіологічної норми. Після згодовування бичкам нітрату натрію рівень гемоглобіну у їх крові знижувався. Однак, при застосуванні вітамінних препаратів бичкам дослідної групи, у їх крові відзначали підвищення рівня гемоглобіну протягом усього дослідження. На першу годину дослідження після введення вітамінних препаратів рівень гемоглобіну у крові бичків дослідної групи зріс на 9% відносно величин контрольної групи тварин. На другу годину дослідження рівень гемоглобіну складав 91,4±1,36 г/л, що порівняно з контролем зріс на 15%. У подальшому знову спостерігали підвищення рівня досліджуваного показника, який на третю годину становив 96,7±1,37 г/л. На шосту годину дослідження рівень гемоглобіну у крові дослідної групи тварин доходив до початкових величин і відповідно становив 101,4±1,34 г/л.

Отже, введення тваринам аскорбінової кислоти сукупно з піридоксином гідрохлоридом сприяло нормалізації рівня гемоглобіну у крові бичків за умов розвитку гострого нітратно-нітритного токсикозу.

Таблиця 4

Рівень гемоглобіну у крові бичків після сукупного введення піридоксину гідрохлориду з аскорбіновою кислотою при гострому нітратно-нітритному токсикозу, г/л; (M±m, n = 5)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин	
	Контрольна (К ₁)	Дослідна (Д ₂)
	До згодовування нітрату натрію	
Контроль	100,6±1,25	101,2±1,35
	Після згодовування нітрату натрію	
Третя година	81,3±1,48	79,8±1,39
	Після введення вітамінів	
	—	Аскорбінова кислота + піридоксину гідрохлорид
Перша година	80,5±1,36	87,6±1,40*
Друга година	79,3±1,34	91,4±1,36**
Третя година	78,7±1,37	96,7±1,37**
Шоста година	86,1±1,32	101,4±1,34**

У таблиці 5 наведені результати досліджень, які показують, що згодовування бичкам нітрату натрію у токсичній дозі спричинило зниження кількості еритроцитів у крові даних тварин. Кількість еритроцитів у крові контрольної групи тварин упродовж усього дослідження коливалась у межах величин 5,25±0,14 – 7,04±0,13 10¹²/л. Бичкам, яким застосовували піридоксину гідрохлорид сукупно з аскорбіновою кислотою при розвитку гострого нітратно-нітритного токсикозу, кількість еритроцитів у крові поступово зростала. Вірогідне збільшення кількості еритроцитів у крові бичків спостерігали вже з першої години після застосування вітамінних препаратів, де відносно до контрольної групи тварин вона зросла на 8%. На другу годину дослідження кількість еритроцитів у крові дослідної групи тварин складала 6,22±0,15 10¹²/л.

Таблиця 5

Кількість еритроцитів у крові бичків після сукупного введення піридоксину гідрохлориду з аскорбіновою кислотою при гострому нітратно-нітритному токсикозу, 10¹²/л; (M±m, n = 5)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин	
	Контрольна (К ₁)	Дослідна (Д ₂)
	До згодовування нітрату натрію	
Контроль	7,04±0,13	7,02±0,13
	Після згодовування нітрату натрію	
Третя година	5,79±0,15	5,85±0,14
	Після введення вітамінів	
	—	Аскорбінова кислота + піридоксину гідрохлорид
Перша година	5,54±0,14	5,97±0,15*
Друга година	5,41±0,15	6,22±0,15**
Третя година	5,25±0,14	6,71±0,14***
Шоста година	6,36±0,14*	6,99±0,15*

На шосту годину дослідю кількість еритроцитів у крові піддослідних тварин, яким вводили вітамінні препарати, досягала величин, взятих на початку дослідю як контроль.

Результати досліджень на бичках (таблиця 6) показали, що після згодовування нітрату натрію у дозі 0,4 г NO₃⁻/кг маси тварини, кількість лейкоцитів у їх крові протягом усього дослідю зростала і коливалась у межах величин 7,20±0,13 – 8,22±0,15 10⁹/л.

Таблиця 6

Кількість лейкоцитів у крові бичків після сукупного введення піридоксину гідрохлориду з аскорбіновою кислотою при гострому нітратно-нітритному токсикозу, 10⁹/л; (M±m, n = 5)

Показники крові тварин (години)	Групи тварин	
	Контрольна (К ₁)	Дослідна (Д ₂)
	До згодовування нітрату натрію	
Контроль	7,20±0,13	7,16±0,14
	Після згодовування нітрату натрію	
Третя година	7,94±0,16	8,01±0,15
	Після введення вітамінів	
	—	Аскорбінова кислота + піридоксину гідрохлорид
Перша година	8,05±0,14	7,75±0,13*
Друга година	8,17±0,13	7,58±0,14**
Третя година	8,22±0,15	7,42±0,15***
Шоста година	7,65±0,16	7,20±0,15*

Після застосування піридоксину гідрохлориду разом з аскорбіновою кислотою при гострому нітратно-нітритному токсикозі, кількість лейкоцитів у крові дослідних тварин знижувалася: на першу годину на 4%, на другу годину – на 7%, на третю годину – на 10%. На шосту годину дослідю кількість лейкоцитів у крові тварин дослідної групи доходила до початкових величин.

Отже, застосування вітамінних препаратів за умов розвитку гострого нітратно-нітритного токсикозу, нормалізує кількість еритроцитів і лейкоцитів у крові дослідних тварин.

Висновки: 1. Сукупне застосування вітамінних препаратів (піридоксину гідрохлориду, аскорбінової кислоти) загалом, позитивно впливало на морфологічні і біохімічні показники крові при розвитку гострого нітратно-нітритного токсикозу, що позначилось на покращенні функціонального стану організму дослідних тварин та швидкому їх одужанні. Введення піридоксину гідрохлориду сукупно з аскорбіновою кислотою бичкам сприяло зниженню у крові концентрації нітратів, нітритів, метгемоглобіну, кількості лейкоцитів. За цих умов у крові встановлено зростання кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну. 2. Сукупне застосування піридоксину гідрохлориду з аскорбіновою кислотою можна рекомендувати для лікування бичків, хворих на гострий нітратно-нітритний токсикоз.

Література

1. Гутий Б.В. Нітратне навантаження організму бичків і стан антиоксидантної системи їх крові за цих умов // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С.З. Гжицького. Том 6 (№3), частина 1, Львів – 2004. – С. 88-94.

2. Гуфрій Д.Ф. Содержания нитратов и нитритов в химусе двенадцатиперстной кишки после введения бычкам нитрата натрия в разных дозах // Тезисы докладов Респ. конференции “Проблема нитратов в животноводстве и ветеринарии”. Киев, 1990. – С.28.

3. Хмельницький Г.А., Панько Н.Ф., Вовк Д.М. О возможности предотвращения загрязнения молока крупного рогатого скота канцерогенными нитрозаминами // Пробл. нитратов в животноводстве и ветеринарии / Респ. конф. 17-20 сент. 1990 г. – К., 1990. – С. 60-62.

Summary

Found that combined use of vitamins generally positive impact on the morphological and biochemical parameters of blood in the development of acute nitrate-nitrite toxicity, as indicated by the decrease in blood concentrations of nitrate, nitrite, methemoglobin, white blood cell count and increased erythrocyte count, hemoglobin content.

Key words: *vitamins, toxicology, nitrate-nitrite toxicosis, bull-calves*

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