

УДК 549.261:616-098:546.48:76:81

Пахолків Н. І.<sup>1</sup>, м. н. с., Куртяк Б. М.<sup>2</sup>, д. вет. н., с. н. с., ©Дзень Є. О.<sup>1</sup>, к. с. –г. н., с. н. с. (pakholkiv@gmail.com)<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН, м.Львів<sup>2</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького

## ПРОТЕКТОРНИЙ ВПЛИВ ФЕРУМУ ПРИ КОРЕКЦІЇ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ЗА ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ (Pb, Cd, Cr (VI))

Проведені нами дослідження показали, що додавання до вмісту рубця *in vitro* солей Плюмбуму, Кадмію та Хрому (VI), а також їх суміші, у гранично допустимих концентраціях пригнічує ріст мікроорганізмів, що призводить до зменшення кількості аміаку та коротколанцюгових жирних кислот і зниження амілолітичної, протеолітичної та целюлозолітичної активностей. Додавання до інкубаційного середовища з вмістом рубця разом з вищевказаними важкими металами сульфату Феруму зменшує інгібуючу дію Плюмбуму, Кадмію та Хрому (VI) на ріст мікроорганізмів і їх метаболічну активність.

**Ключові слова:** рубець, мікроорганізми, метаболізм, велика рогата худоба, Ферум, важкі метали.

**Вступ.** В умовах збільшення техногенного забруднення довкілля одним із пріоритетних напрямків у токсикології є вивчення особливостей та механізмів дії найбільш поширених ксенобіотиків, зокрема солей важких металів. Особливе місце серед них займають Плюмбум, Кадмій та Хром (VI), що обумовлено їх тривалим періодом напіввиведення, високою здатністю до накопичення, канцерогенною та мутагенною дією [1-4]. Це поставило перед ветеринарною медициною низку важливих проблем щодо контролю за вмістом важких металів у ґрунтах, воді, кормах, організмі сільськогосподарських тварин та продукції тваринництва.

Вивчення впливу важких металів на життєдіяльність мікроорганізмів рубця великої рогатої худоби становить науково-практичний інтерес, позаяк мікроорганізми рубця відіграють визначальну роль не тільки в процесах травлення у жуйних тварин, а й у нейтралізації токсичної дії важких металів і включенні їх у метаболічний ланцюг в їхньому організмі [2, 8].

Процеси мінералозабезпечення у тварин під впливом ксенобіотиків можуть зазнавати певних змін та по-різному реагувати на корегуючі впливи, що важливо для прогнозу розвитку будь-якого патологічного процесу [5]. Відомо, що Ферум – біогенний мікроелемент приймає участь у багатьох біохімічних процесах в організмі: підтриманні кислотно-лужного стану, входить у склад гемоглобіну і дихальних ферментів, у процесах зв'язування та переносі Оксигену до тканин, стимулює функцію кровотворних органів [6, 7].

У літературі недостатньо приведено даних щодо змін рубцевого метаболізму, як одного з показників гомеостазу тварин, отруєних солями важких металів, що і стало метою нашого дослідження.

**Матеріал і методи.** У дослідженнях використані зразки вмісту рубця, отриманих від трьох фістульних бичків-аналогів української молочної чорнорябої породи науково-дослідного господарства Інституту біології тварин НААН «Чишки». Зразки вмісту рубця від тварин одержували за допомогою приладу, виготовленого на основі колби Бунзена та вакуумної помпи Комовського, через 2 години після ранкової годівлі. Одержані зразки вмісту рубця фільтрували через 4 шари марлі і переносили в анаеробних умовах у буферну суміш Мак Доугля. Після цього інкубаційне середовище вносили в інкубаційні посудини об'ємом 100 мл, у які попередньо вносили у гранично допустимих концентраціях Плюмбум у дозі 5,0 мг/кг – у вигляді ацетату; Кадмій у кількості 0,5 мг/кг у вигляді сірчаноокислого кадмію та Хром (VI) у кількості 0,5 мг/кг у вигляді біхромату Калію. Паралельно у інші посудини разом з Плюмбумом, Кадмієм та Хромом вносили сульфат Феруму в кількості 4,5 мг/кг. За контроль правили зразки вмісту рубця, у які не вносили солі важких металів і Феруму. Посудини закривали корками, продували вуглекислим газом та інкубували при температурі 38° С впродовж 24-х годин. Після закінчення інкубації зразки інкубату відбирали для дослідження: вимірювали рН (Тараконов Б. В., 1998), визначали мікробну масу (Powell E. O., 1962), загальну концентрацію коротколанцюгових жирних кислот (Кроткова А. П., Мітін Н. І., 1957), концентрацію аміаку (Курілов Н. В., 1970), протеолітичну (Аітов А. А., 1978), амілолітичну (Тараканов Б. В., 1998) та целюлозолітичну активність (Паєнок С. М., 1970).

**Результати досліджень.** Кооперативна дія різних таксономічних груп мікроорганізмів – бактерій, інфузорій, грибів, спірохет - забезпечує розщеплення поживних речовин кормів у рубці і використання утворених нутрієнтів, за рахунок чого забезпечується ріст мікроорганізмів. Рівень ферментативної активності відображає стан клітин і органів, а також вказує на порушення функції токсикованих органів.

З наведених у таблиці 1 даних, видно, що після 24-годинної інкубації вмісту рубця з добавкою Плюмбуму у вигляді ацетату Плюмбуму, в гранично допустимій концентрації, порівняно до контролю, у інкубаційному середовищі вірогідно знижується рН на 6,5 %, зменшується мікробна маса на 11,5 %. У процесі життєдіяльності мікроорганізмів вивільняється Гідроген, внаслідок чого його надлишок може спричинити пригнічення росту деяких груп мікроорганізмів, у тому числі целюлозолітичних, для яких Гідроген є сильним інгібітором. При цьому у вмісті рубця знизилась целюлозолітична активність на 26,5 % та амілолітична активність на 25,8 %

Таблиця 1

**Вплив солей Плюмбуму, Кадмію, Хрому (VI) на мегаболічну активність мікроорганізмів рубця ВРХ *in vitro* при додаванні Сульфату Феруму (M±m, n=9)**

Додані сполуки	pH	Целюлозо-лігична активність, %	Аміло-лігична активність, у.м.ам.од.	Протео-лігична активність, нм/100мг	Аміак, ммоль/л	ЛЖК, ммоль/л	Мікробна маса, г/л
контроль	6,02 ± 0,1	60,06 ± 4,0	1,04 ± 0,08	5,96 ± 0,3	16,04 ± 2,0	145,81 ± 11	5,58 ± 0,2
Pb	5,60 ± 0,1*	44,11 ± 3,0*	0,86 ± 0,04*	2,95 ± 0,1*	9,82 ± 0,7*	121,35 ± 11*	4,94 ± 0,2*
Pb + Fe	5,46 ± 0,1*	47,08 ± 3,3*	1,16 ± 0,11*	3,16 ± 0,1*	10,63 ± 1,1*	131,44 ± 11	5,84 ± 0,3
Cd	5,81 ± 0,1*	47,83 ± 3,0*	0,55 ± 0,04*	3,20 ± 0,1*	12,36 ± 1,0*	114,84 ± 12*	4,75 ± 0,1*
Cd + Fe	6,65 ± 0,1	61,84 ± 4,5	0,48 ± 0,03**	3,31 ± 0,1*	13,67 ± 1,0	120,29 ± 11*	5,06 ± 0,2
Cr (VI)	6,21 ± 0,1*	57,55 ± 4,0	0,57 ± 0,04**	6,34 ± 0,5	13,61 ± 1,0	112,54 ± 11*	4,84 ± 0,1*
Cr (VI)+Fe	5,06 ± 0,1	59,52 ± 4,0	0,86 ± 0,06*	6,42 ± 0,3	10,79 ± 1,0*	121,45 ± 12*	5,75 ± 0,2
Mix	5,96 ± 0,1*	54,18 ± 4,5	0,84 ± 0,07*	4,52 ± 0,2*	11,85 ± 1,1*	131,11 ± 13*	4,84 ± 0,1*
Mix + Fe	5,56 ± 0,1	65,45 ± 4,5	1,16 ± 0,09*	4,55 ± 0,2*	11,18 ± 0,9*	139,41 ± 12	5,63 ± 0,3

Додавання ацетату Плюмбуму пригнічує утворення аміаку на 38,9 % у вмісті рубця ВРХ, причиною цього, як показали проведенні дослідження, було зниження протеолітичної активності мікроорганізмів на 50,5 %, внаслідок чого зменшується розпад білків і дезамінування амінокислот. Внесення сульфату Феруму активуюче впливає на гідролітичні ферменти в інкубаційному середовищі, зокрема на амілази та целюлази бактерій. Крім позитивної дії на проліферацію клітин мікроорганізмів, додавання Феруму, призвело до зменшення в інкубаційному середовищі кількості аміаку на 16,3 % та збільшення концентрації коротколанцюгових жирних кислот на 8,3 %.

При внесенні в інкубаційне середовище з вмістом рубця Кадмію, у ньому виявлено нижче рН, порівняно до контролю, меншу концентрацію аміаку на 22,9 %, нижчу на 20,3 % целюлозолітичну активність, амілолітичну активність на 47,1 % і протеолітичну активність на 46,3 %. Зменшується вміст ЛЖК на 21,2 %, як кінцевих продуктів розщеплення целюлози.

Додавання Феруму до інкубаційного середовища з Кадмієм, призвело до зростання мікробної маси на 6,5 %, концентрації ЛЖК на 4,7 % та целюлозолітичної активності мікроорганізмів на 23,3 %. Мінеральні елементи є активаторами та інгібіторами метаболічних процесів не лише в органах і тканинах тварин, а й в клітинах симбіотичної мікрофлори рубця.

Хром (VI) – макроелемент, який здатний безпосередньо утворювати активні форми Оксигену, взаємодіючи з клітинними редуцантами, що відбувається шляхом відновлення через активні проміжні форми – Хром (V) і Хром (IV) до стабільної форми - Хром (III) при участі внутрішньоклітинних відновних систем. Одержані результати свідчать, що додавання до інкубаційного середовища біхромату Калію призводить до зниження інтенсивності процесів ферментації та росту мікроорганізмів на 13,2 %, зменшення концентрації ЛЖК на 22,8 %. При цьому спостерігається також незначне зростання протеолітичної активності на 6,3 %. Мабуть, такий вплив цього важкого металу можна пояснити тим, що Хром (VI) є потужним окиснювачем, його дія може бути обумовлена конкуренцією за електрони. Розщеплення білка відображає зміни у відновних процесах і відновний потенціал рідини рубця, необхідного для редукції сульфгідрильних зв'язків поліпептидного ланцюга.

Позитивний вплив на ріст і метаболічну активність мікроорганізмів у інкубаційному середовищі з Хромом виявляється при додаванні Феруму. Відомо, що у транспорті Хрому в організмі приймає участь білок, що транспортує Ферум – трансферин. Крім Феруму виявлена спорідненість до трансферину також і Хрому. Обидва ці макроелементи конкурують за ділянки у молекулі трансферину, що зв'язують метал. Виявлено збільшення кількості мікробної маси на 16,3 %, концентрації ЛЖК на 7,9 %, підвищення амілолітичної активності мікроорганізмів на 27,8 %, целюлозолітичної активності на 15,4 %. При цьому в інкубаційному середовищі зменшується концентрація аміаку на 17,5 %, що зумовлено більшим використанням його в синтезі амінокислот.

При одночасному внесенні до інкубаційного середовища з вмістом рубця суміші важких металів у гранично допустимих концентраціях виявлено вірогідне зменшення кількості мікробної маси на 13,6 %, кількості ЛЖК на 10,8 %, концентрації аміаку на 26,2 %, зниження активності гідролітичних ферментів: протеолітичної на 24,7 %, амілолітичної на 19,4 % та целюлозолітичної на 9,8 %.

Результати наших досліджень дозволяють зробити висновок, що при додаванні до інкубаційного середовища з вмістом рубця суміші солей Плюмбуму, Кадмію та Хрому (VI) виявлено нижчий токсичний сумарний ефект поллютантів, ніж кожного окремо. Тоді як при додаванні Феруму виявлено збільшення кількості мікробної маси на 14,6 % і кількості ЛЖК на 6,3 %. Було також відмічено підвищення целюлозолітичної на 20,8 % і амілолітичної активності мікроорганізмів на 30,7 %.

Відомо, що крім дії на мікробіальні клітини, мінеральні елементи можуть взаємодіяти між собою і утворювати водонерозчинні комплекси, які менше засвоюються мікроорганізмами. Не виключається також конкурентна дія їх на одні й ті ж активні центри у ферментних системах клітин.

**Висновки.** З одержаних результатів випливає, що добавка Сульфату Феруму в оптимальній кількості в інкубаційному середовищі з важкими металами: Плюмбумом, Кадмієм та Хромом (VI) стимулює ріст мікроорганізмів в анаеробних умовах *in vitro*. При цьому в інкубаційному середовищі підвищується ферментативна та метаболічна активність мікроорганізмів та зростає концентрація ЛЖК. Введення за умов *in vitro* в середовище рубця разом з важкими металами (Плюмбумом, Кадмієм, Хромом (VI) сульфату Феруму знижує негативний вплив важких металів на мікроорганізми рубця. При цьому встановлено підвищення метаболічної та ферментативної активностей мікроорганізмів.

#### Література

1. Антоняк Г. Л. Залізо в організмі людини і тварин / Г. Л. Антоняк, Л. І. Сологуб, В. В. Снітинський, Н. О. Бабич // Львів. – 2006. – 310 с.
2. Буцяк В. І. Фізіолого – біохімічний статус корів при забрудненні довкілля важкими металами та способи зниження їх надлишку в організмі // Автореферат дис. д. с. – г. н. – Львів. – 2004. – 36 с.
3. Вишняков С. И. Биологическое действие хрома в зависимости от его валентности / С. И. Вишняков, С. А. Левантовский, Г. Ф. Рыжкова // Биологические науки. – 1992. – № 9. – С. 105-108.
4. Сологуб Л. І. Роль хрому в життєдіяльності тварин / Л. І. Сологуб, М. Г. Герасимів, Д. М. Копачук // Біологія тварин. – 1999. – Т. 1. – № 2. – С. 12-17.
5. Федорук Р. С. Застосування біологічно активних домішок у годівлі корів для підвищення продуктивності і репродуктивної здатності за умов техногенного навантаження на довкілля / Р. С. Федорук, Є. М. Голубій, І. І. Ковальчук та ін. // Методичні рекомендації. – Львів. – 2006. – 47 с.

6. *Andrews N. C.* Iron metabolism: Iron deficiency and iron overload / N. C. Andrews // *Ann. Rev. Genom and Hum. Genet.* – 2000. – Vol. 1. – P. 75-98.

7. *Patra R. C.* Trace mineral profile in blood and hair from cattle environmentally exposed to lead and cadmium around different industrial units / R. C. Patra, D. Swarup, M. C. Sharma, R. Naresh // *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* – 2006. – Vol. 34. – P. 345-355.

8. *Stern W. C.* Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen / W. C. Stern, G. A. Varga, J. H. Clark et al. // *J. Dairy Sci.* – 1994. – Vol. 77, N 9. – P. 2762-2786.

#### Summary

**Pakholkiv N. I., Kurtjak B. M., Dzen E. O.**

#### **PROTECTIVE EFFECT OF IRON THE CORRECTION OF METABOLIC DISORDERS FOR THE ACTIONS OF HEAVY METALS**

*Conducted by us researches showed that that adding salt to the rumen contents of lead, cadmium and chromium, and mixtures thereof, the maximum allowable concentrations inhibits the growth of microorganisms, which leads to a reduction in ammonia and volatile fatty acids and reduced amylolytic, proteolytic and cellulolytic activity. Added to the incubation environment with the content rumen together with these heavy metals iron sulphate reduces repressing of lead, cadmium and chromium on the growth of microorganisms and their metabolic activity.*

Рецензент – д.с.-г.н., професор Колтун Є.М.