



УДК 636.7.045:615.9:615.015.01

Корекція стану антиоксидантного захисту у собак за отруєння неовермом

І.О. Жукова, Ю.С. Світлична–Кулак, Н.І. Лонгус
irinaalekseevnazhukova@gmail.com

Харківська державна зооветеринарна академія,
с/мт Мала Данилівка, Дергачівський р-н, Харківська обл., 62341, Україна,

У статті наведені дані щодо впливу на організм собак препарату «Неоверм» за умов введення його у шлунок у дозі 0,6 мг/кг маси протягом трьох діб та застосування антиоксидантних препаратів «Е–Селен» і «Кверцетин», а також у якості природного антиокиснювального засобу – меленої зеленої гречки та гепатопротектору «Л'есфаль».

За результатами досліджень встановлено, що в результаті використання у якості лікувального засобу препарату «Неоверм» разом з «Е–селеном» «Кверцетином» і «Л'есфалем», та корекції раціону природними антиоксидантами призводило до поступової нормалізації у крові собак процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що супроводжувалось достовірним ($p \leq 0,01$) зниженням утворення його первинних та кінцевих токсичних продуктів – дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА), а також відновленням ендogenous антиоксидантних ресурсів (нормалізація активності ферменту каталази – головного показника роботи антиокиснювальної системи, рівня загальної антиоксидантної активності (АОА), підвищення концентрації структурних складових неферментативної ланки антиоксидантної системи (АОС) – вітаміну Е і Селену).

Відмічено, що обидві схеми корекції (поєднання «Е–селену» з «Кверцетином» та зеленої гречки з «Л'есфалем») дали хороші результати, що є підставою для використання цих препаратів у спрямованій протекторній дії.

Ключові слова: «Неоверм», собаки, перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), дієнові кон'югати (ДК), малоновий діальдегід (МДА), антиоксидантна система (АОС), антиоксидантна активність (АОА), «Кверцетин», «Л'есфаль».

Коррекция состояния антиоксидантной защиты у собак при отравлении неовермом

И.А. Жукова, Ю.С. Светличная–Кулак, Н.И. Лонгус
irinaalekseevnazhukova@gmail.com

Харьковская государственная зооветеринарная академия,
п/т Малая Даниловка, Дергачёвский р-н, Харьковская обл., 62341, Украина

В статье приведены данные о влиянии на организм собак препарата «Неоверм» при условии введения его в желудок в дозе 0,6 мг/кг массы на протяжении трех суток примененных в качестве антиоксидантов препаратов «Е–Селен» и «Кверцетин», а также меленой зеленой гречки и гепатопротектора «Л'есфаль».

По результатам исследований установлено, что в результате использования в качестве лечебного средства препарата «Неоверм» вместе с «Е–селеном» «Кверцетином» и «Л'есфалем» и коррекции рациона природными антиоксидантами приводило к постепенной нормализации в крови собак процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), что сопровождалось достоверным ($p \leq 0,01$) снижением образования его первичных и конечных токсических продуктов – диеновых кон'югатов (ДК) и малоноводигидида (МДА), а также восстановлением ендogenous антиоксидантных ресурсов (нормализация активности фермента каталазы – главного показателя работы антиокислительной системы, уровня общей антиоксидантной активности (АОА), повышение концентрации структурных составных неферментативного звена антиоксидантной системы (АОС) – витамина Е и Селена).

Citation:

Zhukova, I.O., Svitlychna–Kulak, Yu.S., Longus, N.I. (2016). Correction of state of antioxidant protection in dogs when poisoned by neoverm. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhyskyj*, 18, 3(70), 95–99.

Ключевые слова: «Неоверм», собаки, перекисное окисление липидов (ПОЛ), диеновые конъюгаты (ДК), малоновыйдиальдегид (МДА), «Кверцетин», антиоксидантная система (АОС), «Л'есфаль».

Correction of state of antioxidant protection in dogs when poisoned by neoverm

I.O. Zhukova, Yu.S. Svitlychna–Kulak, N.I. Longus
irinaalekseevnazhukova@gmail.com

Kharkiv state academy veterinarian,
Mala Danylivka, Kharkiv region, Dergachi district, 62341, Ukraine,

The data on the impact of the drug «Neoverm» on the dogs have been presented in the article. The drug was administered into the stomach at the dose of 0.6 mg/kg of live weight for three days and the antioxidant drugs «E–Selenium» and «Quercetin» as well as green buckwheat and hepaprotector «L'esphal» as natural antioxidant preparations were used. «Neoverm» is a new antiparasitic drug that belongs to the group of medicines of broad-spectrum of action of the avermectin derivatives.

The main active substance is ivermectin (10 mg), it belongs to the group of compounds which are the product of enzymic activity of the mycelium *Streptomyces avermitilis*. Ivermectin enters the body of the parasite with the waste products, it stimulates the production of neuromediator of inhibition – gamma-aminolevulinic acid that leads to the disruption of nerve impulse transmission, paralysis and death of the parasite. The drug is used to treat various types of domestic animals and poultry.

On the basis of the results of the researches it has been established that the use of the drug «Neoverm» as a therapeutic agent along with «E-selenium», «Quercetin» and «L'esphal» and the correction of the ration with natural antioxidants has led to the gradual normalization of the processes of lipid peroxidation (LPO) in the blood of dogs, it was accompanied by the significant ($p \leq 0.01$) decrease in the formation of primary and final toxic by-products: dien conjugates (DC) and malondialdehyde (MDA) as well as the restoration of endogenous antioxidant resources (normalization of the activity of the enzyme catalase – the main indicator of the work of antioxidant system, the level of total antioxidant activity (AOA), the increase in the concentration of structural components of non-fermentative part of the antioxidant system (AOS) – vitamin E and Selenium).

It has been pointed out that both correction schemes (the combination of «E-selenium» with «Quercetin» and green buckwheat with «L'esphal») gave good results, that is the basis for the use of the above drugs in the protective action.

Key words: dogs, «Neoverm», protection, antioxidant, lipid peroxidation (LPO), «L'esphal», dien conjugates (DC) and malondialdehyde (MDA).

Вступ

Останнім часом є актуальним пошук протипаразитарних препаратів, які не викликають резистентності у шкідників і досить перспективними у цьому напрямку є так звані біопестициди: авермектини, мільбеміцини, немадектини.

«Неоверм» – це новий протипаразитарний препарат, що відноситься до групи лікарських засобів широкого спектру дії похідних авермектинів. Основна діюча речовина його – івермектин (10 мг) відноситься до групи сполук, який є продуктом ферментаційної активності гриба *Streptomyces avermitilis*. Івермектин проникає в організм паразита з продуктами життєдіяльності, підсилює вироблення нейромедіатора гальмування – гама-аміномасляної кислоти, що призводить до порушення передачі нервових імпульсів, паралічу і загибелі паразита. Його застосовують собакам за паразитарних захворювань (Biofarm, 2013).

Необхідно зазначити що у собак порід шотландський колі, бобтейл, далматинський дог, гематоенцефалічний бар'єр тонкий і через нього проходять препарати авермектину, що може спричинити токсичну дію навіть у терапевтичних дозах (Roulet et al., 2003).

Порушення антиоксидантного захисту організму під впливом токсичних речовин та корекція його за застосування різних комбінацій фармакологічних та природних антиоксидантів є актуальним і своєчасним.

Метою роботи є дослідження процесів ПОЛ і стану системи антиоксидантного захисту у собак за застосування «Неоверму».

Матеріал і методи досліджень

У досліді використали 25 безпородних собак, які належать Центру поводження з тваринами м. Харків. Тварини віком 1 – 2 роки, масою 10 – 15 кг були розділені на 3 дослідні ($n = 15$) і 1 контрольну групу ($n = 5$). Собаки II, III і IV груп отримували «Неоверм» щоденно 3 доби по 0,6 мг/кг маси (1/10 ЛД₅₀ для щурів). Крім того III дослідна група одержувала одноразово «Е–селен» підшкірно у дозі 0,04 см³ і «Кверцетин» у дозі 100 мг/кг щодня, а IV група – мелену запарену зелену гречку (як джерело кверцетину) у кількості 2 г на 10 кг маси та гепатопротектор «Л'есфаль» внутрішньовенно двічі з інтервалом у 7 днів у дозі 5 см³ на 1 голову. Контрольній (I групі) «Неоверм» і препарати не задавали.

Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали через 7 і 14 діб за визначення у плазмі крові концентрації його продуктів – дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) – у гептан–ізопропанольних екстрактах з використанням методики Гаврилової В.Б. і Мішкорудної М.І. (Gavrilova and Mishkorudnaja, 1985; Stegnij et al, 2007). Стан показників антиокиснювальної системи (АОС) досліджували за активністю каталази (КФ 1.11.1.6) з використанням Н₂O₂ спектрофотометрично (SHIMADZU UV-1800, Японія) за довжини хвилі 410 нм. Рівень загальної антиокиснювальної активності (АОА) ліпідів, екстрагованих з плазми крові, визначали за ступенем їх здатності гальмувати накопичення ТБК–активних

продуктів ПОЛ за інкубації суспензії жовткових ліпопротеїнів (Klebanov et al., 1988; Stegnij et al, 2007). Спектр поглинання ТБК-активних продуктів реєстрували спектрофотометрично (SHIMADZUUV-1800, Японія) за довжини хвилі 535 нм, виражаючи АОА ліпідів плазми крові у відсотках інгібіції окиснення жовткових ліпопротеїнів. Вміст вітаміну Е у плазмі крові собак визначали, як описано в методичних рекомендаціях (Malynin et al., 2009). Вміст Селену в плазмі крові досліджували за методом рентгенофлуоресцентного аналізу, відповідно до методичних рекомендацій на приладі «Спектроскан-МАКС» (Malynin et al., 2009). Результати досліджень оброблені статистично з використанням програм Microsoft Excel 2003, вірогідність отриманих даних оцінювали за критерієм Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

Протягом дослідження в жодній дослідній групі не відмічено клінічних ознак отруєння тварин, але встанов-

лено, що через 7 діб після початку введення «Неоверму» у плазмі крові собак 2 дослідної групи відмічене достовірне зростання вмісту первинних продуктів ліпопероксидації – дієнових кон'югантів (ДК) на 21,6%, а через 14 діб – як первинних, так і кінцевих продуктів (малонового діальдегіду, МДА) відносно їх контрольних значень на 39,6% і 93,6% ($p \leq 0,01$) відповідно (табл. 1).

Внаслідок додавання до раціону собак «Кверцетину» і «Е-селену» (III група) на 7 добу дослідження у плазмі крові собак IV групи реєстрували зниження вмісту ДК на 13,4% у порівнянні з контролем, а МДА – на 15,3% ($p \leq 0,05$). Але вже через 14 діб після початку дослідження значення цих показників майже не відрізнялись від контролю. Показники відносно групи тварин, яким вводили лише «Неоверм» (II група) характеризувались зниженням рівня початкових і кінцевих продуктів пероксидації на 7 добу на 46,7% і 29,1% і на 14 добу – на 44,8% і у 2 рази відповідно.

Таблиця 1

Рівень показників інтенсивності процесів ПОЛ у плазмі крові собак за введення «Неоверму», «Е-селену» і «Л'єсфалу» та додавання до раціону зеленої гречки (M ± m; n = 5)

Групи тварин	Строки досліджень	Інтенсивність ПОЛ, продукти	
		ДК, мкмоль/л	МДА, ΔД
I – контроль	7 діб	36,45 ± 2,2	3,76 ± 0,1
	14 діб	33,82 ± 1,9	3,79 ± 0,2
II – «Неоверм»	7 діб	44,33 ± 1,6 ^{*1}	4,21 ± 0,2 ^{**1}
	14 діб	47,22 ± 2,5 ^{**1,2}	7,04 ± 0,2 ^{*1}
III – «Неоверм» + кверцетин + Е-селен	7 діб	30,22 ± 1,6 ^{*2}	3,26 ± 0,2 ^{*2}
	14 діб	32,62 ± 2,6 ^{**2}	3,45 ± 0,2 ^{**2}
IV – «Неоверм» + зелена гречка + л'єсфаль	7 діб	29,02 ± 3,48 ^{**1,2}	3,00 ± 0,3 ^{**1,2}
	14 діб	28,65 ± 3,48 ^{**1,2}	2,88 ± 0,3 ^{**1,2}

Примітки: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; ¹ – різниця значень вірогідна за відносно значень такого показника у контрольних тварин; ² – різниця значень вірогідна за відносно значень такого показника у тварин II дослідної групи

Таблиця 2

Рівень показників функціональності АОС у плазмі крові собак за введення «Неоверму», «Е-селену» і «Л'єсфалу» та додавання до раціону зеленої гречки (M ± m; n = 5)

Групи тварин	Строки дослідження, доба	
	7	14
Активність каталази, нмоль H ₂ O ₂ /сек мг білка		
I – Контроль	5,88±0,1	5,74±0,3
II – «Неоверм»	14,22±0,82 ¹	12,25±0,41 ¹
III – «Неоверм» + «Кверцетин» + «Е-селен»	6,42±0,12 ²	6,25±1,40 ²
IV – «Неоверм» + зелена гречка + «Л'єсфаль»	5,4±0,11 ²	4,9±0,4 ²
Загальна АОА, % інгібіції		
I – Контроль	69,2±3,9	63,4±3,2
II – «Неоверм»	39,4±2,6 ¹	38,3±2,0 ¹
III – «Неоверм» + «Кверцетин» + «Е-селен»	78,2±2,6 ⁴	69,2±2,2 ⁴
IV – «Неоверм» + зелена гречка + «Л'єсфаль»	71,4±3,3 ⁴	72,2±2,2 ⁴
Вітамін Е, мкМоль/дм ³		
I – Контроль	6,42±0,37	7,23±0,33
II – «Неоверм»	6,55±0,24	6,77±0,41
III – «Неоверм» + «Кверцетин» + «Е-селен»	8,27±0,36 ^{1,2}	10,47±0,34 ^{3,4}
IV – «Неоверм» + зелена гречка + «Л'єсфаль»	8,18±0,28 ¹	8,08±0,41 ²
Селен, мг/дм ³		
I – Контроль	0,11±0,01	0,12±0,01
II – «Неоверм»	0,10±0,04	0,11±0,02 ¹
III – «Неоверм» + «Кверцетин» + «Е-селен»	0,44±0,01	0,35±0,02
IV – «Неоверм» + зелена гречка + «Л'єсфаль»	0,12±0,01	0,14±0,01

Примітки: ¹ – різниця значень вірогідна за ($p \leq 0,01$) відносно значень такого показника у контролі, ² – за ($p \leq 0,01$) відносно значень такого показника у II дослідній тварин групі, ³ – за ($p \leq 0,001$) відносно значень такого показника у контрольних тварин, ⁴ – за ($p \leq 0,001$) відносно значень такого показника у II дослідній групі тварин

У останньої дослідної групи, якій комплексно за- давали «Неоверм», зелену гречку і фосфоліпід ний гепатопротектор «Л'есфаль» відмічали у порівнянні з контрольною групою зниження рівня дієвих кон'югантів на 7 і 14 добу у середньому на 17,5% і 25,6% відповідно, а у порівнянні з II дослідною гру- пою – на 52,8 і 40,3% відповідно ($p \leq 0,01$). Рівень МДА був нижчим за контроль на 25,3% на 7 добу і 31,6% – на 14 добу ($p \leq 0,01$), а також нижчим за по- казники тварин, яким задавали тільки «Неоверм» – на 64,8% на 7 добу і у 2,4 рази – на 14 добу досліджень ($p \leq 0,01$).

Важливим фактором, який визначає концентрацію продуктів ПОЛ у клітинах організму, є кооперативна робота антиоксидантних ферментів. Встановлено, що внаслідок введення «Неоверму» у крові собак I гру- пивідбувалось значне посилення активності каталази відносно її значень у контролі. Так, підвищення її активності в плазмі крові собак цієї групи на 7 та 14 добу досліду досягало 2,4 та 2,1 рази ($p \leq 0,01$) відпо- відно (табл. 2).

Визначено, що одночасне застосування «Кверце- тину» та «Е–селену» (III група) на тлі додавання «Не- оверму» протягом 14 діб майже нормалізувало актив- ність каталази сироватки крові собак. Так ці показни- ки на 7 і 14 добу були вищі за контроль на 9,2% та 8,9% відповідно і майже у 2 рази у порівнянні з групою, яка отримувала тільки «Неоверм».

Застосування добавки зеленої гречки до раціону собак та гепатопротектору «Л'есфаль» (IV група) впродовж експерименту не приводило до змін актив- ності каталази по відношенню до контрольної групи, але по відношенню до показників II групи відмічено зниження активності ферменту у 2,5 рази на 7 і 14 добу досліджень.

Застосування «Кверцетину» разом з «Е–Селеном» (III група), на фоні введення «Неоверму», навпаки, призводило до підвищення рівня цього показника. Так, відсоток інгібіціїТБК–активних продуктів у крові собак цієї групи на 7 добу досліду наближався до контрольних значень і складав $78,2 \pm 2,6$, що було вищим за його значення у тварин II групи у середньо- му на 98,5% ($p \leq 0,01$). Аналогічна спрямованість змін цього показника зберігалась й на 14 добу досліджен- ня. Так загальна АОА у III групі була вищою за пока- зники II групи на 80,7%.

Так, отримані результати свідчать, що внаслідок введення «Неоверму» у собак II дослідної групи на обох строках досліджень визначали вірогідне зни- ження рівня показника загальної АОА ліпідів плазми крові відносно його контролю у середньому на 17,6% і 16,6% відповідно.

У IV групі тварин, яка отримувала «Неоверм» ра- зом із зеленою гречкою і «Л'есфалем» відмічено дос- товірне підвищення активності загальної АОА по відношенню як до контролю на 3,2% на 7 і на 13,8% – на 14 добу досліджень, так і до групи, яка отримувала тільки «Неоверм» на 81,2% і 88,5% відповідно.

При дослідженні вмісту вітаміну Е в плазмі крові собак впродовж експерименту встановлено, що під впливом препарату «Е–селен», «Кверцетину», зеленої гречки і «Л'есфалу» на фоні терапії «Неовермом»

відбувалось вірогідне його підвищення на 7 добу у III і IV групах по відношенню до контролю і групи, яка отримувала тільки «Неоверм» (I і II) на 28,8 – 26,3% і 27,4 – 24,9% відповідно, а наприкінці досліду (14 доба) в середньому на 44,8 – 54,7% та 11,8 – 19,4% відповідно.

Встановлено, що під впливом «Неоверму» у плазмі крові собак II групи вміст Селену на 7 і 14 добу дослі- ду мало відрізнявся від контролю, тоді як на фоні лікування препаратом «Е–селен» (III) перевищував цей показник – у 4,0 та 2,9 рази відповідно ($p \leq 0,001$). У цій групі встановлено поступове зниження концен- трації мікроелементу до кінця експерименту. Порів- нюючи показники II групи собак з результатами, отриманими у III групі встановлено, що вміст Селену був також вищим на 7 добу у 4,4 рази і на 14 добу у 3,5 рази, що свідчить про вивільнення мікроелементу через активацію селен–залежної глутатіонпероксида- зи внаслідок інтенсифікації процесів ПОЛ.

У IV дослідній групі також відмічено накопичення Селену, вміст якого у сироватці крові собак переви- щував контроль на 7 добу на 9,1% і на 14 – на 16,7%. У порівнянні з показниками плазми крові собак II дослідної групи, яким вводили лише «Неоверм», рі- вень мікроелементу у цій групі був вищий на 7 і 14 добу на 20,0% і 27,3% відповідно. Це, ймовірно, пов'язане з тим, що Селен входить до складу гречки.

Висновки

За результатами досліджень встановлено достові- рне відновлення ендогенних антиоксидантних ресур- сів (посилення активності каталази, нормалізації до фізіологічного рівня загальної АОА, підвищення кон- центрації структурних складових неферментативної ланки АОС – вітаміну Е і Селену, ($p \leq 0,01$) у крові собак за антиоксидантного впливу препарату «Е– селен», «Кверцетину», зеленої гречки та «Л'есфалу», що є підставою для використання цих препаратів у спрямованій протекторній дії.

Бібліографічні посилання

- Lystivka–vkladka dlja zastosovannja neovermu (2013). TOV «AT Biofarm» (in Ukrainian).
 Grebnychenko, A. <http://www.veterinarka.ru/for-owners/toksichnost-ivermektina-u-sobak-porody-kolli.html> [Elektronnyj resurs] (in Ukrainian).
 Roulet, A., Puel, O., Gesta S. (2003). MDR1–deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P–glycoprotein substrate ivermectin. *European Journal of Pharmacology*. 460, 85–91.
 Stegnij, V.T., Kovalenko, L.V., Roman'ko, M.Je. (2007). Metody ocinky intensyvnosti perekysnogo oksyennnja lipidiv ta jogo reguljacii' u biologichnyh ob'jektiv: metod. rekomendacii', Metod. rek–cii': Zatv. Nauk.–metod. radoju DKVM, Harkiv. 59 (in Ukrainian).
 Gavrilova, V.B. Mishkorudnaja, M.I. (1985). Spektrofotometricheskoe opredelenie sodержanija gidroperekisej lipidov v plazme krovi. *Lab. Delo*. 3, 33–35 (in Ukrainian).

- Koroljuk, M.A. Opredelenie aktivnosti katalaz. Lab. Delo. 1, 16–18 (in Ukrainian).
- Klebanov, G.I. [i dr.] (1988). Ocenka antiokislitel'noj aktivnosti plazmy krovi s primeneniem zheltochnyh lipoproteidov. Lab. Delo. 5, 59–62 (in Ukrainian).
- Malynin, O.O., Kucan, O.T., Orobchenko, O.L., Shevcova, G.M. (2009). Vyznachennja neorganichnyh elementiv u biologichnyh substratah metodom rentgen–fluorescentnogo analizu: metod. rekomendacii', Kyi'v: zatv. Nauk.–metod. radoju DKVM Ukrai'ny (in Ukrainian).

Стаття надійшла до редакції 19.09.2016