

Institute for problems of cryobiology and cryomedicine, Kharkiv\*

Summary. Toxicological properties of plant polyphenols and essential phospholipids from soy and the drugs on their basis have been studied with the use of mitochondrial test-system. It has been shown that the absence of disconnecting effect of oxidation and phosphorylation in the mitochondria isolated from the liver of rats under the influence of the tested drugs and their substances prove the non toxicity of the active substances and additional ones that are in the composition of the drugs.

Key words: toxicity, mitochondria, oxidative phosphorylation, polyphenols, phospholipids, hepatoprotectors.

УДК 636.5:615.9:615.015.01

## ПРОФІЛАКТИКА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ І КОРЕКЦІЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ПТИЦІ ЗА ОТРУЄННЯ НЕОВЕРМОМ

Жукова І.О., д.вет.н., доцент,  
Антіпін С.Л., к.с.-г.н., доцент,  
Костюк І.О., к.с.-г.н., доцент,  
Водоп'янова Л.А., к.біол.н., доцент,  
Лонгус Н.І., ст. викладач

*Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків*

**Анотація.** У статті наведені дані щодо впливу на організм курей нового антигельмінтного препарату неоверму за умов одноразового введення його у токсичній дозі. Встановлено, що в результаті утворення підвищеного рівня продуктів ПОЛ у крові птиці недостатньо потенціалу власних ресурсів АОС для запобігання впливу АМК і відповідного включення протективних антирадикальних механізмів, але цей процес можна корегувати за допомогою препарату «Е-селен» у 5-кратній дозі, що підтверджує активація каталази і відновлення пулу ендогенної загальної АОА на фоні зберігання фізіологічних рівнів інтенсивності процесів ліпопероксидації.

**Ключові слова:** неоверм, кури, перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), дієнові кон'югати (ДК), малоновий діальдегід (МДА), антиоксидантна система (АОС), антиокислювальна активність (АОА), Селен, вітамін Е, (активні форми кисню АФК).

**Актуальність проблеми.** Погляди науковців на проблему дослідження потенційних ризиків отруєнь біотичної або ксенобіотичної етіології, нажаль, мають традиційний характер та обмежуються визначенням у біологічних об'єктах низки класичних токсико-біохімічних тестів (оцінювання функціонального стану печінки, системи гемопоезу тощо). Але ці пропуски доповнює цитотоксикологія, яка стверджує, що в основі цитотоксичних ефектів будь-якого потенційного токсиканту або отрути лежить окиснювальний стрес і запальні реакції [1]. Відомо, що цитоплазматична мембрана ушкоджується у першу чергу, оскільки вона слугує бар'єром між позата внутрішньоклітинним оточенням, що забезпечує селективний транспорт речовин [2]. Активні метаболіти кисню (АМК), які належать до класу найбільш реакційно активних, вважають високо токсичними, здатними ушкоджувати клітинні системи та їх біомембрани через окиснювальну деградацію ліпідів, білків, ДНК і РНК за вільнорадикальним механізмом, тому, навіть відносно невеликі кількості продуктів, зокрема ліпопероксидації, будуть впливати на експресію генів, репараційні, метаболічні та біосинтетичні процеси [3, 4].

**Метою досліджень** є встановлення токсичної дії на антиоксидантну систему курей нового антигельмінтика неоверму за одноразового його застосування.

**Матеріали і методи дослідження.** У досліді використали 12 курей, масою 1100-1200 г яких розділили на 2 дослідні (n=8) і 1 контрольну групу (n=4). Кури I групи отримували неоверм одноразово, шляхом введення у шлунок 10-кратної токсичної дози (0,4 мг/кг на 1 кг маси тіла), II групи – 0,4 см<sup>3</sup> неоверм + «Е-селен» (10 см<sup>3</sup> на 1 л води для випоювання). Контрольній групі птиці вводили воду.

Інтенсивність процесів перекисного окиснювання ліпідів (ПОЛ) оцінювали через 7 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. (1985) [5, 6]. Стан показників антиокиснювальної системи (АОС) досліджували за активністю каталази (КФ 1.11.1.6) з використанням  $H_2O_2$  спектрофотометрично (SHIMADZU UV-1800, Японія) за довжини хвилі 410 нм [5, 7]. Рівень загальної антиокислювальної активності (АОА) ліпідів, екстрагованих з плазми крові, визначали за ступенем їх здатності гальмувати накопичення ТБК-активних продуктів ПОЛ за інкубації суспензії жовткових ліпопротеїнів [5, 8]. Спектр поглинання ТБК-активних продуктів реєстрували спектрофотометрично (SHIMADZU UV-1800, Японія) за довжини хвилі 535 нм, виражаючи АОА ліпідів плазми крові у відсотках (%) інгібіції окиснення жовткових ліпопротеїнів. Вміст вітаміну Е у плазмі крові експериментальної птиці визначали, як описано в методичних рекомендаціях (Куцан О.Т., Оробченко [9]. Вміст Селену в плазмі крові птиці досліджували за методом рентгенофлуоресцентного аналізу, відповідно до методичних рекомендацій на приладі «Спектроскан-МАКС» [10]. Результати досліджень оброблені статистично з використанням пакета програм Microsoft Excel 2003 (for Windows XP), вірогідність отриманих даних оцінювали за критерієм Ст'юдента.

Результати дослідження. Дослідженнями встановлено, що одноразове введення «Неоверму» у 10-кратній (токсичній) дозі викликало у крові курей I дослідної групи вірогідне зростання вмісту як первинних – ДК, так й кінцевих продуктів ліпопероксидації – МДА. Так, у плазмі крові курей цієї групи визначено підвищення рівня ДК і МДА у середньому в 2,5 і 2,2 рази ( $p \leq 0,05$ ) відповідно відносно значень цих показників у контрольної птиці.

Таблиця 1

**Рівень показників інтенсивності процесів ПОЛ у плазмі крові курей за одноразового введення токсичної дози «Неоверму» та на фоні лікування «Е-селеном» ( $M \pm m$ ;  $n=3$ )**

Група тварин	№ птиці, показники,	n/n, $M \pm m$	Інтенсивність ПОЛ, продукти	
			ДК, мкмоль/л	МДА, $\Delta D$
Контроль		$M \pm m$	$17,91 \pm 0,87$	$2,86 \pm 0,06$
I дослід – неоверм, 0,4 см <sup>3</sup> /кг маси тіла		$M \pm m$	$44,09 \pm 1,02^{**}$	$6,34 \pm 0,17^{**}$
II дослід – неоверм + «Е-селен»		$M \pm m$	$21,06 \pm 1,21^1$	$3,19 \pm 0,07^{*1}$

Примітки: \* – різниця значень вірогідна за ( $p \leq 0,05$ ); \*\* – ( $p \leq 0,001$ ) відносно значень такого показника у контрольних тварин; <sup>1</sup> – різниця значень вірогідна за ( $p \leq 0,001$ ) відносно значень такого показника у тварин I дослідної групи.

У плазмі крові курей, що на фоні введення токсичної дози «Неоверму» піддавалась лікуванню «Е-селеном», відбувалось уповільнення інтенсивності процесів ліпопероксидації за рівнем утворення її продуктів. Так, за умов застосування «Е-селену» у 5-кратній дозі встановлено вірогідне зниження вмісту ДК і МДА у плазмі крові курей II дослідної групи в середньому у 2,1 і 2,0 рази відносно значень цих показників у птиці I дослідної групи. У той же час встановлений рівень ДК у курей після лікування статистично не відрізнявся від такого у контрольної птиці, тоді як вміст МДА (вторинного продукту ПОЛ) вірогідно перевищував контроль на 11,5 % (табл. 1).

Відомо, що надлишкове утворення мембран-альтеруючих токсичних продуктів ПОЛ відображає зрушення збалансування ферментативної та неферментативної ланок антиокиснювальної системи, якій відводиться визначальна регуляторна та прогностична роль в захисті мембран клітин. Згідно цієї теорії, розвиток ланцюгових реакцій під дією будь-якого чинника відбувається на фоні ураження або інгібіції активності природної АОС, функція якої полягає у запобіганні спонтанного окиснення, а зрушення у роботі – призводить через ушкодження біомембран клітин до змін важливих метаболічних процесів і розладу головних систем детоксикації в організмі. Аддитивність взаємодії ензимних та неензимних антиоксидантних систем між собою забезпечує підтримку на стаціонарному рівні концентрації продуктів ліпопероксидації та запобігає активації процесів ПОЛ [5].

Встановлено, що внаслідок введення «Неоверму» у токсичній дозі (0,4 см<sup>3</sup>/кг маси тіла) в крові курей (I дослід) відбувалось гальмування активності каталази. Так, в плазмі крові курей цієї групи рівень активності каталази був знижений в середньому в 2,3 рази ( $p \leq 0,01$ ) відносно її значень для контрольної птиці. Застосування лікувального препарату «Е-селен» призводило до

відновлення активності каталази практично до її фізіологічного (контрольного) рівня, а її значення були в середньому в 1,9 рази вищими ( $p \leq 0,01$ ), ніж у птиці, якій вводили неоверм.

Так, отримані результати свідчать, що внаслідок введення «Неоверму» у курей I дослідної групи не відбувалось вірогідних змін показника загальної АОА ліпідів плазми крові, значення якого наближались до контрольного рівня. Застосування «Е-Селену» в 5-кратній дозі, навпаки, призводило до підвищення рівня цього показника. Так, відсоток інгібіції ТБК-активних продуктів у крові курей II дослідної групи складав  $62,27 \pm 3,20$ , що було вищим за його значення у птиці контрольної та I дослідної груп у середньому на 14,5 % та 25,5 % ( $p \leq 0,01$ ) відповідно (табл. 2).

Таблиця 2

**Рівень показників функціональності АОС у плазмі крові курей за одноразового введення токсичної дози «Неоверму» та на фоні лікування «Е-селеном» ( $M \pm m$ ;  $n=3$ )**

№, група тварин	Групи птиці		
	Контроль	I дослід – неоверм, 0,4 см <sup>3</sup> /кг маси тіла	II дослід – неоверм + «Е-селен»
Активність каталази, нмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /сек мг білка	17,72±1,44	7,81±0,77**	14,59±1,12 <sup>2</sup>
Загальна АОА, % інгібіції	54,40±3,21	49,60±1,97	62,27±3,20 <sup>1</sup>
Вітамін Е, мкмоль/дм <sup>3</sup>	5,03±0,39	2,71±0,39*	16,63±0,62*** <sup>1</sup>
Селен, мг/дм <sup>3</sup>	0,074±0,004	0,057±0,004*	0,130±0,010** <sup>2</sup>

*Примітки:* \* – різниця значень вірогідна за ( $p \leq 0,05$ ); \*\* – різниця значень вірогідна за ( $p \leq 0,01$ ); \*\*\* – ( $p \leq 0,001$ ) відносно значень такого показника у контрольних тварин; <sup>1</sup> – різниця значень вірогідна за ( $p \leq 0,001$ ); <sup>2</sup> – різниця значень вірогідна за ( $p \leq 0,01$ ) відносно значень такого показника у тварин I дослідної групи.

Вміст вітаміну Е в плазмі крові курей I дослідної групи знижувався майже у 1,9 рази ( $p \leq 0,05$ ) відносно його контрольного значення. Тоді як, застосування «Е-селену» сприяло суттєвому відновленню пулу токоферолів в організмі птиці II дослідної групи. Встановлено, що вміст вітаміну Е у плазмі крові курей цієї групи вірогідно збільшувався як відносно його рівня в контрольній птиці, так і в курей, яким вводили «Неоверм», у середньому в 3,3 і 6,1 рази відповідно.

Антиоксидантна активність Селену зумовлена тим, що він входить до складу відповідних ферментів – глутатіонпероксидази, І-йодтиронін-5-дейодинази. Встановлено, що під впливом «Неоверму» на фоні надмірного утворення продуктів ПОЛ у крові курей вміст Селену вірогідно знижувався відносно контрольного рівня у середньому на 23 %. Але у результаті застосування селенвмісного препарату «Е-селену» у плазмі крові дослідних курей (II дослід) рівень Селену збільшувався ( $p \leq 0,01$ ) не лише відносно показнику у птиці I дослідної групи (у 1,3 рази), а й відносно контрольної (на 75,7 %) ( $p \leq 0,01$ ) відповідно.

#### Висновки

1. Механізм прооксидантної дії «Неоверму» у токсичній дозі (0,4 см<sup>3</sup>/кг маси тіла) полягав у надлишковому утворенні токсичних продуктів ліпопероксидації – ДК і МДА – на тлі витрачання ємності власних антиоксидантних ресурсів за гальмуванням активності каталази та зниженні рівня структурних антиоксидантів – вітаміну Е та Селену ( $p \leq 0,01$ ), що є ознакою формування окиснювального стресу в організмі дослідних курей.

2. За результатами відновлення пулу ендогенних антиоксидантних ресурсів (посилення активності каталази, нормалізації до фізіологічного рівня загальної АОА, підвищення концентрації структурних складових неферментативної ланки АОС – вітаміну Е і Селену, ( $p \leq 0,01$ ) у крові курей можна стверджувати про виражений антиоксидантний вплив препарату «Е-селену» у 5-кратній дозі (II дослід), та у подальших дослідженнях – враховувати з метою проведення терапії спрямованої протективної дії.

#### Література

1. Garcon G. Dunkerque City air pollution particulate matter – induced cytotoxicity, oxidative stress and inflammation in human epithelial lung cells / G. Garcon, Zeina Dagher // *Toxicol. in vitro.* - 2006. – 20. – No. 4. – P. 519-529.
2. Ajayan, P.M. Drug delivery and biomolekular transport [Текст] / P.M. Ajayan, O.Z. Zhou // *Carbon.* – 2005. – V. 43. – P. 389-415.
3. Дубинина, Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме ткани при состояниях окислительного стресса / Е.Е. Дубинина // *Вопр. мед. химии.* – 2001. – Т. 47, № 6. – С. 561-581.

4. Зенков, Н.А. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспект / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньшикова. – М.: Маик, 2001. – 343 с.
5. Стегній, Б.Т. Методи оцінки інтенсивності перекисного окиснення ліпідів та його регуляції у біологічних об'єктах : метод. рекомендації / Б.Т. Стегній, Л.В. Коваленко, М.Є. Романько [и др.] // Метод. рек-ції: Затв. Наук.-метод. радою ДКВМ, протокол № 1 від 20 грудня 2007 р. – ННЦ «ІЕКВМ». – Харків, 2007. – 59 с.
6. Гаврилова, В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилова, М.И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1985. – № 3. – С. 33–35.
7. Королюк, М.А. Определение активности каталаз / М.А. Королюк // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
8. Клебанов, Г.И. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопропротеидов [Текст] / Г.И. Клебанов [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 5. – С. 59–62.
9. Куцан, О.Т. Методичні рекомендації «Контролювання забезпеченості та оптимізація доз вітаміну Е і селену при вирощуванні курей-несучок» : метод. рекомендації [Текст] / О.Т. Куцан, О.Л. Оробченко // «ННЦ «ІЕКВМ». – 2009. – 47 с.; затв. Наук.-метод. радою ДКВМ медицини України (протокол № 1, 23-24 грудня 2009 р.).
10. Малинін, О.О. Визначення неорганічних елементів у біологічних субстратах методом рентген-флуоресцентного аналізу : метод. рекомендації [Текст] / О.О. Малинін [та ін.] / Київ: затв. Наук.-метод. радою ДКВМ України (протокол № 1, 23-24.12.2009 р.).

**ПРОФИЛАКТИКА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И КОРРЕКЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПТИЦЫ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ НЕОВЕРМОМ**

Жукова И.А., д.вет.н., доцент, Антипин С.Л., к.с.-х.н., доцент, Костюк И.А., к.с.-х.н., доцент, Водопьянова Л.А., к.биол.н., доцент, Лонгус Н.И., ст. преподаватель  
Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков

Аннотация. У статье представлены данные о воздействии на организм кур нового антигельминтного препарата неоверма при условии одноразового введения его в токсической дозе. Установлено, что в результате образования повышенного уровня продуктов ПОЛ в крови птицы, недостаточно потенциала собственных ресурсов АОС для предотвращения воздействия АМК и соответственного включения протективных антирадикальных механизмов, но этот процесс можно корректировать при помощи препарата «Е-селен» в 5-кратной дозе, что подтверждается активацией каталазы и восстановлением пула эндогенной общей АОА на фоне сохранения физиологических уровней интенсивности процессов липопероксидации.

Ключевые слова: неоверм, куры, перекисное окисление липидов (ПОЛ), диеновое конъюгаты (ДК), малоновый диальдегид (МДА), антиоксидативная система (АОС), антиокислительная активность (АОА), Селен, витамин Е, (активные формы кислорода АФК).

**PREVENTION OF OXIDATIVE STRESS AND CORRECTION OF ANTIOXIDANT PROTECTION OF POULTRY WHEN POISONED BY NEOVERM**

Zhukova I.O. DVS, associate professor, Antipin S.L., candidate of agricultural science, associate professor, Kostyuk I.O., candidate of agricultural science, associate professor, Vodopyanova L.A., candidate of biological science, associate professor, Longus N.I., senior instructor  
Kharkiv state zooveterinary academy, Kharkiv

Summary. The data on the effect of the new anthelmintic preparation Neoverm on chickens when the above preparation is administered in a single toxic dose have been considered in the article. It has been found out that as a result of the formation of a high level of POL in the blood of chickens the lack of the of the AOS own resource potential to prevent the effect of AMO and the adequate inclusion of the protective antiradical mechanisms has been revealed but the above process can be corrected by the preparation "E-selen" in 5 fold dose that has been proved by catalase activation and the renovation of pool of endogenic AOA alongside with the conservation of the physiological levels of the intensity of the processes of lipoperoxidation.

Key words: neoverm, hens, peroxide oxidation of lipids (POL), dien conjugates (DC), malone dialdehyde (MDA), antioxidant system (AOS), selen, vitamin E, active forms of oxygen (AFO),