

УДК 636.4:591.11

ОГОРОДНИК Н.З., канд. вет. наук,**ВІЩУР О.І.**, д-р вет. наук,*Інститут біології тварин НААН***КОВАЛЕНКО В.Л.**, д-р вет. наук,*ННЦ «Інститут бджільництва ім. Прокоповича»***РОЗУМНЮК А.В.**, канд. вет. наук,*Інститут ветеринарної медицини НААН*

РІВЕНЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ Й АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ТА ЇХНЯ КОРЕКЦІЯ В ПОРОСЯТ ПІД ЧАС ВІДЛУЧЕННЯ

Відлучення від свиноматок викликає зниження в крові поросят активності ензимної ланки антиоксидантної системи. Введення тваринам за дві доби до відлучення ліпосомального препарату "Ковісцин" сприяє зниженню в крові вмісту вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів). Окрім того, у крові цих поросят підвищується активність ензимної ланки системи антиоксидантного захисту та зростають показники неензимної ланки – вітаміни А, Е і відновленого глутатіону в період відлучення.

Ключові слова: поросята, відлучення, стрес, ліпосомальний препарат, продукти ПОЛ, антиоксидантна система.

Вступ. Однією із основних проблем сучасного свинарства є профілактика стресів у тварин. Особливо вона актуальна в критичні періоди розвитку поросят, зокрема після відлучення від свиноматок. Оскільки рівень адаптивних процесів в організмі молодняка є низьким, тому, в умовах відлучення, поросята є найбільш чутливими до впливу продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), які інтенсивно утворюються за стресу [1].

Найважливішим терапевтичним способом запобігання розвитку патологічних процесів у тканинах організму поросят у цей період може бути застосування антиоксидантних препаратів в аспекті профілактики окиснювального стресу, в тому числі жиророзчинних вітамінів і мікроелементів. Антиоксидантний ефект токоферолу проявляється в разі його взаємодії з гідроксильним радикалом і характеризується обмеженням дії синглетного Оксигену. Захищаючи клітинні мембрани гідроксильною групою бензольного ядра, вітамін Е сприяє збереженню активності мембранозв'язаних ензимів з одночасним підвищенням рівня природних антиоксидантів, зокрема вітаміну А [2]. Аргінін лімітує ключові ланки стрес-реакції, посилює захисні системи в організмі, необхідний для росту, відновлення тканин, продукування антитіл, гормонів та ензимів [3]. Цинк каталізує окисно-відновні процеси, є обов'язковим компонентом багатьох

металовмісних ензимів, які приймають участь в антиоксидантному захисті. Селен – регулює рівень активних форм Оксигену, вільних радикалів і молекулярних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, проявляє антитоксичну й антистресову дії [4]. Низькі концентрації Кобальту володіють вираженими анксиолітичними властивостями, які переважають відомі транквілізатори (сибазон, амітриптилін), не викликаючи побічного впливу на організм, що дозволяє рекомендувати його застосування у якості ефективного антистресового препарату [5].

На сьогодні актуальною є розробка нових ефективних препаратів для усунення наслідків дії стресу, викликаного відлученням від свиноматок, з метою нормалізації метаболічних процесів в організмі поросят. Однією з найбільш перспективних форм препаратів є ліпосомальні емульсії, оскільки вони характеризуються високим терапевтичним впливом, пролонгованою дією та низьким рівнем токсичності.

Мета роботи полягала у дослідженні впливу ліпосомального препарату «Ковісцин» на кількісний вміст продуктів ПОЛ та активність системи антиоксидантного захисту поросят після їхнього відлучення від свиноматок.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження виконувались у господарстві Львівської області на двох групах поросят великої білої породи, аналогах за масою тіла та статтю (по 3 голови в кожній групі). Поросятам контрольної групи за 2 доби до відлучення внутрішньом'язово вводили ізотонічний розчин натрію хлориду, дослідної – ліпосомальний препарат, що у своєму складі містить вітаміни А, D₃, Е, L-аргінін, Цинк, Селен і Кобальт [6], у дозі 0,1 мл/кг маси тіла, одноразово. Матеріалом для досліджень була кров із краніальної порожнистої вени за 2 доби до відлучення, на 1-, 5- і 10-ту добу після відлучення. Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням програми *Microsoft Excel*.

Результати досліджень та їх обговорення. У крові поросят після відлучення від свиноматок відмічено тенденцію до зростання вмісту основних продуктів пероксидного окиснення ліпідів – гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) та ТБК-активних продуктів (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст продуктів ПОЛ у крові поросят, $M \pm m$, n=3

Показники	Групи тварин	Періоди досліджень			
		2 доби до відлучення	після відлучення		
			1 доба	5 доба	10 доба
ГПЛ, Од Е/мл	к	0,90±0,038	0,98±0,034	0,92±0,048	0,85±0,048
	д		0,83±0,019*	0,80±0,031	0,72±0,029
ТБК-активні продукти, нмоль/мл	к	4,40±0,237	4,76±0,053	4,72±0,076	4,75±0,126
	д		3,90±0,055***	4,22±0,056**	4,10±0,069*

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$, порівняно з контрольною групою.

Порівняно з тваринами контрольної групи, у плазмі крові поросят дослідної – виявлено нижчий вміст гідропероксидів ліпідів на 1-шу добу

після відлучення ($p < 0,05$) та нижчу концентрацію ТБК-активних продуктів у всі періоди досліджень ($p < 0,05-0,001$). Ці дані свідчать про те, що введення ліпосомального препарату перед відлученням від свиноматок перешкоджає накопиченню продуктів ПОЛ у крові поросят після відлучення.

Активність антиоксидантних ензимів в еритроцитах крові поросят після відлучення від свиноматок перебуває на низькому рівні (табл. 2), що ймовірно пов'язано зі зниженням інтенсивності метаболічних процесів, змінами парціального тиску кисню та посиленням процесів пероксидного окиснення ліпідів в організмі поросят у цей період досліджень. В ензиматичній системі важливою ланкою антиоксидантного захисту є глутатіонпероксидаза (ГП), що каталізує реакцію окиснення глутатіону, який забезпечує потреби каталази в атомах Гідрогену [7]. Супероксиддисмутаза (СОД) каталізує реакцію дисмутації супероксидного радикалу в Оксиген і пероксид гідрогену [8]. Наступним етапом є знешкодження за участю каталази та глутатіонпероксидази пероксиду гідрогену шляхом перетворення у молекулу води. Дослідження показали, що відлучення поросят від свиноматок спричиняє різке зниження активності основних ензимів антиоксидантної системи захисту, зокрема зниження в еритроцитах поросят контрольної групи гутатіонпероксидазної ($p < 0,05$) та супероксиддисмутазної активностей ($p < 0,01$) на 1-шу добу після відлучення. Каталазна активність в еритроцитах крові поросят вказаної групи протягом всіх етапів досліджень поступово знижувалась ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Активність ензимів системи антиоксидантного захисту у крові поросят, $M \pm m, n=3$

Показники	Групи тварин	Періоди досліджень			
		2 доби до відлучення	після відлучення		
			1 доба	5 доба	10 доба
плазма					
ГП активність, нмоль GSH/хв. мг протеїну	к	0,65±0,024	0,61±0,013	0,59±0,019	0,62±0,015
	д		0,64±0,025	0,67±0,021*	0,68±0,018
еритроцити					
ГП активність, нмоль GSH/хв. мг протеїну	к	57,24±1,15	51,13±1,440°	51,08±2,090	53,68±1,970
	д		0	54,96±1,720	59,84±1,580*
СОД активність, ум. од./хв. мг протеїну	к	25,02±1,79	13,74±1,110°	22,62±1,860	22,19±0,720
	д		0	29,99±3,590*	29,83±2,330
Каталазна активність, мМ/хв. мг протеїну	к	2,19±0,308	1,26±0,094°	1,20±0,082°	1,16±0,058°
	д		0	1,57±0,167	1,42±0,122

Примітка: * – $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою; ° – $p < 0,05$, °° – $p < 0,01$, порівняно з періодом перед відлученням.

Застосування поросят препарат «Ковісцин» сприяло підвищенню глутатіонпероксидазної активності в плазмі та еритроцитах крові на 5-ту добу, а супероксиддисмутазної активності в останніх – на 1-шу добу після відлучення ($p < 0,05$). Зростання каталазної активності в гемолізаті

еритроцитів поросят дослідної групи на 10-ту добу після відлучення вказувало на посилення функціональної ланки системи антиоксидантного захисту і, відповідно, на підвищення, під впливом компонентів ліпосомального препарату, стресостійкості тварин.

Загалом, підвищення активності антиоксидантних ензимів в еритроцитах поросят дослідної групи свідчить про зростання активності ензимів системи антиоксидантного захисту (САЗ) за дії ліпосомального препарату.

Дослідження неензимної ланки антиоксидантного захисту в організмі поросят показало, що вміст вітамінів А, Е та відновленого глутатіону в їхній крові після відлучення мав тенденцію до зниження, порівняно з цими показниками за дві доби до відлучення від свиноматок (табл. 3). Натомість, у поросят дослідної групи виявлено більшу концентрацію вітаміну А у сироватці крові на 1-шу та 10-ту добу після відлучення ($p < 0,05$), а концентрація вітаміну Е була вищою ($p < 0,05$), ніж у тварин контрольної групи на 1-шу добу після відлучення. Збільшення вмісту відновленого глутатіону (ВГ) у крові поросят дослідної групи на 1-шу добу після відлучення, порівняно із контролем, пов'язано з позитивним ефектом від застосування ліпосомального препарату, оскільки ензиматична ланка САЗ забезпечується в достатній мірі атомами Гідрогену, які приймають участь в оксидативних процесах знешкодження вільних радикалів.

Таблиця 3

Активність неензимної ланки антиоксидантної системи в крові поросят, $M \pm m$, $n=3$

Показники	Групи тварин	Періоди досліджень			
		2 доби до відлучення	після відлучення		
			1 доба	5 доба	10 доба
Вітамін А, мкг/мл	к	0,22±0,021	0,19±0,025	0,24±0,020	0,22±0,011
	д		0,32±0,015*	0,29±0,008	0,31±0,022*
Вітамін Е, мкг/мл	к	2,57±0,025	2,41±0,083	2,53±0,099	2,45±0,103
	д		3,00±0,157*	2,69±0,151	2,53±0,048
ВГ, мкмоль/мл	к	1,66±0,160	1,38±0,060	1,48±0,210	1,84±0,110
	д		1,89±0,150*	2,08±0,220	1,98±0,130

Примітка: * – $p < 0,05$, порівняно з контрольною групою.

Таким чином, введення поросят ліпосомального препарату, який містить вітаміни А, D₃, Е, L-аргінін, Цинк, Селен і Кобальт позитивно впливає на концентрацію вітамінів А, Е та вміст відновленого глутатіону в крові поросят після відлучення від свиноматок.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. Відлучення від свиноматок спричиняє вірогідне зменшення глутатіонпероксидазної, супероксиддисмутазної та каталазної активностей у крові поросят.

2. Парентеральне введення поросят перед відлученням від свиноматок ліпосомального препарату «Ковісцин» знижує в крові концентрацію продуктів ПОЛ (вмісту ТБК-активних продуктів і гідропероксидів ліпідів), а також стимулює ензимну ланку САЗ поросят після відлучення.

3. Складові препарату «Ковісцин» сприяють зростанню показників неензимної ланки антиоксидантної системи у крові поросят після відлучення від свиноматок, зокрема концентрації вітамінів А, Е та вмісту відновленого глутатіону.

З'ясування впливу препарату "Ковісцин" на систему оксиду нітрогену/аргініну, ліпідний і мінеральний обміни в організмі поросят.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Церенюк О. М. Ріст та розвиток свиней при визначенні стресостійкості в період "кризи відлучення" / О. М. Церенюк // Науковий вісник Луганського національного аграрного університету. – 2011. – № 11. – С. 116–120.

2. Федін А. І. Оксидантний стресс и применение антиоксидантов в неврологии / А. И. Федин // Атмосфера. Нервные болезни. – 2002. – № 1. – С. 15–18.

3. Kumar P. Effect of L-arginine on electrocardiographic changes induced by hypercholesterolemia and isoproterenol in rabbits / P. Kumar, M. Goyal, J. Agarwal // Ind. Pacing Electrophysiol. J. – 2009. – Vol. 9 (1). – P. 45–52.

4. Tapiero H. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds / H. Tapiero, D. M. Townsend, K. D. Tew // Biochem. Funct. – 2004. – Vol. 22. – № 1. – P. 59–65.

5. Черетаев И. В. Психотропные эффекты ацетилсалицилата кобальта, сибазона и амитриптилина в сверхмалых концентрациях / И. В. Черетаев, И. И. Коренюк, О. В. Катюшина [и др.] // Материалы ХІІ научной конференции профессорско-преподавательского состава, аспирантов и студентов «Дни науки ТНУ им. В. И. Вернадского». – Симферополь: ДИАЙПИ. – 2013. – С. 57–58.

6. Патент на корисну модель, № 95901. Імунотропний ліпосомальний препарат «Ковісцин» / Н. З. Огородник, І. В. Кичун, О. І. Вищур // Опубл. 12.02.2015. – Бюл. № 1. – 4 с.

7. Леськів Х. Я. Вплив Метіфену на активність антиоксидантної та імунної системи захисту організму поросят за нітратного навантаження / Х. Я. Леськів // Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Ветеринарна медицина». – 2012. – Вип. 7 (31). – С. 53–57.

8. Сибірна Н. М. Дослідження окремих біохімічних показників за умов оксидативного стресу : навчально-методичний посібник / Н. О. Сибірна, О. М. Маєвська, М. Л. Барська. – Л. : Видавн. центр ЛНУ ім. І. Франка. – 2006. – 60 с.

УРОВЕНЬ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И ИХ КОРРЕКЦИЯ У ПОРОСЯТ ПРИ ОТЪЕМЕ / Огородник Н. З. , Вищур О. И. , Коваленко В. Л., Розумнюк А.В.

Отъем от свиноматок вызывает снижение активности энзимного звена антиоксидантной системы поросят. Введение поросят за 2 суток до отъема липосомального препарата "Ковисцин" способствует снижению в крови содержания вторичных продуктов перекисного окисления липидов (гидроперекисей липидов и ТБК-активных продуктов). Также установлено повышение в крови этих поросят активности энзимного звена системы антиоксидантной защиты и повышение показателей неензимного звена – витаминов А, Е и восстановленного глутатиона после отъема.

Ключевые слова: поросята, отъем, стресс, липосомальный препарат, продукты ПОЛ, антиоксидантная система.

LEVEL OF FREE RADICAL OXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION AND THEIR CORRECTION IN PIGLETS AT WEANING / Ohorodnyk N. Z., Vishchur O. I., Kovalenko V.L., Rozumniuk A V.

The goal of work was to study the influence of liposomal medicine "Coviscin" on quantitative parametr of POL products and activity system of antioxidant protection of piglets after their weaning from sows.

Materials and methods of researches. Researches were made on the farm of Lviv region on two groups of piglets of large white breed, analogues by body weight and sex. The piglets of control group before days of weaning were put in entered intramuscular isotonic soluble-sodium of chloride, the reseach group were liposomal preparation, that contains vitamins A, D₃, E, L-arginine, Zinc, Selenium and Cobalt, in dosage 0,1 ml/per kg of body weight antonae. Material for researches was blood from cranial cava vera before 2 days of weaning, on 1-, 5- and 10 days after a weaning. The results of researches were estimated statistically with using of the program Microsoft Excel.

Results of researches and discussion. In blood of piglets after a weaning from sows a tendency was marked increasing of content of basic products of peroxides oxidization of lipids, as – hydroperoxides of lipids (HPL) and TBC-active products. Comparatively with the animals of control group, in plasma of blood piglets of research group was found lever content of hydroperoxides of lipids ($p < 0,05$) on 1st day after weaning and lover concentration of TBC-active products in all periods of researches ($p < 0,05-0,001$). These data testify that introduction before weaning from the sows of components of liposomal preparation prevents to the accumulation of products POL in piglets blood after weaning.

Activity of antioxidant enzymes in the red blood cells of piglets after a weaning from sows is at low level, that it is probably related with decreasing of intensity metabolic processes, changes of partial pressure of oxygen and increasing processes of peroxides oxidization of lipids in the organism of piglets in this period of researches. The important part of antioxidant defence in the enzyme system is Glutathionperoxidase (GP), that catalyzes the reaction of oxidization Glutathion, that provides the requirements of Catalase in atoms to the Hydrogen. Superoxidedismutase (SOD) catalyzes the reaction of dismutation superoxide radical in Oxygen and peroxide of the Hydrogen. The next stage is rendering harmless with participation of Catalase and to the Glutathionperoxidase peroxide to the Hydrogen by converting into the water molecule. Researches showed that the weaning of piglets from sows caused in activity of basic enzymes of the antioxidant defence system in particular decrease decline in the red blood cells of control group piglets o Glutathionperoxidase ($p < 0,05$) and Superoxidedismutase activity ($p < 0,01$) on the 1st day after weaning. Catalasa activity in the piglets red blood cells of the indicated group during all stages of researches gradually decreased.

Use for the piglets medicine of Coviscin provide the increase of Glutathionperoxidase activity in plasma and red blood cells on 5 day, and to superoxidedismutase activity in the last on 1st day after a weaning ($p < 0,05$). The increasing of Catalase activity at the hemolysis cite of red blood cells of piglets of research group on 10th after weaning specified on strengthening of functional part of antioxidant defence system and, accordingly, on increase, by influence components of liposomal preparation, stress is strength of animals.

On the whole, the increase in activity of antioxidant enzymes in the red blood cells of piglets of research group testifies that increase activity of enzymes in system of antioxidant defence (SAD) for actions liposomal preparation.

Research of unenzyme link in antioxidant defence showed in the organism of piglets, that content of vitamins A, E and renewed Glutathionin their blood after weaning was some below, than to the weaning from sows. But, for the piglets of research group the greater concentration

of vitamin of A in the serum blood on 1 and 10th day is educed after weaning ($p < 0,05$), and a concentration of vitamin of E was higher ($p < 0,05$), than for the animals of control group, on 1 twenty-four hours after weaning . Increase of content of renewed Glutathion (VG) in blood of piglets of an experience group on 1-uy twenty-four hours after weaning, by comparison to control, it is related to the positive effect from application of liposomal preparation, as a link of enzyme SAD is provided in a sufficient measure by atoms to the Hydrogen, that take part in oxidative processes free radicals

Conclusions and prospects of further researches.

1. Weaning from sows causes reliable reduction of Glutathionperoxidase, Superoxidedismutase and Catalase activity in blood of piglets.

2. Parenterally introduction to the piglets before weaning from the sows of liposomal preparation of Coviscin reduces in blood the concentration of products POL – to content of TBC-active products and hydroperoxides of lipids, and also SAD of piglets stimulates the link of enzyme after weaning.

3. The constituents of preparation of Coviscin promote the increase of indexes of link of unenzyme of the antioxidant system in blood of piglets after weaning from sows, in particular concentrations of vitamins A, E and content of renewed Glutathione.

Finding out of influence of preparation of Coviscin on the oxide system of nitrogen/ arginine, lipid and mineral metabolism in an organism of piglets.

Keywords: piglets, weaning, stress, liposomal preparation, products of lipid peroxidation, antioxidant system.

References

1. Cerenjuk O. M. Rist ta rozvitok svinej pri viznachenni stresostijkosti v period "krizi vidluchennja" / O. M. Cerenjuk // Naukovij visnik Lugans'kogo nacional'nogo agrarnogo universitetu. – 2011. – № 11. – S. 116–120.

2. Fedin A. I. Oksidantnyj stress i primenenie antioksidantov v nevrologii / A. I. Fedin // Atmosfera. Nervnye bolezni. – 2002. – № 1. – S. 15–18.

3. Kumar P. Effect of L-arginine on electrocardiographic changes induced by hypercholesterolemia and isoproterenol in rabbits / P. Kumar, M. Goyal, J. Agarwal // Ind. Pacing Electrophysiol. J. – 2009. – Vol. 9 (1). – P. 45–52.

4. Tapiero H. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds / H. Tapiero, D. M. Townsend, K. D. Tew // Biochem. Funct. – 2004. – Vol. 22. – № 1. – P. 59–65.

5. Cheretaev I. V. Psihotropnye jeffekty acetilsalicilata kobal'ta, sibazona i amitriptilina v sverhmalyh koncentracijah / I. V. Cheretaev, I. I. Korenjuk, O. V. Katjushina [i dr.] // Materialy XLII nauchnoj konferencii professorsko-prepodavatel'skogo sostava, aspirantov i studentov «Dni nauki TNU im. V. I. Vernadskogo». – Simferopol': DIAJPI. – 2013. – S. 57–58.

6. Patent na korisnu model', № 95901. Imunotropnij liposomal'nij preparat «Koviscin» / N. Z. Ogorodnik, I. V. Kichun, O. I. Vishhur // Opubl. 12.02.2015. – Bjul. № 1. – 4 s.

7. Les'kiv H. Ja. Vpliv Metifenu na aktivnist' antioksidantnoï ta imunnoï sistemi zahistu organizmu porosjat za nitratnogo navantazhennja / H. Ja. Les'kiv // Visnik Sums'kogo nacional'nogo agrarnogo universitetu. Serija «Veterinarna medicina». – 2012. – Vip. 7 (31). – S. 53–57.

8. Sibirna N. M. Doslidzhennja okremih biohimichnih pokaznikiv za umov oksidativnogo stresu : navchal'no-metodichnij posibnik / N. O. Sibirna, O. M. Maevs'ka, M. L. Bars'ka. – L. : Vidavn. centr LNU im. I. Franka. – 2006. – 60 s.