УДК 619:616-085.371:578.832.1:636.5

ІНТЕНСИВНІСТЬ ПОЛ ТА АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ СИРОВАТКИ КРОВІ КУРЧАТ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ІНАКТИВОВАНОЇ ВАКЦИНИ ПРОТИ ВИСОКОПАТОГЕННОГО ГРИПУ ПТИЦІ «АВІФЛУВАК-ІЕКВМ» ТА ПРЕПАРАТІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

Кротовська Ю.М.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Представлено результати досліджень, отриманих при використанні інактивованої вакцини проти високопатогенного грипу птиці та препаратів рослинного походження. Встановлено, що вакцина проти високопатогенного грипу птиці викликає активізацію перекисних процесів у сироватці крові курчат, також спостерігається тенденція до зниження загальної антиокислювальної активності сироватки крові. Доведено стабілізуючий вплив препаратів супроводу – «Вітастим» та «ІПЗ» на стан системи ПОЛ/АОЗ.

Для профілактики грипу у багатьох країнах використовують інактивовані вакцини, які не лише формують переважно гуморальний імунітет, а й призводять до розвитку різноманітних реакцій організму та стресу. Стрес можна визначити як неспецифічний компонент відповіді цілого організму на будь-який подразник, яка здійснюється при участі нейроендокринної системи. За літературними даними вакцинація птиці, яка по суті є антигенною стимуляцією, а також наступна імунна відповідь організму викликають появу імунологічних адренотропних сигналів, які стимулюють розвиток стресу [1].

При затяжних стресах наступають генералізовані зміни у всіх системах організму, у тому числі прискорення обміну речовин, зокрема ліполізу, гліколізу та глікогенолізу у м'язах, також спостерігається обмежений синтез глікогену. Патологічний стан розвивається тоді, коли активація процесів перекисного окислення надмірна та супроводжується ушкодженням ліпідного шару мембран. Про це, як правило, сигналізує підвищений рівень в сироватці крові продуктів перекисного окислення [2].

Уникнути різноманітних ускладнень при перебігу захворювань можна шляхом своєчасного блокування пускового механізму патології, а також зниженням інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в організмі за допомогою антиоксидантів, які попереджають утворення вільних радикалів, здатних пошкоджувати клітину [3].

Метою нашої роботи є оцінка глибини впливу інактивованої вакцини проти грипу птиці, розробленої у ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», на стан системи антиоксидантного захисту та інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів, а також ефективності препаратів рослинного походження «Вітастим» та «ІПЗ» для корекції поствакцинальних змін зокрема в системі перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту (ПОЛ/АОЗ).

Матеріали та методи. Робота виконана у секторі клінічної біохімії лабораторії біохімії спільно з відділом вивчення хвороб птиці ННЦ «ІЕКВМ». Досліди проведені на базі Одеської дослідної станції ННЦ «ІЕКВМ».

На базі Одеської станції було сформовано 5 груп птиці 1-добового віку. Курчата 1-ї групи були інтактними (контрольними) (n=60), тобто їх не піддавали шепленню. Курчата 2-, 3-, 4- та 5-ої груп були дослідними (n=35), їх дворазово щепили внутрішньом'язево експериментальною вакциною проти високопатогенного грипу птиці «АвіФлуВак-ІЕКВМ» (у 1- та 21- денному віці), згідно з настановою по застосуванню. Птиця 3-, 4- та 5-ої груп одержувала відповідно: "Vitrum energy" з розрахунку 2,5 мг/кг маси тіла; «Вітастим» з розрахунку 2,0 мг/кг маси; імунопотенціючий засіб «ІПЗ» з розрахунку 0,25 мг/кг маси. Препарати задавали шляхом випоювання у день першої вакцинації та впродовж 5 діб після неї, а також за 3 доби до та 5 діб після другої вакцинації.

Препарат «Вітастим» виготовлений з суміші водних екстрактів листя і гілок Дубу звичайного (Quercus robur) та хвої Сосни лісової (Pinus silvestris), «ІПЗ» створений на основі листя та кори дуба. Засоби виготовлено за оригінальною методикою канд. вет. наук В. В. Кіприча.

Кров відбирали шляхом тотального знекровлення курчат після еутаназії хлороформом через кожні 14 діб досліду. Тривалість досліду 90 діб.

Сироватку крові отримували загальноприйнятим методом відстоювання.

Оцінку інтенсивності процесів ПОЛ проводили за визначенням концентрації його продуктів: дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) у гептан-ізопропонольних екстрактах з використанням модифікованої методики В.Б. Гаврилової і М.І. Мішкорудної [4, 5], загальної антиокислювальної активності (АОА) ліпідів, екстрагованих із сироватки – за ступенем їх здатності гальмувати накопичення ТБК (тіобарбітурова кислота) – активних продуктів ПОЛ при інкубації суспензії жовткових ліпопротеїдів, як описано в роботі Г.І. Клебанова [6]. Спектр поглинання ТБК – активних продуктів реєстрували спектрофотометрично за довжини хвилі 540 нм. АОА ліпідів сироватки крові виражали у процентах (%) інгібування окиснення жовткових ліпопротеїдів. Активність каталази визначали методом, описаним М.А. Королюком та співавторами [7].

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень проводили за допомогою методів варіаційної статистики [8].

Результати та обговорення. Аналіз даних, отриманих при вивченні впливу інактивованої вакцини проти високопатогенного грипу «АвіФлуВак-ІЕКВМ» та застосуванні препаратів рослинного походження (табл. 1), дозволяє стверджувати, що на 14-ту добу після першої вакцинації у сироватці крові дослідної птиці 2-ої групи відбувається активізація перекисних процесів: рівень ДК підвищується на 48 %, МДА на 29 % порівняно з показниками контрольної групи ($p \leq 0,05$). Також у цих курчат встановлена тенденція до зниження загальної антиокислювальної активності сироватки крові на 13 % та підвищення активності каталази на 116 % відносно контрольних значень ($p \leq 0,05$).

У сироватці крові курчат 3-ї, 4-ї та 5-ї дослідних груп спостерігається гальмування інтенсивності процесів ПОЛ за зниженням рівня його продуктів – ДК і МДА, яке в середньому складало 39 і 32 % відповідно.

Загальна антиокислювальна активність сироватки крові у цих групах мала тенденцію до підвищення, що в середньому склало 4,3 % відносно контрольних значень ($p \leq 0,05$). У сироватці крові курчат 4-ї групи встановлена тенденція до зниження активності каталази на 22 % порівняно з контролем.

При дослідженні біохімічних показників птиці на 7-му добу досліду після другої вакцинації також відмічена активізація перекисних процесів у сироватці крові курчат 2-ї групи. Так, на початкових стадіях рівень ДК підвищується на 82 %. Також у цих курчат статистично вірогідне підвищення загальної антиокислювальної активності сироватки крові на 10 % та вірогідне зростання активності каталази на 119 % відносно контрольних значень ($p \leq 0,05$). У сироватці крові курчат 3-ї, 4-ї та 5-ї дослідних груп ці показники не суттєво відрізнялась від контрольних значень.

У той саме час на 21-у добу після другої вакцинації спостерігається підвищення активності перекисного окиснення ліпідів у птиці 2-ї дослідної групи (рівень ДК зростав на 68 %, МДА – на 57 %), а також зниження загальної антиокислювальної активності сироватки крові на 18 % та підвищення активності каталази на 115 % відносно контрольних значень ($p \leq 0,05$). У сироватці крові курчат 3-ї, 4-ї та 5-ї дослідних груп відбувались незначні коливання цих показників в порівнянні з контрольними значеннями.

На 34-ту добу досліду після другої вакцинації активізація процесів ПОЛ зафіксована у птиці всіх дослідних груп, однак особливо вираженою вона була у птиці 2-ї групи (рівень ДК зростав на 98 %, МДА – на 87 %), тоді як у птиці 3-ї, 4-ї та 5-ї дослідних груп цей рівень складав в середньому 52 % та 45 % відповідно. При цьому антиокислювальна активність сироватки крові мала тенденцію до зниження у птиці всіх дослідних груп в середньому на 11 % по відношенню до контрольних показників. Також зафіксовано підвищення активності каталази на 53 % ($p \leq 0,05$) та 32 % у сироватці крові курчат 2-ї та 5-ї дослідних груп відповідно контролю.

Аналогічний напрямок змін спостерігається на 48-му добу після другого введення вакцини. Так, концентрація ДК у сироватці крові курчат 2-ї групи мала тенденцію до підвищення на 51 %, а МДА – 40 %, у курчат 3-ї, 4-ї та 5-ї дослідних груп ці показники в середньому складали 29 і 33 % відповідно. У 2-й дослідній групі також реєстрували підвищення активності каталази на 27 % відносно контрольних значень. Показники загальної антиокислювальної активності сироватки крові у всіх дослідних групах суттєво не відрізнялись від контрольних.

На 68-му добу після другого введення вакцини у сироватці крові курчат 2-ї дослідної групи реєстрували активізацію перекисних процесів: рівень ДК підвищується на 38 %, а МДА на 36 %, також спостерігається підвищення активності каталази на 25 % по відношенню до контрольних значень даних показників. У сироватці крові курчат 3-ї, 4-ї та 5-ї дослідних груп ці показники не суттєво відрізнялась від контролю.

Таблиця 1 – Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів та загальна антиокислювальна активність в сироватці крові курчат

№ гр.	*Інтенсивність ПОЛ*		*АОА, % інгібіції*	*Каталаза, мМ H_2O_2/сек/мг білку*
	ДК, мкмоль/л	*МДА, Δ D*		
Перший відбір до вакцинації (1-но добові курчата) (M±m; n=15)				
M±м	33,6±0,19	4,20±0,04	79,5±1,85	40,0±0,17
Другий відбір 14 доба після І-ї вакцинації (M±m; n=6)				
1 гр	18,9±0,17	3,20±0,08	85,6±1,10	36,6±4,20
2 гр	28,0±0,83*	4,15±0,05*	74,1±1,30*	79,3±4,50*
3 гр	12,2±0,63*	2,35±0,07*	92,2±0,73*	37,7±3,80
4 гр	11,2±0,18*	2,10±0,05*	88,6±1,40	28,4±3,30
5 гр	11,2±0,15*	2,10±0,03*	87,4±1,38	39,3±3,8
Третій відбір 7 доба після другої вакцинації (M±m; n=6)				
1 гр	11,0±0,52	1,95±0,08	82,1±1,40	33,0±3,60
2 гр	20,0±0,20*	2,00±0,05	90,1±2,10*	72,2±6,30*
3 гр	9,6±0,17	1,80±0,05	89,8±1,05	36,4±4,00
4 гр	12,0±1,00	2,30±0,22	87,0±0,60	29,0±3,80
5 гр	11,1±0,30	2,10±0,08	88,4±0,92	37,3±4,40
Четвертий відбір 21 доба після другої вакцинації (M±m; n=6)				
1 гр	13,3±0,55	2,45±0,07	56,9±3,30	31,4±5,00
2 гр	22,4±1,48*	3,85±0,35*	46,9±5,40	67,5±8,50*
3 гр	14,2±0,85	2,70±0,15	53,1±4,10	50,5±3,20*
4 гр	13,6±1,03	2,43±0,17	54,1±4,00	43,2±4,60
5 гр	14,2±0,50	2,63±0,10	52,5±3,00	49,5±4,90
П'ятий відбір 34доба після другої вакцинації (M±m; n=6)				
1 гр	10,4±0,72	1,50±0,12	58,1±5,17	29,5±4,00
2 гр	20,6±3,50*	2,80±0,35*	48,9±4,90	45,2±3,20*
3 гр	16,1±1,60*	2,20±0,18*	52,3±5,20	37,6±3,20
4 гр	14,9±0,47*	2,20±0,10*	53,7±4,90	30,6±2,70
5 гр	16,5±1,00*	2,10±0,15*	52,0±2,60	39,1±3,05
Шостий відбір 48 доба після другої вакцинації (M±m; n=6)				
1 гр	13,8±1,45	2,10±0,20	48,3±5,50	26,9±2,30
2 гр	20,8±2,60	2,95±0,40	42,5±6,40	34,3±2,10
3 гр	18,0±2,30	2,80±0,23	45,0±3,10	25,2±2,40
4 гр	17,4±1,65	2,70±0,37	45,2±3,00	31,4±1,90
5 гр	18,4±2,60	2,90±0,38	43,7±4,50	24,9±2,60
Сьомий відбір 68 доба після другої вакцинації (M±m; n=5-15)				
1 гр	15,6±0,83	2,20±0,09	37,4±2,20	25,9±1,52
2 гр	21,5±2,80	3,00±0,26	31,5±3,60	32,5±2,30
3 гр	20,5±2,00	2,30±0,06	37,0±3,00	29,7±2,80
4 гр	17,9±1,20	2,00±0,12	39,4±3,00	28,1±3,40
5 гр	17,3±2,00	2,50±0,34	38,8±3,60	28,7±2,30

Примітка: * – різниця вірогідна по відношенню до контрольних значень відповідних показників у цей термін досліджень при (р 0,05).

Аналіз результатів, наведених в табл. 1, також свідчить про стабілізуючий вплив препаратів супроводу – «Вітастим» та «ІПЗ» на стан системи ПОЛ/АОЗ, який практично не відрізнявся від впливу препарату порівняння «Vitrum energy».

Висновки 1. Вакцина проти високопатогенного грипу птиці викликає інтенсифікацію перекисного окиснення ліпідів, а також коливання антиокислювальної активності ліпідів сироватки крові та підвищення активності каталази.

2. Застосування препаратів рослинного походження «Вітастим» та «ІПЗ» запобігають активізації процесів ПОЛ, особливо у початковому поствакцинальному періоді та стабілізує стан антиоксидантної системи організму птиці при вакцинації.

Список літератури

1. Smith, E.M. The hormonal nature of the interferon system [Tex.] / E.M. Smith. J.E. Blalock //Repts & Med. – 1981-1982, v. 41. – P. 350-358. ***2.*** Тарусов, Б.Н. Свободно- радикальные цепные реакции в липидах биологических систем [Текст] / Б.Н Тарусов //Свободнорадикальное окисление липидов в норме и патологии. – М.: Наука, 1976. – С. 176-178. ***3.*** Менщикова, Е. Б. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов [Текст] / Е.Б. Менщикова, Н.К. Зенков // Успехи совр. биол. – 1993. – Т. 111, №.4. – С. 442-455. ***4.*** Гаврилова, В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови [Текст] / В.Б. Гаврилова, М.И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1985. – № 3. – С. 33-35. ***5.*** Методи оцінки інтенсивності перекисного окиснення ліпідів та його регуляції у біологічних об'єктах [Текст]: методичні рекомендації / ННЦ ІЕКВМ УААН. – Харьков. – 2007. ***6.*** Клебанов, Г.И. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов [Текст] / Г.И. Клебанов, И.В. Бабенкова, Ю.О. Теселкин [и др.] //Лаб. дело. – 1988. – № 5. – С. 59-62. ***7.*** Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы [Текст] / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19. ***8.*** Лакин, Г.Ф. Биометрия [Текст] / Г.Ф. Лакин – М.: Высшая школа, 1980. – 230 с.

INTENSITY OF LP AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CHICKEN BLOOD SERUM AT USE OF INACTIVATED VACCINE AGAINST HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA «AVIFLUVAC-IECVM» AND PHYTOGENOUS PREPARATIONS

Krotovska Yu.M.
National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Results of investigations obtained at use of inactivated vaccine against highly pathogenic avian influenza and phytogenous preparations have been presented in the article. It has been stated that vaccine against highly pathogenic avian influenza causes activation of peroxide processes in chicken blood serum. Tendency to decrease of total antioxygenic activity of blood serum are observes. Antihunt action of preparations VITASTIM and IPZ on state of the system LP/AOP have been proved.