

УДК 619:636.22/.28:612.015.3
© 2017

В.Г. ГРИБАН,
доктор біологічних наук

Д.Ф. МИЛОСТИВА,
кандидат сільськогосподарських наук

Є.А. ПЕЧЕНИЙ,
аспірант

Дніпропетровський державний
аграрно-економічний університет,
Україна
E-mail: наукаagro@i.ua
вул. С. Єфремова, 25, м. Дніпро

КОНЦЕНТРАЦІЯ
ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДАЦІЇ
ТА АКТИВНІСТЬ
АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ
В КОРІВ 5–6-РІЧНОГО ВІКУ
ЗА ВПЛИВУ ГУМІЛІДУ
ТА СЕЛЕНУ

Досліджено вплив біологічно активних сполук – гумінового препарату Гуміліду та Селену, як окремо, так і в поєднанні, на активність ензимів захисної антиоксидантної системи (каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази) та рівень концентрації продуктів перекисного окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду в крові корів 5–6-річного віку української м'ясної породи. Виявлено, що зі застосуванням Гуміліду та селеніту натрію рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів знижується за рахунок підвищення активності антиоксидантних ензимів.

Ключові слова: корови, антиоксидантні ензими, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, каталаза, продукти пероксидації ліпідів, малоновий діальдегід, дієнові кон'югати.

Постановка проблеми. До факторів, що сприяють зниженню продуктивності тварин в умовах спеціалізованих промислових господарств належать неповноцінність та незбалансованість раціонів годівлі за вмістом основних поживних речовин (протеїну, обмінної енергії, макро- та мікроелементів). Це призводить до порушення обміну речовин в організмі та накопиченню активних форм кисню, які окиснюють наявні у фосфоліпідах клітинних мембран поліненасичені жирні кислоти, що спричинює утворення продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [4], які мають патологічний вплив на клітини організму [1, 6]. Інтенсивність утворення продуктів перекисного окиснення

ліпідів в організмі залежить від активності захисної антиоксидантної система – рівня антиоксидантних ензимів (каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази) [1, 3, 11]. Зниження активності ензимної системи антиоксидантного захисту веде до зростання концентрації продуктів пероксидації ліпідів, що супроводжується зниженням обмінних процесів в організмі тварин і, як наслідок, їх продуктивності.

Синтез антиоксидантних ензимів в організмі значною мірою залежить від умісту ряду мікроелементів, які входять до їх складу [2]. Унаслідок цього мікроелементи в організмі впливають на синтез антиоксидантних ензимів та їх активність. У свою чергу

вміст мікроелементів в організмі напряму залежить від їх умісту в кормах [8].

Одним з найбільш перспективних напрямів корекції обмінних процесів у тварин є застосування біологічно активних речовин гумінової природи. Їх висока здатність покращувати обмінні процеси здійснюється за рахунок здатності до абсорбційної, йонно-йонної і донорно-акцепторної взаємодії. Гумінові кислоти здатні іммобілізувати сполуки як неорганічної, так і органічної природи, проявляючи властивості хелатних лігандів і вступаючи в процеси комплексоутворення [10].

З віком в організмі тварин починають переважати реакції перекисного окиснення ліпідів, а активність антиоксидантної системи поступово знижується [6]. Дані про залежність концентрації продуктів перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантних ензимів від умісту мікроелементів та гумінових речовин в організмі корів старшого віку в науковій літературі обмежені. Тому **метою досліджень** було вивчити дію препарату гумінової природи Гумілід та мікроелементу Селен на рівень продуктів ПОЛ та активність ензимів антиоксидантної системи в крові корів української м'ясної породи старшого віку.

Матеріали та методи дослідження. Роботи проводили на коровах української м'ясної породи 5–6-річного віку в умовах державного дослідного підприємства "Поливанівка" Інституту сільського господарства степової зони України НААН (Магдалинівський район Дніпропетровської області).

Усі тварини, за даними гельмінтологічних, гематологічних та клінічних досліджень, були здоровими. У годівлі використовували загальногосподарські раціони, які забезпечували потребу тварин в основних елементах живлення, згідно з деталізованими нормами годівлі м'ясної худоби.

Під час формування контрольної та дослідних груп тварин підбирали за принципом аналогів, з урахуванням віку, живої маси та фізіологічного стану.

Аналізуючи фактичну забезпеченість тварин кормами, зазначали, що за рівнем годівлі, вмістом основних поживних речовин раціони відповідали нормам, проте реє-

стрували потребу в Селені. Для задоволення потреб корів у Селені було вирішено скорегувати їх раціони годівлі шляхом додавання до них неорганічної солі Селену – селеніту натрію – Na_2SeO_3 , який згодовували разом з комбікормами, а Гумілід – у формі водного розчину (готували безпосередньо перед використанням).

Добову потребу в Селені визначали з огляду на фактичну нестачу його в кормах і дози, які забезпечують нормовану потребу в цьому елементі в певний віковий період з розрахунку на 1 кг сухої речовини раціону, при цьому враховуючи ступінь засвоєння саме цієї неорганічної форми Селену організмом тварин.

Основному періоду досліджень передувало підготовчий (тривалістю 7 діб), під час якого тварин привчали до нових умов утримання. По завершенні додавання біологічно активних сполук у тварин уранці, до годівлі, з яремної вени були взяті проби крові.

У крові корів визначали активність каталази за М.А. Корольок [5]; активність глутатіонпероксидази – за В.М. Моин [7]; активність глутатіонредуктази – спектрофотометрично по зменшенню оптичної густини в результаті окиснення $\text{НАДФ}+\text{H}^+$ з довжиною хвилі 340 нм; концентрацію дієнових кон'югатів – за методикою І.Г. Стальної [9]; концентрацію малонового діальдегіду в плазмі крові – за допомогою кольорової реакції з тіобарбітуровою кислотою.

Експериментально отримані дані статистично обробляли з використанням пакета прикладних програм MS Excel' 2010 і визначенням середньої арифметичної (M), статистичної помилки середньої арифметичної (m).

Результати дослідження та їх обговорення. Активність ензимів антиоксидантної системи організму корів за впливу біологічно активних сполук представлена в табл. 1. Як бачимо, вони мали позитивний вплив на ензимну антиоксидантну систему, однією з основних ланок якої є так звані глутатіонзалежні ензими, представлені глутатіонпероксидазою та глутатіонредуктазою і які мають у своєму активному центрі іони Селену.

Так, у корів 5–6-річного віку за впливу Селену активність глутатіонпероксидази

1. Активність ензимів антиоксидантної системи в корів 5–6-річного віку за впливу біологічно активних сполук ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Глутатіон-пероксидаза, мМ GSH/(л·хв)	Глутатіон-редуктаза, GSSG/(л·хв)	Каталаза, мкМ H_2O_2 /(л·хв)
Контрольна	24,91±0,358	353,80±1,388	27,44±0,581
I дослідна (Na_2SeO_3+OP)	34,74±1,199*	409,51±1,084***	32,58±0,709**
II дослідна (Гумілід+OP)	33,86±0,598*	421,39±1,388***	35,59±0,443**

Тут і далі: * $p < 0,01$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,05$ – відносно контролю.

зростала на 28,3 % ($p < 0,01$), а за дії стимулятора Гуміліду – на 26,4 % ($p < 0,01$) відносно показників контролю (табл. 1).

Схожі зміни відбувалися й відносно глутатіонредуктази: за впливу Селену глутатіонредуктазна активність була вищою на 16,5 % ($p < 0,05$), з додаванням до раціону Гуміліду – на 12,8 % ($p < 0,05$) порівняно з даними контрольної групи тварин. Підвищений рівень глутатіонредуктази може свідчити про високу внутрішньоклітинну концентрацію відновленого глутатіону без підсилення його синтезу.

Найбільші зміни активності ензимної антиоксидантної системи за впливу біологічно активних сполук реєстрували й відносно каталази, коли рівень цього ензиму за впливу Гуміліду та Селену також мав вірогідно велику різницю – на 43,5 % ($p < 0,001$) та 36,8 % ($p < 0,001$) відповідно. Отримані дані свідчать про активування антиоксидантних ензимів за дії як Селену, так і Гуміліду.

Процеси перекисного окиснення ліпідів відбуваються в усіх клітинах живого орга-

нізму, але розвиток більшої частини патологічних процесів напряму пов'язаний з порушенням властивостей ліпідного шару мембран клітин унаслідок процесів пероксидації. Нами було досліджено концентрацію продуктів перекисного окиснення ліпідів у крові корів за впливу біологічно активних сполук.

Застосовані біологічно активні речовини мають більший вплив на зменшення вторинних продуктів пероксидації – малонового діальдегіду (МДА) – табл. 2. Так, у корів за впливу Селену концентрація МДА була меншою на 27,7 % ($p < 0,01$), а за впливу Гуміліду – на 20,4 % ($p < 0,01$) відносно контрольної групи тварин.

Значення зниження рівня дієнових кон'югатів – первинних продуктів ПОЛ – за впливу біологічно активних сполук у корів I дослідної групи було меншим на 18,7 % ($p < 0,01$), у II дослідній груп – на 14,8 % ($p < 0,01$). Переконані, що зниження рівня продуктів пероксидації за дії біологічно активних сполук насамперед обумовлено антиоксидантною дією застосованих речовин.

2. Рівень продуктів ПОЛ у крові корів за впливу біологічно активних речовин ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Дієнові кон'югати, D_{232} /мг ліпідів	Малоновий діальдегід, одА/мл
Контрольна	6,37±0,14	8,19±0,03
I дослідна (Na_2SeO_3+OP)	5,18±0,04*	5,92±0,10*
II дослідна (Гумілід+OP)	5,43±0,07*	6,52±0,12*

Висновки

Із віком в організмі тварин переважають процеси вільнорадикального окиснення, а активність ензимів антиоксидантної системи знижується.

Селеніт натрію, який використовувався в годівлі корів для усунення дефіциту в Селені, є також важливою складовою в роботі антиоксидантної системи, оскільки йони цього мікроелементу входять до складу антиоксидантних ензимів глутатіонової ланки. Висока активність глутатіонових ензимів у крові корів дослідних груп насамперед зумовлена достатньою кількістю внутрішньоклітинних запасів NADPH, які забезпечуються активністю NADPH-генерувальних ензимів.

Гумілід, як біологічно активна добавка гумінового походження, має позитивний вплив на обмінні процеси, що проявляється в зниженні рівня продуктів ПОЛ-дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду.

Додавання до раціону комплексу Гумілід+Селен протягом 21 доби сприяє підвищенню у крові активності ензимів антиоксидантної системи (каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази) та зниженню продуктів пероксидації ліпідів.

Застосування Гуміліду та Селену у вигляді неорганічної солі – селеніту натрію – сприяє підвищенню активності антиоксидантної системи та зниженню процесів вільнорадикального окиснення.

Бібліографія

1. Беленічев І.Ф. Антиоксидантна система захисту організму (огляд) / І.Ф. Беленічев, Є.Л. Левицький, Ю.І. Губський // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 3. – С. 24–29.
2. Бурцева Т.И. Селен: эссенциальный микроэлемент / Т.И. Бурцева, О.И. Бурлуцкая // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2006. – № 2. – С. 7–9.
3. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
4. Данчук В.В. Перекисне окиснення ліпідів у сільськогосподарських тварин і птиці / В.В. Данчук. – Кам'янець-Подільський: Абетка, 2006. – 56 с.
5. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
6. Костюк В.А. Биорадикалы и биоантиоксиданты / В.А. Костюк, А.И. Потапович. – Минск: БГУ, 2004. – 174 с.
7. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.М. Моин // Лабораторное дело. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
8. Милостива Д.Ф. Антиоксидантний статус та морфологічні показники крові молодняку великої рогатої худоби різного віку за впливу сульфатів міді та марганцю / Д.Ф. Милостива // Науково-технічний бюлетень. – Львів, 2014. – Вип. 15, № 1. – С. 34–38.
9. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью ТБК / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаршвили // Современные методы в биохимии / М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
10. Степченко Л.М. Механизм адаптивного действия препаратов из торфа / Л.М. Степченко // Вісник Дніпропетровського ДАУ. – 2001. – № 2. – С. 125–128.
11. Winston G.W. Oxidant and antioxidant in aquatic animals / G.W. Winston // Comp. Biochem. Physiol. C. – 1991. – V. 100, № 1–2. – P. 173–176.