

**ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК МІКРОЕЛЕМЕНТІВ
У ФОРМІ КОМПЛЕКСНОГО ЛІПОСОМАЛЬНОГО
ПРЕПАРАТУ НА ПОКАЗНИКИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ
ТА АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСУ КРОЛИЦЬ**

О. В. Штапенко, кандидат сільськогосподарських наук

І. І. Гевкан, кандидат біологічних наук

І. О. Матюха, кандидат сільськогосподарських наук

Ю. І. Сливчук, кандидат ветеринарних наук

В. Я. Сирватка, науковий співробітник

С. В. Федорова, молодший науковий співробітник

І. І. Розгоні, доктор біологічних наук

*Лабораторія репродуктивної біотехнології та розведення
тварин, Інститут біології тварин НААН*

Є.О. Дзень, кандидат сільськогосподарських наук

Лабораторія обміну речовин, Інститут біології тварин НААН

Проаналізовано вплив органічних сполук мікроелементів у формі комплексного ліпосомального препарату на антиоксидантний статус кролиць в умовах інтенсифікації відтворювальної здатності на сучасних кролефермах. Результати досліджень показали, що органічні сполуки мікроелементів, які включені в ліпосомальні препарати, є високоефективними для інтенсифікації обмінних процесів і збереження антиоксидантно-прооксидантної рівноваги в репродуктивних органах, зокрема в матці та крові, за умов стимуляції охоти, запліднення та імплантації ембріонів.

Комплексний ліпосомальний препарат, кролематки, окисна модифікація білків, антиоксидантний статус.

Важливе значення для забезпечення гомеостазу організмів сільськогосподарських тварин мають мінеральні речовини (макро- та мікроелементи). Дисбаланс мінеральних речовин, який виникає внаслідок неповноцінних за мікроелементним складом кормів, спричинює порушення метаболізму, відтворювальної функції, зниження продуктивності та погіршення якості продукції [8].

Відомо, що марганець та цинк впливають на ріст і відтворення тварин, беруть участь в обміні мікроелементів та є кофакторами багатьох ферментів. Встановлено зв'язок між обміном марганцю і йоду, тому необхідний контроль раціонів корів з їх вмістом. К. Ahola, DS Baker, PD Burns (2004) виявили, що додавання марганцю, міді та цинку впливає на репродукцію, мінеральний обмін молочних корів, 1–2-річних телиць і рівень запліднення при штучному осіменінні [11]. Доведено, що протеїнат

цинку краще впливає на формування організму, репродуктивні функції та імунний захист у молодих і дорослих тварин, ніж оксид цинку.

Кормові добавки для тварин містять у своєму складі мікроелементи у формі неорганічних солей або оксидів [9]. Для нормального засвоєння мікроелементи повинні розчинитись у тонкому кишечнику, сполучитись із органічними речовинами, у тому числі амінокислотами, щоб транспортуватися крізь клітинні мембрани. У кормах присутні карбонати, фосфати, оксалати, які також схильні до утворення нерозчинних комплексів з різними неорганічними мікроелементами і знижують їх засвоєння в тонкому кишечнику, викликаючи ряд захворювань. Сучасна біотехнологія дозволяє створювати різні форми хелатних сполук. Засвоєння мікроелементів у такій формі, при їх потраплянні з кормом, значно поліпшується, і втрата їх через фекалії знижується (Група Компаній Біохім Російський філіал Biochem Zusatzstoffe Handels- u. Produktionsges. MbH.mbH www.biochem.net.ru). Застосування таких препаратів у тваринництві є дорогим і можливе лише в певні періоди: ранній ембріональний та сухостійний. Розробка методів виготовлення нових органічних форм мікроелементів для підвищення відтворювальної функції є актуальною проблемою тваринництва України й потребує вивчення їх впливу на тлі зниження репродуктивної функції у сільськогосподарських тварин.

У наших попередніх дослідженнях на стандартизованих культурах клітин було вивчено вплив диглутамату марганцю і цинку на проліферативний ріст, життєздатність і метаболічний стан клітин. Слід зазначити, що, незважаючи на значну кількість факторів, що сприяють порушенню нормальної відтворювальної функції організму, дія їх на кінцевому етапі однотипна і полягає в зміні функціонування клітинних і субклітинних структур, взаємопов'язаних з процесами оксидативної модифікації молекул. Продуктам, що утворюються в результаті ПОЛ та ОМБ, нині відводиться головна роль у механізмі пошкодження клітин [4, 1]. При підвищенні процесів перокиснення активізується складна багатокomпонентна антиоксидантна система (АОС) організму, яка захищає органи й тканини від надлишкового перокиснення [11].

Отже, враховуючи універсальний характер взаємодії активних форм кисню, продуктів окиснення макромолекул, значну увагу при оцінці стану хворих із невиношуванням вагітності приділяють функціонуванню антиоксидантної системи організму. Слід також зазначити, що між показниками ПОЛ та імунного статусу існує кореляційний взаємозв'язок, який свідчить про те, що структура і функція клітин імунної системи залежать від балансу про- та антиоксидантних систем організму. Однак робіт із вивчення вільнорадикальних процесів, зокрема ПОЛ, і механізмів антиоксидантного захисту при порушенні репродуктивного здоров'я самок недостатньо. Саме тому становить науковий інтерес вивчення антиоксидантної системи піддослідних тварин при вагітності, що розвивається під впливом різних виробничих факторів.

Мета досліджень – визначення впливу введених комплексних препаратів мікроелементів на процеси окисної модифікації молекул в

організмі кролиць та реакцію антиоксидантної системи на використання препаратів.

Матеріали та методи досліджень. Дослід було проведено з метою розробки комплексного препарату органічних сполук мікроелементів та селеніта натрію в формі ліпосомальних препаратів для інтенсифікації репродуктивної функції у кролиць породи «Паннон Карпатський», Мукачевське ПП «Паннон Карпатський». Тварин за принципом аналогів розділили на 3 групи по 10 голів у кожній. Усіх кролематок утримували на основному раціоні (ОР) господарства. Тваринам першої групи, з метою підвищення запліднюваності самок, за 14 діб до осіменіння вводили підшкірно ліпосомальний препарат органічних сполук мікроелементів в дозі 5 мл/голову, тоді як кролематкам другої групи – ліпосомальний препарат з мікроелементами вводили в дозі 5 мл/голову при осіменінні. У склад ліпосомального препарату входили органічні сполуки мікроелементів – глутамат цинку та мангану, хром -метіонін, а також селеніт натрію, фосфоліпіди і вітаміни А, Д, Е. Кролиць усіх груп було штучно запліднено після синхронізації та гормональної обробки згідно з методиками, які використовують у господарстві. На 14-ту добу вагітності, після забою кролиць, відбирали зразки крові та тканин репродуктивних органів для проведення біохімічних досліджень. У крові та матці тварин досліджували показники перекисного окиснення ліпідів (ТБК-активні продукти [6], гідроперекиси ліпідів [2]), окисної модифікації білків (альдегідні й кетоніві похідні [14]), активність супероксиддисмутази (СОД) [3], каталази [7] та церулоплазміну [5]. Отримані результати опрацьовували статистично з використанням методів варіаційної статистики.

Результати досліджень. У результаті проведених досліджень ми встановили зміни інтенсивності процесів ПОЛ у матці кролематок при введенні досліджуваних препаратів, що відображено на рис. 1. Ми також визначили, що вміст ТБК-активних продуктів у матці тварин першої та другої дослідних груп був вірогідно нижчим на 20 та 23%, відповідно, за їх рівень у матці тварин контрольної групи (рис. 1). Щодо концентрації гідроперекисів, їх вміст зростав у матці тварин другої дослідної групи, проте показник був у фізіологічних межах для даного виду тварин у період запліднення та вагітності.

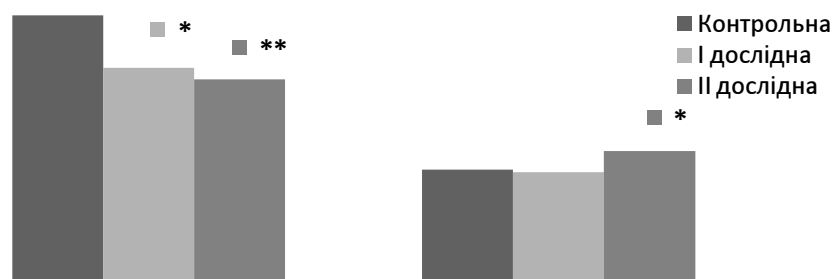


Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів та гідроперекисів ліпідів у тканині матки кролематок

Примітка (тут і далі): * - $P < 0.05$; ** - $P < 0.01$; *** - $P < 0.001$.

Надмірне утворення активних форм кисню за дії різних чинників, зокрема стресу, введення препаратів, фізіологічні зміни в організмі (у тому числі запліднення та вагітність) може індукувати також і зміни в білкових структурах клітини. Ініціація ОМБ є найбільш небезпечною ланкою ушкодження клітин, яка зумовлює інактивацію цитоплазматичних ферментів та мембранних іонних pomp із поступовим впровадженням різноманітних механізмів апоптозу клітин. Разом з тим, деструкція білків є більш надійним маркером окиснювальних пошкоджень тканин, ніж продукти ПОЛ, оскільки похідні ОМБ є більш стабільними. Зважаючи на це, наступним етапом наших досліджень був аналіз вмісту похідних ОМБ у матці та крові кролів (рис. 2.). Так ми встановили вірогідне зниження вмісту альдегідних та кетонних похідних окисної модифікації протеїнів у матці кролиць другої дослідної групи, порівняно з показниками тварин контрольної групи, на 50% і 41%, відповідно.

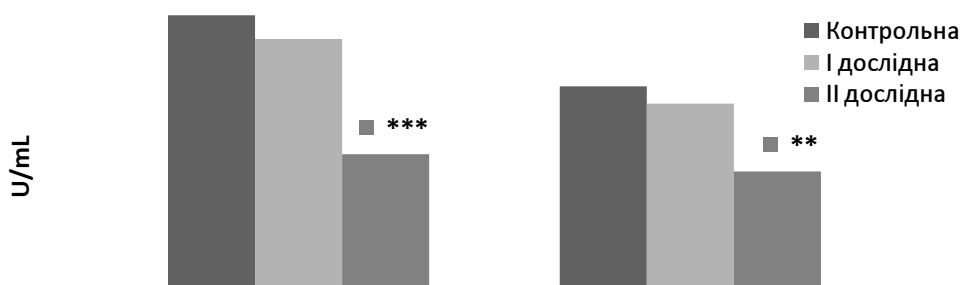


Рис. 2. Вміст альдегідних та кетонних похідних окисної модифікації білків у тканині матки кролематок

Позитивний вплив органічних сполук цинку на ендогенні захисні системи та на зниження інтенсивності окисних процесів доведено на птиці [12]. Встановлено позитивний вплив органічних сполук мanganу на активність СОД та зниження вмісту ТБК-активних продуктів у риб [13].

Ми встановили, що вміст ТБК-активних продуктів у крові кролиць першої дослідної групи був вірогідно нижчим на 33%, а другої – на 40%, ніж у крові тварин контрольної групи (табл. 1). Це може свідчити про те, що введення досліджуваних препаратів нормалізує окисні процеси, та не викликає інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів навіть у стресові для організму періоди, а саме: запліднення та вагітності.

1. Вміст кінцевих продуктів окисної модифікації ліпідів та білків у крові кролематок

Групи тварин	ТБК активні продукти, нмоль МДА/мл	ОМП ₃₇₀ , U/mL	ОМП ₄₃₀ , U/mL
Контроль	2,64±0,06	25,72±3,79	18,33±3,49
Дослід 1	1,76±0,06**	9,37±1,77*	5,41±1,4**
Дослід 2	1,58±0,07**	11,32±4,02*	17,84±4,12

Крім того, ми зафіксували зниження вмісту як альдегідних, так і кетонних похідних ОМП у крові кролиць дослідних груп, порівняно з показниками тварин контрольної групи. Причому, у крові тварин другої дослідної групи відзначене вірогідне зниження вмісту ОМП₃₇₀, а у крові кролематок першої дослідної групи – ОМП₃₇₀ і ОМП₄₃₀, порівняно з показниками крові тварин контрольної групи. Дослідники встановили вищу ефективність органічної сполуки цинку (ZnPic) щодо зменшення негативних наслідків окисного стресу, порівняно з дією неорганічних сполук мікроелементу (ZnSO₄·H₂O) [15].

У результаті проведених досліджень ми встановили вірогідне підвищення активності каталази у матці кролів другої дослідної групи, порівняно з контролем, проте активність СОД суттєвих змін не зазнала (рис. 3).

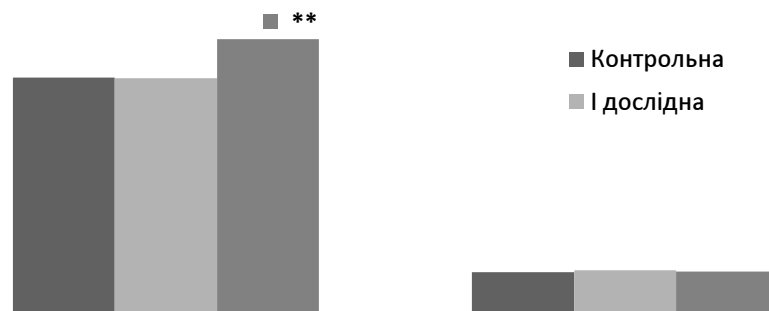


Рис. 3. Активність каталази та СОД у матці кролиць

Щодо активності ферментів АОС у крові, ми встановили вірогідне зниження активності каталази у кролематок обох дослідних груп, порівняно з показником контрольних тварин (табл. 2). Ймовірно незначне зниження активності каталази пов'язане з її роллю в інактивації окисних процесів, що було виражено зниженням вмісту продуктів ПОЛ та ОМП та виснаженням активності ферменту.

2. Активність каталази та церулоплазмину у крові кролематок

Групи тварин	Каталаза, мкмоль/хв.*л	Церулоплазмін, мг/мл
Контроль	1,82±0,25	25,37±0,55
Дослід 1	0,92±0,27*	47,42±5,74*
Дослід 2	0,71±0,16*	27,63±5,81

Відомо, що у функціонуванні АОЗ важливу роль відіграє церулоплазмін-мідьвмісна оксидаза крові, яка бере участь у транспорті та утилізації міді, нейроендокринній регуляції, гемопоезі, регуляції рівня біогенних амінів. Це головний антиоксидант плазми, який бере активну участь у виведенні продуктів розпаду клітин і субклітинних структур із осередку запалення [10]. Ми встановили, що у крові тварин першої дослідної групи активність церулоплазмину вірогідно зростала (табл. 2), що свідчить про активацію цієї ланки антиоксидантного захисту у відповідь на введення препаратів.

Висновки

Проведені нами дослідження з вивчення впливу органічних препаратів мікроелементів у період запліднення та за 14 днів до осіменіння, свідчать про позитивний вплив введених органічних сполук на окисні процеси в матці та крові кролематок. Ймовірно, власне органічні форми досліджених мікроелементів сприяли захисту організму від пошкоджувальної дії АФК опосередковано через активацію ендогенних АО ферментів. Наступним етапом досліджень заплановано комплексне вивчення біохімічних показників крові й тканин кролематок, а також морфометричних показників при введенні органічних форм різних комбінацій мікроелементів у період запліднення.

Список літератури

1. Менькин В. К. Кормление животных / В. К. Менькин. – М. : Колос, 2006. – 366 с. – ISBN 5-9532-0024-2.
2. Ahola J. K. Effect of copper, zinc, and manganese supplementation and source on reproduction, mineral status, and performance in grazing beef cattle over two-year period / J. K. Ahola, D. S. Baker, P. D. Burns, R. G. Mortimer, R. M. Enns, J. C. Whittier, T. W. Geary, T. E. Engle // J. Anim. Sci. – 2004. – Vol. 82. – P. 2375–2383.
3. Патент РФ № 2145479 A23K1/16 Премикс для коров Старикова Н. П. Заявка № 97119955 /13 24.11.1997. Дата публикации : 20.02.2000.
4. Ильков Н. И. Разработка состава и исследование новой витаминной добавки с микроэлементами для нужд ветеринарной медицины / Н. И. Ильков, Н. Г. Маринцова, В. П. Новиков // Науч.-техн. бюл. Института биологии животных и Гос. н.-и.контрол. ин-та ветпрепаратов и корм. добавок. – 2010. – Вып. 11, № 1. – С. 160–165.
5. Антоняк Г. Л. Біологічна роль цинку в організмі людини і тварин / Г. Л. Антоняк, О. В. Важненко, В. Д. Бовт [та ін.] // Біологія тварин. – 2011. – Вип. 13, № 1–2. – С. 20–32.
6. Корабейникова Э. Н. Модификации определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Корабейникова // Лабораторное дело. – 1989. – Вып. 7. – С. 8–9.
7. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 33–36.
8. Levine R. L. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins / R. L. Levine, D. Garland, C. N. Oliver, A. Amici, I. Climent, A. G. Lenz, B. W. Ahn, S. Shaltiel, E. R. Stadtman // Methods Enzymol. – 1990. – Vol. 186, № 464. – P. 478.
9. Дубинина Е. Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е. Е. Дубинина, Л. А. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // Лабораторное дело. – 1983. – № 10. – С. 30–33.
10. Королюк М. А. Метод определения каталазной активности / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, В. Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
11. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – МедПресс-информ. – 2004. – 920 с.

12. Bun S. D. Influence of organic zinc supplementation on the antioxidant status and immune responses of broilers challenged with *Eimeria tenella* / Bun S. D., Guo YM, Guo FC, Ji FJ, Cao H // Poultr. Sci. – 2011. – Vol. 90 (6). – P. 1220-6.

13. Jia-quan Nie Effects of dietary manganese sources and levels on growth performance, relative manganese bioavailability, antioxidant activities and tissue mineral content of juvenile cobia (*Rachycentron canadum* L) / Jia-quan Nie, Xiao-hui Dong, Bei-ping Tan, Shu-yan Chi, Qi-hui Yang, Hong-yu Liu, Zhang Shuang // Aquaculture research. – 2014. – Vol. 10. – P. 1–11.

14. Sahin K, Smith M.O., Onderci M., Sahin N., Gursu M.F., Kucuk O. Supplementation of zinc from organic or inorganic source improves performance and antioxidant status of heat-distressed quail / K. Sahin , M. O. Smith, M. Onderci, N. Sahin , M. F. Gursu, O. Kucuk // Poultr Sci. – 2005. – Vol. 84 (6). – P. 882-7.

15. Санина О. Л. Биологическая роль церулоплазммина и возможности его клинического применения / О. Л. Санина // Вопросы медицинской химии, 1986. № 5. – С. 7–14.

Проанализировано влияние органических соединений микроэлементов в форме комплексного липосомального препарата на антиоксидантный статус крольчих в условиях интенсификации воспроизводительной способности на современных кролефермах. Результаты исследований показали, что органические соединения микроэлементов, включенные в липосомальные препараты, являются высокоэффективными для интенсификации обменных процессов и сохранения антиоксидантно-прооксидантного равновесия в репродуктивных органах, в частности в матке и крови, в условиях стимуляции охоты, оплодотворения и имплантации эмбрионов.

Комплексный липосомальный препарат, кролематки, окислительная модификация белков, антиоксидантный статус.

The influence injections of organic compounds of trace microelements in liposomal form on the antioxidant status of female rabbits in the intensification of reproductive ability was established in the article. The results showed that supplementation organic microelements included to liposomal preparations have highly supported by the intensity of metabolism and maintaining antioxidant - prooxidant balance in the reproductive organs, and in particular, in the uterus under the stimulation of ovulation, fertilization and embryo implantation.

Organic trace elements, female rabbits, protein peroxidation, antioxidant status.