

**МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ
ПОЛІТИКИ УКРАЇНИ**



**НАУКОВИЙ ВІСНИК
ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО
УНІВЕРСИТЕТУ ВЕТЕРИНАРНОЇ
МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ
імені С.З. ГЖИЦЬКОГО**
заснований у 1998 році

Серія “Біологічні науки”

**Scientific Messenger
of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies
named after S.Z. Gzhytskyj**

Series “Biological sciences”

Том 12, № 3 (45)

Частина 2

Львів – 2010

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

В.М. ГУНЧАК – головний редактор, ректор університету, д.вет.н., професор кафедри фармакології та токсикології ЛНУВМБТ;

Я.І.КИРИЛІВ – заст. головного редактора, д.с.-г.н., проф., член-кор. НААНУ, академік АН ВО України, проректор з наукової роботи, зав. каф. технології виробництва продукції дрібного тваринництва ЛНУВМБТ;

Б.В.ГУТИЙ – відповідальний секретар, к.вет.н., ст. викладач каф. фармакології та токсикології ЛНУВМБТ.

Члени редакційної колегії

Ю.Л.БІЛОНОГА – д.т.н., проф., зав. каф. технології молока і молочних продуктів ЛНУВМБТ;

Й.М.БЕРКО – д.б.н., проф., зав. каф. біології ЛНУВМБТ;

М.В.БРИК – д.е.н., проф., зав. каф. історії України та економічної теорії ЛНУВМБТ;

В.І.БУЦЯК – д.с.-г.н., проф. каф. біохімії і біотехнології ЛНУВМБТ;

Ю.Ю.ВАРИВОДА – к.т.н., доцент, декан факультету харчових технологій ЛНУВМБТ;

С.В.ВАСИЛЬЧАК – д.е.н., проф. каф. економіки підприємства, інновацій та дорадництва в АПК імені проф.

І.В. Поповича ЛНУВМБТ;

В.Г.ГАЛАНЕЦЬ – д.е.н., проф. каф. менеджменту та інформатики ЛНУВМБТ за сумісництвом;

М.В.ГЛАДІЙ – д.е.н., акад. НААНУ, голова наглядової ради університету;

П.І.ГОЛОВАЧ – д.вет.н., проф. каф. фізіології та бджільництва ЛНУВМБТ;

Д.Ф.ГУФРІЙ – д.вет.н., проф., зав. каф. фармакології та токсикології ЛНУВМБТ;

М.В.ДЕМЧУК – д.вет.н., проф. каф. гігієни тварин ЛНУВМБТ;

Г.В.ДРОНИК – д.б.н., проф., академік НААНУ;

В.І.ЗАВІРЮХА – д.вет.н., проф. каф. хірургії ЛНУВМБТ;

О.Я.ЗАХАРІВ – д.с.-г.н., проф. каф. мікробіології і вірусології ЛНУВМБТ;

М.С.СЛЕЙКО – д.е.н., проф. каф. менеджменту та інформатики ЛНУВМБТ;

Г.І.КАЛАЧНЮК – д.б.н., проф., дійсний член Нью-Йоркської АН, директор Науково-дослідного інституту біотехнологічних основ підвищення продуктивності тварин ЛНУВМБТ;

О.І.КАНЮКА – д.вет.н., проф. каф. фармакології та токсикології ЛНУВМБТ;

М.В.КОЗАК – к.вет.н., проф., акад. УТА, декан факультету ветеринарної медицини ЛНУВМБТ;

О.В.КОЗЕНКО – д.с.-г.н., проф., зав. каф. гігієни тварин ЛНУВМБТ;

С.М.КОЛТУН – д.с.-г.н., проф., зав. каф. клінічної діагностики ЛНУВМБТ;

Г.І.КОЦЮМБАС – д.вет.н., проф., зав. каф. патанатомії і гістології ЛНУВМБТ;

Р.П. МАСЛЯНКО – д.б.н., проф., зав. каф. епізоотології ЛНУВМБТ;

І.П.МИХАСЮК – д.е.н., проф., зав. каф. економіки ЛНУ ім. І.Франка;

М.Ф.ПАДУРА – к.філол.н., проф., зав. каф. української та іноземних мов ЛНУВМБТ;

Р.П. ПАРАНЯК – д.с.-г.н., проф., зав. каф. екології ЛНУВМБТ;

М.І.ПАШЕЧКО – д.т.н., проф. декан фізико-технічного факультету Люблінської політехніки (Республіка Польща);

П.М.МУЗИКА – д.е.н., проф., зав. каф. економіки підприємства, інновацій та дорадництва в АПК імені проф.

І.В. Поповича ЛНУВМБТ;

Я.І. ПИВТОРАК – д.с.-г.н., проф. каф. годівлі с.-г. тварин, декан факультету заочної освіти ЛНУВМБТ;

С.І. ПОПЕРЕЧНИЙ – к.е.н., доц., зав. каф. маркетингу, декан факультету економіки та менеджменту ЛНУВМ та БТ;

В.Ю. СТЕФАНИК – д. вет.н., проф., зав. каф. акушерства і штучного осіменіння сільськогосподарських тварин імені Г.В.Звереві

В.В. СТИБЕЛЬ – д. вет.н., проф., зав. каф. паразитології та іхтіопатології ЛНУВМБТ;

Б.І.СОКІЛ – д.т.н., проф. НУ “Львівська політехніка”, проф. каф. загальнотехнічних дисциплін ЛНУВМБТ за сумісництвом;

П.З.СТОЛЯРЧУК – д.с.-г.н., проф., акад. АН ВО України, зав. каф. годівлі с.-г. тварин ЛНУВМБТ;

В.Г.СТОЯНОВСЬКИЙ – д.вет.н., проф. академік УАН, зав. каф. патофізіології ЛНУВМБТ;

І.М.ОЩИПОК – д.т.н., професор, зав. каф. технології м’яса, м’ясних та олійно-жирових виробів;

П.П.УРБАНОВИЧ – д.вет.н., проф. каф. патанатомії і гістології ЛНУВМБТ;

Н.М. ХОМИН – д.вет.н., проф. каф. хірургії ЛНУВМБТ;

А.О. ФЕДОРЧУК – д.х.н., проф., зав. каф. неорганічної і органічної хімії ЛНУВМБТ;

П.В.ФІЛЕВИЧ – д.ф.-м.н., проф., зав. каф. інформаційних систем менеджменту ЛНУВМБТ;

Б.Р.ЦІЖ – д.т.н., проф., зав. каф. загальнотехнічних дисциплін ЛНУВМБТ;

С.Г. ШАЛЮВИЛО – д.с.-г.н., професор, зав. каф. технології виробництва молока і яловичини ЛНУВМБТ;

М.Г.ШУЛЬСЬКИЙ – д.е.н., доц., зав. каф. менеджменту ЛНУВМБТ;

З.Є.ЩЕРБАТИЙ – д.с.-г.н., зав. кафедри генетики, проф., декан біолого-технологічного факультету ЛНУВМБТ;

І.Д.ЮСЬКІВ – д. вет.н., проф. каф. паразитології та іхтіопатології ЛНУВМБТ

Усі статті проходять обов’язкове рецензування членами редакційної колегії, докторами наук з відповідного профілю наук або провідними фахівцями (докторами наук) інших наукових і освітніх установ. Статті написані здобувачами, аспірантами і кандидатами наук обов’язково представляє доктор наук з відповідного профілю.

Рекомендовано Вченою Радою ЛНУВМБТ імені С.З.Гжицького (протокол № 6 від 8.09.2010 р).

Свідчення про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації серія КВ № 14133-3104 ПР від 11.06.2008 року

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ, БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ СПОСОБИ ПІДВИЩЕННЯ ПРОДУКТИВНОСТІ ТВАРИН

PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL AND BIOTECHNOLOGICAL WAYS OF ANIMAL PRODUCTIVITY INCREASING

УДК 577.121.2:599.323.4

Антоняк Г.Л.¹, Жиліщич Ю.В.², Панас Н.Є.²©

¹Львівський національний університет імені Івана Франка,

²Львівський національний аграрний університет

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ЕРИТРОЦИТАХ ТВАРИН ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ

Досліджували вплив хлориду кадмію (за умов введення в дозі 3 мг/кг впродовж 21 доби) на стан антиоксидантної системи в еритроцитах кролів. Установлено, що водночас із збільшенням вмісту ТБК-активних продуктів активність ферментів-антиоксидантів змінюється неоднозначно. На 14-ту добу введення CdCl₂ супероксиддисмутазна активність пригнічується, а каталазна і глутатіонпероксидазна – зростає. Наприкінці експерименту відбувається нормалізація активності супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази.

Ключові слова: кадмій, пероксидне окиснення ліпідів, супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, каталаза

Вступ. У зв'язку з погіршенням екологічної ситуації за умов сьогодення організм людини і тварин постійно зазнає впливу шкідливих речовин техногенного походження. Особливу небезпеку для організму становлять сполуки важких металів, здатні спричиняти різноманітні токсичні ефекти, а також процеси канцерогенезу [6, 9]. Одним з найшкідливіших важких металів є кадмій у зв'язку з його високою здатністю до акумуляції в клітинах тканин [8, 9]. Органами-мішенями цього металу є нирки, печінка, статеві залози, легені,

кістки, селезінка, де катіони кадмію нагромаджуються у складі комплексів із металозв'язувальним білком металотіонеїном [5]. За умов надходження кадмію в організмі тварин і людини активуються процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), що призводить до посиленого витрачання антиоксидантів у відповідь на утворення вільних радикалів [7]. Важливим є те, що сполуки кадмію належать до так званих „тіолових отрут”, які блокують сульфгідрильні групи білків і цим пригнічують їхні антиоксидантні властивості.

Активуючий вплив Кадмію на процеси пероксидного окиснення ліпідів виявляють в клітинах низки органів і тканин (гепатоцити, клітини мозку, статеві клітини, еритроцити) [7, 8]. Тому актуальною проблемою є дослідження функціонального стану антиоксидантної системи в організмі тварин за умов тривалого впливу катіонів цього важкого металу.

Матеріали і Методи. Експерименти проводили на кролях тримісячного віку, яких утримували за умов віварію. В дослідженнях використовували дві групи тварин – контрольну (К) і дослідну (Д), по 5 особин кожна. Тваринам дослідної групи внутрішньо шлунково вводили розчин $CdCl_2$ в дозі 3 мг/кг маси щодоби впродовж 21 доби. Щурам контрольної групи вводили фізіологічний розчин в такому ж самому об'ємі. Матеріалом досліджень була кров кролів контрольної і дослідної груп, яку отримували з вушної вени після 14 і 21 доби введення токсиканта. З гепаринізованої крові отримували еритроцити центрифугуванням на рефрижераторній центрифугі при 2500 g впродовж 15 хв. Плазму відбирали, а клітини трикратно промивали фізіологічним розчином (0,85% NaCl) з наступним центрифугуванням при 3000 g впродовж 5 хв. Гемолізати отримували трикратним заморожуванням і відтаюванням водних суспензій еритроцитів.

У гемолізатах визначали активність ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, каталаза) і вміст продуктів, які реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти) за допомогою загальноприйнятих методик [2-4]. Активність ферментів обчислювали, здійснюючи перерахунок на 1мг білка. Вміст білка в гемолізатах визначали за методом Лоурі і співавторів (1951). Отримані результати опрацьовували статистично за допомогою комп'ютерної програми.

Результати і обговорення. Як відомо, вплив на організм важких металів, у тому числі кадмію, належить до стресових чинників, які сприяють інтенсифікації процесів утворення активних форм кисню (АФО) та збільшенню вмісту продуктів ПОЛ у клітинах тканин і плазмі крові. У зв'язку з цим еритроцити є особливо вразливими до дії оксидативного стресу, зумовленого тривалим надходженням токсичних металів в організм тварин. Метаболічні зміни, що виникають у цих клітинах під впливом стресових чинників, можуть призводити до порушення структури плазматичних мембран та інших шкідливих ефектів, зменшуючи здатність еритроцитів до транспорту молекул O_2 [1].

У процесі досліджень встановлено, що за умов тривалого введення $CdCl_2$ в еритроцитах тварин нагромаджуються продукти ПОЛ, які реагують з

тіобарбітуровою кислотою (рис.1). Потрібно зазначити, що на 14-ту добу експерименту зміни цього показника виразніші, ніж на 21-шу добу. На вказаних стадіях досліджень вміст ТБК-активних продуктів збільшується, відповідно, в 1,41 ($p<0,01$) і 1,25 ($p<0,05$) рази порівняно з контролем.

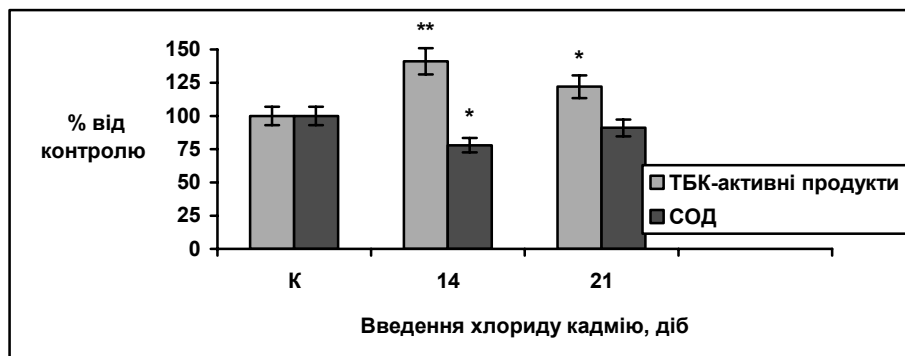


Рис. 1. Динаміка вмісту ТБК-активних продуктів і активності супероксиддисмутази в еритроцитах кролів, яким вводили $CdCl_2$

Примітка: *, ** - вірогідність різниць між контрольною і дослідними групами тварин (* - $p<0,05$, ** - $p<0,01$).

За таких умов надзвичайно важливе значення має функціональна активність антиоксидантної системи, компоненти якої захищають еритроцити від дії реакційно активних форм кисню і продуктів ПОЛ [10]. Результати досліджень вказують на неоднозначну відповідь ферментів антиоксидантної системи еритроцитів на надходження в організм тварин Cd^{2+} . Установлено, що супероксиддисмутазна (СОД) активність еритроцитів зменшується у тварин дослідної групи після 14-ти діб введення $CdCl_2$ ($p<0,05$) і нормалізується наприкінці експерименту (рис. 1). Характерна для еритроцитів динаміка СОД на початковій стадії досліджень може зумовлюватись нагромадженням у клітинах продуктів ПОЛ, які пригнічують активність ферменту.

Продукт супероксиддисмутазної реакції – гідроген пероксид – надалі метаболізується за участю ферментів каталази і глутатіонпероксидази (ГП), спорідненість яких до H_2O_2 неоднакова. Отримані результати свідчать, що каталазна активність в еритроцитах щурів дослідної групи значно зростає на обох стадіях експерименту (рис. 2). Після 14 діб введення $CdCl_2$ активність ферменту збільшується в 3,8 рази, а після 21 доби – втричі ($p<0,001$).

Що стосується глутатіонпероксидази, то, як свідчать отримані результати, у тварин дослідної групи ферментна активність в еритроцитах зростає в 3,3 рази після 14 діб введення $CdCl_2$ ($p<0,001$), а наприкінці експерименту – нормалізується (рис. 2).

Отримані результати вказують на неоднакову роль ферментів антиоксидантної системи в знешкодженні АФО в еритроцитах тварин, отруєних тривалим введенням хлориду кадмію. Вірогідно, що на початковій стадії експерименту захист клітин забезпечується активацією і каталази, яка сприяє детоксикації H_2O_2 , і глутатіонпероксидази, яка метаболізує, головним чином,

гідропероксида ліпідів [10]. На завершальній стадії експерименту основну роль у захисті еритроцитів від дії оксидативного стресу, зумовленого тривалим надходженням Cd^{2+} , відіграє функціональна активність каталази.

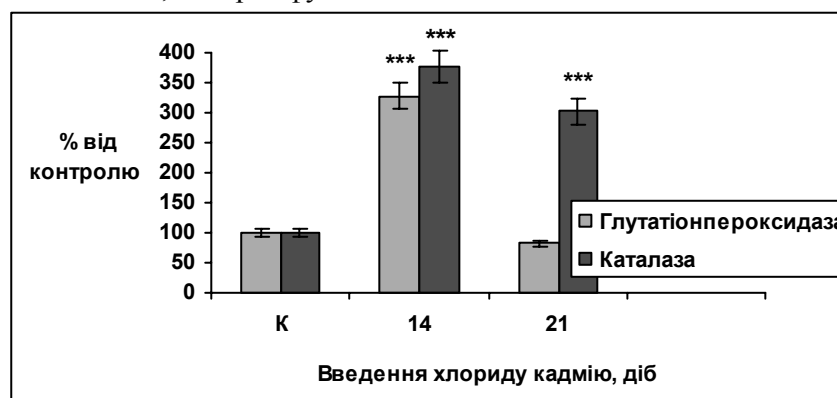


Рис. 2. Динаміка активності глутатіонпероксидази і каталази в еритроцитах кролів, яким вводили CdCl_2

Примітка: *** - вірогідність різниць між контрольною і дослідною групами тварин ($p < 0,001$).

Висновки. За умов тривалого введення (впродовж 21 доби) хлориду кадмію в еритроцитах кролів зростає інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів, що проявляється в збільшенні вмісту ТБК-активних продуктів упродовж усього періоду експерименту. За таких умов активність ферментів антиоксидантної системи в еритроцитах тварин змінюється по-різному. На 14-ту добу введення CdCl_2 супероксиддисмутазна активність пригнічується, а глутатіонпероксидазна і каталазна – зростає. На завершальній стадії досліджень активність каталази залишається на підвищеному рівні, а СОД і глутатіонпероксидазна активність нормалізується.

Література

1. Антоняк Г.Л. Особливості гемопоезу у тварин на ранніх стадіях постнатального розвитку. Автореф. дис.. д-ра біол. наук: Львів, 2002. 29 с.
2. Дубинина Е.Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е.Е. Дубинина, Л.А. Сальникова, Л.Ф. Ефимова // Лаб. дело. – 1983. – № 10. – С. 30-33.
3. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.М. Моин // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724-727.
4. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – 391 с.
5. He L. Discovery of ZIP transporters that participate in cadmium damage to testis and kidney / L. He, B. Wang, E.B. Nay, D.W. Nebert // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2009. – Vol. 238, N 3. – P. 250-257.

6. He Z.L. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment / Z.L. He, X.E. Yang, P.J. Stoffella // *J. Trace Elem. Med. Biol.* – 2005. – Vol. 19, N 2-3. – P. 125-140.
7. Li K.G. Intracellular oxidative stress and cadmium ions release induce cytotoxicity of unmodified cadmium sulfide quantum dots / K.G. Li, J.T. Chen, S.S. Bai et al. // *Toxicol. In Vitro.* – 2009. – Vol. 23, N 6. – P. 1007-1013.
8. Liu J. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis / J. Liu, W. Qu, M.B. Kadiiska // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 238, N 3. – P. 209-214.
9. Satarug S. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population / S. Satarug, J.R. Baker, S. Urbenjapol et al. // *Toxicol. Lett.* – 2003. – Vol. 137. – P. 65-83.
10. Valko M. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M.T. Cronin, M. Mazur, J. Telser // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2007. – Vol. 39, N 1. – P. 44-84.

Summary

H.L. Antonyak¹, J.V. Zhylishchych², N.E. Panas²

¹*Lviv Ivan Franko National University*, ²*Lviv National Agrarian University*

FUNCTIONAL STATE OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM IN ERYTHROCYTES OF ANIMALS UNDER PROLONGED TREATMENT WITH CADMIUM CHLORIDE

The effect of cadmium chloride (3 mg/kg during 21 days) on functional state of antioxidant system in erythrocytes of rabbits were studied. While the TBA-active products increased, antioxidant enzyme activities changes diversely. On the 14th day of CdCl₂ administration superoxide dismutase activity was inhibited, and catalase and glutathione peroxidase activities were increased. At the end of experiment SOD and glutathione peroxidase activities were normalized.

Key words: *cadmium, lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase.*

Стаття надійшла до редакції 12.09.2010

УДК 636.2:591.11:546.23

Білаш Ю.П., аспірант^{1,2}
Дідович А.П., к.б.н., доцент²
Вудмаска І.В., д.с.-г.н.^{1,2}©

¹ Інститут біології тварин НААН України

² Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького

ВПЛИВ КІЛЬКОСТІ СЕЛЕНУ І ВІТАМІНУ Е У РАЦІОНІ КОРІВ НА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД МОЛОКА

Додавання до раціону високопродуктивних корів підвищених кількостей селену і вітаміну Е впливає на жирнокислотний склад молока. У складі молочного жиру дослідних корів зростає частка окремих середньоланцюгових, розгалужених та непарних жирних кислот. Крім того, змінюється перебіг біогідрогенізаційних процесів у рубці, внаслідок чого у молоці зменшується частка транс10-18:1 та транс10,цис12-18:2 і зростає частка транс11 та цис9,транс11-18:2 ізомерів. Жирність молока зросла з 3,4 до 3,7 %.

Ключові слова: корови, молоко, жирні кислоти, кон'югована лінолева кислота, селен, вітамін Е.

Вступ. Для раціонів корів з високим вмістом крохмалю або жиру характерний жирдепресуючий ефект, тобто зменшення вмісту жиру в молоці. Синтез молочного жиру пригнічують зниження рубцевого рН і високий вміст поліненасичених жирних кислот [1,10]. На даний час домінуючим фактором зниження жирності молока жуйних тварин вважається зміна спрямованості біогідрогенізації поліненасичених жирних кислот у рубці із зміною ізомерного складу проміжних транс,цис- ізомерів.

У пасовищний період корови продукують молоко не лише більшої жирності, а й з більшим вмістом цис9,транс11-18:2 (КЛК, кон'югована лінолева кислота) [2,15], яка володіє низкою корисних біологічно активних властивостей [3]. Крім, транс11-18:1 та цис9,транс11-18:2 у рубці синтезується ряд інших ізомерів, серед них — транс10-18:1 та транс10, цис12-18:2, які хоча й з точки зору біологічної активності подібні до транс11-18:1 та цис9,транс11-18:2, мають одну небажану властивість — негативний вплив на синтез молочного жиру [4,5]. Утворення цих кислот у пасовищний період і при використанні раціонів з низьким вмістом концентратів значно менше [6,15]. Більша частина КЛК синтезується у молочній залозі та інших органах і тканинах організму тварин і людини з транс11-18:1, яка також утворюється у рубці [7,8,15]. Таким чином, вміст КЛК у молоці корів можна підвищити збільшенням продукції у рубці самої КЛК, збільшенням продукції її метаболіту транс11-18:1 або підвищенням активності $\Delta 9$ -десатурази, яка каталізує перетворення транс11-18:1 у цис9,транс11-18:2. Разом з тим, ліпіди трави містять понад 60 % поліненасичених жирних кислот [9,15], проте у пасовищний період зниження

pH і жирові добавки впливають на жирність молока значно меншою мірою [10]. Це свідчить про наявність додаткового кормового фактора, крім ПНЖК і неструктурних вуглеводів, який впливає на синтез молочного жиру. У пасовищний період вміст вітаміну Е у раціоні корів в 4–5 разів більший, ніж у стійловий період [11]. В останні роки встановлено, що вітамін Е, крім антиоксидантних властивостей, впливає на жирність молока, знижуючи негативний ефект жирдепресуючих раціонів [12,13]. Зокрема, за використання його у високих дозах змінюється спрямованість рубцевої біогідрогенізації з пригніченням синтезу транс-ізомерів олеїнової та лінолевої кислот, які пригнічують синтез молочного жиру [13,14].

Метою наших досліджень було встановлення впливу вітаміну Е у поєднанні з селеном на жирнокислотний склад молока корів.

Матеріал і методи досліджень. Дослід проведено у агрофірмі «Оршівське» Кіцманського району Чернівецької області, де було сформовано три групи корів, по 10 голів у кожній. Корови першої (контрольної) групи отримували збалансований за вмістом поживних речовин раціон, що містив сіно лучне — 4 кг, сінаж різнотравний — 10кг, силос кукурудзяний — 20 кг, брага пшенична — 10 кг, дерть пшенична — 5 кг, шрот соняшниковий 0,5 кг, меляса 1,5 кг. 1 кілограм сухої речовини містив 0,1 мг селену і 24 мг вітаміну Е. Корови другої (дослідної) групи отримували такий же раціон з добавкою 0,3 мг/кг селену (у формі селенметіоніну) і 100 мг вітаміну Е, а третьої (дослідної) групи — 0,5 мг/кг селену (у формі селенметіоніну) і 300 мг вітаміну Е на 1 кг сухої речовини корму.

Жирнокислотний склад ліпідів молока досліджували методом газорідинної хроматографії на газовому хроматографі Hewlett Packard HP-6890 з полум'яно-іонізаційним детектором, обладнаному капілярною колонкою SP-2560 (95% biscyanopropyl/5% cyanopropylphenyl polysiloxane, Supelco), довжиною 100 м. Програмування температури термостату колонок від 40 °C до 260 °C. Температура дозатора 280 °C. Температура детектора 290 °C. Газ-носії – гелій. Для ідентифікації хроматографічних піків та обрахунку хроматограм використовували стандарти метилових ефірів окремих жирних кислот.

Результати досліджень. Як видно з наведених у таблиці 1 даних, додавання до раціону корів селен-метіоніну та вітаміну Е у кількості 0,3 та 100 мг/кг сухої речовини корму не впливало на жирнокислотний склад молока, за винятком незначного збільшення у ньому частки стеаринової кислоти ($p < 0,05$). У той же час, збільшення дози селен-метіоніну та вітаміну Е до 0,5 і 100 мг/кг сухої речовини викликало значні зміни у співвідношенні жирних кислот молочного жиру. Зокрема, у молоці корів 2-ї дослідної групи на третину зростав вміст жирних кислот з розгалуженим ланцюгом і непарною кількістю вуглецевих атомів ($p < 0,001$). Це свідчить про збільшення чисельності або зміну видового складу бактерій рубця, для ліпідів яких характерні жирні кислоти такої будови.

Серед коротко- і середньоланцюгових жирних кислот, під впливом згодовування збільшеної кількості селену та вітаміну Е зросла частка масляної ($p < 0,001$), каприлової ($p < 0,01$) і капринової ($p < 0,05$) кислот, завдяки чому загальна кількість синтезованих молочною кислотою жирних кислот (C4-C14)

була на 4 % більшою. Вміст атерогенних лауринової та міристинової (12:0 і 14:0) кислот від селену і вітаміну Е не залежав.

Таблиця 1

Жирнокислотний склад ліпідів молока корів, % (M±m, n=10)

Жирні кислоти	Групи корів		
	Контрольна	1-а дослідна	2-а дослідна
4:0	3,27±0,12	3,19±0,14	3,91±0,07***
6:0	2,31±0,15	2,35±0,16	2,52±0,10
8:0	1,64±0,09	1,60±0,05	2,11±0,07**
10:0	2,87±0,15	2,82±0,08	3,43±0,12*
12:0	3,52±0,11	3,30±0,19	3,28±0,20
14:0	12,40±0,38	12,23±0,47	12,21±0,54
<i>Iso</i> -15:0	0,11±0,01	0,10±0,01	0,17±0,01**
14:1	0,86±0,03	0,75±0,02	0,78±0,05
<i>Anteiso</i> -15:0	0,29±0,03	0,32±0,02	0,36±0,02*
15:0	0,69±0,04	0,74±0,05	0,90±0,03**
16:0	31,11±1,10	31,14±1,83	29,48±0,85
<i>Iso</i> -17:0	0,38±0,02	0,37±0,01	0,49±0,03**
16:1	1,76±0,07	1,70±0,04	1,48±0,05*
<i>Anteiso</i> -17:0	0,25±0,02	0,29±0,02	0,37±0,03*
17:0	0,49±0,03	0,48±0,02	0,64±0,05*
17:1	0,20±0,01	0,15±0,01	0,18±0,01
18:0	8,56±0,24	9,31±0,33*	9,88±0,64
18:1	23,21±1,05	23,12±1,30	22,07±0,53
18:2	4,08±0,12	4,01±0,21	4,22±0,18
20:0	0,14±0,02	0,17±0,01	0,15±0,01
18:3n3	1,58±0,12	1,55±0,03	1,64±0,05
20:4n6	0,28±0,01	0,31±0,02	0,33±0,02
Ненасичені	31,97±1,91	31,59±1,58	30,70±1,15
Поліненасичені	5,94±0,15	5,87±0,24	6,19±0,20
Непарні	2,21±0,11	2,30±0,09	2,93±0,07***
Розгалужені	1,03±0,04	1,08±0,03	1,39±0,05***

Примітка. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

Додавання до раціону корів високих доз селену і вітаміну Е вплинуло на ізомерний склад жирних кислот ліпідів молока (табл. 2). У молоці корів 2-ї дослідної групи дещо зменшилась частка цис-ізомерів 18:1 жирних кислот, ($p < 0,05$) внаслідок меншої кількості олеїнової кислоти (цис9-18:1). Натомість, кількість транс-18:1 жирних кислот у корів цієї групи зросла ($p < 0,05$), причому виключно за рахунок транс-вакценової кислоти (транс11-18:1), частка якої збільшилась в 1,4 рази ($p < 0,001$). Частка інших транс-18:1 ізомерів зменшувалась. Особливо важливим є зменшення кількості транс10-18:1 ($p < 0,001$), яка за надмірного вмісту знижує жирномолочність корів. З огляду на це, позитивним фактором є і менша кількість у молоці іншої жирдепресуючої кислоти — транс10,цис12-18:2 — попередника кислоти транс10-18:1 при біогідрогенізації лінолевої кислоти у рубці жуйних. Кількість іншого кон'югованого ізомеру лінолевої кислоти, який не впливає на жирність молока — цис9,транс11-18:2 навпаки зростала, що узгоджується з кількістю у складі молочного жиру його попередника транс11-18:1 кислоти.

Вміст у молоці лінолевої кислоти звичайної будови (цис9,цис12-18:2) незначно залежав від кількості селену і вітаміну Е в раціоні корів.

Таблиця 2

Ізомерний склад ненасичених жирних кислот молока корів, % (M±m, n=10)

Жирні кислоти	Групи корів		
	Контрольна	1-а дослідна	2-а дослідна
транс6-8-18:1	0,63±0,03	0,55±0,04	0,49±0,03*
транс9-18:1	0,40±0,02	0,49±0,03	0,44±0,01
транс10-18:1	0,68±0,04	0,50±0,04*	0,37±0,02***
транс11-18:1	1,52±0,08	1,83±0,09*	2,19±0,06***
Сума транс-18:1	3,23±0,11	3,37±0,09	3,49±0,08*
цис6-18:1	0,12±0,01	0,10±0,01	0,11±0,01
цис9-18:1	18,82±0,53	18,75±0,55	17,49±0,48*
цис11-18:1	0,76±0,02	0,65±0,03*	0,71±0,05
цис12-18:1	0,28±0,02	0,25±0,01	0,27±0,02
Сума цис-18:1	19,98±0,81	19,75±0,60	18,58±0,42
цис9,цис12-18:2	3,16±0,15	2,97±0,11	3,09±0,17
транс10,цис12-18:2	0,11±0,01	0,09±0,01	0,05±0,01**
цис9,транс11-18:2	0,81±0,04	0,95±0,05*	1,28±0,07***

За введення у раціон корів високих доз селену та вітаміну Е у складі молочного жиру зменшилась частка олеїнової кислоти (цис9-18:1). Це може бути викликано двома факторами: вищим ступенем біогідрогенізації ненасичених жирних кислот у рубці та зменшенням активності Δ^9 -стеароїлдесатурази молочної залози. На меншу активність Δ^9 -стеароїлдесатурази вказує зниження коефіцієнта цис9-18:1/18:0, який для корів контрольної, 1-ї дослідної та 2-ї дослідної груп становив відповідно 2,20; 2,01 і 1,77. Отже, активність вказаного ферменту для олеїнової кислоти у молочній залозі корів 1-ї дослідної групи була на 9 %, а у молочній залозі корів 2-ї дослідної на 20 % меншою, ніж у корів контрольної групи.

Разом з тим, активність щодо іншого субстрату Δ^9 -стеароїлдесатурази — транс11-18:1 транс-вакценової кислоти у корів 2-ї дослідної групи зростала. Так, співвідношення цис9,транс11-18:2/транс11-18:1 у молоці корів контрольної і 2-ї дослідної груп становило 0,53 і 0,58; тобто за додавання до раціону корів 0,5 мг/кг сухої речовини селену і 300 мг сухої речовини вітаміну Е утворення цис9,транс11 кон'югованої лінолевої кислоти зросло на 9 %. Таким чином, зниження активності Δ^9 -стеароїлдесатурази пов'язана не з абсолютним її інгібуванням, а з перерозподілом специфічності до різних субстратів.

Згодовування високопродуктивним коровам 0,5 мг селену та 300 мг вітаміну Е на 1 кг сухої речовини корму підвищило жирність молока з 3,4 до 3,7 %.

Висновки. 1. Введення у раціон високопродуктивних корів селену та вітаміну Е у кількості 0,5 і 300 мг на 1 кг сухої речовини корму підвищує у складі молочного жиру вміст масляної, каприлової і капринової кислот, що свідчить про посилення синтезу молочного жиру *de novo*.

2. У складі молочного жиру зростає частка жирних кислот з розгалуженим ланцюгом і непарною кількістю вуглецевих атомів характерних для бактерій рубця, отже селен і вітаміну Е стимулювали ріст мікробної маси.

3. Додавання селену та вітаміну Е змінювало спрямованість біогідрогенізаційних процесів у рубці, на що вказує зменшення за їх згодовування частки транс10-18:1 та транс10,цис12-18:2 і збільшення частки транс11 та цис9,транс11-18:2 ізомерів олеїнової та лінолевої кислот.

4. Введення у раціон селену та вітаміну Е у кількості 0,5 і 300 мг на 1 кг сухої речовини корму на 0,3 % збільшила жирність молока. Зростання вмісту жиру у молоці відбувалося внаслідок збільшення синтезу молочною залозою середньоланцюгових жирних кислот та зменшення утворення у рубці транс10 ізомерів ненасичених жирних кислот.

Література

1. Bauman D.E. Regulation and nutritional manipulation of milk fat : low-fat milk syndrome / D.E. Bauman, Griinari J.M // *Livestock Production Sci.* — 2001 . — Vol.70. — P.15–29.

2. Concentrations of conjugated linoleic acid in milk from cows grazing pasture or fed a total mixed ration for an entire lactation / M.J. Auld, J.K. Kay, N.A. Thomson [et al.] // *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* . — 2002. — Vol. 62 . — P. 240–241.

3. Belury M.A. Dietary conjugated linoleic acid in health: Physiological effects and mechanisms of action / M.A. Belury // *Annual Review of Nutrition*. — 2002. — Vol. 22 . — P. 505–531.

4. Baumgard L.H. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis / L.H. Baumgard, B.A. Corl, D.A. Dwyer [et al.] // *American Journal of Physiology* . — 2000. — Vol. 278 — P. 179–184.

5. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet / L.S. Piperova, B.B. Teter, I Bruckental [et al.] // *Journal of Nutrition* — 2000. — Vol. 130. — P. 2568–2574.

6. Effects of abomasal infusion of conjugated linoleic acid on milk fat concentration and yield from pasture-fed dairy cows / T.R. Mackle, J.K. Kay, A.K.H. MacGibbon [et al.] // *Journal of Dairy Sci.* — 2003. — Vol.86. — P. 644–652.

7. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by D9-desaturase / J.M. Griinari, B.A. Corl, S.H. Lacy, P.Y. Chouinard, [et al.] // *Journal of Nutrition*. — 2000. — Vol.130. — P. 2285–2291.

8. The role of D9-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA / B.A. Corl, L.H. Baumgard, D.A. Dwyer [et al.] // *Journal of Nutritional Biochemistry*. — 2001. — Vol. 12. — P. 622–630.

9. Effects of a stay-green trait on the concentrations and stability of fatty acids in perennial ryegrass / R.J. Dewhurst, J.M. Moorby, N.D. J.K.S. Scollan [et al.] // *Grass and Forage Science*. — 2002. — Vol.57. — P. 360–366.

10. Kolver E.S. Prediction of ruminal pH from pasture-based diets / E.S. Kolver, M.J. Veth // *Journal of Dairy Science*. — 2002. — Vol. 85 — P.1255–1266.

11. National Research Council 7th rev. National Academy Press. 2001 Nutrient Requirements of Dairy Cattle.

12. The effect of vitamin E supplementation of cows diets containing rapeseed and linseed on the prevention of milk fat oxidation / M.Focant, E. Mignolet, M.Marique, [et al.] // Journal of Dairy Science. — 1998. — Vol.81 — P.1095–1101.

13. J. K. Kay. A comparison between feeding systems (pasture and TMR) and the effect of vitamin E supplementation on plasma and milk fatty acid profiles in dairy cows / J. K. Kay, J. R. Roche, E. S. Kolver [et al.] // Journal of Dairy Research. — 2005. — Vol. 72 — P. 322–332

14. Pottier J. Effect of dietary vitamin E on rumen biohydrogenation pathways and milk fat depression in dairy cows fed high-fat diets / J. Pottier, M. Focant, C. Debier [et al.] // J. Dairy Sci. — 2006. — Vol. 89. — P. 685–92.

15. Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture / J.K.Kay, T.R. Mackle, M.J. Auldist [et al.] // J.Dairy Sci. — 2004. — Vol.87. — P. 369–378.

Summary

Bilash Y.P., Didovych A.P., Vudmaska I.V.

EFFECT OF DIETARY SELENIUM AND VITAMIN E QUANTITY ON MILK FATTY ACIDS PROFILE IN THE COWS

Dietary supplementation of cows diets with high doses of selenium and vitamin E affect fatty acid profile in milk fat. The elevated quantities of some middle-chain, branched-chain and odd-chain fatty acids have been found in the cows milk fat. In addition the changes in hydrogenation processes have been established. The part of trans10-18:1 and trans10,cis12-18:2 were decreased, where as part of trans11-18:1 and cis9,trans11-18:2 were risen. Milk fat yield was increased from 3.4 to 3.7 %.

Стаття надійшла до редакції 17.09.2010

УДК 636.52/612:015.31:015.32

Бугай А.О., кандидат ветеринарних наук**Цвіліховський М.І.**, доктор біологічних наук, академік НААНУ[©]
andbugay@ua.fm

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ

**ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД БАЗОЛАТЕРАЛЬНИХ МЕМБРАН
АБСОРБЦІЙНИХ ЕНТЕРОЦИТІВ ПОРОЖНЬОЇ КИШКИ КУРЧАТ-
БРОЙЛЕРІВ ЗА ДІЇ ЛІКОПЕНУ**

Досліджено жирнокислотний склад базолатеральних мембран абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену у постнатальному періоді онтогенезу. Встановлено зниження вмісту міристинової кислоти, зростання вмісту арахідонової та ейкозантриєнової кислот, що свідчить про підвищення функціонального статусу абсорбційних ентероцитів. На основі отриманих даних висувається гіпотеза щодо стимуляції лікопеном елонгазо-десатуразної системи жирних кислот.

Ключові слова: курчата-бройлери, абсорбційні ентероцити, плазмолема, жирні кислоти.

Вступ. Фосфоліпіди - основний структурний елемент плазматичних мембран клітин, в тому числі і абсорбційних ентероцитів. Полярні частини молекул фосфоліпідів зумовлюють переважно електричні та адсорбційні властивості мембранного бішару. В той же час, ацильні радикали фосфоліпідів впливають на плинність та проникненість бішару, активність мембранно-з'язаних ферментів та транспортерів, відіграють важливу роль у трансдукції сигналу, є попередниками у синтезі ейкозаноїдів [5, 10, 11], тощо.

Нашими попередніми дослідженнями показано значні зміни жирнокислотного складу апікальних мембран абсорбційних ентероцитів [1] та інтегральних показників ліпідної компоненти плазмолемі цих клітин [2] курчат-бройлерів за дії лікопену. Функціональні властивості абсорбційних ентероцитів обумовлено поляризацією цих клітин з утворенням макродоменів плазмолемі – апікальної (АМ) та базолатеральної (БМ) мембран, що, відповідно, потребує певної відмінності і у хімічному складі їх бішару.

Метою нашої роботи було вивчення ацильного спектру базолатеральних мембран абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів за впливу лікопену.

Матеріали та методи. Дослідження проводились на кафедрі фізіології та біохімії сільськогосподарських тварин Дніпропетровського державного аграрного університету і на кафедрі терапії і клінічної діагностики Національного університету біоресурсів і природокористування України в травні–липні 2009 р.

© Бугай А.О., Цвіліховський М.І., 2010

Об'єктом дослідження були курчата-бройлери кросу "Конкурент-3" 14–42 добового віку, що утримувались у клітках з 1-добового віку на збалансованому за поживними речовинами раціоні, який змінювався згідно технологічного графіку. Курчатам дослідної групи, починаючи з 5-добового віку, щодоби перорально вводили розчин лікопену в соняшниковій олії (кількість від 0,1 до 0,5 мл) у встановленій оптимальній дозі. Курчатам контрольної групи аналогічним шляхом вводили соняшникову олію. Лікопен отримували методом екстракції органічними розчинниками рослинної сировини (м'якоть плодів фізалісу і томату). Екстракт концентрували і очищували від супутніх каротиноїдів (каротини, фітоїн, фітофлуїн тощо) на колонці з оксидом алюмінію в системі "гептан-бензол" у співвідношенні 9:1 (за об'ємом). Очищена фракція лікопену мала червоний колір і максимум поглинання світла в гексані при λ 446, 470 і 506 нм.

Для визначення жирнокислотного складу базолатеральних мембран (БМ) абсорбційних ентероцитів проводили забій курчат у віці 14, 21, 28, 35 та 42 доби. Евтаназію курчат проводили шляхом декапітації, вранці, без попереднього голодування, після чого видаляли порожню кишку, промивали її фізіологічним розчином (NaCl-NEPES, pH 7,4). Абсорбційні ентероцити порожньої кишки отримували хімічним (ЕГТО/цитрат) методом [4], БМ цих клітин отримували Mg^{2+} -преципітацією після попереднього виділення АМ диференційним центрифугуванням [3]. Екстракцію ліпідів БМ проводили методом Блая-Дайера, метилові ефіри жирних кислот отримували шляхом обробки ліпідного екстракту метилатом натрію та розчином хлороводню в метанолі. Розділення метилових ефірів жирних кислот здійснювали на газовому хроматографі Shimadzu (програмне забезпечення „Мультихром”) з використанням кварцової капілярної колонки та полум'яно-іонізаційного детектора. Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакетів програм Excel – 97 і Statistica 6.0.

Результати дослідження. Результати проведених досліджень передбачають підвищення функціональної активності БМ ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену.

У фосфоліпідному бішарі БМ абсорбційних ентероцитів 14-добових курчат-бройлерів виявлено 9 ЖК (табл. 1, 2), що вказує на меншу різноманітність ацильних радикалів фосфоліпідів порівняно з АМ [1]. Основними ЖК є пальмітинова ($C_{18:0}$), лінолева ($C_{18:2\ n-6}$) та олеїнова ($C_{18:1\ n-9}$). Загальна сума насичених ЖК БМ абсорбційних клітин курчат-бройлерів складає $48,39 \pm 0,43\%$, ненасичених – $50,88 \pm 0,26\%$, співвідношення між ними – $0,951 \pm 0,013$ од. (рис. 1). Серед ненасичених ЖК переважають диєнові – $27,3 \pm 0,43\%$, вміст моноєнових складає $21,03 \pm 0,30\%$.

Загальна сума поліненасичених ЖК (ПНЖК) в БМ абсорбційних ентероцитів 14-добових курчат-бройлерів складає $30,52 \pm 0,42\%$, серед яких кількість n-6 ПНЖК – $29,5 \pm 0,42\%$, n-3 ПНЖК – $1,02 \pm 0,01\%$. Індекс n-6 ПНЖК/ n-3 ПНЖК в мембранному бішарі, який може характеризувати ступінь включення в мембранні фосфоліпіди аліментарних ЖК, дорівнює $28,87 \pm 0,60\%$.

Слід зазначити, що цей показник в БМ абсорбційних клітин 14-добових курчат-бройлерів майже в 3 рази вищий, ніж в АМ [1]. Не виключено, що порівняно високий вміст в БМ п-3 ПНЖК зумовлений значною щільністю GLUT-2, активатором яких є ЖК цього ряду [9].

Таблиця 1

Вміст C₁₄-C₁₈ жирних кислот в БМ абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену, % (M±m, n=4)

Жирна кислота	Вік, діб									
	14		21		28		35		42	
	к	досл	к	досл	к	досл	к	досл	к	досл
C _{14:0}	1,588± 0,054	0,881± 0,013*	1,703± 0,052	0,895± 0,010*	1,721± 0,072	0,930± 0,027*	1,875± 0,067	1,160± 0,039*	1,910± 0,050	1,253± 0,040*
C _{14:1}	-	-	-	0,137± 0,002	-	0,154± 0,009	-	0,699± 0,006	-	0,660± 0,008
C _{16:0}	29,60± 0,18	19,64± 0,59*	30,48± 0,31	24,85± 0,27*	31,89± 0,67	29,19± 0,84*	24,30± 0,70	28,56± 0,78*	23,59± 0,41	29,24± 0,25*
C _{16:1}	1,508± 0,073	1,518± 0,032	1,730± 0,029	1,343± 0,053*	1,876± 0,089	0,850± 0,030*	0,360± 0,010	0,454± 0,012*	0,364± 0,015	0,456± 0,012*
C _{18:0}	17,21± 0,32	19,20± 0,48*	16,51± 0,36	20,59± 0,70*	18,25± 0,49	21,14± 0,71*	22,03± 0,55	21,15± 0,82	24,32± 0,73	20,01± 0,53*
C _{18:1 n-9}	19,53± 0,32	16,73± 0,27*	18,87± 0,27	15,6± 0,25*	16,96± 0,18	14,58± 0,30*	13,49± 0,41	16,94± 0,19*	12,88± 0,38	17,19± 0,16*
C _{18:2 n-6}	27,30± 0,43	33,65± 0,64*	27,19± 0,80	30,49± 0,71*	25,87± 0,50	29,00± 0,44*	33,25± 0,72	26,87± 0,38*	33,10± 0,86	26,58± 0,32*
C _{18:2 n-6t}	-	-	-	-	-	-	0,208± 0,009	-	0,207± 0,004	-
C _{18:3 n-3}	0,354± 0,005	0,463± 0,010*	0,352± 0,006	0,324± 0,008*	0,349± 0,004	0,233± 0,009*	0,327± 0,006	0,216± 0,006*	0,312± 0,005	0,210± 0,005

Примітка: * - дані вірогідні (P<0,05) між показниками контрольної і дослідної груп курчат-бройлерів одного віку

Відомо, що арахідонова кислота (C_{20:4 n-6}) є однією з найбільш фізіологічно активних ЖК, які входять до складу плазматичних мембран. Так, її вміст в БМ абсорбційних клітин 14-добових курчат-бройлерів складає 2,20±0,01% від загальної кількості ЖК, що майже в 2 рази менше порівняно з показником в АМ абсорбційних клітин курчат-бройлерів [1]. Ми вважаємо, що це пов'язано з більш інтенсивним контактом АМ ентероцитів, порівняно з БМ, з різноманітними сигнальними речовинами.

Вікова динаміка ЖК складу БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів характеризується поступовим зростанням співвідношення між насиченими та ненасиченими ЖК на 8% (тенденція) (рис. 1) від 14 до 42 діб вирощування. При цьому встановлено і період зниження цього показника – від 28 до 35 доби, що, на нашу думку, є компенсаторним механізмом підтримання оптимальної плинності мембранного бішару в зв'язку з різким збільшенням вмісту загальних ФЛ у БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів 28-добового віку.

Відмічена динаміка насамперед зумовлена віковим зниженням вмісту ненасичених ЖК від 14 до 42 доби вирощування курчат-бройлерів, а саме

олеїнової – в 1,3 раза ($P < 0,05$) та пальмітоолеїнової ($C_{16:1}$) - в 1,8 раза ($P < 0,05$). Тобто, серед ненасичених ЖК найбільш виражене зниження вмісту виявлено для моноєнових ЖК – у 1,4 раза ($P < 0,05$), менш виражене – для триєнових у 1,2 раза ($P < 0,05$). В той же час, вміст диєнових ЖК в БМ абсорбційних клітин курчат-бройлерів підвищився в 1,2 раза ($P < 0,05$) від 14 до 42 доби вирощування. Слід підкреслити, що найбільш виражене зниження вмісту моноєнових та зростання вмісту диєнових ЖК – в 1,3 раза ($P < 0,05$) - відмічено у період від 28 до 35 діб вирощування. Це дає змогу вважати вказаний віковий період ключовим у морфофункціональній перебудові ацильної композиції БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів. Також ми вважаємо, що феномен досить високого вмісту диєнових ЖК у мембранному бішарі як БМ, так і АМ [1] впродовж усього періоду вирощування курчат-бройлерів пов'язаний з важливою функцією цих ЖК у генезі плазмолем абсорбційних ентероцитів.

Таблиця 2

Вміст довголанцюгових жирних кислот у БМ абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену, % ($M \pm m$, $n=4$)

Жирна кислота	Вік, діб									
	14		21		28		35		42	
	к	досл	к	досл	к	досл	к	досл	к	досл
$C_{20:0}$	-	0,358± 0,008	-	0,367± 0,009	-	0,418± 0,009	0,765± 0,021	0,483± 0,009*	0,779± 0,010	0,514± 0,006*
$C_{20:1}$	-	0,196± 0,006	-	0,175± 0,005	-	0,085± 0,004	-	-	-	-
$C_{20:2}$	-	0,366± 0,008	-	0,181± 0,008	-	-	-	-	-	-
$C_{20:3 \text{ n-3}}$	0,699± 0,010	0,816± 0,005*	0,682± 0,006	0,770± 0,006*	0,695± 0,008	0,718± 0,005*	0,672± 0,016	0,676± 0,008	0,550± 0,010	0,630± 0,005*
$C_{20:3 \text{ n-6}}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$C_{20:4 \text{ n-6}}$	2,20± 0,01	5,36± 0,03*	2,22± 0,05	4,35± 0,03*	2,28± 0,05	2,80± 0,08*	2,75± 0,07	3,01± 0,09*	2,19± 0,05	3,04± 0,07
Сума	2,864± 0,021	7,095± 0,037*	2,899± 0,039	5,845± 0,044*	2,976± 0,059	4,020± 0,088*	4,188± 0,069	4,167± 0,093	3,513± 0,056	4,180± 0,066*

Примітка: * - дані вірогідні ($P < 0,05$) між показниками контрольної і дослідної груп курчат-бройлерів одного віку

Паралельно з віковим зниженням вмісту ненасичених ЖК у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів нами встановлено підвищення вмісту насичених ЖК від 14 до 42 доби розвитку в 1,05 раза ($P < 0,05$). При цьому вірогідність вказаних змін відмічалась з 21-ї до 35-ї діб вирощування курчат-бройлерів. Так, упродовж всього досліджуваного періоду вміст у БМ стеаринової кислоти ($C_{18:0}$) збільшився в 1,4 раза ($P < 0,05$), міристинової ($C_{14:0}$) – в 1,2 раза ($C_{18:0}$), а вміст пальмітинової ($C_{16:0}$) – зменшився в 1,2 раза ($C_{18:0}$). Слід зазначити, що збільшення вмісту міристинової кислоти в мембранному бішарі АМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів призводить до підвищення інтенсивності парацелюлярного шляху транспорту речовин [7, 14], що може бути компенсаторним механізмом щодо збереження

певного потоку нутрієнтів за умов вікового зниження експресії ряду транспортерів низькомолекулярних речовин [14]. Альтернативне пояснення відміченому феномену полягає у зниженні бар'єрної функції порожньої кишки з віком.

Вікова динаміка загального вмісту ПНЖК в БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів, на противагу АМ, характеризується збільшенням від 14 до 42 доби вирощування в 1,2 раза ($P < 0,05$). Відмічений факт є черговим доказом впорядкованого полярного транспорту речовин, що використовуються для побудови структурних одиниць в ентероцитах. При цьому вірогідне зростання суми ПНЖК, а також вмісту n-6 ПНЖК у мембранному бішарі БМ абсорбційних клітин встановлено від 21-ї до 28-ї діб (на 5%, $P < 0,05$) та від 28-ї до 35-ї діб (в 1,3 раза, $P < 0,05$) вирощування. В той же час, вікова динаміка вмісту n-3 ПНЖК характеризується зниженням в 1,15 раза ($P < 0,05$), причому цей показник вірогідно змінюється лише від 35-ї до 42-ї діб вирощування курчат (в 1,14 раза, $P < 0,05$). Оскільки існує думка [9], що n-3 ПНЖК позитивно впливають на транспорт глюкози в ентероцитах, вікове зниження цього показника може призводити до зменшення надходження цього метаболіту до організму і потребує детального вивчення. Таким чином, онтогенетичні зміни вмісту класів ПНЖК у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів є діаметрально протилежними за тенденцією порівняно з АМ.

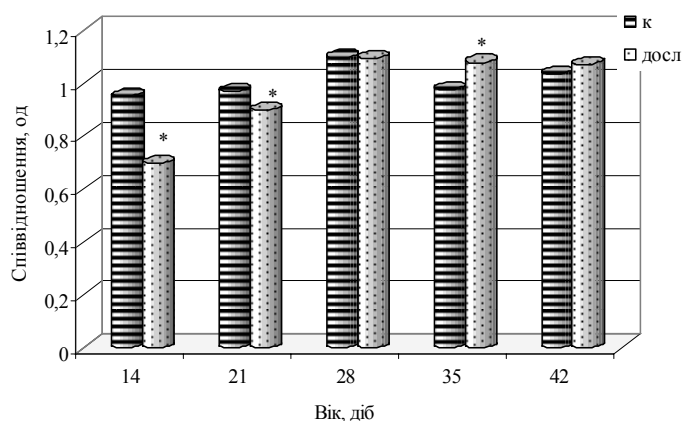


Рис. 1. Співвідношення між насиченими та ненасиченими жирними кислотами в БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену.

Примітка: * - $P < 0,05$ - дані вірогідні між показниками контрольної і дослідної груп курчат-бройлерів одного віку.

Вікова динаміка індексу n-6 ПНЖК/n-3 ПНЖК в БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів характеризується збільшенням від 14-ї до 42-ї діб вирощування в 1,4 раза ($P < 0,05$), що також є протилежним за тенденцією до показника в АМ цих клітин [1]. Аналогічно іншим показникам

жирнокислотного складу, найбільш виражені зміни співвідношення між n-6 ПНЖК та n-3 ПНЖК встановлені у період від 21-ї до 42-ї діб вирощування курчат-бройлерів.

Впродовж всього досліджуваного періоду вирощування курчат-бройлерів вміст арахідонової кислоти ($C_{20:4\ n-6}$) в БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів вірогідно не змінився (рис. 2). При цьому встановлено період поступового зростання показника від 14-ї до 35-ї діб вирощування в 1,25 раза ($P<0,05$) і період різкого зниження показника на 42 добу життя курчат – у 1,20 раза ($P<0,05$). З огляду на факт активації арахідоновою кислотою ряду ферментів (особливо транспортних АТФаз) та каналів [11], збереження її досить сталого вмісту в БМ абсорбційних клітин курчат-бройлерів впродовж всього періоду вирощування є біологічною необхідністю.

Таблиця 3

Вміст поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) в БМ абсорбційних клітин курчат-бройлерів за дії лікопену, $M\pm m$, $n=4$.

Вік, діб	Загальний вміст ПНЖК, %		Вміст n-6 ПНЖК, %		Вміст n-3 ПНЖК, %		Індекс n-6 ПНЖК/ n-3 ПНЖК, од.	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
14	30,52± 0,42	40,65± 0,62*	29,50± 0,42	39,01± 0,61*	1,022± 0,014	1,279± 0,013*	28,87± 0,60	30,51± 0,38*
21	30,44± 0,72	36,12± 0,71*	29,41± 0,72	34,84± 0,71*	1,034± 0,002	1,094± 0,013*	28,45± 0,12	31,87± 0,88*
28	29,20± 0,51	32,75± 0,30*	28,15± 0,52	31,80± 0,50*	1,044± 0,011	0,950± 0,005*	26,99± 0,63	33,48± 0,65*
35	37,21± 0,63	30,77± 0,35*	36,21± 0,65	29,88± 0,35*	0,998± 0,021	0,892± 0,012*	36,36± 1,34	33,53± 0,76
42	36,35± 0,85	30,46± 0,30*	35,49± 0,86	29,62± 0,31*	0,861± 0,006	0,840± 0,005*	41,23± 1,18	35,28± 0,57*

Примітка: * - дані вірогідні ($P<0,05$) між показниками контрольної і дослідної груп курчат-бройлерів одного віку

Використання лікопену курчатам-бройлерам призводить до зменшення у порівнянні з контролем вмісту насичених ЖК (у 1,16 раза, $P<0,05$), збільшення вмісту ненасичених ЖК (у 1,15 раза, $P<0,05$) та співвідношення між ними (в 1,30 раза, $P<0,05$) у БМ абсорбційних ентероцитів курчат-бройлерів 14-добового віку. Вказані зміни призводять до підвищення плинності мембранного бішару і зростання його функціональної активності. Вікова динаміка індексу насичені/ненасичені ЖК в БМ абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів характеризується збільшенням, аналогічно контролю [1], проте більш виразно – в 1,50 раза ($P<0,05$). Так, індекс насичені/ненасичені ЖК у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену є нижчим за контроль у 14- та 21-добової птиці (в 1,30 раза, $P<0,05$ та в 1,07 раза, $P<0,05$ відповідно), у 28-добових курчат вірогідна різниця між контролем та дослідом відсутня, а у 35-добової птиці дослідної групи вказаний показник вже вищий за контроль у 1,10 раза ($P<0,05$). Тобто, плинність фосфоліпідного бішару БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену з віком знижується значно більше, ніж у птиці контрольної групи. Для пояснення цього явища необхідні подальші дослідження.

Застосування лікопену в період від 14-ї до 42-ї діб вирощування курчат-бройлерів призводить до зниження вмісту в БМ абсорбційних клітин порожньої кишки ліноленової кислоти ($C_{18:3\ n-3}$) в 1,55 раза ($P < 0,05$) та пальмітоолеїнової ($C_{16:1}$) – у 1,70 раза ($P < 0,05$). Також встановлено зниження вмісту лінолевої кислоти ($C_{18:2\ n-6}$) в 1,12 раза ($P < 0,05$), що не характерно для птиці контрольної групи. Примітно, що за дії лікопену вміст олеїнової кислоти ($C_{18:1\ n-9}$) у БМ абсорбційних клітин курчат-бройлерів від 14-ї до 42-ї діб вірогідно не змінився, чого не відмічено в контролі. Ми вважаємо, що збереження досить сталого вмісту олеїнової кислоти фосfolіпідному бішарі не призводить до вираженого зниження функціональних властивостей останнього [6]. Також слід зазначити, що присутність в ентероцитах олеїнової кислоти у досить високій кількості позитивно впливає на комплекс транспортних процесів завдяки індукції HNF-4 [12].

Цікавим явищем є наявність в БМ абсорбційних ентероцитів порожньої кишки 14-добових курчат-бройлерів гондіонової ($C_{20:1}$) та ейкозандієнової ($C_{20:2}$) ЖК, які були виявлені у птиці контрольної групи (див. табл. 2). Проте, слід зазначити, що з віком їх вміст знижується і на 42-добу вирощування вони відсутні і в БМ абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат дослідної групи.

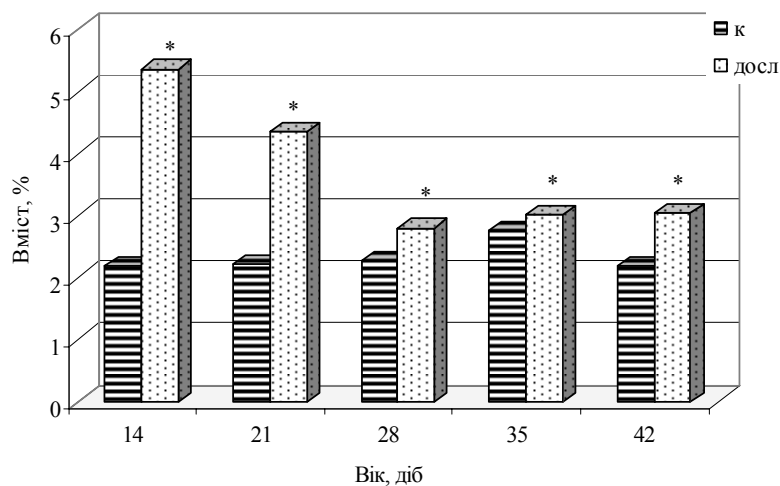


Рис. 2. Вміст арахідонової кислоти ($C_{20:4\ n-6}$) в БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену.

Примітка: * - $P < 0,05$ - дані вірогідні між показниками контрольної і дослідної груп курчат-бройлерів одного віку.

За дії лікопену виявлено зменшення порівняно з контролем вмісту моноєнових ЖК у фосfolіпідному бішарі БМ абсорбційних клітин порожньої кишки 14-добових курчат-бройлерів в 1,12 раза ($P < 0,05$), збільшення вмісту дієнових та триєнових ЖК у 1,25 раза ($P < 0,05$). За впливу лікопену вікова динаміка моноєнових ЖК характеризується сталістю, дієнових та триєнових ЖК – зменшенням у 1,20 раза ($P < 0,05$) та 1,34 раза ($P < 0,05$) відповідно

впродовж 14–42 днів вирощування курчат-бройлерів. Тобто, лише вікові зміни вмісту триєнових ЖК у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів як контрольної, так і дослідної груп є аналогічними за тенденцією. Для інших класів ненасичених ЖК ця динаміка є протилежною.

Досить цікавим фактом є поява міристоолеїнової кислоти ($C_{14:1}$) в бішарі БМ абсорбційних клітин порожньої кишки 21-добових курчат-бройлерів дослідної групи з подальшим збільшенням її вмісту до 42 доби вирощування птиці. У курчат контрольної групи впродовж всього досліджуваного періоду вказана сполука не була виявлена.

Вміст довголанцюгових ЖК у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки 14-добових курчат-бройлерів за дії лікопену підвищився у порівнянні з контролем у 2,50 рази ($P < 0,05$) (див. рис. 2). Не виключено, що це явище поряд зі значним підвищенням вмісту ненасичених ЖК, може вказувати на активацію десатуразно-елонгазної системи за короткотермінової дії лікопену. Вікова динаміка вмісту довголанцюгових ЖК у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки за дії лікопену характеризується значним зниженням від 14-ї до 42-ї днів вирощування – в 1,40 рази ($P < 0,05$), що є явищем протилежним за тенденцією порівняно з контролем. Проте майже в усі періоди спостереження вміст довголанцюгових ЖК у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат дослідної групи був вищий за контроль у 1,19-2,20 рази ($P < 0,05$) і тільки у 35-добової птиці не було встановлено вірогідної різниці цього показника між групами. Таким чином, описані факти можуть бути підтвердженням нашої гіпотези [1] щодо стимулювання лікопеном елонгазно-десатуразного комплексу ЖК.

Застосування лікопену призвело до зменшення порівняно з контролем вмісту пальмітинової кислоти ($C_{16:0}$) в БМ абсорбційних клітин порожньої кишки 14-добових курчат-бройлерів у 1,30 рази ($P < 0,05$). Вікова динаміка цього показника характеризується зростанням в 1,50 рази ($P < 0,05$) від 14-ї до 42-ї днів вирощування курчат-бройлерів, завдяки чому в БМ абсорбційних ентероцитів 35-42 добової птиці дослідної групи вміст пальмітинової кислоти ($C_{16:0}$) перевищує аналогічний показник контрольної групи в 1,18-1,24 рази ($P < 0,05$). Вміст стеаринової кислоти ($C_{18:0}$) в БМ абсорбційних клітин порожньої кишки 14-добових курчат-бройлерів є вищим за контроль у 1,12 рази ($P < 0,05$). Від 14-ї до 42-ї днів вирощування курчат-бройлерів дослідної групи вміст стеаринової кислоти ($C_{18:0}$) вірогідно не змінився. При цьому цей показник у птиці дослідної групи до 28 доби її вирощування був вищим у 1,16-1,25 рази ($P < 0,05$), на 35 добу вірогідно не відрізнявся, а на 42 добу був нижчим за контроль в 1,18 рази ($P < 0,05$). Таким чином, до 35-ї доби вирощування курчат-бройлерів відмічається явище ймовірної стимуляції лікопеном елонгації і насичених ЖК, чого не спостерігається надалі.

Важливим моментом впливу лікопену на ЖК склад БМ абсорбційних клітин 14-добових курчат-бройлерів є зменшення порівняно з контролем вмісту міристинової кислоти ($C_{14:0}$) в 1,45 рази ($P < 0,05$). Зменшення вмісту в мембранному бішарі ЖК з невеликою довжиною вуглецевого ланцюга

призводить до збільшення його стабільності [7, 14]. Вікова динаміка вмісту міристинової кислоти в БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів дослідної групи характеризується збільшенням від 14-ї до 42-ї діб вирощування, як і в контролі, проте більш вираженим – у 1,40 рази ($P < 0,05$). Ймовірно, це призводить до посилення інтенсивності парацелюлярного транспорту речовин, не виключено – внаслідок вікового зниження активності транспортерів нутрієнтів. Однак, незважаючи на встановлену тенденцію, впродовж всього дослідного періоду вміст міристинової кислоти в БМ абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів дослідної групи є нижчим за контроль у 1,30-1,50 рази ($P < 0,05$).

Загальний вміст ПНЖК та вміст n-6 ПНЖК у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки 14-добових курчат-бройлерів за дії лікопену вищий в 1,30 рази ($P < 0,05$). Вікова динаміка цього показника, в протизвагу від контролю, характеризується зниженням у 1,25 рази ($P < 0,05$). Тому до 28-ї доби вирощування птиці цей показник є вищим в досліді (в 1,12-1,20 рази, $P < 0,05$), а після 28-ї доби – в контролі (в 1,70 рази, $P < 0,05$).

Вміст n-3 ПНЖК у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки 14-добових курчат-бройлерів за дії лікопену збільшився у порівнянні з контролем у 1,25 рази ($P < 0,05$). Вікова динаміка цього показника, як і в контролі, характеризується зниженням, проте більш вираженим – в 1,34 рази ($P < 0,05$). Тому до 21-ї доби вирощування птиці цей показник є вищим у досліді (в 1,06-1,25 рази, $P < 0,05$), а після 21 доби – в контролі (до 11%, $P < 0,05$). Феномен більш низького вмісту n-6 ПНЖК та n-3 ПНЖК у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену впродовж другої половини вирощування порівняно з контролем потребує подальших досліджень і, ймовірно, пов'язаний з більш інтенсивним окисленням мембранних ліпідів базолатерального макродомену [13] та віковим зниженням активності десатуразної системи.

Описані зміни вмісту n-6 ПНЖК та n-3 ПНЖК у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки курчат-бройлерів призводить до зростання порівняно з контролем індексу n-6 ПНЖК/n-3 ПНЖК у 1,05 рази ($P < 0,05$). Вікова динаміка цього показника в досліді аналогічна контролю і характеризується зростанням у 1,15 рази ($P < 0,05$).

Показово, що застосування лікопену призводить до зростання порівняно з контролем вмісту арахідонової кислоти ($C_{20:4\ n-6}$) у БМ абсорбційних клітин порожньої кишки 14-добових курчат-бройлерів у 2,40 рази ($P < 0,05$). Це вказує на вищу функціональну активність БМ з огляду на регуляторну роль арахідонату [8]. Вікова динаміка вмісту арахідонової кислоти в БМ абсорбційних клітин курчат-бройлерів дослідної групи характеризується зниженням, як і в контролі, проте більш вираженим – у 1,40 рази ($P < 0,05$). Незважаючи на таку вікову динаміку, вміст арахідонової кислоти за дії лікопену є вищим за контроль впродовж 21-42 діб вирощування курчат в 1,1-2,0 рази ($P < 0,05$).

Висновки. Проведені дослідження розкривають окремі механізми дії лікопену на організм курчат-бройлерів. Застосування лікопену призводить до змін порівняно з контролем щодо жирнокислотного складу базолатеральної мембрани абсорбційних ентероцитів: появу гондіонової та ейкозандієнової жирних кислот; підвищення вмісту арахідонової, ейкозантриєнової кислот, загальної суми довголанцюгових жирних кислот; зниження вмісту міристинової кислоти. Отримані дані гіпотетично вказують на стимуляцію лікопеном елонгазо-десатуразної системи жирних кислот.

Література.

1. Бугай, А. Жирнокислотний склад апікальних мембран абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену / А. Бугай, М. Цвіліховський, Р Толстих // Науковий вісник ЛНАВМТБТ ім. С.З. Гжицького. – 2010. – Т. 12, № 2 (44), Ч. 2. – С. 3-13.
2. Бугай, А. Інтегральні показники ліпідного складу плазмолем абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів за дії лікопену впродовж періоду їх вирощування / А. Бугай, М. Цвіліховський // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Збірник наукових праць ХДЗВА. – 2010. – В. 21, Ч. 2, Т. 1. – С. 46-54.
3. Бугай, А.О. Отримання апікальних та базолатеральних мембран абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів для вивчення транспортних властивостей плазмолем / А.О. Бугай // Науковий вісник ЛНАВМТБТ ім. С.З. Гжицького. – 2009. – Т. 12, № 5 (40), Ч. 2. – С. 27-33.
4. Бугай, А.О. Отримання ізольованих абсорбційних ентероцитів порожньої кишки курчат-бройлерів для вивчення транспортних властивостей плазмолем / А.О. Бугай, М.І. Цвіліховський // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Збірник наукових праць ХДЗВА. – 2009. – Вип. 20, Ч. 2, Т. 2. – С. 57-67.
5. Annaba, F. Modulation of ileal bile acid transporter (ASBT) activity by depletion of plasma membrane cholesterol: association with lipid rafts / F. Annaba, Z. Sarwar, P. Kumar // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2008 – V. 29. – P. 489-497.
6. [Bateman, P.](#) Differences in cell morphology, lipid and apo B secretory capacity in caco-2 cells following long term treatment with saturated and monounsaturated fatty acids / P. [Bateman](#), K. [Jackson](#), V. [Maitin](#) et al. // [Biochim. Biophys. Acta](#). – 2007. – V. 1771 (4). – P. 475-485.
7. [Cano-Cebrián, M.](#) Intestinal absorption enhancement via the paracellular route by fatty acids, chitosans and others: a target for drug delivery / M. [Cano-Cebrián](#), T. [Zornoza](#), L. [Granero](#) et al // [Curr. Drug Deliv.](#) – 2005. – V. 2 (1). – P. 9-22.
8. Devor, D. Modulation of K⁺ channels by arachidonic acid in T84 cells. II. Activation of a Ca²⁺-independent K⁺ channel / D. Devor, R. Frizzell // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 1998. – V. 274. – P. 149-160.

9. Gabler, N. In utero and postnatal exposure to long chain (n-3) PUFA enhances intestinal glucose absorption and energy stores in weanling pigs / N. Gabler, J. Spencer, D. Webel et al. // J. Nutr. – 2007. – V. 137. – P. 2351-2358.

10. Gu, R. Arachidonic acid inhibits K channels in the basolateral membrane of the thick ascending limb / R. Gu, W. Wang // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2002. – V. 314. – P. 152-182.

11. [Haag, M.](#) Polyunsaturated fatty acids inhibit Mg^{2+} -ATPase in basolateral membranes from rat enterocytes / M. [Haag](#), F. [Vermeulen](#), O. [Magada](#) et al // [Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids](#). – 1999. – V. 61 (1). – P. 25-27.

12. Leng, S. Hepatocyte nuclear factor-4 mediates apolipoprotein A-IV transcriptional regulation by fatty acid in newborn swine enterocytes / S. Leng, S. Lu, Y. Yao et al // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2007. – V. 293. – P. 475-483.

13. Storch, J. Metabolism of apical versus basolateral *sn*-2-monoacylglycerol and fatty acids in rodent small intestine / J. Storch, Y. Zhou, W. Lagakos // Journal of Lipid Research. – 2008. - V. 49. – P. 1762-1769.

14. Vazquez, M. Developmental changes in glucose transport, lipid composition, and fluidity of jejunal BBM / M. Vazquez, N. Rovira, V. Ruiz-Gutierrez et al. // Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol. – 1997. – V. 273. – P. 1086-1093.

Summary

A. Bugay, M. Tsvilikhovsky

FATTY ACIDS COMPOSITION OF BROILER CHICKEN ABSORPTIVE CELLS BASOLATERAL MEMBRANE UNDER LYCOPENE ACTION

Fatty acids composition of broiler chicken absorptive cells basolateral membrane under lycopene action during postnatal period of ontogenesis was researched. Rate decreasing of miristoic acids, rate increasing of arachidonic and eicosotrienic acids were stated that sign to absorptive cells functional status increasing. Obtained data are background for hypothesis of lycopene stimulates elongase-desaturase system of fatty acids.

Key words: broiler chicken, absorptive cells, plasma membrane, fatty acids.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК 636.52/58:084.085.55

Галанець В.В., аспірант ©*Інститут землеробства і тваринництва західного регіону УААН. Оброшино
Пустомитівського району Львівської області***ВПЛИВ ТРИПТОФАНУ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ ТА ПІДВИЩЕННЯ
ЯКОСТІ М'ЯСА БРОЙЛЕРІВ ПРИ ВНЕСЕННІ 1,0% ТРИПТОФАНУ ДО
МАСИ КОМБІКОРМУ**

Досліджується підвищення м'ясної продуктивності курчат-бройлерів та поліпшення його якості від збагачення кормового раціону амінокислотами за рахунок яких синтезуються білки. Деякі із незамінних амінокислот до сьогодні ще не вивчені. Такою є триптофан. Виходячи з цього, метою нашого дослідження є вивчення впливу триптофану на м'ясну продуктивність курчат-бройлерів.

Ключові слова: вирощування бройлерів, добавка триптофану, доза внесення, забійні показники курчат, вміст розчинного білку, ефективність.

Вступ.

З причини надзвичайної фінансової напруженості в державі значною мірою впали реальні доходи переважної частини населення. Продовольча безпека сімей з низькими доходами не може забезпечити здоров'я, працездатності і демографічного відтворення населення при нестачі м'яса. Виходом із ситуації є вирощування бройлерів, де затрати капіталу повертаються за 1,5-2 місяці.

Матеріали і методи.

Схема досліду була погоджена з науковим керівником д.б.н., проф. Вовком С.О.

Дослідження проведене на Пустомитівській бройлерній фабриці (село Семенівка Пустомитівського району Львівської області). Ставилась мета – визначити раціональну дозу внесення триптофану до основного комбікорму з 21 до 49 добового віку. Вивчалися дози 0,5%, 1,0%, 2,0% до маси комбікорму. В групах знаходилось по 20 курчат-півників при напільному утриманні.

Умови досліду були наближені до ідеальних. У пташнику на 25 тис. курчат були відокремлені сіткою 4 секції по 20 курчат кожна, включаючи і контрольну. Курчата зважувались через кожних 7 діб і визначалася середня вага одного курчати. Годували курчат стандартними повноцінними кормами типу ГТК-6-4, ПК-6-5 (Гост 1821-721).

Результати дослідження.

Результати дослідження представлені в табл.1.

Раціональною дозою внесення до основного комбікорму визнана доза 1,0% триптофану що дало приріст 250,0 г при живій масі одного курчати 1515,0 г живої ваги. При внесенні 0,5% триптофану приріст складав 155,0 г, а

жива маса курчати 1453,1 г. При внесенні 2,0% приріст склав 89,1 г при живій масі курчати 1253,7 г. Очевидно впливав негативно надлишок триптофану [5].

Таблиця 1

Продуктивність курчат-бройлерів в залежності від дози триптофану як добавки до основного раціону (жива маса і приріст в грамах (на одне курча))

Вік курчат, діб	Кількість, шт.	1 група 0,5% триптофану		2 група 1% триптофану		3 група 2% триптофану		4 група контроль	
		жива маса, г	приріст	жива маса, г	приріст	жива маса, г	приріст	жива маса, г	приріст
Пошуковий дослід									
21-28	20	993,2	113,8	995,2	120,1	993,5	128,6	994,5	35,1
28-35	20	1170,0	135,6	1185,3	147,2	1122,1	152,2	1029,5	58,2
35-42	20	1305,0	147,5	1332,5	152,5	1274,3	167,5	1102,1	63,2
42-49	20	1453,1	155,0	1515,0	250,0	1502,0	160,2	1253,7	89,1

Показники забійної ваги представлені в табл.2.

Таблиця 2

Забійні показники курчат-бройлерів на Пустомитівській бройлерній фабриці в результаті поставленого дослідження

Показник	Групи		Дослідна до контрольної, %
	I дослідна (1,0% триптофану)	II контрольна	
Передзабійна маса, г	1515,0	1253,7	120,8
Маса тушки			
-непатреної	1397,1	1281,2	109,0
-патреної	1072,1	983,8	108,9
Маса:			
-залозистого шлунку	10,2	9,2	110,8
-м'язового шлунку	52,1	53,0	98,3
-печінки	65,3	38,8	168,2
-серця	20,7	14,1	146,8

Переваги дослідної групи – очевидні. При внесенні оптимальної дози триптофану (1,0% від основної маси комбікорму), передзабійна вага тушки на 20,8% вища, вага печінки – на 68,2% вища ніж в контрольній групі.

Нашою метою було також проведення біохімічних досліджень. Для них брали; кров, тканини печінки, серця, шлунку, шкіри і визначали наявність білку в плазмі крові і розчинного білку в шкірі, м'язах бедра, печінці.

У тканинах визначали вміст розчинних білків за Вадзалем []. Живу масу курчат визнали шляхом зважування 5 курчат із дослідної і контрольної групи.

В плазмі крові досліджували вміст загального білка з допомогою рефрактометра.

Таблиця 3

Вплив триптофану на вміст білку в крові і розчинних білків у м'ясі курчат-бройлерів у 49-денному віці (в% до маси)

Показник	Плазма крові	Шкіра	М'язи бедра	Печінка
Контрольна група				
Загальний білок	3,05	×	×	×
Розчинний білок	×	2,30	3,20	11,61
Дослідна група				
Загальний білок	3,55	×	×	×
Розчинний білок	×	2,48	3,98	12,10

Дослідження показало, що при добавці 1,0% триптофану до маси основного раціону кількість білку суттєво зростає.

Одержані нами показники певною мірою узгоджуються з твердженнями інших авторів [4].

Висновки

1. При виборі раціонального рішення щодо внесення триптофану, вважаємо, що при виборі дози внесення триптофану треба обрати дозу 1,0 г до маси комбікорму.

2. При внесенні 1,0% триптофану до маси комбікорму в масштабі пташника №6 Пустомитівської бройлерної фабрики на 25 тис. курчат можна одержати додатково 6,5 ц м'яса за рахунок внесення триптофану 1,0% до маси основного корму.

Література

1. Дерев'яно І.Д. Біологічні особливості сільськогосподарської птиці // Ефективне птахівництво. –С. 25-26.
2. Довідник: фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / за ред. В.В.Влізла. –Львів, 2004, -с.81.
3. Waddel William J.A. Simple ultraviolet spectrophotometry method for the determination of protein. J.Lab.Clin.Med. -1956. v.48. №2. p.311-314.
4. Суржин А. Значение незаменимых аминокислот в кормлении птицы // Ефективні норми та годівля 2007, №7, с.30-32.
5. Чудак, Огороднічук Г., Шевчук Т., Скубілова Я., Чорнаста О. Продуктивність курчат-бройлерів за використання комбікормів різного складу // Тваринництво України №6, 2000, с.33-35.

Стаття надійшла до редакції 17.09.2010

УДК 619:612.015:636.2.084

Головач П.І., доктор ветеринарних наук, професор**Змія М.М.**, аспірант[©]*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького***ОБМІН БІЛКІВ У БУГАЙЦІВ НА ВІДГОДІВЛІ ЗА ВПЛИВУ
ВІТАМІНІВ ГРУПИ В (В₁, В₂, В₅, В₆, В₁₀, В₁₂)**

Висвітлюються особливості впливу різних доз комплексу вітамінів групи В (тіамін гідрохлорид, рибофлавін, нікотинова кислота, піридоксин гідрохлорид, фолієва кислота, ціанкобаламін) на показники білкового обміну (вміст загального білка, співвідношення білкових фракцій, активність АСТ та АЛТ) в сироватці крові молодяку великої рогатої худоби на відгодівлі.

Ключові слова: *вітаміни групи В, загальний білок, альбуміни, α-, β-, γ – глобуліни, білковий коефіцієнт, активність АСТ та АЛТ, коефіцієнт де Рітца.*

Вступ. У реалізації генетичного потенціалу продуктивності сільськогосподарських тварин вагоме місце відводиться повноцінній годівлі. В організмі тварин поряд із білками, вуглеводами, ліпідами і мінеральними речовинами важливі функції виконують різні вітаміни. Недостатня забезпеченість тварин окремими вітамінами негативно впливає на активність ферментних систем, гормональний статус, метаболізм поживних речовин, функціонування різних органів і систем органів, стан природної резистентності, процеси адаптації та рівень продуктивності [5, 9, 10, 14].

Чисельними дослідженнями доведено, що потреба сільськогосподарських тварин у вітамінах залежить від виду, віку, статі, фізіологічного стану, сезону року, рівня продуктивності [1, 3, 6]. Існує твердження, що жуйні тварини водорозчинними вітамінами групи В забезпечуються за рахунок їх синтезу мікрофлорою рубця [11, 12, 13], відповідно прийнято проводити нормування раціонів для великої рогатої худоби, овець і кіз поряд із поживними і мінеральними речовинами лише за каротином і вітамінами D та E [2, 8, 15].

Враховуючи, що водорозчинні вітаміни виконують життєво важливі функції, а генетичний потенціал м'ясної і молочної продуктивності у великої рогатої худоби постійно зростає нами була поставлена мета дослідити вплив додаткового введення до раціону бугайців на відгодівлі різних доз комплексу основних вітамінів групи В (В₁, В₂, В₅, В₆, В₁₀, В₁₂) на різні сторони фізіологічного статусу, продуктивність і якість яловичини.

У цьому повідомленні наводяться дані про дослідження впливу різних доз вітамінів групи В на обмін білків у бугайців на відгодівлі.

Матеріал і методи. Дослідження проведено у ПАФ «Білий стік» Сокальського району Львівської області у зимово-весняний стійловий період на

[©] Головач П.І., Змія М.М., 2010

бугайцях чорно-рябої української молочної породи віком 12 місяців. За принципом аналогів було сформовано 5 груп дослідних тварин (контрольну і 4 дослідні) по 6 голів у кожній. Дослід тривав 6 місяців.

Раціони для дослідних бугайців складені відповідно до рекомендованих норм (Ібатулін І.І. та ін., 2007) із врахуванням хімічного складу кормів даної місцевості, віку тварин, живої маси і планованих середньодобових приростів. Для годівлі бугайців використовували силосний тип відгодівлі. При цьому в раціон бугайців дослідних груп до основного раціону щоденно вводили додатково під час ранкової годівлі комплекс вітамінів групи В (тіамін хлорид, рибофлавін, нікотинова кислота, піридоксин гідрохлорид, фолієва кислота, ціанкобаламін) у різних дозах з розрахунку на 1 кг маси тіла (табл. 1).

У сироватці венозної крові визначали: вміст зального білка з допомогою ІРФ – 22 за методом Рейса і співвідношення білкових фракцій (%) шляхом електрофорезу на пластинках 7,5 % поліакриламідного гелю [7]. Зафарбовували фореграми 1% розчином амідочорного 10Б. Знебарвлення фону проводили в 7% оцтовій кислоті. Вміст білкових фракцій визначали прямим скануванням пластин на аналізаторі фореграм АФ-1 при довжині хвилі 610 нМ. Активність аспартатамінотрансферази (К.Ф.2.6.1.1.) і аланінамінотрансферази (К.Ф.2.6.1.2.) досліджували за методом Райтмана і Френкеля з використанням набору реактивів ТОВ НВП “Філісіт - Діагностика” [4].

Таблиця 1

Схема проведення дослідів

Групи тварин		Кількість тварин у групі	Дозування вітамінів мг/кг маси тіла
Контрольна		6	ОР (основний раціон)
Дослідні	1	6	ОР + вітаміни: В ₁ – 0,015; В ₂ – 0,03; В ₅ – 0,5; В ₆ – 0,10; В ₁₀ – 0,0012; В ₁₂ – 0,0002.
	2	6	ОР + вітаміни: В ₁ – 0,025; В ₂ – 0,04; В ₅ – 0,8; В ₆ – 0,15; В ₁₀ – 0,0020; В ₁₂ – 0,0004.
	3	6	ОР + вітаміни: В ₁ – 0,040; В ₂ – 0,06; В ₅ – 1,2; В ₆ – 0,25; В ₁₀ – 0,0030; В ₁₂ – 0,0006.
	4	6	ОР + вітаміни: В ₁ – 0,070; В ₂ – 0,10; В ₅ – 2,0; В ₆ – 0,40; В ₁₀ – 0,0050; В ₁₂ – 0,0010.

Цифрові дані, отримані в експериментах, опрацьовано за методикою І.А.Ойвіна (1960) із використанням програми Microsoft Excel. Результати середніх значень вважали статистично вірогідними при $P < 0,05^*$, $P < 0,01^{**}$ та $P < 0,001^{***}$.

Результати дослідження. У результаті проведених досліджень встановлено, що додавання до раціону дослідних груп бугайців комплексу вітамінів групи В (В₁, В₂, В₅, В₆, В₁₀, В₁₂) у різних дозах в цілому позитивно

впливає на білковий обмін, причому величина змін вмісту загального білка, співвідношення його фракцій та активність амінотрансфераз (АСТ, АЛТ) в сироватці крові залежить від дози додатково введених до раціону бугайців вітамінів групи В. Так, наприклад, рівень загального білка у сироватці крові тварин контрольної групи становив $71,7 \pm 0,68$ г/л (табл. 2), а у бугайців 1, 2, 3 та 4 дослідної групи вміст загального білка був вищим і відповідно становив $72,6 \pm 0,70$ ($P > 0,05$); $74,5 \pm 0,76$ ($P < 0,05$); $75,8 \pm 0,73$ ($P < 0,01$) та $76,1 \pm 0,69$ ($P < 0,01$) г/л.

Таблиця 2

Вплив вітамінів групи В (В₁, В₂, В₅, В₆, В₁₀, В₁₂) на показники обміну білків у сироватці крові бугайців на відгодівлі (M \pm m, n=6)

Показники		Контроль на група	Дослідні групи			
			I	II	III	IV
Загальний білок, г/л		71,7 $\pm 0,68$	72,6 $\pm 0,70$	74,5 $\pm 0,76$ *	75,8 $\pm 0,73$ **	76,1 $\pm 0,69$ **
Фракції білків %:	альбуміни	37,1 $\pm 0,74$	36,5 $\pm 0,43$	35,2 $\pm 0,65$	32,8 $\pm 0,71$ **	32,0 $\pm 0,89$ **
	α – глобуліни	19,1 $\pm 0,42$	19,4 $\pm 0,32$	18,4 $\pm 0,38$	18,8 $\pm 0,47$	18,5 $\pm 0,42$
	β – глобуліни	16,4 $\pm 0,67$	15,9 $\pm 0,55$	16,1 $\pm 0,62$	16,0 $\pm 0,58$	16,9 $\pm 0,64$
	γ – глобуліни	27,4 $\pm 0,78$	28,2 $\pm 0,69$	30,3 $\pm 0,66$ *	32,4 $\pm 0,57$ ***	32,6 $\pm 0,61$ ***
Білковий коефіцієнт		0,59 $\pm 0,03$	0,57 $\pm 0,04$	0,54 $\pm 0,03$	0,49 $\pm 0,05$	0,47 $\pm 0,05$
Активність:	аспартатаміно- трансферази, ммоль/год/л	1,12 $\pm 0,05$	1,23 $\pm 0,11$	1,36 $\pm 0,06$ *	1,52 $\pm 0,08$ **	1,53 $\pm 0,05$ ***
	аланінаміно- трансферази, ммоль/год/л	0,77 $\pm 0,03$	0,82 $\pm 0,06$	0,89 $\pm 0,04$ *	0,97 $\pm 0,04$ **	0,98 $\pm 0,03$ ***
Коефіцієнт де Рітса		1,45 $\pm 0,03$	1,50 $\pm 0,02$	1,53 $\pm 0,03$	1,57 $\pm 0,06$	1,56 $\pm 0,05$

Встановлено також статистично вірогідне зростання у сироватці крові γ – глобулінової фракції білків у бугайців 2, 3 та 4 дослідних груп ($30,3 \pm 0,66$ ($P < 0,05$); $32,4 \pm 0,57$ ($P < 0,001$) та $32,6 \pm 0,61$ % ($P < 0,001$)), що було вищим на 10,6; 18,2 та 19,0 % порівняно із тваринами контрольної групи.

Одночасно з цим виявлено зменшення кількості альбумінів у сироватці крові тварин дослідних груп. Так, у бугайців контрольної групи від загальної величини всіх білків альбуміни становили $37,1 \pm 0,74$ %, а у тварин 1; 2; 3 та 4

дослідних груп їх кількість становила $36,5 \pm 0,43$ ($P > 0,05$); $35,2 \pm 0,65$ ($P > 0,05$); $32,8 \pm 0,71$ ($P < 0,01$) та $32,0 \pm 0,89$ % ($P < 0,01$).

Щодо впливу комплексу вітамінів групи В ($V_1, V_2, V_5, V_6, V_{10}, V_{12}$) на вміст α - і β -глобулінів у сироватці крові бугайців на відгодівлі, то величини цих показників не відрізнялися суттєво у тварин контрольної та дослідних груп ($P > 0,05$). Так, кількість α -глобулінів у сироватці крові тварин контрольної групи становила $19,1 \pm 0,42$ %, а у бугайців 1, 2, 3 та 4 дослідних груп вміст α -глобулінів відповідно становив $19,4 \pm 0,32$; $18,4 \pm 0,38$; $18,8 \pm 0,47$; $18,5 \pm 0,42$ %. Кількість β -глобулінів у сироватці крові бугайців контрольної групи становила $16,4 \pm 0,67$ %, а у тварин 1, 2, 3 та 4 дослідних груп вміст β -глобулінів становив $15,9 \pm 0,55$; $16,1 \pm 0,62$; $16,0 \pm 0,58$ та $16,9 \pm 0,64$ % ($P > 0,05$). При цьому величина білкового коефіцієнта в сироватці крові у бугайців 1, 2, 3 та 4 дослідних груп знизилась на 3,4; 8,8; 16,9 та 20,3 % ($P > 0,05$).

Відзначено також підвищення активності ферментів переамінування (АСТ і АЛТ) в сироватці крові тварин дослідних груп бугайців. Так, активності АСТ в сироватці крові тварин контрольної групи становила $1,12 \pm 0,05$ ммоль/год/л, а у сироватці крові бугайців 1, 2, 3 та 4 дослідних груп вона зросла відповідно на 9,8 ($P > 0,05$); 21,4 ($P < 0,05$); 35,7 ($P < 0,001$) та 36,6 % ($P < 0,001$). Активність АЛТ в сироватці крові тварин контрольної групи становила $0,77 \pm 0,03$ ммоль/год/л, а у крові бугайців 1, 2, 3 та 4 дослідних груп вона підвищилася відповідно на 6,5 ($P > 0,05$); 15,6 ($P < 0,05$); 26,0 ($P < 0,001$) та 27,3 % ($P < 0,001$) порівняно із бугайцями контрольної групи.

Величина коефіцієнта де Рітіса у тварин контрольної групи становила $1,45 \pm 0,03$, у тварин 1 та 2 дослідних груп величина коефіцієнта де Рітіса залишалась майже на тому ж рівні ($1,50 \pm 0,02$ та $1,53 \pm 0,03$), а у бугайців 3 та 4 дослідних груп цей показник дещо підвищився ($1,57 \pm 0,06$ та $1,56 \pm 0,05$).

Висновки: Проведені дослідження показали, що додавання до раціону бугайців на відгодівлі комплексу вітамінів групи В позитивно впливає на показники білкового обміну (вміст загального білка, γ -глобулінів, активність АСТ та АЛТ) з певними відмінностями у дослідних групах тварин. Встановлено, що величина впливу комплексу вітамінів групи В ($V_1, V_2, V_5, V_6, V_{10}, V_{12}$) пов'язана із дозою додатково введених вітамінів до раціону бугайців на відгодівлі. Найменші зміни в показниках білкового обміну встановлено у тварин 1 та 2 дослідних груп, а найбільші – у бугайців 3 та 4 дослідних груп.

Література

1. Галяс В. Біологічна роль вітамінів в організмі тварин : навч. посібник / Галяс В., Колотницький А., Федець О. – Львів, 2006 – 79 с.
2. Годівля сільськогосподарських тварин / [І.І. Ібатулін, Б.О. Мельничук, Г.О. Богданов та ін.]; під ред. І.І. Ібатуліна. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 616 с.
3. Дурст Л. Кормление основных видов сельскохозяйственных животных / Дурст Л., Витман М. ; [под ред. и с предисловием Ибатулина И.И., Проваторова Г.В.] (пер. с нем.). – Вінниця : Нова книга, 2003 – 384 с.
4. Інструкція до набору реактивів для визначення активності аспартатамінотрансферази (аланінамінотрансферази) в сироватці крові (метод

Райтмана Френкеля). – ТОВ НВП «Філісіт - Діагностика». – ТУ У24.4 – 24607793 – 017 – 2008.

5. Мельничук Д.О. Теоретичні та практичні аспекти вітамінології у розвитку тваринництва в Україні / Д.О. Мельничук, Г.В. Донченко, М.О. Захаренко, Н.М. Мельникова // Український біохімічний журнал. – 2004. – Т.76, №4. – С. 64-67.

6. Орлинский Б.С. Добавки и премиксы в рационах / Орлинский Б.С. – М.: Россельхозиздат, 1984. – 173 с.

7. Фізіолого - біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / [Влізло В.В., Федорук Р.С. та ін.]. – Львів, 2004. – 399 с.

8. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных: справочное пособие / [под ред. А. П. Калашникова, В. И. Фисина, В. В. Щеглова, Н. И. Клейменова]; 3-е издание переработанное и дополненное. – Москва, 2003. – 456 с.

9. Хрипун В. Вітаміни в годівлі тварин / В. Хрипун // Пропозиція. – 2000. – №12. – С. 58-59.

10. Albers N. Vitamins in Animal Nutrition / [N. Albers, G. Gotterbarm, and al.] by GmbH : Agrimedia, 2002 – 80 p. – <http://www.agrimedia.com>

11. Coomer J. C. Vitamins in dairy cattle nutrition. Feeds Fakts, 1998 – 98 p.

12. Davis C.L., Ruminant digestion and metabolism / C. L. Davis J.H. Clark. - Dev. Ind. Microbiol. 1981. – 259 p.

13. National Research Council: Nutrient Requirements of Dairy Cattle – [7th rev. ed. Natl. Acad. Press, DC]. Washington, 2001. – <http://www.agrimedia.com>.

14. Thompson J. Vitamins and minerals 4: overview of folate and the B vitamins/ J. Thompson // Community Pract. – 2006. – Vol. 79(6). – P.197–198.

15. Zinn R. A. B-vitamin supplementation of diets for feedlot calves / [R. A. Zinn, F. N. Owens and al.] // Can. J. Anim. Sci. – 1987. – Vol. 65. - P. 267-277.

Summary

P.I. Golovach, M.M. Zmiya

Lviv national university of veterinary medicine and byothehnology named after S.Z. Gzhytskyj

THE INFLUENCE OF VITAMINS OF GROUP B (B₁, B₂, B₅, B₆, B₁₀, B₁₂) ON THE PROTEIN EXCHANGE OF YOUNG CATTLE FOR FATTENING

Results over of researches of influence of different doses of complex of vitamins of group B (thiamine, riboflavin, nicotinic acid, pyridoxine hydrochloride, folic acid, ciancobalamin) on the protein exchange (common protein, protein fraction, AST, ALT) in the blood serum of young cattle for fattening.

Стаття надійшла до редакції 1.09.2010

УДК 636.26:616-003:633.2

Гордійчук Л.М., Рівіс Й.Ф. ©*Інститут біології тварин НААНУ, м. Львів***БРОДИЛЬНІ ПРОЦЕСИ У ТРАВНОМУ КАНАЛІ КОРІВ
ЗА ЗГОДОВУВАННЯ СІЧКИ СІНА В ЛІТНІЙ ПЕРІОД**

Встановлено, що згодовування коровам зеленої маси сіяних бобово-злакових трав та січки сіна із злакових трав, як джерела кислородетергентної клітковини, призводить до стабілізації ферментативних процесів у травному каналі та стимулювання оцтовокислого, пропіоновокислого та маслянокислого бродіння у рубці з метаболічною дією яких пов'язаний склад молока. При цьому у корів вірогідного зростають середньодобові надії молока та вміст в ньому жиру, білка і лактози.

Ключові слова: *зелена маса сіяних бобово-злакових трав, січка сіна із злакових трав, корови, травний канал, молочна продуктивність та склад молока.*

Вступ. Ефективність використання протеїну, незамінних амінокислот та жирних кислот в організмі лактуючих корів при випасанні на пасовищі або при згодовуванні зеленої маси сіяних трав у певній мірі залежить від вмісту в раціоні клітковини [1]. Це зумовлено насамперед стабілізуючим впливом клітковини на ферментативні процеси в рубці та концентрацію водневих іонів у його вмістимому при високому рівні в раціоні тварин легкокорозщеплюваного протеїну, цукру та крохмалю [7,8]. Дефіцит форми клітковини в раціоні корів при випасанні на культурних пасовищах або при згодовуванні їм зеленої маси сіяних трав приводить до зниження їх продуктивності внаслідок зменшення трансформації протеїну в мікробіальний білок [6]. Цим пояснюється підвищення ефективності використання протеїну великою рогатою худобою при додаванні до зеленої маси трави грубих кормів (сіна, сінажу, соломи), які характеризуються високим вмістом клітковини, особливо її форми. Проте біохімічні механізми впливу наявної у раціоні лактуючих корів в літній період кислородетергентної форми клітковини кінця не з'ясовані.

Метою нашої роботи було вивчити вплив підвищеного рівня кислородетергентної форми клітковини в раціоні лактуючих корів на інтенсивність і напрямок ферментативних процесів та співвідношення між окремими коротколанцюговими жирними кислотами у травному каналі.

Методика та умови проведення досліджень. Дослід проведено в ТзОВ "Літинське" Дрогобицького району Львівської області на повновікових коровах симентальської породи. Було сформовано три групи корів (по 4 тварини у кожній), аналогів за походженням, віком і місяцем лактації. Корів контрольної та I і II дослідних груп протягом травня–липня (90 днів) утримували на пасовищі з молодою злаково-бобовою травою. Крім того, піддослідні корови отримували комбікорм. У склад останнього були включені наступні мінеральні

елементи: магній, кобальт, цинк і мідь. Підвищений рівень кислородетергентної клітковини в раціоні корів дослідних груп створювали шляхом введення до нього січки сіна із злакових трав. Причому коровам I і II дослідних груп додатково разом з комбікормом згодовували 1,5 кг січку сіна з величиною частинок відповідно 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см.

Молоду злаково-бобову траву на пасовищі отримували шляхом засівання площі (розділеної на 10 ділянок) однаковою травосумішкою (конюшина біла, райграс пасовищний, вівсяниця лучна та тимофіївка лучна). На площу одноразово весною вносили азотно-фосфорно-калійне добриво у кількості $N_{60}P_{90}K_{90}$. У результаті, на площі сформувався злаково-бобовий травостій. На кожній ділянці, у порядку черги, трава випасалася протягом трьох днів. Після кожного випасання на ділянку вносили азотне добриво у кількості N_{60} . Після внесення останнього очікували підростання трави (до фази виходу в трубку у злакових трав).

У кінці досліджень проведено балансовий дослід (2 доби підготовчого періоду та 5 діб облікового). На час проведення балансового дослідження пасовищну згодовували коровам у скошеному вигляді. Під час проведення балансового дослідження для лабораторних досліджень були відібрані зразки кормів, молока та калу. Після закінчення балансового дослідження для лабораторних досліджень від корів були відібрані зразки вмістимого рубця. Зразки вмістимого рубця відбиралися зондом. Причому зразки вмістимого рубця відбиралися до ранкової годівлі, а також на 2-й, 4-й, 7-й та 10-й годинах від її початку.

У відібраних кормах визначався вміст кислородетергентної форми клітковини; у рідкому вмістимому рубці та калі – летких жирних кислот.

Рівень кислородетергентної форми клітковини в січці сіна та сухій речовині злаково-бобової пасовищної трави визначався за методиками, що наведені в довідковій літературі [1]. Вміст летких жирних кислот у рідкому вмістимому рубці та калі визначався за методами, описаними Й.Ф. Рівісом із співр. [2,3].

Варіаційно-статистичне опрацювання отриманих результатів досліджень проводилося з використанням критерію Стьюдента за допомогою стандартного пакету статистичних програм *Microsoft EXCEL*.

Результати досліджень. Направленість бродильних процесів у рубці корів I і II дослідних груп, яким на протязі 90 днів згодовували молоду траву, комбікорм та січку сіна, порівняно з коровами контрольної групи, які отримували тільки молоду траву і комбікорм, до ранкової годівлі змінюється в бік зростання пропіоновокислого бродіння (після згодовування січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 22,20 і 22,90 % проти 19,23 %) і зменшення оцтовокислого оцтовокислого (після згодовування січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 62,63 і 62,15 % проти 64,35 %) та маслянокислого (після згодовування січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 13,20 і 13,05 % проти 14,10 %). У рубці корів дослідних груп, порівняно з коровами контрольної групи, різко

знижується відношення оцтової кислоти до пропіонової. Це видно із даних табл. 1. Вищенаведене може вказувати на інтенсивніші процеси зброджування поживних речовин у рубці корів дослідних груп, порівняно з коровами контрольної групи.

При цьому в рубцевій рідині корів I і II дослідних груп, порівняно з коровами контрольної групи, дещо змінюється загальна кількість ЛЖК (табл. 1). У корів I дослідної групи, порівняно з коровами контрольної групи, це пов'язано зі зростанням вмісту пропіонової кислоти. У корів II дослідної групи – із підвищенням рівня пропіонової кислоти, але зниження – оцтової. Одночасно, в рідкій фракції вмісту рубця корів I і II дослідних груп, порівняно з коровами контрольної групи, зменшується відносна (після згодовування січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 1,97 і 1,90 % проти 2,32 %) та абсолютна кількість ізовалеріанової кислоти.

Таблиця 1

Концентрація ЛЖК у рідкому вмістимому рубця корів до ранкової годівлі, г/л ($M \pm m$, $n=3$)

ЛЖК та їх код	Групи тварин		
	контрольна (OP)	I дослідна (OP+частинки 0,2–2,0 см)	II дослідна (OP+частинки 3,0–5,0 см)
Оцтова, 2:0	3,88±0,068	3,81±0,070	3,67±0,052*
Пропіонова, 3:0	1,16±0,040	1,35±0,037*	1,35±0,076
Масляна, 4:0	0,85±0,047	0,80±0,054	0,77±0,060
Ізовалеріанова, 5:0 ізо	0,14±0,088	0,13±0,011	0,11±0,011
Загальна кількість ЛЖК	6,03	6,08	5,90
Оцтова, 2:0/пропіонова, 3:0	3,34	2,82	2,72

Примітка: тут і далі * – $p < 0,02-0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

На 2-й годині від початку годівлі в рубці корів I дослідної групи, яким згодовували молоду траву, комбікорм і січку сіна з величиною частинок 0,2–2,0 см, порівняно з коровами контрольної групи, які отримували тільки молоду траву і комбікорм, направленість бродильних процесів змінюється в бік зростання пропіоновокислого бродіння (до 23,03 проти 21,70 %). При цьому в їх рубці дещо зменшується відношення оцтової кислоти до пропіонової. У рубці корів II дослідної групи, яким згодовували молоду траву, комбікорм і січку сіна з величиною частинок 3,0–5,0 см, порівняно з коровами контрольної групи, які отримували тільки молоду траву і комбікорм, направленість бродильних процесів змінюється в бік деякого зростання оцтовокислого бродіння (до 54,37 проти 53,49 %). При цьому в їх рубці не змінюється відношення оцтової кислоти до пропіонової. Одночасно в рубці корів I і II дослідних груп різко зменшується утворення ізовалеріанової (після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 1,45 і 1,92 % проти 2,34 %) та валеріанової (після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 0,62 і 0,91 % проти 2,40 %). При цьому в рубцевій рідині корів I і II дослідних груп, порівняно з коровами контрольної групи, різко зменшується

загальна концентрація ЛЖК. (табл. 2). Це видно зв'язано з більш інтенсивним їх всмоктуванням у кров.

Таблиця 2

**Вміст ЛЖК у рідкій фракції рубця корів
на 2-й годині від початку ранкової годівлі, г/л (M±m, n=3)**

ЛЖК та їх код	Групи тварин		
	контрольна (ОР)	I дослідна (ОР+частинки 0,2–2,0 см)	II дослідна (ОР+частинки 3,0–5,0 см)
Оцтова, 2:0	6,09±0,140	5,18±0,311**	5,30±0,300
Пропіонова, 3:0	2,47±0,078	2,23±0,049*	2,15±0,039*
Масляна, 4:0	2,39±0,070	2,07±0,038**	2,15±0,039*
Ізовалеріанова, 5:0 ізо	0,27±0,023	0,14±0,009	0,19±0,006
Валеріанова, 5:0	0,12±0,011	0,06±0,006	0,09±0,007
Загальна кількість ЛЖК	11,37	9,68	9,88
Оцтова, 2:0/пропіонова, 3:0	2,46	2,32	2,46

На 4-й годині від початку годівлі в рубці корів I і II дослідних груп, які поряд з молодого травою та комбікормом споживали січку сіна з різною величиною частинок, порівняно з коровами контрольної групи, яких утримували на основному раціоні, направленість бродильних процесів змінюється в бік деякого переважання оцтовокислого (після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 60,15 і 59,79 % проти 59,12 %) та маслянокислого (після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 19,84 і 19,58 % проти 19,50 %) над пропіоновокислим (після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 18,82 і 18,92 % проти 19,03 %). При цьому в рубці корів обох дослідних груп, порівняно з коровами контрольної групи, дещо зростає відношення оцтової кислоти до пропіонової. Це видно з даних табл. 3.

Таблиця 3

**Вміст ЛЖК у рідкій фракції рубця корів
на 4-й годині від початку ранкової годівлі, г/л (M±m, n=3)**

ЛЖК та їх код	Групи тварин		
	контрольна (ОР)	I дослідна (ОР+частинки 0,2–2,0 см)	II дослідна (ОР+частинки 3,0–5,0 см)
Оцтова, 2:0	6,43±0,166	5,91±0,167	6,29±0,170
Пропіонова, 3:0	2,07±0,081	1,85±0,057	1,99±0,076
Масляна, 4:0	2,12±0,090	1,95±0,079	2,06±0,010
Ізовалеріанова, 5:0 ізо	0,18±0,015	0,08±0,010**	0,12±0,010*
Валеріанова, 5:0	0,08±0,003	0,04±0,003***	0,06±0,003**
Загальна кількість ЛЖК	10,88	9,83	10,52
Оцтова, 2:0/пропіонова, 3:0	3,11	3,19	3,16

Слід сказати, що такі зміни бродильних процесів у рубці корів I і II дослідної групи, порівняно з коровами контрольної групи, супроводжуються різким зменшенням утворення ізовалеріанової (після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см до 0,82 і 1,14 % проти 1,65 %) та валеріанової

(після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см до 0,37 і 0,57 % проти 0,70 %) кислот. Це видно із даних табл. 3.

При цьому в рубцевій рідині корів I і II дослідних груп, порівняно з коровами контрольної групи, дещо зменшується загальна концентрація ЛЖК (табл. 3). В обох дослідних груп корів, порівняно з коровами контрольної групи, вона зменшується за рахунок оцтової, пропіонової, масляної, ізовалеріанової та валеріанової кислот.

У результаті згодовування коровам I дослідної групи молодій траві, комбікорму та січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 см, порівняно з коровами контрольної групи, які отримують тільки молоду траву та комбікорм, на 7-й годині від початку годівлі направленість бродильних процесів у рубці змінюється у бік зростання оцтовокислого бродіння (59,02 проти 57,38 %) і деякого зменшення пропіоновокислого (19,20 проти 19,70 %) та маслянокислого (21,10 проти 21,50 %). Одночасно в їх рубці дещо зростає відношення оцтової кислоти до пропіонової. При цьому в їх рубцевій рідині дещо знижується рівень ЛЖК (табл. 4). Він знижується за рахунок оцтової, пропіонової, масляної та, особливо, ізовалеріанової і валеріанової кислот. Це, можливо, пов'язано з тим, що така форма січки сіна не змінює швидкість евакуації вмісту рубця в нижчележачі відділи шлунково-кишкового тракту.

Після згодовування коровам II дослідної групи молодій траві, комбікорму та січки сіна з величиною частинок 3,0–5,0 см, порівняно з коровами контрольної групи, які отримують тільки молоду траву та комбікорм, на 7-й годині від початку годівлі направленість бродильних процесів у рубці змінюється в бік деякого зростання оцтовокислого (57,56 проти 57,38 %) та пропіоновокислого (20,52 проти 19,70 %) бродіння, але зменшення – маслянокислого (20,93 проти 21,50 %). Одночасно в їх рубці дещо зменшується відношення оцтової кислоти до пропіонової. При цьому в їх рубцевій рідині зростає загальна кількість ЛЖК (табл. 4). Вона зростає за рахунок оцтової, пропіонової та масляної кислот. Це відбувається на тлі зниження відносного рівня ізовалеріанової (0,75 проти 1,05 %) та валеріанової (0,24 проти 0,37 %) кислот. Вищенаведені зміни направленості бродильних процесів у рубці та концентрації ЛЖК у його рідині можуть бути пов'язані з тим, що така форма січки сіна добре затримується та перетравлюється в ньому.

У результаті згодовування коровам I дослідної групи молодій траві, комбікорму та січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 см, порівняно з коровами контрольної групи, які отримують тільки молоду траву та комбікорм, на 10-й годині від початку годівлі направленість бродильних процесів у рубці змінюється у бік зростання оцтовокислого (62,87 проти 62,27) та пропіоновокислого (19,50 проти 18,80) бродіння і зменшення маслянокислого (16,70 проти 17,80 %). Одночасно в їх рубці дещо зменшується відношення оцтової кислоти до пропіонової. При цьому в їх рубцевій рідині знижується загальний рівень ЛЖК (табл. 5). Він знижується за рахунок оцтової, масляної, ізовалеріанової та валеріанової кислот. Це, можливо, пов'язано з тим, що така

форма січки сіна не змінює швидкість евакуації вмісту рубця в нижчелезачі відділі шлунково-кишкового тракту.

Таблиця 4

**Рівень ЛЖК у рідкому вмістимому рубця корів
на 7-й годині від початку ранкової годівлі, г/л (M±m, n=3)**

ЛЖК та їх код	Групи тварин		
	контрольна (ОР)	I дослідна (ОР+частинки 0,2–2,0 см)	II дослідна (ОР+частинки 3,0–5,0 см)
Оцтова, 2:0	5,10±0,379	4,92±0,131	5,58±0,253
Пропіонова, 3:0	1,75±0,067	1,60±0,046	1,99±0,055*
Масляна, 4:0	1,91±0,058	1,76±0,046	2,03±0,043
Ізовалеріанова, 5:0 ізо	0,09±0,007	0,04±0,003***	0,07±0,008
Валеріанова, 5:0	0,03±0,003	0,01±0,003**	0,02±0,003
Загальна кількість ЛЖК	8,88	8,33	9,69
Оцтова, 2:0/пропіонова, 3:0	2,91	3,07	2,80

Після згодовування коровам II дослідної групи молодій траві, комбікорму та січки сіна з величиною частинок 3,0–5,0 см, порівняно з коровами контрольної групи, яких утримували на основному раціоні, на 10-й годині від початку годівлі направленість бродильних процесів у рубці змінюється в бік зростання пропіоновокислого бродіння (20,10 проти 18,80 %), але зменшення – оцтовокислого (61,11 проти 62,27 %). Одночасно в їх рубці дещо зменшується відношення оцтової кислоти до пропіонової. При цьому в їх рубцевій рідині дещо зростає загальна кількість ЛЖК (табл. 5). Вона зростає, в основному, за рахунок пропіонової кислоти. Вищенаведені зміни направленості бродильних процесів у рубці та концентрації ЛЖК у його рідині можуть бути пов'язані з тим, що така форма січки сіна добре затримується та перетравлюється в ньому.

Таблиця 5

**Вміст ЛЖК у рідкій фракції рубця корів
на 10-й годині від початку ранкової годівлі, г/л (M±m, n=3)**

ЛЖК та їх код	Групи тварин		
	контрольна (ОР)	I дослідна (ОР+частинки 0,2–2,0 см)	II дослідна (ОР+частинки 3,0–5,0 см)
Оцтова, 2:0	5,10±0,081	4,95±0,041	5,09±0,073
Пропіонова, 3:0	1,54±0,043	1,53±0,024	1,67±0,058
Масляна, 4:0	1,46±0,043	1,31±0,053	1,48±0,035
Ізовалеріанова, 5:0 ізо	0,09±0,003	0,07±0,008	0,08±0,009
Загальна кількість ЛЖК	8,19	7,86	8,32
Оцтова, 2:0/пропіонова, 3:0	3,31	3,23	3,04

Встановлено, що з каловими масами у корів I і II дослідної груп, яким поряд з молодією травою та комбікормом згодовували січку сіна з різною величиною частинок, порівняно з коровами контрольної групи, яких утримували на основному раціоні, в 1,27–1,28 рази зростає середньодобове виділення ЛЖК (після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см

відповідно до 245,83 і 252,05 проти 198,43 грам/голову). Як видно з табл. 6, воно зростає більше за рахунок оцтової кислоти (після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно 88,06 і 88,18 проти 84,97 % у контролі), ніж пропіонової (6,25 і 6,29 проти 7,92 %), масляної (4,64 і 4,57 проти 5,70 %), ізовалеріанової (0,75 і 0,69 проти 0,98 %) та валеріанової (відповідно 0,30 і 0,27 проти 0,43 % у контролі). При цьому в обох дослідних груп корів, порівняно з коровами контрольної групи, сильно зростає відношення оцтової кислоти до пропіонової.

Вищенаведений вміст ЛЖК у калі може вказувати на те, що січка сіна з різною величиною частинок стимулює бродильні процеси у товстому відділі кишечника жуйних тварин. Причому такий корм, поряд з активацією оцтовокислого бродіння, інгібує утворення таких кислот бродіння, як ізовалеріанова та валеріанова. Останні утворюються, в основному, за рахунок дезамінування деяких амінокислот, зокрема, валіну та лейцину.

Таблиця 6

Виділення ЛЖК з каловими масами у корів за згодовування січки сіна з різною величиною частинок, грам/голову/добу (M±m,n=4)

ЛЖК та їх код	Групи тварин		
	контрольна (OP)	I дослідна (OP+частинки 0,2–2,0 см)	II дослідна (OP+частинки 3,0–5,0 см)
Оцтова, 2:0	168,67±12,843	216,47±11,776*	222,25±10,630*
Пропіонова, 3:0	15,73±0,773	15,38±0,592	15,85±0,787
Масляна, 4:0	11,24±0,536	11,40±0,515	11,53±0,503
Ізовалеріанова, 5:0 ізо	1,95±0,047	1,84±0,043	1,74±0,033*
Валеріанова, 5:0	0,84±0,035	0,74±0,035	0,68±0,052*
Загальна кількість ЛЖК	198,43	245,83	252,05
Оцтова, 2:0/пропіонова, 3:0	10,70	14,10	14,02

У результаті згодовування молоді трави, комбікорму та січки сіна у корів дослідних груп, порівняно з коровами контрольної групи, які отримують тільки молоді траву та комбікорм, вірогідно зростають середньодобові надой молока (після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 20,7±0,29 і 20,0±0,29 проти 18,1±0,28 кг/голову). Одночасно в молоці корів дослідних груп, порівняно з коровами контрольної групи, вірогідно зростає вміст жиру (після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 37,2±0,27 і 36,9±0,24 проти 35,1±0,27 г/кг), білка (до 34,1±0,31 і 33,8±0,31 проти 32,1±0,31 г/кг) та лактози (після січки сіна з величиною частинок 0,2–2,0 і 3,0–5,0 см відповідно до 49,2±0,40 і 48,8±0,37 проти 45,7±0,32 г/кг).

Висновки:

1. Згодовування коровам зеленої маси сіяних бобово-злакових трав та січки сіна із злакових трав, як джерела кислородетергентної клітковини, призводить до стабілізації ферментативних процесів у травному каналі та стимулювання оцтовокислого, пропіоновокислого та маслянокислого бродіння у рубці і збільшення в ньому продукції оцтової, пропіонової та масляної кислот, з метаболічною дією яких пов'язаний склад молока.

2. Згодовування зеленої маси сіяних бобово-злакових трав та січки сіна із злакових трав приводить до вірогідного зростання середньодобових надоїв молока у корів та зростання вмісту в ньому жиру, білка та лактози.

Література

1. Довідник: Фізіолого-Біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / Влізло В.В., Федорук Р.С., Макар І.А. та ін. – Львів, 2004. – 399с.

2. Рівіс Й.Ф. Газохроматографічне визначення рівня окремих летких жирних кислот в біологічному матеріалі / Й.Ф. Рівіс, І. В. Скорохід, Я.М. Процик // Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин. – Львів. – 2004. – Вип. 5, № 3. – С. 61–65.

3. Рівіс Й.Ф. Кількісні хроматографічні методи визначення окремих жирних кислот у біологічному матеріалі / Й.Ф.Рівіс., Р.С. Федорук // Методичний посібник. – Львів.: Сполом.– 2010.–109 с.

4. Уден П.К. Детектирование в количественной газовой хроматографии – в кн. Количественный анализ хроматографическими методами. – М.: Мир, 1990. – С. 84–128.

5. Кафаров М.Ш. Метаболизм липидов в преджелудках: Липидный обмен у с.-х. животных. – Боровск, 1988. – С. 27–28.

6. Hart F., Orskov E. Effect of type of carbohydrate on the production of microbial nitrogen in the rumen // Proceedings of the Nutrition Society. – 1980. – Vol. 38. – P. 130.

7. Adesogan A., Owen E., Givens D. Measuring chemical composition and nutritive value in forages // Field and Laboratory Methods for Grassland and Animal Production

8. Barber G., Givens D., Kridis M. Prediction of the organic matter digestibility of grass silage // Animal Feed Science and Technology. – 1990. – Vol. 28. – P. 115–128.

Summary

L. M. Gordiychuk, J. F. Ravis,

FERMENTING PROCESSES IN DIGESTIVE CHANNEL OF COWS AT FEEDING HAY CUTSET IN SUMMER PERIOD

It was established that feeding cows with green mass of sowed leguminous-cereal grasses and hay cutset from cereal grasses, as sources of acid-etergent cellulose, leads to stabilizing of enzyme processes in digestive channel and stimulation of vinegar-acid, propin-acid and oily acid fermentation in rumen and increase in it of vinegar products, propionic and oily acids with metabolic action of which there is the constrained composition of milk. Thus, for cows reliable average daily milk yields and fat, protein and lactose content increases.

Стаття надійшла до редакції 5.09.2010

УДК 678.745.2:54.057:577.112

Грабовський С. С., кандидат біологічних наук, доцент ©grabovsky@polynet.lviv.ua*Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького***РИТМИ СИНТЕЗУ БІЛКІВ ПІД ВПЛИВОМ ПОЛІАМІНІВ**

Поліаміни впливають на активність ферментів, які беруть участь в метаболізмі білків та нуклеїнових кислот. Вони можуть як стимулювати, так і інгібувати їх активність. Відомі погодинні ритми концентрації як поліамінів, так і коливання активності ферментів, задіяних у процесах синтезу білка.

Ключові слова: поліаміни, активність орнітин декарбоксилази, погодинні коливання швидкості синтезу білка.

Поліаміни (спермін, спермідин, путресцин і кадаверин) — обов'язкові компоненти усіх біологічних систем: від вірусів до клітин тварин та людини. Багато досліджень вказують на первинну роль поліамінів у регуляції різних біологічних процесів, що протікають в живій клітині. Регулююча дія поліамінів, мабуть, пов'язана з їх впливом на синтез білка і нуклеїнових кислот.

В останні роки неабияка увага приділяється вивченню поліамінів, зокрема похідним поліметиламів (продуктів метаболізму морських організмів, павуків та комах, а також мікроорганізмів) — алкалоїдів тваринного походження. Ці алкалоїди є прекрасними моделями для розробки засобів та методів лікування багатьох захворювань не тільки тварин, а й людей. Практичне використання деяких синтетичних аналогів цих алкалоїдів полягає в розробленні сучасних препаратів для хелатної терапії надлишкового вмісту заліза в крові, протитуберкульозних, антипроліферативних та імунодепресивних ліків [1].

Кристали сперміну Antony van Leewenhoek виявив у спермі ще в 1678 році [2]. Іншими представниками сімейства поліамінів є спермідин і путресцин, молекулярна маса яких 150–350 Да. Концентрація цих речовин в біологічних рідинах у здорових людей підвищена в періоди фізіологічного росту, а також у хворих на псоріаз, при злоякісних новоутвореннях, уремії [3].

Про важливість ролі поліамінів говорить той факт, що поліаміни залучені в збереженні структури ДНК [4, 5], процеси експресії генів [6], диференціацію клітин [7], синтез позаклітинного матриксу [8]. При уремії доведеним ефектом поліамінів є пригнічення міграції поліморфно-ядерних лейкоцитів, продукції ними вільних радикалів кисню, зростання еритроїдних колоній [9], вступ іонів кальцію в клітини головного мозку [10], активності NO-синтетази [11]. D. Stabellini та співавтори [12] виділили поліаміни з розчину гемодіалізних хворих і хроматографічно розділили на чотири піки, два з яких містили спермін, спермідин і путресцин. Молекулярна маса поліамінів від 1000

до 5000, тобто це свідчить про те, що вони кон'югуються з різними білковими носіями. Виділені поліаміни і діалізуючий розчин впливали на синтез білка і позаклітинного матриксу в культурі клітин. Спермідин, спермін і путресцин виявлені в ядрах клітин усіх органів людини. Вони мають великий позитивний заряд, легко зв'язуються з негативно зарядженими молекулами ДНК і РНК, входять до складу хроматину і беруть участь у реплікації ДНК, стимулюють транскрипцію і трансляцію та в інших найважливіших біологічних реакціях.

Цікавими є дослідження, які пов'язані з вивченням добових та сезонних коливань концентрації поліамінів та їх впливу на активність окремих ферментів синтезу білка, нуклеїнових кислот.

Чотири спостереження приваблюють увагу до поліамінів, як можливих регуляторів погодинного ритму синтезу білка: 1) поліаміни стимулюють синтез білка, або підтримують його на визначеному рівні; 2) відомий погодинний ритм концентрації поліамінів; 3) час півжиття ключового ферменту біосинтезу поліамінів — орнітин декарбоксилази (ОДК) — лише декілька хвилин; основний спосіб підвищення активності цього ферменту — синтез нових молекул, 4) показано погодинний ритм активності ОДК.

Діамін — путресцин, утворюється при декарбоксилюванні L-орнітину. Процес каталізується ОДК; путресцин — субстрат для синтезу спермідину. У прокаріотів можливий інший шлях утворення путресцину — з метіоніну. Концентрація орнітину підтримується в циклі з перетворенням орнітину в напівальдегід глютамінової кислоти, потім у глютамінову кислоту, карбамоїлфосфат, аспарагінову кислоту, аргінін і знову в орнітин з виділенням сечовини. ОДК активна в комплексі з пиридоксаль-5'-фосфатом [13, 14]. ОДК і поліаміни знайдені у всіх вивчених клітинах. Давно була відмічена кореляція між інтенсивністю росту тканин, активністю ОДК і концентрацією поліамінів в ембріонів, при регенерації, гіпертрофії, рості пухлин (перший огляд: [15]). Так, активність ОДК підвищується в 10 разів під час дроблення бластомерів і далі ще на порядок [16, 17]. Специфічне гальмування активності ОДК аналогами субстрату призводить до зупинки ембріонального розвитку морського їжака або миші [18]. Одним із доказів впливу поліамінів на транскрипцію і трансляцію отримано в дослідженнях мутантів з дефіцитом поліамінів [19]. Такі мутанти погано ростуть, а додавання поліамінів стимулює ріст. У тканинах, які не оновлюються та не ростуть, активність ОДК значно нижча, ніж у проліферуючих — наприклад в мозку або в скелетних м'язах у 15–20 разів нижча, ніж у тонкому кишечнику. У нестимульованій печінці дорослого щура активність ОДК приблизно така ж, як в мозку, але після індукції проліферації, після часткової гепатектомії активність ОДК різко зростає [18, 20]. Це ж саме відбувається й при гіпертрофії серця [21]. Фізіологічно активними є спермідин і спермін, а путресцин використовується в основному як попередник поліамінів. Позитивний заряд поліамінів дозволяє їм зв'язуватись з різноманітними негативно зарядженими молекулами. Так, поліаміни абсорбуються на мембранах, впливаючи на активність зв'язаних з мембранами ферментів, наприклад на ацетилхолін естеразу [22]. Поліаміни можуть утворювати амідні

зв'язки з кислотами. На цій основі відбувається, наприклад, кон'югація поліамінів з амінокислотами і малими пептидами. Можливі і коливання зв'язку між поліамінами і білками, що є одним зі способів виведення надлишку поліамінів. Утворення кон'югатів відбувається в печінці і каталізується трансглутаміназою.

Електростатичні поліаміни зв'язуються з нуклеїновими кислотами змінюючи їх активність [22–25]. Під дією спермідину посилюється синтез тРНК, змінюється конформація їх молекул і аміноацил-тРНК комплексів. У фракції тРНК, виділених із різних джерел, завжди знаходять поліаміни. Спермідин може також зв'язуватись з РНК рибосом, змінюючи їх стан. У меншій мірі ці властивості характерні і для сперміну, який активніше взаємодіє з ДНК, впливаючи на конденсацію хроматину. Змінюючи конформацію негістонових білків хроматину, поліаміни сприяють їх фосфорилуванню, очевидно, роблячи ці білки більш зручним субстратом для дії протеїнкіназ.

Можливо, ОДК або продукти її активності в ядрі впливають на транскрипцію. Передбачається, що ОДК — фактор ініціації РНК-полімерази I — ферменту синтезу рибосомних РНК [26]. Авторадіографічні дослідження з використанням ^3H -дифторорнітину показали, що ОДК локалізується як в цитоплазмі, де реалізується основна функція цього ферменту, так і в каріоплазмі і в ядерці [27]. Відомі, однак, приклади значніших впливів поліамінів на трансляцію, ніж на транскрипцію. Окрім даних про зміну активності тРНК і рРНК, обумовлених поліамінами, знову спостерігаються мутантні клітини. Додавання в середовище з такими клітинами, дефектними за синтезом поліамінів, спермідину, приводить до збільшення концентрації білків в клітинах, що відбувається раніше, ніж посилюється синтез РНК [22].

На відміну від ОДК, час життя якої зазвичай 5–10 хв, поліаміни живуть досить довго. Час життя спермідину в печінці щура приблизно чотири дні, в мозку — 10–18 днів, а сперміну в різних тканинах — від 10–40 днів [15, 19, 28]. У клітинах *in vitro* час життя і запаси поліамінів, можливо, менші, ніж у клітинах *in vivo*. Про це можна судити за гальмуванням мізотів, за скороченням їх проходження в клітинах, відразу після порушення синтезу поліамінів. Так, після блокування синтезу ОДК метилорнітином в культурах СНО, 3Т3 і HELA, накопичуються двоядерні клітини, потім G_2 -клітини, при великих дозах інгібітора синтезу ДНК припиняється [19].

На синтез білка впливає як накопичення в клітинах поліамінів, так і зворотне їх перетворення і розпад. Спермін перетворюється в спермідин у реакції, каталізуючої перексисомної поліаміноксидази. Спермідин може перетворюватись в путресцин. Так, деякі гепатоксини активують спермідинацетилтрансферазу, каталізуючи утворення путресцину зі спермідину.

Пряма регуляція синтезу ОДК здійснюється через рецептори гормонів на плазматичній мембрані і далі через цАМФ і цГМФ, які активують відповідні протеїнкінази. Цей шлях зумовлюється кінетикою активності цАМФ-залежної протеїнкінази і ОДК. Так, при зміні середовища в культурі клітин гліоми

спочатку активуються цАМФ-залежні протеїнази і лиш тому зростає активність ОДК і концентрація путресцину. Вважають, що через цАМФ посилюється синтез поліамінів в печінці, нирках, гіпертрофованому серці. Оскільки активність ОДК посилюється і стероїдами, можливий і геномний, незалежний від цАМФ, шлях стимуляції синтезу ОДК. Встановлені погодинні ритми деяких гормонів, які діють через рецептори плазматичної мембрани: тиреотропного, фолікулостимулюючого, лютеїнізуючого та ін. Через рецептори плазматичної мембрани синтез цАМФ і ОДК може посилюватись катехоламінами, пептидними та іншими нестероїдними гормонами. Відмічений і зворотний зв'язок. Надлишок поліаміну знижує активність аденілатциклази в печінці щура.

Гальмуюча дія на синтез ОДК виявляється головним чином через утворення ОДК-антиензиму — білка, який керує протеїназною активністю [28]. Така поліамінозалежна протеїназа, інактивуюча ОДК, виділена зі слизцевого гриба. Синтез ОДК-антиензиму стимулюється путресцином і його аналогами, наприклад, кадаверином. У цих випадках ОДК — ключовий фермент біосинтезу поліамінів, а точніше синтезу путресцину, контролюється кінцевим продуктом реакції. Синтез путресцину конкурентно інгібується аналогами субстрату, наприклад, метилорнітином.

Є дані, які показують, що активність ОДК регулюється в основному на рівні цитоплазми і головним чином механізмом трансляції. Алостеричні впливи на ОДК ссавців відомі тільки для низькомолекулярних тіолів. Без них швидко виявляються неактивні форми ОДК. Так як і ОДК, спермінсинтетази модифікуються малими тіолами.

Досліджуючи вплив цАМФ і поліамінів на ритм синтезу білка, було виявлено, що у випадку спостереження ефекту його не можна буде вважати першим у ланцюгу регуляції. Враховуючи широкий спектр дій цАМФ на внутрішньоклітинні процеси, його ефекти не є прямими. Однак цАМФ і цГМФ, нерідко забезпечуючи рецепторний контроль функцій, можуть бути основою ритмічності фізіологічних і біологічних процесів. Зміни концентрації поліамінів також впливають на процеси, які відбуваються в клітині. Вплив на ритм синтезу білка може починатися не з поліамінів, однак, важливо, що впливи вже знайдені.

Активність ОДК в гістозрізах навколоушної залози *in vitro* зазнає таких же змін, як і концентрація цАМФ. Встановлено погодинний ритм ОДК, причому максимальні значення її активності відрізнялись від мінімальних у 5–10 разів. Періоди коливань ОДК (30–50 хв) були близькі до коливань цАМФ і швидкості синтезу білка в гістозрізах залози. На зрізах однієї і тієї ж залози показано, що ритм ОДК зміщений за фазою відносно ритму швидкості синтезу білка: максимуму активності ОДК відповідає мінімальний синтез білків залози, а потім синтез білків посилюється.

Ми не знайшли в літературі свідчення про кінетику ОДК у подрібненій ікрі. Однак відомі прямі виділення концентрації поліамінів в цьому об'єкті. Знайдені зсунуті відносно один одного погодинні ритми. Перший максимум

коливань концентрацій путресцину спостерігали через 15 хв після запліднення, спермідину — через 30 хв, сперміну — приблизно через 40 хв. Очевидно регулююча дія поліамінів на ритм ділень подрібнення говорять дослідження фактора активації ДНК-полімерази [29].

Можливість участі поліамінів в регуляції ритму синтезу білка була обумовлена в навиках з інгібуванням активності ОДК продуктом реакції-путресцином. Ефект інгібування ОДК був описаний для клітин *in vivo* і *in vitro*. Зазвичай в клітинах еукаріотів концентрація путресцину дуже низька, і екзогенний путресцин легко проникає в клітини. Так мутантні клітини, слабо синтезуючи путресцин, поглинають його з середовища як шляхом дифузії, так і активно проти градієнта концентрації.

Низькі концентрації путресцину в середовищі з гепатоцитами *in vitro* або зі зрізами біля вушної залози не змінювали інтенсивність синтезу білка. Зрізи залози інкубували в середовищі з путресцином 6 год., змінюючи середовище через 3 год., а гепатоцити *in vitro* інкубували 3 год. (час життя путресцину біля 2 год.). У середовищі з путресцином рН доводили до 7,2–7,4, що відповідало контрольному середовищу.

У контрольних середовищах залози, інкубуючи через 12–14 год. культивування в такому самому середовищі 199 ще 1,5 год., відмічали один чи два періоди коливань відносного включення лізину. Інкубація зрізів тієї ж залози в середовищі з 10^{-7} М путресцину приводила або до зниження амплітуди коливання швидкості синтезу білка, або взагалі згладжувала коливання.

У моношарі гепатоцитів через 1–3 дні культивування спостерігали звичайний ритм швидкості синтезу білка. У гепатоцитах тієї ж культури при інкубації останні 3 год. в середовищі з 10^{-8} М путресцину, ритм не виявився [29].

Відмічання будь-якого ритму в популяції клітин *in vitro* — показник, по-перше, внутріклітинної регуляції ритму і, по-друге, міжклітинних взаємодій, достатньо синхронного функціонування клітин. Можливо, надлишок путресцину в середовищі якимось чином порушує зв'язки між клітинами і тим самим десинхронізує їх. Путресцин, будучи внадлишку, легко проникаючи в клітини, може створити постійний, неколиваючий пул для синтезу спермідину — активатора синтезу білка. Згладжуються коливання спермідину і звичайно стабілізується синтез білка. Ще одна гіпотеза: надлишок путресцину інгібує ОДК, перериваючи нормальний ланцюжок в біосинтезі поліамінів. Вибір між такими можливостями — збільшення пулу або ж інгібування ОДК був зроблений в навиках з додаванням в культуральне середовище 1,5-діамінопентана, або 1,3-діамінопропана. Ці неконкурентні інгібітори ОДК на відміну від путресцину не беруть участь в обміні поліамінів на якій-небудь іншій стадії, крім впливу на активність ОДК. Навики ставили на зрізах печінки щура через 12–14 год. експлантації.

Так як в моношарі гепатоцитів *in vitro*, в зрізах печінки спостерігали погодинні коливання швидкості синтезу білка. Введення в середовище кадаверину або ж діамінопропану приводило до зменшення амплітуди коливання швидкості синтезу білка або практично знімало коливання. Таким

чином, саме інгібування ОДК і, звичайно, закінчення синтезу нових молекул путресцину і даліше поліамінів ліквідує або згладжує ритм синтезу білка, мало відображуючись у цьому випадку на середньому його рівні. Є припущення про регуляторному значенні короткоживучих фракцій поліамінів.

Активність ОДК суцільно змінюється в різні часи року. У березні активність і, звичайно, інтенсивність синтезу ферменту була значно нижча, ніж у жовтні і, особливо, в лютому. У березні знижений рівень синтезу білка в навколівушної залози. Відомий і добовий ритм ОДК: її активність в ночі в 2–3 рази вища, ніж вдень.

Таким чином, поліаміни можуть бути фактором нестабільності синтезу білка і конкретно погодинних його коливань. Основний регулятор біосинтезу поліамінів — синтез ОДК, в погодинному ритмі. Разом з тим ОДК активна лиш при дії низькомолекулярних тіолів, що дозволяє зв'язати виявлену регуляторну роль тіолів в реалізації ритму синтезу білка, з поліамінами.

При дії на організм чинників зовнішнього середовища, особливо в екстремальних умовах, значно змінюється метаболізм білків і нуклеїнових кислот. Охолодження організму приводить до значних змін метаболізму в цілому, перш за все в обміні білків.

Штучна гіпотермія викликає зниження, а внаслідок і припинення включення амінокислот у білки плазми всіх органів, що свідчить про припинення процесів синтезу білка [30]. Є дані про повне пригнічення синтезу білка в період гібернації [31]. Таким чином, супресія синтезу білка при гібернації пов'язана з придушенням ініціації трансляції і елонгації. Відомо, що поліаміни беруть участь у стабілізації молекул ДНК і тим самим запобігають її денатурації [32, 33].

Путресцин і інші поліаміни беруть участь у регуляції модифікації білків: вони інгібують активність протеїназ рибосом [34]. При різних стимулюючих (фізіологічних і фармакологічних) діях активність ключового ферменту — орнітиндекарбоксілази (КФ 4.1.1.17), що визначає рівень синтезу поліамінів, зростає [35].

Фізико-хімічні властивості поліамінів визначили їх вплив на метаболізм клітини через модифікацію активності ряду ферментів. Вплив поліамінів на білки мозку при низьких температурах може бути пов'язаний з їх здатністю комплексуватися з компонентами мембран. Путресцин, спермін, і спермідин знижують рівень автогемолізу еритроцитів [36]. Про мембранний ефект свідчить зниження вмісту цАМФ в культурі нервових клітин при додаванні (10^{-7}) путресцину, а висока концентрація стимулює накопичення цАМФ.

Вплив на активність ферментів певною мірою може залежати від здатності сперміну і путресцину інгібувати процес перекисного окислення ліпідів при гіпотермії [37]. З цією здатністю може бути пов'язана стабілізуюча дія поліамінів на лізосомальні мембрани мозку при гіпероксії [38].

Поліаміни впливають на активність різних ферментів, які беруть участь у синтезі і метаболізмі ДНК і можуть стимулювати або інгібувати активність ДНК-полімерази [39]. У клітинах ссавців поліаміни стимулюють ініціацію

синтезу ДНК, а також впливають на реплікацію ДНК [32]. У досліджах *in vitro* поліаміни стимулюють активність залежної для ДНК РНК-полімерази [40].

Вплив поліамінів поширюється і на інші ферменти, що беруть участь в метаболізмі нуклеїнових кислот (ДНК-ази, РНК-ази, нуклеотидилтрансферази і ін.), що вказує на тісний зв'язок метаболізму нуклеїнових кислот з поліамінами.

Так як поліаміни є компонентами білоксинтезуючого апарату, то вони беруть участь в біосинтезі білка і діють як на рівні трансляції, так і на рівні транскрипції, а також стабілізують структуру рибосом і полісом.

Важлива роль поліамінів полягає в ініціації утворення пептидів шляхом зміни конформації рибосом [39]. Показано, що путресцин володіє протисудомними властивостями [41], а також разом із сперміном бере участь в захисті клітинного хроматину від іонізуючої радіації [33].

Висновки

Таким чином, поліаміни відіграють важливу регуляторну роль, головним чином у процесах, пов'язаних з біосинтезом білків і нуклеїнових кислот. Біосинтез білків і нуклеїнових кислот зазнає істотних змін при дії на організм екстремальних чинників середовища і при різних патологіях.

Поліаміни, завдяки своїм фізико-хімічним властивостям виконують функції адаптогенів. Вони підвищують резистентність організму до дії екстремальних чинників середовища. Захисний ефект поліамінів виявляється в регуляції інтенсивності вільнорадикальних реакцій, перекисного окислення, активності ряду ферментів, стабілізації біомембран.

Недивлячись на те, що молекулярно-біологічні функції поліамінів до кінця не з'ясовані, абсолютно очевидно, що вони відіграють важливу роль в метаболізмі і функціонуванні білків, нуклеїнових кислот та інших макромолекул.

Література

1. Рогоза Л. Н. Алкалоиды животного происхождения — производные полиметиленаминов. I. Продукты метаболизма морских организмов и микроорганизмов / Л. Н. Рогоза, Н. Ф. Салатхутдинов, Г. А. Толстикова // Биохимическая химия. — 2005. — Том 31. — № 6. — С. 563–577.
2. Leuwenhoek A. Van. Observations D. Anthonii Leuwenhoek de natis e semine genitali animalcules. — Phil Trans. — 1678; 12: 1040–1043.
3. Stabellini G. Relation between the osmolality trend and ornithyndecarboxylase activity in red blood cells of uremic patients during hemodialysis treatment / G. Stabellini, G. Bosi, V. Valeno et al. // Biomed Pharmacother. — 1998; 52: 166–168.
4. Brune B. Spermine prevents endonuclease activation and apoptosis in thymocytes / B. Brune, P. Hartzell, P. Nicotera, S. Orrenius. — Exp Cell Res. — 1991; 195: 323–329.
5. Nitta T. Involvement of polyamines in B cell receptor-mediated apoptosis: spermine function as negative modulators / T. Nitta, K. Igarashi, A. Yamashita et al. // Exp Cell Res. — 2001; 265: 174–183.

6. Bachrach U. Polyamines: new cues in cell signal transduction / U. Bachrach, Y. Wand, A. Tabib. — *News Physiol Sci.* — 2001; 16: 106–109.
7. Stabellini G. Intracellular distribution of polyamines in human lymphoblastoid cell line during phorbol-ester-induced differentiation / G. Stabellini, B. Creati, R. Di Primo, O. Trubiani // *Biochem. Mol. Biol. Int.* — 1996; 39: 843–851.
8. Stabellini G. The effect of polyamines and dialysate fluid on extracellular matrix synthesis in VERO cell cultures / G. Stabellini, C. Calastrini, L. Scapoli et al. // *J. Nephrol.* — 2002. — 15: 539–546.
9. Kusher D. Polyamines in the anemia of end-stage renal disease / D. Kusher, B. Beckman, L. Nguyen et al. // *Kidney Int.* — 1991; 39: 725–732.
10. Niwa T. Suppressed serum and urine levels of indoxil sulfate by oral sorbent in experimental uremic rats / T. Niwa, T. Miyazaki, N. Hashimoto et al. // *Am. J. Nephrol.* — 1992; 12: 201–206.
11. Szabo C. Inhibition by spermine of the induction of the nitric oxide synthase in J774,2 macrophages / C. Szabo, G. Southan, E. Wood et al. // *Br. J. Pharmacol.* — 1994; 112: 355–356.
12. Stabellini G. The effect of polyamines and dialysate fluid on extracellular matrix synthesis in VERO cell cultures / G. Stabellini, C. Calastrini, L. Scapoli et al. // *J. Nephrol.* — 2002; 15: 539–546.
13. Fausto N., Brandt J.T., Kesuer L. Interrelationships between the urea cycle, pyrimidine and polyamine synthesis during liver regeneration // *Liver regeneration after experimental Injury* / Ed. R. Lesch, W. Reutter. — Stratton : IMB Corp. — 1975. — P. 215–229.
14. Sunkara P. S., Rao P. N. Role of polyamines in the regulation of cell cycle in normal and transformed mammalian cells // *Transformed cell* / Ed. I. Cameron, T. B. Pool. — N.Y. : Acad. Press. — 1981. — P. 268–290.
15. Bachrach U. Function of naturally occurring polyamines / N.Y. : Acad. Press. — 1973. — 211 p.
16. Кафиани К. А. Роль ионного гомеостаза клетки в явлениях роста и развития / К. А. Кафиани, А. Г. Маленков // *Успехи современной биологии.* — 1976. — Т. 81. — № 3. — С. 445–463.
17. Бердишев Г. Д. Процесс трансляции и его применение на поздних этапах индивидуального развития животных / Г. Д. Бердишев, К. Г. Карпенчук // *Успехи современной биологии.* — 1977. — Т. 84. — № 1 (4). — С. 81–96.
18. Sunkara P. S. Role of polyamines in the regulation of cell cycle in normal and transformed mammalian cells / P. S. Sunkara, P. N. Rao // *Transformed cell* / Ed. I. Cameron, T. B. Pool. — N.Y. : Acad. Press. — 1981. — P. 268–290.
19. Heby O. Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation // *Differentiation.* — 1981. — Vol. 19. — N 1. — P. 1–20.
20. Farron-Furstenthal F., Lightholder I.R. The regulation of nuclear protein kinases // *Onco-developmental gene expression* / Ed. W. H. Fishman, S. Sell. — N.Y.; L. : Acad. Press. — 1976. — P. 57–64.
21. Morkin E. Activation of synthetic processes in cardiac hypertrophy // *Circ. Res.* — 1974. — Suppl II. — Vol. 34. — P.34–35; Vol. 35. P. 37–38.

22. Goins M. H. The role of polyamines in animal cell physiology // *J. Theor. Biol.* — 1982. — Vol. 97. — № 4. — P. 577–590.
23. Cohen S. S. What do the polyamines do? // *Nature.* — 1978. — Vol. 274. — P. 209–210.
24. Bloomfield V. A., Wilson R. W. Interaction of polyamines with polynucleotides // *Polyamines in biology and medicine* / Ed. D. R. Morris, L. J. Marton. // N. Y. : Dekker, 1981. — Vol. 8. — P. 184–206.
25. Loftfield R. B., Eigner A., Pastuszyn A. Polyamines and protein synthesis // *Polyamines in biology and medicine* / Ed. D. R. Morris, L. J. Marton. — N.Y. : Dekker. — 1981. — Vol. 8. — P. 208–221.
26. Russell D. H. Ornithine decarboxylase: transcriptional induction by trophic hormones via a cAMP and cAMP-dependent protein Kinase pathway // *Polyamines in biology and medicine* / Ed. D. R. Morris, L. J. Morton. — N.Y. : Dekker. — 1981. — Vol. 8. — P. 110–125.
27. Emanuelsson H., Heby O. Ornithine decarboxylase activity in nucleolus and nucleoplasm demonstrated autoradiographically with tritium-labeled *α*-difluoromethylornithine // *Cell Biol. Intern. Rept.* — 1982. — Vol. 6. — № 10. — P. 951–954.
28. Atmar V. J., Kuehn G. D. Phosphorylation of ornithine decarboxylase by a polyamine protein kinase // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1981. — Vol. 78. — № 9. — P. 5518–5522.
29. Бродский В. Я. Ритм синтеза белка / В. Я. Бродский, Н. В. Нечаева. — Москва : «Наука», 1988. — С. 106–120. 30
30. Жегунов Г. Ф. Транспорт аминокислот и синтез белков у сусликов при гибернации и искусственной гипотермии / Г. Ф. Жегунов, Л. Вонг, М. Джордан // *Укр. биохим. журн.* — 1993. — т. 65. — № 6. — С. 25–29.
31. Frerichs et al. Suppression of protein synthesis in brain during hibernation involves inhibition of protein initiation and elongation // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1998. — 95. — № 24. — P. 14511–14516.
32. Tabor C. W., Tabor H. Polyamines // *Annu. Rev. Biochem.* — 1984. — 53. — P. 749–790.
33. Chin Song-mao, Oleinick Nancy L. Radioprotection of cellular chromatin by the polyamines spermine and putrescine // *Radiat. Res.* — 1998. — 149, №6. — P. 543–549.
34. Левянт М. И. Ингибиторы катепсина (протеиназы рибосом). Полиамины — естественные ингибиторы протеиназы / М. И. Левянт, В. С. Былинский, В. Н. Орехович // *Биохимия.* — 1979. — Т. 44. — №8. — С. 1454–1459.
35. Russell D. H. Ornithine decarboxylase as a biological and pharmacological tool // *Pharmacology.* — 1980. — 20, №3. — P. 117–129.
36. Vanella A. et al. Effect of polyamines on autohemolysis: studies on normal and thalassemic children // *Acta haematol.* — 1980. — Vol. 63, №4. — P. 226–229.

37. Симмалавонг Сантисук. Перекисное окисление липидов в мозгу при гипотермии и возможная его химическая коррекция : Автореф. дисс. канд. биол. наук. — Ростов-на-Дону, 1992. — 21с.
38. Кричевская А. А. Полиамины мозга крыс при экстремальных воздействиях / А. А. Кричевская, Я. З. Цветненко, В. С. Шугалей // Механизмы пластичности мозга. — Махачкала, 1982. — Т. 1. — 194 с.
39. Menyhart J. természetes polyaminok bioologiaja / J. Menyhart, J. A. Grof // Biologia. — 1976. — 24, № 2. — P. 81–110.
40. Blair D. G. R. Activation of mammalian RNA polymerases by polyamines // Int. J. Biochem. — 1985. — 17, №1. — P. 23–30.
41. Lysenko A. et al. Biochemical peculiarities of delta sleep inducing peptide and putrescine anticonvulsive properties // J. Neurochem. — 1998. — 15, №2. — P. 165–172.

Summary

RHYTHMS OF PROTEINS SYNTHESIS UNDER POLYAMINES INFLUENCE

Polyamines influence enzyme activity, which participate in proteins and nucleic acid metabolism. They can stimulate and also inhibit their activity. Hour rhythms of polyamines concentration and fluctuation of enzymes activity, which participate in proteins' synthesis, are well-known.

Стаття надійшла до редакції 15.09.2010

УДК 636.085.55

Гунчак А.В., кандидат біологічних наук, с.н.с., © (A_Gunchak@ukr.net)
Інститут біології тварин НААНУ, Львів

ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОСТІ ГІДРОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ ТРАВНОГО ТРАКТУ КУРЧАТ–БРОЙЛЕРІВ

Досліджено активність гідролітичних ферментів слизової оболонки 12-палої кишки та підшлункової залози, а також окремих показників білкового обміну в тканинах печінки курей м'ясного напрямку продуктивності у 21-, 35- та 42-добовому віці.

Ключові слова: курчата-бройлери, активність гідролітичних ферментів, показники білкового обміну.

Вступ. Повноцінне функціонування травної системи птиці є одним з ключових факторів одержання високої продуктивності. Активність травної системи є результатом добре скоординованих і взаємозв'язаних реакцій різних органів, зокрема тонкої кишки і підшлункової залози. Так, тонка кишка, що представляє собою орган мембранного травлення і всмоктування, який реалізує кінцеве розщеплення продуктів корму за рахунок ферментів власної слизової оболонки, а також адсорбованих на поверхні слизової оболонки кишки панкреатичних ферментів, а підшлункова залоза, завдяки синтезу основної маси панкреатичних ферментів, які потрапляють у просвіт 12-палої кишки, забезпечує її участь у порожнинному травленні [1,2].

Активність травних процесів залежить від багатьох чинників, зокрема — якості корму, наявності поживних та антипоживних речовин, а також від віку птиці. У віковому аспекті зміни травної системи проявляються у перебудові морфологічних структур та функціональної активності ферментних систем травного тракту [2,3]. Насамперед це стосується ферментів, зокрема, протеаз, ліпаз та амілаз, які беруть участь у розщеплення білків, жирів і вуглеводів [4].

Метою наших досліджень було вивчити вікові особливості активності гідролітичних ферментів слизової оболонки 12-палої кишки та підшлункової залози, а також окремих показників білкового обміну в тканинах печінки курчат–бройлерів.

Матеріали і методи. Дослід проведено в умовах віварію Інституту біології тварин НААН України на курчатах-бройлерах кросу КОББ-500. Умови утримання і годівлі курчат відповідали технологічним вимогам. Птиця отримувала стандартний комбікорм, збалансований за поживними і біологічно–активними речовинами.

Після забою птиці у 21-, 35- та 42-добовому віці для біохімічних досліджень відбирали слизову 12-палої кишки, тканини підшлункової залози та печінки. Визначали: у слизовій 12-палої кишки та тканинах підшлункової

залози — протеїназну активність за методом Кунітца [5], амілолітичну активність за методом Смітта-Роя [6], ліполітичну активність за методом Тітца [7], активність лужної і кислій фосфатаз за методом Боданського [8]; у тканинах печінки — концентрацію розчинних білків за методом Лоурі [9]; вміст амінного азоту нінгідриновим методом [9];— активність амінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) за методом Капітанакі [9]

Результати досліджень. Результати досліджень вказують на певні вікові зміни активності досліджуваних гідролітичних ферментів травного тракту курей м'ясного напрямку продуктивності.

Зокрема, встановлено, що протеїназна активність слизової оболонки 12-палої кишки курчат-бройлерів з віком зростала (рис. 1). Спочатку незначно – до 7,79 мккат/г білка ($p < 0,05$) у 35-добових курчат порівняно з активністю 6,57 мккат/г білка у 21-добових. А за останній тиждень вирощування птиці протеїназна активність зростає більше ніж удвічі, порівняно з попередніми періодами дослідження і у 42-добових курчат досягла значення 14,82 мккат/г білка ($p < 0,001$).

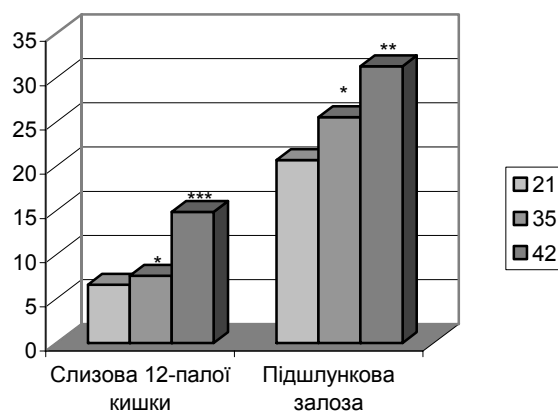


Рис. 1 Протеїназна активність тканин курчат-бройлерів, мккат/г білка, ($M \pm m$, $n=5$)

Щодо вікових змін протеїназної активності тканин підшлункової залози, то у 21-добових курчат-бройлерів вона була на рівні $20,68 \pm 1,41$ мккат/г білка, у 35-добових зростала на 23,45 % ($p < 0,05$), а у 42-добових – на 51,16 % ($p < 0,01$), порівняно з птицею 21-добового віку та 22,44 %, порівняно з курчатами 35-добового віку (рис. 3).

Таким чином, інтенсивність зростання протеїназної активності у тканині слизової оболонки 12-палої кишки курчат з 21- до 42-добового віку є вищою, порівняно з інтенсивністю зростання протеїназної активності у тканині підшлункової залози.

Порівняння абсолютних значень активності протеолітичних ферментів у досліджуваних тканинах свідчить про те, що її активність у тканинах слизової

оболонки 12-палої кишки курчат-бройлерів приблизно у 2-3 рази нижча, ніж активність у тканинах підшлункової залози.

Подібні вікові зміни характерні для амілолітичної (рис. 2) та ліполітичної (рис. 3) активності. Однак ці зміни були менш вираженими.

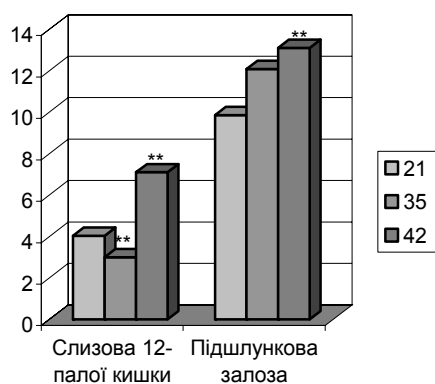


Рис. 2 Амілолітична активність тканин курчат-бройлерів, од.акт./хв×г білка, ($M \pm m$, $n=5$)

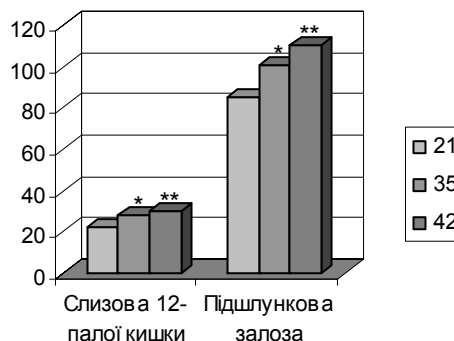


Рис. 3 Ліполітична активність тканин курчат-бройлерів, од.акт./г білка, ($M \pm m$, $n=5$)

Так, амілолітична активність слизової оболонки 12-палої кишки курчат з 21- до 35-добового віку зросла на 17,82 %, з 35-го до 42-добового віку – на 49,16 % ($p < 0,01$), а за весь період дослідження – на 75,74 % ($p < 0,001$). Ліполітична активність, навпаки, інтенсивніше зростала у період з 21-о до 35-добового віку - на 28 %, ($p < 0,01$), і повільніше з 35- до 42-добового віку (на 7 %). Щодо зміни ліполітичної активності за весь період дослідження, то вона зросла на 37,68 %.

Амілолітична та ліполітична активність тканин підшлункової залози також з віком зростала. Зокрема, амілолітична – на 22,51 % у курчат 35-добового віку і на 32,86 % ($p < 0,01$) у курчат 42-добового віку, порівняно з птицею 21-добового віку. Ліполітична активність зростала, відповідно, на 18,77 % ($p < 0,05$) та 29,19 % ($p < 0,05$) порівняно з птицею 21-добового віку.

З аналізу динаміки підвищення амілолітичної і ліполітичної активності в тканинах бройлерів з 21- до 42-добового віку випливає, що амілолітична активність у другому періоді вирощування птиці зростає більше, ніж ліполітична, що може свідчити про те, що ліпаза є консервативнішим ферментом [10]. Співвідношення абсолютних значень амілолітичної активності тканини слизової 12-палої кишки і підшлункової залози було приблизно 1:2, а ліполітичної – 1:5.

Характер змін активності досліджуваних ферментів був подібним у тканині підшлункової залози на протипагу характеру їх змін у тканині слизової 12-палої кишки. Так, у тканинах підшлункової залози бройлерів з 21- до 42-добового віку активність ферментів протеолітичної, амілолітичної та

ліполітичної дії зростає поступово, у той час, як у тканині слизової оболонки 12-палої кишки така динаміка притаманна лише для ліполітичної активності.

Результати досліджень активності лужної та кислої фосфатаз у тканинах слизової оболонки 12-палої кишки та підшлункової залози курчат-бройлерів представлені на рисунку 4. Встановлено, що активність фосфатаз досліджуваних тканин птиці у 21-, 35- та 42-добовому віці суттєво не відрізнялась, на протипагу активності протеїназ, амілаз та ліпаз.

Варто відзначити, що активність ферментів, які гідролізують ефіри фосфатної кислоти, була вищою у гомогенаті слизової оболонки 12-палої кишки, порівняно з тканинами підшлункової залози. Зокрема, абсолютні значення активності кислої фосфатази слизової оболонки 12-палої кишки були у 3-4 рази вищими, ніж тканини підшлункової залози, а активність лужної фосфатази в гомогенатах обох досліджуваних тканин була приблизно однаковою.

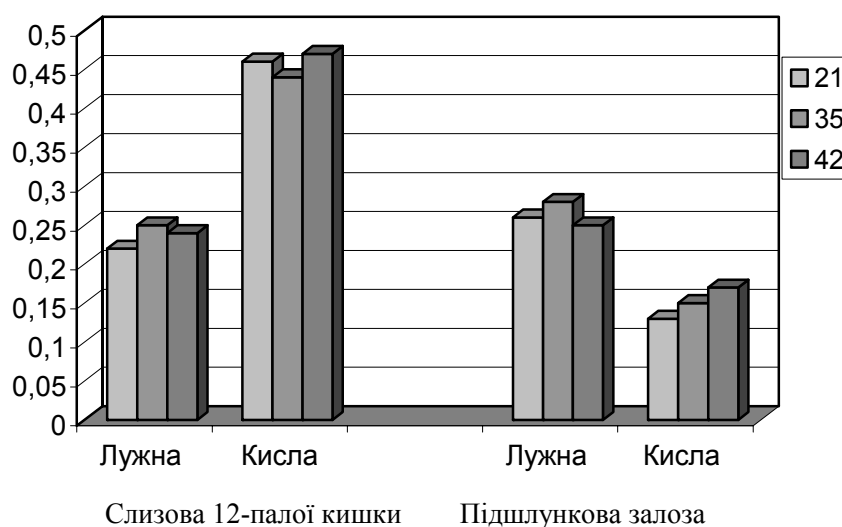


Рис.4 Активність фосфатаз у тканинах курчат-бройлерів, ($M \pm m$, $n=5$)

Зміни активності досліджуваних гідролітичних ферментів травного каналу курчат-бройлерів з 21- до 42-добового віку, очевидно, обумовлені характером живлення та фізіологічним станом птиці в цей період.

Для годівлі бройлерів у перший період вирощування використовують раціон, в якому міститься 310 ккал обмінної енергії і 22 % сирого протеїну. У другому періоді вирощування курчат бройлерів використовують раціон, який відрізняється від попереднього вищим енерго-протеїновим співвідношенням (319 ккал обмінної енергії і 19 % сирого протеїну). Це необхідно для забезпечення високої енергії росту птиці, адже 3/4 абсолютного приросту маси тіла бройлерів припадає саме на цей період.

Встановлено, що жива маса птиці у 21-добовому віці була $605,41 \pm 7,31$ г,

до 35-добового віку вона зросла у 2,66 разу і складала $1608,30 \pm 28,37$ г, а до 42-добового віку зросла ще у 1,5 разу до $2485,01 \pm 123,02$ г. За весь досліджуваний період приріст живої маси курчат складав 1880 г, що становило 75,65 %.

Збільшення маси тіла бройлерів відбувається, в основному, за рахунок м'язової тканини, що обумовлено генетично. Це очевидно і визначало направленість білкового метаболізму у тканині печінки.

Дослідження показників білкового обміну показали, що вміст розчинних білків в тканинах печінки курчат-бройлерів з віком зменшувався і становив (мг/г): у 21-добовій птиці – $48,50 \pm 1,69$, у 35-добовій – $43,11 \pm 1,42$ ($p < 0,05$), у 42-добовій – $34,77 \pm 1,71$ ($p < 0,01$). Кількість азоту вільних амінокислот у тканині печінки також зменшилась впродовж досліду з $0,67 \pm 0,10$ мг/г до $0,48 \pm 0,01$ мг/г.

Активність амінотрансфераз (рис.5) у тканинах печінки курчат-бройлерів суттєво на змінювалась. Зокрема, аланінамінотрансферазна активність залишалась на рівні 0,65-0,67 мкмоль/(год × г) протягом усього періоду досліду.

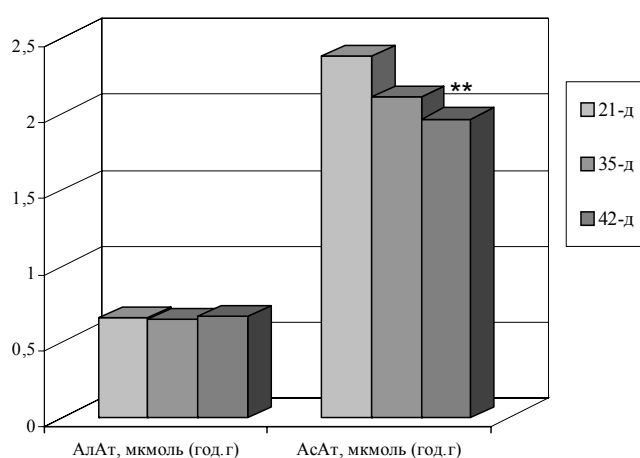


Рис.5 Активність амінотрансфераз у тканинах печінки курчат-бройлерів, ($M \pm m$, $n=5$)

Разом з цим, аспаратамінотрансферазна активність гомогенату тканин печінки бройлерів з 21- до 35-добового знижувалась на 10,91 %, а з 35-добового до 42-добового віку на 16,88 % ($p < 0,01$).

Таким чином, у завершальний період вирощування бройлерів (з 21 до 42 доби) відбувалися зміни фізіологічного стану птиці, що характеризувалися посиленням активності гідролітичних ферментів органів травлення та змінами показників білкового метаболізму у тканині печінки.

Висновки. Встановлено вікові особливості активності ферментів протеолітичної, амілолітичної, ліполітичної та фосфатазної дії органів травного каналу бройлерів та деяких показників білкового обміну в тканинах печінки з 21 до 42 доби вирощування:

- зростання протеїназної активності у 2 рази в тканині 12-ти палюї

кишки і на 51,16% у тканині підшлункової залози, амілолітичної – на 75,74 і 32,86%, а ліполітичної - на 37,68 і 29,19% відповідно.

- у тканині печінки бройлерів знижується вміст розчинних білків, азоту вільних амінокислот та аспаратамінотрансферазна активність.

У гомогенаті тканини підшлункової залози бройлерів встановлено вищу у 2 рази протеїназну активність, у 2-3 рази амілолітичну і у 5 разів ліполітичну активність, ніж у гомогенаті слизової оболонки 12-ти палої кишки, та нижчу у 3-4 рази активність кислій фосфатази.

Література

1. Алиев А. Все о пищеварении птиц//Птицеводство. — 2003. — № 2. — С. 18.
2. Бобылев А., Глотов А. Возможности пищеварительной системы птицы // Птицеводство. — 2002. — № 5. — С. 14–17.
3. Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса. — Новосибирск: Наука, 1983. — 231 с.
4. Стреси сільськогосподарських тварин і птиці / В. М. Головач, В. В. Снітиський, Г. В. Аксьонова та ін. — К.: Урожай, 1990. — 144 с.
5. Калунянц К.А., Гребешова Р.Н., Лупова Л.М., Федорова Л.Г., Способ определения активности протеиназ. А.с. 397843 СССР. 1973.
6. Метод визначення амілолітичної активності / Методи визначення активності ферментних препаратів і норми згодовування їх тваринам (методичні рекомендації) // Довгань Н.Я., Добрянський І.В., Дорда В.Я. та інші. — 1987. — С. 6-9.
7. Определение активности липазы / Методы биохимического анализа (справочное пособие) // Под ред. Б.Д. Кальницкого. — Боровск, 1997. — С. 24-26.
8. одоров И. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. — М., 1963. — с.478.
9. Методики досліджень з фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин. — Львів: ВКП "ВМС". — 1998 — 131с.
10. Харченко Л.П. Сравнительная характеристика активности пищеварительных ферментов у домашних и диких птиц // Птахівництво. — 2004. — Вип. 55. — С. 373–379.

Summary

A.V. Gunchak

Institute of Animal Biology NAAS

PECULIARITIES OF HYDROLYTIC ENZYMES ACTIVITY OF DIGESTIVE TRACT OF BROILER CHICKENS

Data about hydrolytic enzymes activity of duodenum mucous and pancreas, and some indices of protein metabolism in liver of hens of meat productivity in age 21, 35 and 42 days are presented in article.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК: 619:616 – 092.9:612.79:636.2

Демус Н.В., асистент ©

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім.С.З. Гжицького***МОРФОМЕТРІЯ СУДИН ШКІРИ ВУХА ТЕЛИЧОК ЗАЛЕЖНО ВІД ТИПУ АВТОНОМНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ**

У результаті досліджень встановлено градієнт збільшення діаметра просвіту і товщини м'язового шару судин в напрямку від артеріол до артерій першого та другого типу. Індекс Керногана має протилежну спрямованість (судини меншого калібру (артеріоли), мають високий індекс, судини більшого калібру (артерії) – низький).

Ключові слова: судини, артеріоли, артерії, телиці, автономна нервова система, серцевий ритм.

Актуальність теми. Специфічні умови утримання, несприятливі чинники довкілля тощо, знижують природну резистентність організму тварин, що призводить до різних патологій, зниження продуктивності та ефективності галузі в цілому. Вирішення вищезгаданих проблем в значній мірі залежить від функціонування стану серцево-судинної системи, центральних нервових механізмів, які регулюють гемодинаміку, а також від регулюючих впливів автономної нервової системи.

За даними наукових досліджень, існує пряма залежність між розвитком серця і судин та становленням функції нервової системи і особливо її автономного відділу. Ця залежність перш за все проявляється у забезпеченні інтенсивності обмінних процесів організму який розвивається, що в кінцевому результаті знаходить своє відображення у продуктивних якостях тварин.

Тому, надзвичайно актуальним завданням є вивчення морфофункціонального стану органів і тканин, в тому числі серцево-судинної системи, залежно від типу автономної регуляції серцевого ритму.

Матеріал і методи. Дослідження проводились на теличках чорно-рябої породи 2-, 4-, 6- та 8-місячного віку. За допомогою методу варіаційної пульсометрії [1] у тварин визначали тип автономної регуляції серцевого ритму. Згідно одержаних даних теличок було розділено на 3 групи: симпатикотоніки (СТ), нормотоніки (НТ), парасимпатикотоніки (ПСТ). Матеріалом для дослідження були судини шкіри вуха теличок дослідних груп.

Шматочки матеріалу фіксували в 10 – 12 % – вому розчині нейтрального формаліну з наступною заливкою в парафін по схемі, запропонованій Г.І. Роскіним і Л.Б. Левінсоном [2].

З парафінових блоків виготовляли гістологічні зрізи на санному мікромомі МС–2 завтовшки не більше 10 мкм. Для фарбування гістозрізів

використовували загальноприйняті і спеціальні гістологічні методики. Для вивчення морфології клітини і тканини, морфометричного дослідження та для отримання оглядових препаратів застосовували фарбування зрізів гематоксиліном та еозином і за методом Ван-Гізона [3, 4].

Морфометричні дослідження структурних елементів тканин проводили при світловій мікроскопії. Вимірювання мікроструктур виконували при допомозі мікроскопу “Біолам – Ломо” з постійною довжиною тубуса та мікроскопу Micros MC-50 [5, 6].

Морфологічну оцінку судин здійснювали шляхом морфометричного визначення величини зовнішнього (d) і внутрішнього (d1) їх діаметра. Товщину м’язового шару (ТМ) визначали за формулою:

$$ТМ = \frac{d - d1}{2} \quad [7].$$

Для оцінки функціонального стану судин вираховували індекс Керногана:

$$ІК = \frac{ТМ}{d1} \quad [8].$$

Мікрофотографування гістологічних препаратів здійснювали за допомогою відеокамери САМ V200, вмонтованої в мікроскоп Micros MC-50 та цифрового фотоапарату.

Статистична обробка цифрового матеріалу проводилась за допомогою комп’ютерної програми “Microsoft Excel”. При цьому визначали середню арифметичну (M), статистичну помилку середньої арифметичної (m), середнє квадратичне відхилення (δ), показник суттєвої різниці між середнім арифметичним двох варіаційних рядів за критерієм достовірності (td) і таблицями Ст’юдента [3]. Різницю між двома величинами вважали достовірними при $p < 0,05; 0,01; 0,001$.

Результати дослідження.

Залежно від виду тварин та знаходження судин в тому чи іншому органі, їх величина коливається у широких межах. Згідно існуючим уявленням для артеріол характерно наявність вираженої м’язової оболонки – більше ніж одного м’язового шару [9]. Така будова характерна для артеріол діаметром не менше 50 – 100 мкм. Із зменшенням діаметра (менше 50 мкм) відбувається прогресивне зменшення кількості гладком’язових клітин, які набувають одношарове розташування по спіралі навколо судини (рис 1). Артерії м’язового типу мають не менше 4-х шарів м’язових клітин (рис 2). Тому, враховуючи дані літератури та мікроскопічну будову судини, що характерна для артерій та артеріол, ми їх класифікували на три групи. Перша група – артеріоли, діаметром 50 – 100 мкм, друга – дрібні артерії діаметром 100 – 130 мкм, третя – артерії діаметром 130 – 160 мкм.

У результаті проведених нами гістологічних досліджень судин шкіри вуха теличок залежно від типу автономної регуляції серцевого ритму, слід відмітити, що мікроскопічна будова усіх судин, має подібну структурну

організацію, характерну для виду тварин, обумовлену віковими особливостями. Їх стінка складається із 3-х шарів: інтими, медіа, адвентиції (рис. 3). Проте, своєрідна будова і сформованість кожного шару стінки судин, залежить від типу судин. Більш трансформуються зовнішній і середній шари, внутрішній – більш стійкий, але й і в ньому відбуваються важливі трансформації у плані структурно-функціональної організації, залежно від віку тварин та типу автономної регуляції серцевого ритму.

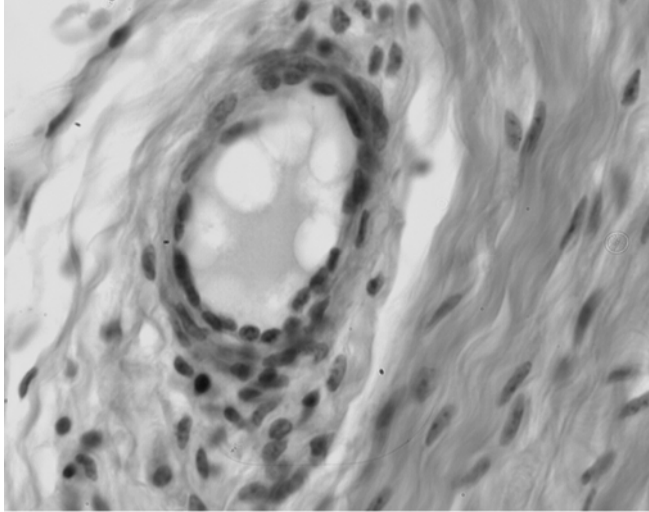


Рис. 1. Мікроскопічна будова артеріоли шкіри вуха телички 4-х місячного віку з нормотонічним типом автономної регуляції серцевого ритму. Гематоксилін Вейгерта та еозин. X. 600.

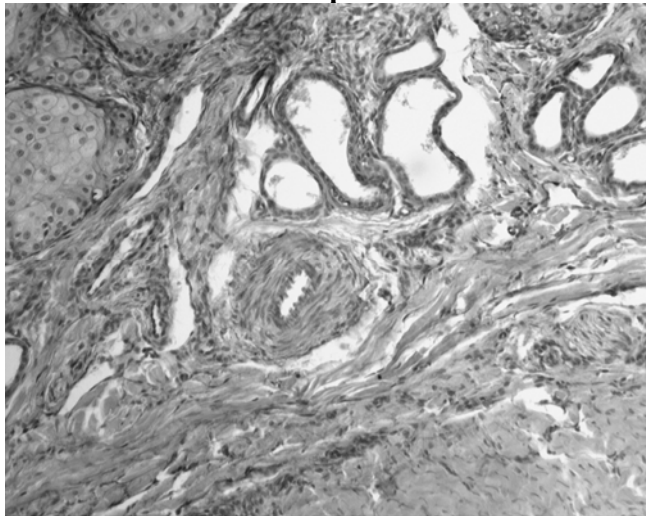


Рис. 2. Мікроскопічна будова артерії другого типу шкіри вуха телички 4-х місячного віку з симпатикотонічним типом автономної регуляції серцевого ритму. Гематоксилін Вейгерта та еозин. X. 400.

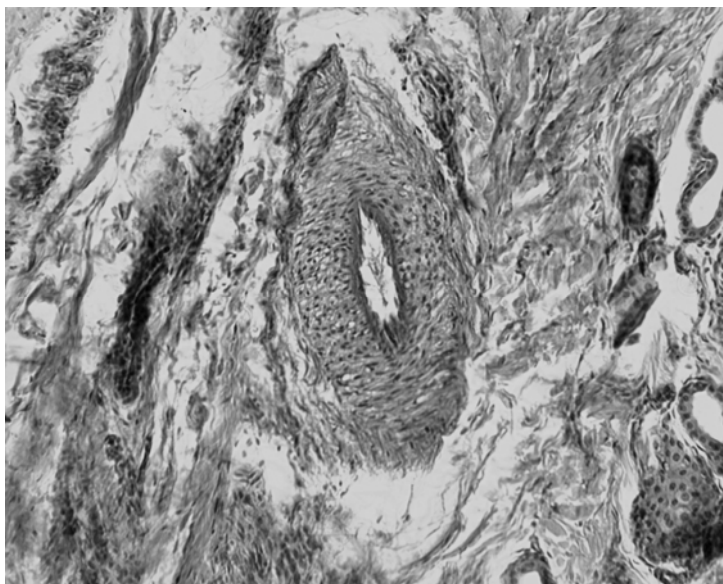


Рис. 3. Мікроскопічна будова артерії шкіри вуха телички 8-ми місячного віку з симпатикотонічним типом автономної регуляції серцевого ритму. Гематоксилін Вейгерта та еозин. X. 400.

Проведене нами кількісне морфологічне дослідження за індексом Керногана, з позиції оцінки морфометричного аналізу величини зовнішнього і внутрішнього діаметра, товщини м'язового шару судин дозволило виявити певні закономірності, тенденції та критерії, які стосуються структурної організації та функціонального стану різних за калібром судин у тварин дослідних груп (табл 1).

Так, градієнт збільшення просвіту судин різного калібра і товщини їх м'язового шару, відбувається в напрямку від артеріол до артерій першого та другого типу. Між тим, індекс Керногана має протилежну спрямованість: артеріоли мають високий, артерії низький індекс, що свідчить про функціональний стан судин.

З розвитком організму, відбувається подальша диференціація клітин та волокнистих структур судин, збільшується товщина стінки артерій за рахунок росту м'язових елементів, а також волокнистих структур, що супроводжується своєрідним динамізмом зовнішнього та внутрішнього їх діаметрів та зменшенням індексу Керногана. З погляду на це, можна беззаперечно твердити про удосконалення морфологічної архітекtonіки судин, пов'язані з адаптаційним простосуванням до потреб регіонального кровообігу, які обумовлені віком тварин, умовами утримання та індивідуальними особливостями кожної тварини залежно від типологічних впливів автономної регуляції.

Результати морфометричних досліджень судин у теличок з різними типами автономної регуляції серцевого ритму засвідчили, що існує зв'язок

артеріол і дрібних артерій з типологічними особливостями автономних впливів (табл. 1). Найбільш переконливо він проявляється у величині просвіту судин та показниках індексу Керногана. Судини (артеріоли, артерії 1-го та 2-го типу) у симпатикотоніків, незалежно від віку тварин, мають менший діаметр просвіту, дещо більший він у нормотоніків і найбільший у парасимпатикотоніків. Індекс Керногана при цьому, навпаки, менший у теличок-ПСТ.

Таблиця 1.

Морфометричні показники судин шкіри вуха теличок 2-х місячного віку залежно від типу автономної регуляції серцевого ритму ($M \pm m, n=5$)

Показники	Групи тварин	Тип судин		
		Артеріоли (50-100мкм)	Артерії 1-го типу (100-130 мкм)	Артерії 2-го типу (130-160 мкм)
Зовнішній діаметр (мкм)	СТ	69,5±2,27	116,5±3,91	139,2±4,1
	НТ	70,8±2,04	116,2±3,32	140,1±3,8
	ПСТ	71,4±2,18	117,4±3,64	140,9±3,2
Внутрішній діаметр (мкм)	СТ	39,3±1,51	70,1±1,83	84,9±1,93
	НТ	39,9±1,39	70,5±1,59	85,2±1,69
	ПСТ	40,8±1,42	71,4±1,66	86,9±1,75
Товщина м'язового шару (мкм)	СТ	15,1±0,74	23,2±0,90	27,2±0,98
	НТ	15,5±0,87	22,8±0,96	27,4±0,76
	ПСТ	15,3±0,79	23,0±1,02	27,0±0,83
Індекс Керногана	СТ	0,38±0,014	0,33±0,011	0,32±0,009
	НТ	0,38±0,022	0,32±0,013	0,32±0,012
	ПСТ	0,37±0,015	0,32±0,010	0,31±0,013

Таким чином, відносно високий тонус симпатичних центрів характеризується найбільшою величиною Індексу Керногана та найменшим діаметром просвіту судин, який являючись одним із структурних компонентів периферичного опору відіграє важливу роль в регуляції місцевої гемодинаміки. Отже просвіт судин та індекс Керногана (відношення товщини м'язової оболонки судин до їх внутрішнього діаметра) утворюють динамічну структуру, у якій зміна величини її компонентів носить адаптаційний характер і направлена на забезпечення постійного оптимального рівня місцевого кровообігу.

Висновки.

1. Градієнт збільшення діаметра просвіту і товщини м'язового шару судин різного калібру відбувається в напрямку від артеріол до артерій першого та другого типу. Індекс Керногана має протилежну спрямованість (судини меншого калібру (артеріоли), мають високий індекс, судини більшого калібру (артерії) – низький, що характеризує функціональний стан різних за калібром судин.

Морфологічна будова судин у теличок різновікових груп, з різними типологічними впливами автономної регуляції, змінюється однотипно, на що вказує індекс Керногана (найбільший ІК у тварин – СТ, найменший – ПСТ).

2. У постнатальному періоді онтогенезу відбувається подальший розвиток судин, що є можливо адаптаційним простосуванням до потреб регіонального кровообігу, які обумовлені віком тварин, умовами утримання та індивідуальними особливостями кожної тварини. З віком та розвитком тварин зовнішній та внутрішній діаметри, товщина м'язової оболонки судин зростають, індекс Керногана зменшується.

Література

1. Баевский Р.М. Математический анализ сердечного ритма при стрессе / Р.М. Баевский, О.И. Кирилов, С.З. Клецкин. – М.: Наука, 1984. – 222 с.
2. Роскин Г.И. Микроскопическая техника / Г.И. Роскин, Л.Б. Левинсон / Советская наука. – М., 1957. – 467 с.
3. Горальський Л.П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології / Л.П. Горальський, В.Т. Хомич, О.І. Кононський. – Житомир: Вид-во Житомир. ДАЕУ, 2005. – 284 с.
4. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с.
5. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
6. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. – Пер. со 2-го англ. изд; Под ред. и с предисл. проф. В.В. Португалова. – М.: Изд-во иностран. лит-ры, 1962. – С. 20-70
7. Автандилов Г.Г. Морфометрия в патологии. – М.: Медицина, 1973. – 248 с.
8. Есипова И.К., Кауфман О.А., Крючкова Т.С. Очерки по гемодинамической перестройке сосудистой стенки. – М.: Медицина, 1971. – 312 с.
9. Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. (под редакцией А.М. Чернуха). Микроциркуляция. – 2-е изд. Москва, «Медицина», 1984. – 429 с.

Summary

Demus N.V.

*Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies
named after S.Z. Gzhytskyj*

MORPHOMETRY OF HEIFERS VESSELS OF EAR SKIN DEPENDING ON THE TYPE OF AUTONOMIC REGULATION OF HEART RHYTHM

Thanks to the results of the investigations, it was determined that the gradient of lumen diameter increase and the thickness of muscle vessel layer in the direction from arteriolar to arteria of the first and the second type. Kernogan index has opposite trend (vessels of less size (arterioles), has high index, vessels of more size (artery) – low).

Key words: *vessels, arterioles, arteries, heifers, autonomic nervous system, heart rhythm.*

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК: 636:611.12:636.2

Демус Н.В., асистент ©*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім.С.З. Гжицького***ГІСТОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА МІОКАРДУ ТЕЛИЧОК
ЗАЛЕЖНО ВІД ТИПУ АВТОНОМНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ СЕРЦЕВОГО РИТМУ**

У результаті досліджень встановлено, що мікроскопічна будова міокарду шлуночків серця теличок дослідних груп, має подібну будову, але відрізняється морфометричними показниками. Так, товщина кардіоміоцитів лівого шлуночка серця теличок, більша ніж правого і залежить від типу автономної регуляції серцевого ритму.

Ключові слова: міокард, кардіоміоцити, телиці, автономна нервова система, серцевий ритм.

Актуальність теми. У зв'язку із інтенсивним веденням тваринництва виникла необхідність глибокого вивчення будови всіх систем організму [1-7]. Особливе значення має всестороннє, комплексне дослідження характерних особливостей будови серцево-судинної системи тварин у зв'язку з становленням типу автономної регуляції [8, 9, 10].

У функціональному і топографічному відношенні серце являє собою центральний орган серцево-судинної системи, який завдяки скороченню зумовлює течію крові в кровоносних судинах [11-16].

Загальноновизнаним є факт, що різні типи автономної регуляції серцевого ритму забезпечують серцю відповідні умови його функціонування [17, 18, 19]. Дана залежність проявляється не тільки у відмінностях на макроскопічному рівні (маси, форм, розміри серця та його відділів тощо) але й у відмінностях гістоархітекtonіки міокарду та морфометричних показників кардіоміоцитів.

Тому, важливе значення щодо морфофункціональної діяльності серцево-судинної системи має вивчення мікроскопічної будови міокарду у дослідних тварин, залежно від типу автономної регуляції серцевого ритму та у віковому аспекті, тому що саме такий показник характеризує динаміку розвитку серця та являється морфологічними ознаками фізіологічних та патологічних змін в серцево-судинній системі.

Матеріал і методи. Вивчення мікроскопічних змін міокарду залежно від типу автономної регуляції серцевого ритму проводили на теличках чорно-рябої породи 2-, 4-, 6- та 8-місячного віку. За допомогою методу варіаційної пульсометрії [20] у теличок визначали тип автономної регуляції серцевого ритму, згідно чого їх було розділено на 3 групи: симпатикотоніки (СТ), нормотоніки (НТ), парасимпатикотоніки (ПСТ).

Шматочки міокарду (лівого і правого шлуночків) фіксували в 10 – 12 % – вому розчині нейтрального формаліну з наступною заливкою в парафін по схемі, запропонованій Г.І. Роскіним і Л.Б. Левінсоном [21].

З парафінових блоків виготовляли гістологічні зрізи на санному мікромомі МС–2 завтовшки не більше 10 мкм. Для вивчення морфології клітини і тканини, морфометричного дослідження та для отримання оглядових препаратів застосовували фарбування зрізів гематоксиліном та еозином і за методом Ван-Гізона [22, 23].

Морфометричні дослідження структурних елементів тканин проводили при світловій мікроскопії.

Виміри товщини кардіоміоцитів, розміри ядер кардіоміоцитів, здійснювали окуляр-мікрометром МОВ - 1 – 15 (по 15 вимірах з кожного гістозрізу, по 5 препарати від кожної тварини). Для визначення об'єму ядер кардіоміоцитів використовували наступну формулу:

$$V = \frac{\pi}{6} \times A \times B^2, \text{ де}$$

V – об'єм ядра;
 π – 3,14;
 A – великий діаметр ядра;
 B – малий діаметр ядра [22, 24].

Статистична обробка цифрового матеріалу проводилась за допомогою комп'ютерної програми “Microsoft Excel”.

Результати досліджень.

На основі проведених гістологічних досліджень нами встановлено, що мікроскопічна будова міокарду шлуночків серця теличок дослідних груп, незалежно від типу автономної регуляції серцевого ритму має подібну будову. М'язова тканина сформована із м'язових клітин – кардіоміоцитів, які з'єднуються між собою своїми кінцями по довгій осі, формуючи структури, що подібні до м'язових волокон (рис.1) Між м'язовими волокнами знаходяться прошарки пухкої сполучної тканини (рис. 2), де часто зустрічаються судини гемомікроциркуляторного русла. У кардіоміоцитів знаходиться сарколема, міофібрили та ядра, які містяться у центральній частині клітини. Останні мають овальну або ж видовжену форму (рис. 3).

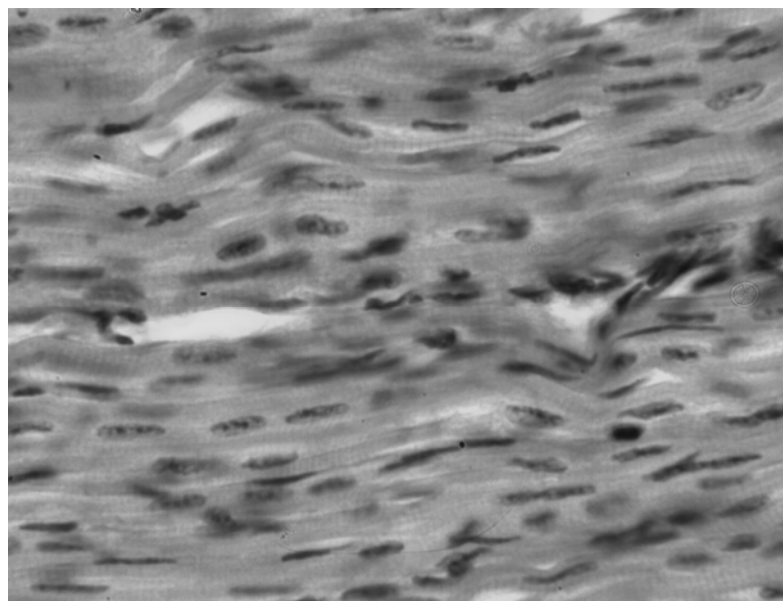


Рис. 1. Мікроскопічна будова міокарду лівого шлуночка телички 4-х місячного віку з парасимпатикотонічним типом автономної регуляції серцевого ритму. Гематоксилін Караці та еозин. X. 600.

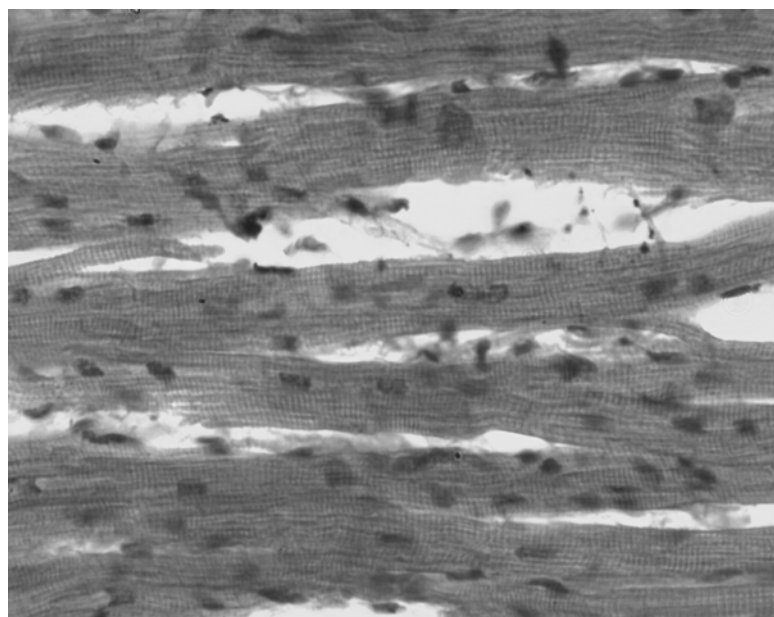


Рис. 2. Мікроскопічна будова міокарду лівого шлуночка телички 8-и місячного віку з парасимпатикотонічним типом автономної регуляції серцевого ритму. Гематоксилін Ерліха та еозин. X. 600.

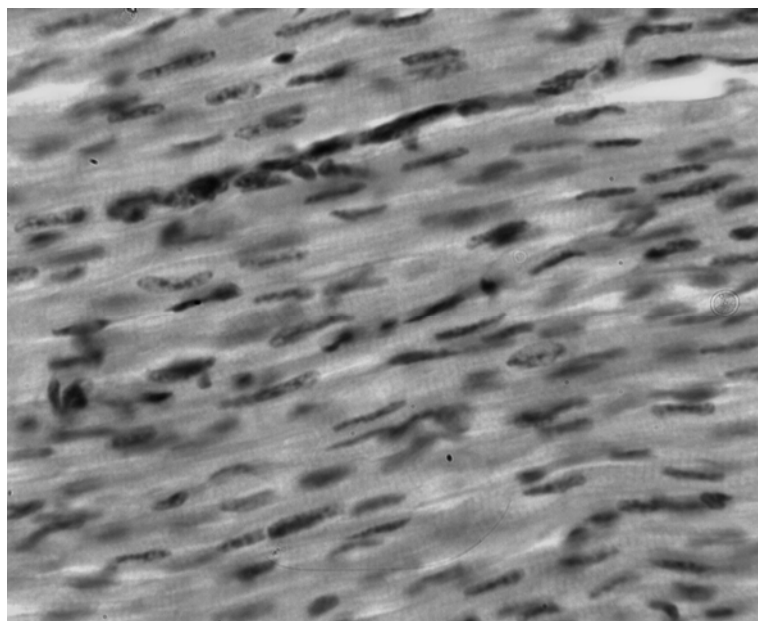


Рис. 3. Мікроскопічна будова міокарду правого шлуночка телички 8-и місячного віку з симпатикотонічним типом автономної регуляції серцевого ритму. Гематоксилін Караці та еозин. X. 600.

Однією із основних характеристик, з позиції оцінки мікроскопічної будови серця, є математичний підхід з проведенням морфометрії гісто та цитоструктур міокарду.

Проведений нами глибокий аналіз морфометричних досліджень гістоструктур міокарду показує, що товщина кардіоміоцитів лівого шлуночка серця теличок, більша ніж правого і залежить від типу автономної регуляції серцевого ритму (табл.). Так, товщина кардіоміоцитів міокарду лівого шлуночка у теличок-СТ 2-х місячного віку дорівнює $8,29 \pm 0,054$ мкм, нормотоніків та парасимпатикотоніків відповідно – $8,48 \pm 0,052$ та $8,52 \pm 0,068$ мкм. Для порівняння, товщина кардіоміоцитів у правому шлуночку серця теличок-СТ аналогічного віку дорівнює $7,13 \pm 0,049$ мкм, що на 1,35 мкм менше ніж у лівому, у нормотоніків відповідно (на 1,14 мкм менше) $7,34 \pm 0,058$ мкм та парасимпатикотоніків (на 0,96 мкм менше) $7,56 \pm 0,052$ мкм. Це не випадково, а реально та об'єктивно характеризує різницю у діяльності шлуночків, так як лівий функціонує, в основному як насос, а правий як об'ємний. В процесі розвитку організму форма м'язових клітин змінюється. Перш за все збільшуються розміри кардіоміоцитів та їх ядра (табл.)

Таблиця

Морфометричні показники шлуночків та передсердь серця теличок залежно від типу автономної регуляції серцевого ритму ($M \pm m$, $n=5$)

Групи тварин	Товщина кардіоміоцитів (мкм)		Об'єм ядер кардіоміоцитів (мкм ³)	
	Лівий шлуночок	Правий шлуночок	Лівий шлуночок	Правий шлуночок
Телички 2-х місячного віку				
СТ	8,29 ± 0,054	7,13 ± 0,049	62,31±0,51	61,46±0,49
НТ	8,48±0,052*	7,34±0,058*	63,79±0,44*	63,12±0,53*
ПСТ	8,52±0,068**	7,56±0,052***	64,98±0,62**	64,68±0,76**
Телички 4-х місячного віку				
СТ	8,92±0,059	7,99±0,062	68,12±0,49	68,04±0,57
НТ	9,23±0,074**	8,33±0,056***	69,95±0,68*	69,84±0,59*
ПСТ	9,39±0,061***	8,49±0,060***	70,30±0,52**	70,02±0,68*
Телички 6-ти місячного віку				
СТ	9,99±0,078	9,02±0,064	76,14±0,62	77,02±0,55
НТ	10,29±0,085**	9,31±0,059**	78,05±0,60*	78,95±0,63*
ПСТ	10,41±0,083***	9,46±0,071***	78,34±0,51**	79,14±0,78*
Телички 8-ми місячного віку				
СТ	11,05±0,090	10,02±0,082	83,02±0,58	83,32±0,68
НТ	11,38±0,078**	10,30±0,066**	84,99±0,66*	85,64±0,82*
ПСТ	11,44±0,089**	10,39±0,074**	85,48±0,70**	85,73±0,79*

Примітка: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$

Висновки:

1. Мікроскопічна будова міокарду шлуночків серця теличок дослідних груп, має подібну будову але відрізняється морфометричними показниками. Товщина кардіоміоцитів лівого шлуночка серця теличок, більша ніж правого і залежить від типу автономної регуляції серцевого ритму.

2. З розвитком організму тварин товщина кардіоміоцитів та об'єм їх ядер зростає.

Література

1. Бамбуляк М.Ф. Особливості деяких екстер'єрних показників новонароджених поросят залежно від пренатального розвитку // Акт. пробл. вет. мед.: Вісник БДАУ. – Вип. 8, Ч. 1. – Біла Церква, 1999. – С. 11 – 14.
2. Бирих В.К., Удовин Г.М. Возрастная морфология крупного рогатого скота. – Пермь, 1972. – 201 с.
3. Васильев В.К. Мясная продуктивность бычков, выращиваемых на мясо, и ее зависимость от различной степени двигательной активности // Морфология органов движения сельскохозяйственных животных при различной технологии промышленного животноводства: Сб. науч. тр./ МВА. – М., 1997. – С. 64 – 67.
4. Войналович А.С. Макро-микроморфология сердца неонатальных телочек // Вестник проблем биологии и медицины – Полтава-Харьков, 1998. – С. 55 – 60.

5. Гаврилин П.Н. Морфофункциональные особенности костной и иммунной систем телочек новорожденного и молочного периодов при различной двигательной активности: Дис. канд. вет. наук. – Симферополь, 1992. – 310 с.
6. Левченко В.І., Чумак К.П. Здорові телята – здорове поголів'я // Тваринництво України. – 1982. - № 11. – С. 44 – 45.
7. Лубнина С.М. Влияние дозированного принудительного движения на рост и развитие бычков // Морфология органов движения сельскохозяйственных животных при различной технологии животноводства: Сб. науч. тр. / МВА. – М., 1987. – С. 41 – 44.
8. Гуменна О.С. Онтогенетичне становлення парасимпатичної регуляції ритму серця у телят // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. – Вип. 3. – 1997. – С. 46 – 47.
9. Vus Yu. M. Study on type of vegetative regulation among calves for the improvement of pedigree and selection // Proc. Symposium "Agriculture: Science and practice". – Lviv. – 1996. – P. 117 – 118.
10. Кононенко В.С. Типи автономної регуляції функцій і ріст та розвиток організму // Вісник проблем біології і медицини. – Полтава, 2006. – Вип. 2. – С. 29 – 32.
11. Жеденов В.Н. Легкие и сердце животных и человека. – М.: Советская наука, 1954. – 204 с.
12. Жеденов В.Н. Легкие и сердце животных и человека. – М.: Высшая школа, 1961. – 478 с.
13. Система структурно-функциональных единиц миокарда при экспериментальных воздействиях / М.А. Нетлюх, А.А. Цегельский, П.Д. Гордий, У.М. Галюк // Тез. докл.: XI съезда анатомов, гистологов и эмбриологов. – Полтава: Узд-во "Полтава", 1992. – С. 168.
14. Смирнов В.П., Головина И.Е., Щербатова Н.А. Морфометрическая и гистохимическая характеристика капилляров и мышечных клеток миокарда собак // Арх. анат., гистол. и эмбриол. – 1990. – Т. 99. – С. 61 – 64.
15. Увеличение сердца в отдельные периоды онтогенеза / Л.М. Дугадко, М.Г. Руденко, И.А.Здиховский, В.Г. Черкасов // Тез. докладов VII областной научн. конф. морфологов (15 – 16 ноября 1990 г.). – Донецк. 1990. – С. 72 – 73.
16. Шаров В.Г. Ультраструктура миокарда // Руководство по кардиологии. – М.: Медицина, 1982. – Т. 1. – С. 36 – 48
17. Тибінка А.М. Залежність будови серця, артеріол і дрібних артерій від типу автономної регуляції серцевого ритму свиней: Автореф. дис... канд. вет. наук: 16. 00. 02. – Київ, 2002. – 19 с.
18. Кононенко В.С., Тибінка А.М. Становлення типологічних особливостей вегетативної регуляції серцевого ритму свиней // Збірник наукових праць Харківського зооветеринарного інституту. – Харків, 2001. – Вип. 8 (32). – Ч. 2. – С. 132 – 135.
19. Кононенко В.С., Перленбетов М.А. Взаимосвязь морфофункциональных показателей сердца с уровнем тонуса вегетативной

нервной системы у коров черно-пестрой породы // Морфо-экологические проблемы в животноводстве и ветеринарии. – К.: Нац. аграр. ун-т, 1991. – С.103-105.

20. . Баевский Р.М. Математический анализ сердечного ритма при стрессе / Р.М. Баевский, О.И. Кирилов, С.З. Клецкин. – М.: Наука, 1984. – 222 с.

21. Роскин Г.И. Микроскопическая техника / Г.И. Роскин, Л.Б. Левинсон / Советская наука. – М., 1957. – 467 с.

22. Горальський Л.П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології / Л.П. Горальський, В.Т. Хомич, О.І. Кононський. – Житомир: Вид-во Житомир. ДАЕУ, 2005. – 284 с.

23. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с

24. Ташке К. Введение в количественную цитогистологическую морфологию. – Бухарест: из-во АН ССР, 1980. – 191с..

Summary

Demus N.V.

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj

HISTOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MYOCARDIUM IN HEIFERS DEPENDING ON THE TYPE OF AUTONOMIC REGULATION OF HEART RHYTHM

According to the results of the investigations, it was determined that microscopic construction of heifers' heart ventricle in experimental groups had the similar construction, but differed from morphometric factors. Therefore, the thickness of cardiomyocytes of left heart ventricle of heifers is much more than right ventricle depending on the type of autonomic heart regulation.

Key words: *vessels, arterioles, arteries, heifers, autonomic nervous system, heart rhythm.*

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК: 619:616.636.4

Жила М. І., к. вет. наук, ст. науковий співробітник,**Бассараб В. П.**, мол. науковий співробітник,**Лісова Н. Е.**, к. с.-г. наук, науковий співробітник,**Максимович О. А., Михалюк О. В.**, ст. лаборанти ©*Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів*

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ ГЕПАТОНІК НА ІМУНОЛОГІЧНІ ТА ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ОРГАНІЗМУ ПОРОСЯТ

Досліджено вплив препарату гепатонік на гематологічні, імунологічні та біохімічні показники організму поросят 3-ох місячного віку. Встановлено позитивний вплив препарату на показники резистентності та загальний фізіологічний стан тварин.

Ключові слова: імунофізіологічний статус, резистентність, поросята, препарат гепатонік.

Вступ. Вирощування тварин за сучасними технологіями утримання та годівлі потребує використання ветеринарних препаратів не тільки для профілактики інфекційних захворювань, а й для поліпшення метаболічних функцій та корекції резистентності організму [1, 5].

Найбільше навантаження на організм поросят припадає після відлучки, при зміні корму чи вакцинації. Саме забезпечення належних умов для збереженості і розвитку поросят в ці періоди, є передумовою для отримання високих виробничих показників в подальшому терміні вирощування. Першочерговим завданням у стартовий період є забезпечення нормальної роботи системи травлення, оскільки від цього залежить засвоєння організмом поживних речовин, необхідних для росту [3]. Відомо, що нормальне функціонування системи травлення значною мірою залежить від стану печінки. Тому застосування препаратів з групи гепатопротекторів дозволяє уповільнити або навіть уникнути розвитку жирової дистрофії печінки — патології, яка досить поширена у свиней при відгодівлі сухими концентрованими кормами.

Враховуючи важливе значення окиснювальних реакцій та імунітету в гомеостазі організму тварин, необхідно, застосовуючи фармакологічні та біологічно активні ветпрепарати і кормові добавки, досліджувати та оцінювати їх вплив на окиснювально-антиоксидантний баланс та імунний статус організму тварин [7, 8].

Метою роботи було дослідження впливу препарату гепатонік на організм поросят. Гепатонік відноситься до ветпрепаратів, у склад яких входять карнітин, а також деякі біологічно активні речовини, зокрема, вітаміни В₁₂, нікотинамід, пантатенова та янтарна кислоти. Карнітин – продукт біосинтезу лізину і метіоніну. відіграє важливу участь у процесах утилізації надлишків

жирних кислот і транспорті внутрішньоклітинної енергії, сприяє підвищенню секреції та активності ферментів травних залоз, покращенню апетиту.

Матеріали і методи. Дослідження проводились на базі навчально-дослідного центру Львівського національного аграрного університету, смт. Дубляни, Жовківського району, Львівської області. Дослід проводили на двох групах поросят-аналогів, великої білої породи, трьох місячного віку (1-контрольна, 2-дослідна) по 15 голів у кожній. Поросятам дослідної групи випоювали з питною водою препарат гепатонік в дозі 20 мл/голову на добу протягом 14 діб. Контрольна група тварин препарат не отримувала. Матеріалом для дослідження була кров, відібрана з хвостової вени у поросят до випоювання препарату, на 15 і 22 добу досліду.

У гепаринізованій крові визначали гематокрит, число еритроцитів, лейкоцитів, лейкоцитарну формулу, фагоцитарну активність нейтрофілів, концентрацію гемоглобіну; у сироватці крові (СК) – бактерцидну активність (БАСК), лізоцимну активність (ЛАСК), концентрацію загального білка, циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), активність АлАТ, АсАТ [2, 6, 9].

За тваринами велись клінічні спостереження, визначали прирости маси тіла. Отримані експериментальні дані опрацьовували статистично [4].

Результати досліджень. Протягом усього періоду спостережень не було встановлено відхилень у клінічному стані тварин. Загибелі поросят у дослідній та контрольній групах не було. Слід відмітити, що у поросят, які отримували разом з водою препарат гепатонік, протягом експерименту спостерігалось дещо інтенсивніше збільшення як середньої маси тіла, так і середньодобових приростів, у порівнянні з поросятами контрольної групи (таб.1).

Таблиця 1

Приріст маси тіла поросят, за умов застосування препарату гепатонік, ($M \pm m$, $n=15$)

Групи	Маса тіла		Приріст	
	На початку досліду. кг	На 30 добу, кг	Загальний за місяць. кг	Середньо-добовий, г
Контроль	29,0 ± 1,9	43,8 ± 2,1	14,5 ± 0,7	490,0 ± 52,0
Дослід	29,7 ± 1,3	45,7 ± 1,8	16,0 ± 0,8	544,0 ± 43,0

Аналізуючи гематологічні показники, встановили, що вірогідних змін чисельності еритроцитів, лейкоцитів та в лейкоцитарній формулі на 15 і 22 добу дослідження не спостерігали у порівнянні з контрольною групою тварин, а їх величини не виходили за межох фізіологічної норми (табл. 2).

Аналіз показників природної резистентності показав, що у поросят, які отримували з водою препарат гепатонік протягом 14 діб, спостерігали певні зміни. Як видно з даних табл. 3, фагоцитарна активність нейтрофілів у тварин дослідної групи на 15 і 22 добу досліду була вищою на 20,5 % і 14,5 %, відповідно, у порівнянні з контрольною групою.

Фагоцитарний індекс (ФІ), що відображає число захоплених мікроорганізмів одним активним фагоцитом, свідчить про збільшення

“перетравлювальної” здатності нейтрофілів у дослідної групи тварин. На 15 і 22 добу досліду ФІ вірогідно був вищий – на 45,4 % ($p \leq 0,01$) і 40,2 % ($p \leq 0,01$), відповідно – у порівнянні з показником контрольної групи. Зміни гуморальних факторів неспецифічної резистентності були виражені менше. Це свідчить про те, що застосування препарату в більшій мірі впливає на формування клітинних механізмів природного захисту організму.

Таблиця 2

Гематологічні показники поросят, за умов застосування препарату гепатонік, ($M \pm m$, $n = 15$)

Показники	Групи	До випоювання	15 доба	22 доба
Hb, г/л	К	125,8 ± 4,6	133,2 ± 4,2	123,3 ± 2,5
	Д		134,6 ± 8,6	132,0 ± 8,1
Еритроцити, Т/л	К	5,4 ± 0,5	5,4 ± 0,5	3,5 ± 0,3
	Д		5,1 ± 0,3	4,6 ± 0,4
Лейкоцити, Г/л	К	9,5 ± 2,1	9,2 ± 2,2	13,9 ± 2,9
	Д		13,2 ± 0,7	11,4 ± 0,8
Базофіли, %	К	0,33 ± 0,2	0,67 ± 0,4	-
	Д		0,63 ± 0,3	0,7 ± 0,4
Еозонофіли, %	К	4,2 ± 1,2	4,7 ± 1,9	6,0 ± 2,3
	Д		5,2 ± 1,0	2,7 ± 0,5
Нейтрофіли, %	пл. ядер.	4,0 ± 1,1	2,0 ± 0,2	4,7 ± 1,5
			Д	5,0 ± 1,3
	сег. ядер.	33,3 ± 2,8	29,3 ± 2,7	24,0 ± 1,2
			Д	29,0 ± 2,4
Лімфоцити, %	К	54,9 ± 1,6	67,2 ± 0,9	63,0 ± 3,8
	Д		59,5 ± 2,9	62,0 ± 1,7
Моноцити, %	К	1,2 ± 0,6	0,7 ± 0,4	2,0 ± 0,3
	Д		0,6 ± 0,3	0,7 ± 0,4
Гематокрит, %	К	35,2 ± 0,7	36,4 ± 0,6	33,8 ± 2,2
	Д		36,4 ± 0,7	34,0 ± 12,8

У СК дослідних груп поросят, які з водою одержували препарат гепатонік, на 15 і 22 добу дослідження спостерігали дещо вищу концентрацію ЦІК, у порівнянні з контрольною групою – на 25,7% і 31,1 % , відповідно.

Беручи до уваги те, що імунні комплекси середньої молекулярної маси є активаторами системи комплементу та В-лімфоцитів, встановлені нами підвищення концентрації ЦІК та інтенсивності фагоцитозу у поросят можна розглядати, у даному випадку, як активацію функцій імунітету при застосуванні препарату гепатонік. Отримані дані свідчать про стимулюючий вплив препарату гепатонік на формування природних збалансованих механізмів захисту організму поросят, сприяючи індукції клітинної ланки природної резистентності організму.

Як свідчать дані дослідження біохімічних показників СК поросят 22 добу досліду (табл. 4.), активність АЛАТ, АсАТ у СК поросят, які отримували

препарат гепатонік, зазнає певних змін. Так, активність АлАТ у СК поросят цієї групи підвищувалась на 25 % у порівнянні з показниками контрольної групи.

Таблиця 3

Показники неспецифічної резистентності поросят, за умов застосування препарату гепатонік, ($M \pm m, n = 15$)

Показники	Групи	До випоювання	15 доба	22 доба
БАСК, %	К	38,5 ± 3,2	42,6 ± 4,3	31,5 ± 4,2
	Д		40,7 ± 1,8	33,9 ± 2,8
ЛАСК, %	К	38,2 ± 3,6	19,0 ± 3,5	31,3 ± 4,0
	Д		20,1 ± 1,1	36,7 ± 2,2
ЦК, од.100 мл	К	19,7 ± 4,7	14,0 ± 3,3	13,0 ± 0,6
	Д		17,6 ± 2,8	17,1 ± 2,6
Фагоцитарна активність, %	К	19,1 ± 1,7	16,6 ± 1,1	18,0 ± 0,4
	Д		20,0 ± 0,4	20,6 ± 0,6
Фагоцитарний індекс	К	13,2 ± 1,4	11,0 ± 0,1	11,7 ± 0,1
	Д		16,0 ± 0,3*	16,4 ± 0,9

Таблиця 4

Біохімічні показники поросят, за умов застосування препарату гепатонік, ($M \pm m, n = 15$)

Показники	Групи	До випоювання	15 доба	22 доба
АлАТ, мккат/л	К	0,35 ± 0,01	0,37 ± 0,02	0,24 ± 0,02
	Д		0,38 ± 0,04	0,30 ± 0,03
АсАТ, мккат/л	К	0,34 ± 0,03	0,34 ± 0,03	0,32 ± 0,01
	Д		0,36 ± 0,01	0,36 ± 0,02

Порівнюючи співвідношення активності АсАТ до АлАТ у СК поросят на 15 і 22 добу дослідження, встановили, що коефіцієнт де Рітиса у поросят дослідної групи становить 0,95 і 1,2, а в СК поросят контрольних груп — 0,92 і 1,33, відповідно.

Виявлені відмінності в активності АлАТ і АсАТ у СК поросят дослідної та контрольної групи, свідчать про те, що процеси трансамінування з аланіну та аспарагінової кислоти проходять у їх організмі з різною інтенсивністю. Зміни активності амінотрансфераз мають важливе значення в процесі росту і розвитку та вказують на взаємозв'язок між активністю амінотрансфераз, використанням вільних амінокислот у енергетичних і пластичних процесах та координацією цих процесів. Таким чином, зміни активності АлАТ, АсАТ у СК поросят, яким з водою випоювали препарат гепатонік, свідчать про стимулюючий вплив препарату на обмін білків та амінокислот в організмі поросят.

Висновки. За результатами досліджень, препарату гепатонік властивий активуючий вплив на формування природних збалансованих механізмів захисту і клітинну ланку неспецифічного імунітету поросят. Препарат гепатонік інтенсифікує переамінування вільних амінокислот, які використовуються

організмом як енергетичний та пластичний матеріал, здійснюючи нормалізуючий вплив на енергетичний метаболізм, що проявляється збільшенням середньодобових приростів живої маси тварин.

Література

1. Дзівик О.І., Михалусь Г.М., Михалюк О.В. Особливості гомеостатичних показників крові та динаміка росту телят, за умов впливу препарату карнівет-Л // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин УААН і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок.— 2008.— Вип.9, № 4. — С. 214-217.
2. Комплексна оцінка впливу ветеринарних препаратів на морфофункціональний стан імунної системи. Методичні рекомендації //І. Я. Коцюмбас, Г.І. Коцюмбас, Є.М. Голубій та ін.—Львів, 2009.—63 с.
3. Квачов В.Г. Імунний статус тварин. Проблемні питання визначення і оцінки // Вет. мед. України. - 1995. - №3. - С. 20-21.
4. Мазур Т. Константні методи математичної обробки кількісних показників // Ветеринарна медицина України. — 1998. — № 11. — С. 35–37.
5. Прогноз производства и потребления мяса в мире // По данным сельскохозяйственного обзора мирового производства мяса (www.Fapril.iastate.edu/outlook/2009). — Эффективное тваринництво. — 2010. — №4. — С.14-19.
6. Ройт А., Бростоф Дж., Мейл Д. Имунология.—М: Мир, 2000.—С.242.
7. Рецкий М.И., Бузлама В.С., Шахов А.Г. Значение антиоксидантного статуса в адаптивной гетерогенности и иммунологической резистентности животных // Мат. конф. Актуальные вопросы болезней молодняка в современных условиях. Воронеж, 2002. - С.33-36.
8. Сокирко Т.О. Окиснювально-антиоксидантний стан імункомпетентних клітин хворих на гастроентерит поросят/ Тр. III Міжнар. конф. «Біоресурси та віруси», Київ, 2001.—С.34-40.
9. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Довідник //Л. В. Андреева, П. І.Вербицький, О. І. Вішур та ін. — Львів, 2004. — 399 с.

Summary

The influence of a preparation Gepatonic on hematological, immunological, biochemical parameters of 3-month ages pigs is investigated. Their positive influence on parameters resistance and general (common) physiological status animals is established.

Стаття надійшла до редакції 4.09.2010

УДК: 636.2:591.463.1.

Кава С.Й., Дмитрів О.Я., Кудла І.М., Остапів Д.Д., Яремчук І.М. ©*Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С.З. Гжицького***ЗАПЛІДНЮВАЛЬНА ЗДАТНІСТЬ СПЕРМІЇВ БУГАЇВ ПРИ
ДОДАВАННІ У РОЗРІДЖУВАЧ ЕЯКУЛЯТІВ АНТИОКСИДАНТІВ**

Вивчали вплив антиоксидантів у розріджувачі еякулятів на виживання і запліднювальну здатність спермій бугаїв. Встановлено, що відновлена форма глутатіону у складі розріджувача еякулятів стимулює активність сукцинатдегідрогенази у свіжоотриманій розбавленій та інкубованій спермі, а аскорбінова кислота знижує активність ферменту у свіжоотриманій спермі, а у інкубованій 24 год - при концентрації 5,0 мМ. Поєднання відновленої форми глутатіону і аскорбінової кислоти у розріджувачі сперми в концентраціях, відповідно, 2,5+1,25 мМ стимулює активність сукцинатдегідрогенази та виживання спермій на 18,5 %, підвищує запліднювальну здатність спермій на 11,7 %.

Ключові слова: антиоксиданти, активність сукцинатдегідрогенази, виживання спермій, запліднювальна здатність, сперма, бугай.

Для інтенсивного відтворення поголів'я великої рогатої важливе значення має розроблення способів забезпечення високої життєздатності статевих клітин. Вказані вимоги зумовлені тим, що при підготовці до заморожування та після розморожування сперми порушується метаболізм спермій. Виявлено, що технологічні операції супроводжуються активуванням мембранозв'язаних ферментів та інтенсивним вільнорадикальним окисненням жирних кислот, що руйнує ліпопротеїнові комплекси й мембрани статевих клітин, знижує резистентність та рухливість спермій і, їх головну функцію – запліднювальну здатність [1]. Запобігають неконтрольованим процесам окиснення присутні в еякулятах природні антиоксиданти (відновлена форма глутатіону, аскорбінова кислота, вітамін Е та ін.) та ферменти антиоксидантного захисту (супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, каталаза). Проте, в процесі технологічної підготовки сперми до кріоконсервації, антиоксидантний захист послаблюється, а окремі його ланки втрачаються. Дефіцит сполук з антиоксидантними властивостями поповнюють шляхом їх додаванням у розріджувачі еякулятів та середовища для розморожування сперми [2,3,4].

Мета роботи - вивчити вплив антиоксидантів у розріджувачі еякулятів на виживання і запліднювальну здатність спермій бугаїв.

Матеріали і методи. Дослідження проведені у лабораторії кафедри акушерства і штучного осіменіння сільськогосподарських тварин імені Г. В. Звереві Львівського національного університету ветеринарної медицини та

біотехнологій імені С.З. Гжицького і Львівському науково-виробничому центрі «Західплемресурси». Досліджували сперму бугаїв віком від 3 до 10 років, яку отримували на штучну вагіну з режимом використання бугаїв дуплетна садка два рази на тиждень, через дві доби. Свіжоотримані еякуляти оцінювали за об'ємом (мл), густотою під мікроскопом (в роздавленій краплі) і активністю (рухливістю) спермій (бали). Визначали: концентрацію спермій за допомогою фотоелектроколориметра (10^9 клітин/мл; 10^9 /мл), виживання при температурі $+2 - +4^\circ\text{C}$ до припинення прямолінійного поступального руху (год.) у спермі свіжоотриманій та розрідженій лактозо-жовтково-гліцериним розріджувачем (ЛЖГР); активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) з використанням 2,3,5-трифенілтетразолію і натрію сукцинату. Активність ферменту виражали в умовних одиницях екстинкції (од/(год \cdot 0,1 мл сперми; С) [5]. В розріджену сперму вносили відновлену форму глутатіону (Г-SH) та аскорбінову кислоту (АА) в концентраціях 1,25, 2,5, 5,0 мМ, а також у поєднанні, після встановлення оптимальних доз.

Для вивчення запліднювальної здатності спермій еякуляти розділяли на частини - контрольну (без антиоксидантів) і дослідну (з антиоксидантами у поєднанні Г-SH+АА - 2,5+1,25 мМ). Еякуляти розбавляли ЛЖГР згідно з інструкцією. З піддослідних корів сформували дві групи аналогів за віком (3 - 8 років), перебігом родів (нормальні) і післяродового періоду (до 30 днів): контрольна (40 гол.) і дослідна (30 гол.). Осіменіння проводили ректо-цервікальним методом за наявності феноменів тички і охоти. Заплідненість корів визначали після першого осіменіння за відсутністю статевих циклів протягом 60 - 90 діб після осіменіння, в сумнівних випадках – ректальним дослідженням. Статистичний аналіз отриманого цифрового матеріалу проведено за М. О. Плохінським (1969)[6]. Різницю між середніми арифметичними значеннями вважали статистично вірогідною: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

Результати досліджень. Еякуляти піддослідних бугаїв характеризуються об'ємом $4,3 \pm 0,18$ мл (лім 2,0 – 8,0 мл), концентрацією спермій $1,09 \pm 0,11 \times 10^9$ /мл (лім $0,4 - 1,60 \times 10^9$ /мл), активністю – $7,4 \pm 0,16$ бали (лім 2,0 – 8,0 бали), виживанням - $110,5 \pm 5,70$ год. (лім 48 – 240 год), активністю СДГ $24,7 \pm 2,79$ од/(год \cdot 0,1 мл С; лім 0 – 70,0 од/(год \cdot 0,1 мл С).

Вивченням впливу відновленої форми глутатіону і аскорбінової кислоти, їх поєднання у розріджувачі еякулятів бугаїв на СДГ доведено, що в спермі бугаїв через 24 год інкубування активність ферменту підвищується на 81,4% (табл.). Додавання до розріджувача Г-SH в концентраціях 1,25, 2,5 та 5,0 мМ стимулює у свіжоотриманій розбавленій спермі активність СДГ, відповідно, у 2,1, 2,7 та 5,2 рази ($p < 0,05$). Через 24 год інкубування різниця між контрольними та дослідними пробами менша і становить 42,5%, 2,0 та 2,5 рази.

Подібні зміни виявлені при додаванні до свіжоотриманої розбавленої сперми АА. Однак, наростаючі дози вказаного антиоксиданта в складі розріджувача знижують активність СДГ, порівняно до контролю, на 7,6, 37,8% та майже у 5 разів. Інкубування розрідженої сперми протягом 24 год. з

додаванням АА в концентрації 1,25 та 2,5 мМ майже не впливає на активність СДГ, яка становить $20,5 \pm 5,04$ - $27,8 \pm 4,32$ од/(год \cdot 0,1 мл С), а при 5,0 мМ знижується у 2,7 рази, порівняно до контролю.

Таблиця

Вплив антиоксидантів на активність сукцинатдегідрогенази у розрідженій спермі бугаїв, n=8; M \pm m

Умови досліджу	Активність ферменту в спермі, од/(год \cdot 0,1 мл С):	
	свіжоотриманій	інкубованій 24 год
Контроль (ЛЖГР)	$11,3 \pm 4,27$	$20,5 \pm 5,04$
Дослід: ЛЖГР		
+ Г-SH (мМ): 1,25	$24,3 \pm 9,24$	$29,3 \pm 5,84$
2,5	$31,0 \pm 7,66^*$	$42,3 \pm 6,80^*$
5,0	$59,2 \pm 13,39^*$	$50,8 \pm 4,32^{***}$
АА (мМ): 1,25	$10,5 \pm 4,98$	$27,8 \pm 4,32$
2,5	$8,2 \pm 4,18$	$22,1 \pm 7,45$
5,0	$2,3 \pm 0,77$	$7,3 \pm 3,66$
Г-SH + АА 2,5+1,25	$29,8 \pm 4,97^*$	$36,7 \pm 6,54$

* Різниця статистично вірогідна, порівняно до контролю. ($p < 0,05$ та $0,001$).

Поєднання Г-SH+АА в концентраціях 2,5+1,25 мМ у свіжоотриманій спермі, забезпечує підвищення активності СДГ у 2,6 рази ($p < 0,05$), а в інкубованій протягом 24 год - стимулює активність СДГ на 79,0%.

Про вплив антиоксидантів на життєздатність сперміїв свідчить їх виживання, яке при розбавленні ЛЖГР і зберіганні сперми при +2 - +4°C становить - $127,4 \pm 11,33$ год., а з додаванням антиоксидантів - Г-SH+АА в концентрації, відповідно, 2,5+1,25 мМ - $156,3 \pm 14,56$ год, що вище на 18,5%.

Результати вивчення активності окисних ферментів та виживання сперміїв за дії поєднання Г-SH і АА у розріджувачі еякулятів, підтверджуються осіменінням корів. Так, від використання сперми з антиоксидантами Г-SH+АА 2,5+1,25 мМ із 30 корів запліднилися після першого осіменіння 20 гол., що становить 66,7%. В контрольній групі із 40 гол. запліднилися 21 гол. - 55,0%, різниця - 11,7%.

Висновки.

1. Відновлена форма глутатіону у складі розріджувача еякулятів стимулює активність сукцинатдегідрогенази у свіжоотриманій розбавленій та інкубованій спермі.

2. Аскорбінова кислота у розріджувачі еякулятів бугаїв знижує активність сукцинатдегідрогенази у свіжоотриманій спермі, а у інкубованій 24 год при концентраціях 1,25 та 2,5 мМ - майже не змінюється ($20,5 \pm 5,04$ - $27,8 \pm 4,32$ од/(год \cdot 0,1 мл С) і знижується у 2,7 рази при 5,0 мМ.

3. Поєднання відновленої форми глутатіону і аскорбінової кислоти у розріджувачі сперми в концентраціях, відповідно, 2,5+1,25 мМ стимулює активність сукцинатдегідрогенази та виживання сперміїв на 18,5 %.

4. Сумісне використання в розріджувачі для сперми бугая відновленої форми глутатіону і аскорбінової кислоти в концентраціях, відповідно, 2,5 мМ і

1,25 мМ підвищує запліднювальну здатність сперміїв на 11,7 %.

Література

1. Jones R., Mann T., Sherins R.J. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa: spermicidal effects of fatty acid peroxides and protective action of seminal plasma // *Fertil. Steril.* -1979. -V.31. –P. 531–537.

2. Slaweta R., Liaskowska T. The effect of glutathione on the motility and fertility of frozen sperm // *Anim. Reprod. Sci.* –1987. –V.13., №4. –P. 249– 253.

3. Donnelly E. T., McClure N. The effect of ascorbate and α -tocopherol supplementation in vitro on DNA integrity and hydrogen peroxide-induced DNA damage in human spermatozoa // *Mutagenesis.* – 1999. - V. 14., № 5. - 505-512.

4. Шаран М.М. Підвищення ефективності штучного осіменіння корів і телиць. - Львів, 2009. – 38 с.

5. Чухрій Б.М., Клевець Л.О. До методики визначення активності окислювальних ферментів у спермі бугаїв // *Розведення та штучне осіменіння великої рогатої худоби.* – Київ, 1978. – Вип. 10. – С. 42–45.

6. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. М.: Колос., 1969. -255с.

Summary

Kava S, et all.

*Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology
name after. S. Z. Gzhicky Lviv, Ukraine*

FERTILIZING CAPACITY OF BULL'S SPERMATOZOA BY ADDING ANTIOXIDANTS IN EJACULATE DILUENT

The impact of antioxidants in the ejaculate diluent on survival and fertilizing capacity of bull's spermatozoa was studied. It was found that reduced form of glutathione in the ejaculate diluent stimulates the activity of succinate dehydrogenase in just obtained, diluted and incubated sperm, ascorbic acid lowers activity of enzyme in freshly obtained sperm, and in incubated by 24 h. – at concentration 5mM. Combining reduced form of glutathione and ascorbic acid in sperm diluent in concentration, respectively, 2,5+1,25 мМ stimulates activity of succinate dehydrogenase and survival of bull's spermatozoa on 18,5 %, it increases fertilizing capacity of bull's spermatozoa on 11,7 %.

Стаття надійшла до редакції 17.09.2010

УДК: 619:577.1:619:612.015:636.2

Ковалів Л.М., к.б.н., старший науковий співробітник ©*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького***ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНИЙ ГОМЕОСТАЗ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ ТЕЛИЦЬ**

У статті показано шляхи регулювання метаболізму у репродуктивній системі телиць за допомогою біологічно активних речовин.

Вступ. Для оптимізації фізіологічного процесу відтворення поголів'я у молочних комплексах, а також викликання поліовуляції у донорів при трансплантації ембріонів використовують гормональні препарати, зокрема гонадотропні гормони.

Наявні, на даний час, методи викликання поліовуляції, що відрізняються між собою за схемою введення препаратів і за природою вводимих гонадотропінів, не завжди дають належний ефект із-за ендокринного і біохімічного механізму реалізації репродуктивної функції тварин [1-2, 6-8]. Тому існує непередбачливість і невідомі причини великої варіабельності реакції тварин на введення гонадотропних препаратів згідно існуючих схем [3,4,5].

Мета дослідження. Для вирішення даної проблеми нами були проведені фізіолого-біохімічні дослідження на телицях за впливу поліовулюючих доз фолікотропіну з метою розробки шляхів корекції обмінних процесів у репродуктивній системі тварин.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження виконані на 3-х групах клінічно здорових телиць (по 5 голів в групі), парувального віку (18-20 місяців), чорно-рябої породи, згідно наступної схеми.

Телицям 1-ї групи на 8-й день статевого циклу вводили внутрим'язово (в/м) 2 мл простагландину F_{2a}-естрофан і 100 мг прогестерону, 9-13-й дні фолікотропін по 40 Ю 2 рази в день, 11-й день – простагландин F_{2a}-естрофан, 2 рази (2+1 мл).

У телиць 2-ї групи викликали поліовуляцію згідно схеми для першої групи з відмінністю, що замість фолікотропіну вводили комплексний препарат "поліфол" у вигляді дрібнодисперсної емульсії, в основі якої був фолікотропін, протягом 3-х днів один раз в дозі 10 мл.

У телиць 3-ї групи викликали поліовуляцію згідно схеми для 2-ї групи і додатково їм протягом 2-х місяців згодовували з комбікормом премікс "мікромаг"(Чехія) щоденно по 50 г на голову.

Еструс у телиць проявлявся через 48 годин після введення простагландину F_{2a}-естрофан. Всі піддослідні телиці прийшли в охоту і були штучно осіменені 3 рази через кожних 12 годин. На 7-й день після осіменіння піддослідні тварини були забиті на Тернопільському м'ясокомбінаті і від них взято проби біоматеріалу (кров, яєчники, матку, печінку, наднирники і

лімфовузли) для фізіолого-біохімічних досліджень. Безпосередньо при забої телиць проводили візуальну оцінку матки і яєчників та одержання ембріонів і маточного секрету шляхом вимивання.

Фізіолого-біохімічні показники визначали згідно загальноприйнятих методів.

Одержані дані опрацьовані статистично.

Власні дослідження. Шляхом аналізу одержаних результатів встановлено, що введення телицям поліовулюючої дози комплексного препарату “поліфол” і, зокрема, на фоні згодовування мікромагу призводило до збільшення у них маси матки. Збільшення маси відбувалося за рахунок гідратації клітин, оскільки процент сухої речовини у матках був відповідно меншим (табл. 1). Маса яєчників була дещо меншою у телиць 2-ї групи порівняно до 1-ї і 3-ї груп. Кількість жовтих тіл в середньому, відповідно по групах, становила: 6,8-5,6-7,8. рН маточного змиву коливалася у межах 7,3-7,5. Кількість вимитих ембріонів із маток становила біля 75% від кількості жовтих тіл. Біля 50% одержаних ембріонів були на стадії розвитку від ранньої морули до пізньої бластоцисти при оцінках добре і задовільно. Суттєвих різниць між групами донорів нами не відзначено. Вимивання і оцінку ембріонів проводили з післязайного матеріалу через 6-8 годин. Морфометричні зміни у репродуктивних органах супроводжувалися відповідним рівнем обмінних процесів.

Таблиця 1

Візуальна характеристика матки і яєчників телиць за впливу біологічно активних речовин, n = 5

Показники	Групи тварин		
	1	2	3
	M±m	M±m	M±m
Маса матки, г	273,38±50,67	284,20±39,46	328,70±11,07
Вміст сухої речовини, %	23,87±2,91	20,91±2,50	20,17±0,43
Довжина рогів матки, см	34,60±36,20	34,20±35,00	31,60±31,80
Діаметр рогів матки, см	2,90±0,89	2,30±0,86	2,45±0,86
Маса лівого яєчника, г	9,94±3,51	12,06±0,09	15,80±2,71
Кількість фолікулів			
d=см. > 0,8	2,0	3,4	6,0
> 0,3	4,6	5,4	5,4
< 0,3	12,8	10,6	11,8
атрезованих	4,4	1,2	1,4
жовтих тіл	2,4	1,8	3,0
Маса правого яєчника, г	25,95±5,46	18,50±2,54	19,96±8,39
Кількість фолікулів			
d=см. > 0,8	8,0	3,1	3,6
> 0,3	4,8	5,4	2,6
< 0,3	9,0	11,0	8,6
атрезованих	4,0	1,2	3,4
жовтих тіл	4,4	3,8	4,8

У таблиці 2 показано підвищення концентрації РНК у тканинах печінки (3-я група), наднирників, лімфовузлів і ендометрію та пониження – в ембріотрофі (2-а і 3-я групи). Величина ДНК у всіх піддослідних тварин

знаходилася майже на однаковому рівні. Це значить, що з одного локуса ДНК синтезувалася більша кількість РНК у вищеназваних тканинах.

Таблиця 2

Вміст рибонуклеїнових кислот у сироватці крові, тканинах репродуктивних і вісцеральних органів телиць за впливу гормональних препаратів, n = 5

Тканини	Групи тварин		
	1-а	2-а	3-я
	M±m	M±m	M±m
РНК, мг% Р			
Печінка	31,30±2,12	32,14±1,23	39,20±3,09
Наднирники	27,59±1,48	31,80±1,73	35,47±1,63***
Лімфовузли	33,83±3,94	37,69±3,13	37,76±3,09
Ендометрій	14,51±0,51	18,53±1,23*	19,95±0,71***
Яєчники	15,11±0,64	15,24±0,93	18,10±2,23
Ембріотроф	1,93±0,18	1,05±0,04**	0,84±0,13**

Примітка: - P<0,05* - <0,001*** ступінь вірогідності. Результати по ембріотрофу приведені у перерахунку на вміст сухої речовини.

Вміст розчинних білків збільшувався у тканинах печінки, лімфовузлів і ендометрію тварин 2-ї і 3-ї групи (табл.3). Таблиця 3

Вміст розчинних білків у сироватці крові, тканинах репродуктивних і вісцеральних органів телиць за впливу гормональних препаратів, n = 5

Тканини	Групи тварин		
	1-а	2-а	3-я
	M±m	M±m	M±m
Розчинні білки, г%			
Сироватка крові	6,92±0,52	6,93±0,66	6,81±0,37
в т.ч.(%): альбуміни	23,12±0,65	19,86±0,90*	19,57±0,66*
α-глобуліни	23,64±0,88	24,92±0,69	24,32±1,34
β-глобуліни	33,05±1,36	32,67±0,60	27,78±2,13
γ-глобуліни	20,19±1,65	22,55±1,02	28,33±6,56
Печінка	12,22±0,99	14,73±0,61	14,04±0,76
Наднирники	5,64±0,23	6,24±0,27	5,78±0,36
Лімфовузли	5,38±0,88	8,04±1,47	8,90±0,41**
Ендометрій	4,18±0,51	5,81±0,43*	5,55±0,43
в т.ч.(%): альбуміни	21,07±2,94	27,20±4,71	29,12±6,48
α-глобуліни	48,04±6,16	41,54±10,01	40,25±3,85
β-глобуліни	24,35±2,29	22,18±4,63	23,00±2,34
γ-глобуліни	6,54±2,84	9,08±2,14	7,63±1,45
Яєчники	4,61±0,29	4,98±0,25	5,11±0,32
в т.ч.(%): альбуміни	33,06±3,12	30,62±1,74	32,95±2,48
α-глобуліни	37,49±3,12	38,22±2,07	40,79±5,17
β-глобуліни	13,82±1,92	16,42±2,72	14,80±2,64
γ-глобуліни	15,63±1,49	14,74±1,26	11,46±3,00
Ембріотроф	0,014±0,006	0,016±0,003	0,015±0,002

Примітка: - P<0,05* - <0,001*** ступінь вірогідності. Результати по ембріотрофу приведені у перерахунку на вміст сухої речовини.

Крім цього, у сироватці крові, ендометрії і яєчниках встановлено індекс співвідношення альбумінів до глобулінів, що відповідно по групах тварин становив: 0,30-0,25-0,24; 0,27-0,37-0,41 і 0,49-0,44-0,49. Концентрація амінного азоту у межах груп вірогідно не змінювалася, за винятком ембріотрофу, в якому мало місце її збільшення (2-а і 3-я групи). Відзначено збільшення вітаміну А у сироватці крові, тканинах печінки і жовтих тілах. Рівень вітаміну С був вищим у тканинах печінки і матки та нижчим у яєчниках і жовтих тілах (табл.4).

Таблиця 4

Вміст окремих метаболітів у сироватці крові, тканинах репродуктивних і вісцеральних органів телиць за впливу гормональних препаратів, n = 5

Тканини	Групи тварин		
	1-а	2-а	3-я
	M±m	M±m	M±m
Амінний азот, мг%			
Сироватка крові	3,92±0,15	3,94±0,10	3,54±0,14
Печінка	5,30±0,36	5,26±0,35	5,30±0,28
Надирники	3,10±0,16	3,18±0,08	3,50±0,07
Лімфовузли	3,88±0,11	3,94±0,11	4,04±0,13
Ендометрій	4,08±0,08	3,94±0,08	3,86±0,10
Яєчники	3,74±0,10	3,78±0,20	3,78±0,13
Ембріотроф	0,011±0,001	0,016±0,001**	0,016±0,002*
Вітамін А, мкг%			
Сироватка крові	13,32±0,89	17,57±1,73*	16,10±1,74*
Печінка	67,50±3,95	79,60±14,31	75,20±6,46
Жовті тіла	32,40±3,06	34,40±7,11	38,57±6,14**
Вітамін С, мкг%			
Печінка	47,06±3,20	52,60±5,51	51,24±4,30
Ендометрій	31,28±3,89	32,50±0,85	41,90±2,00*
Яєчник	59,33±5,39	49,44±2,50*	47,50±3,42*
Жовті тіла	141,22±14,79	105,42±10,08*	127,80±40,30

Примітка: - P<0,05* - <0,001*** ступінь вірогідності. Результати по ембріотрофу приведені у перерахунку на вміст сухої речовини.

Вміст ліпідів у репродуктивних органах (табл.5-8) характеризується високою динамічністю і залежністю від впливу аліментарних і гормональних факторів.

Таблиця 5

Вміст ліпідів (г%) і їх склад (%) у тканині печінки телиць за впливу біологічно активних речовин, n = 4

Показники	Групи тварин		
	1-а контрольна	2-а – дослідна	3-я – дослідна
	M±m	M±m	M±m
Загальні ліпіди	2,76±0,01	3,04±0,04***	3,28±0,20*
Pf	39,04±1,26	40,71±1,98	41,63±2,40
Ch	9,74±1,35	8,96±1,90	7,35±1,46
Dg	13,56±1,67	13,57±2,10	13,09±2,73
FFA	7,32±1,02	8,29±0,71	9,15±2,51
Tg	17,19±0,78	15,08±1,50	15,34±3,07
Ech	13,15±0,85	13,39±1,11	13,44±0,94

Примітка: - P<0,05* - <0,001*** ступінь вірогідності.

Таблиця 6

Вміст ліпідів (г%) і їх склад (%) у тканині ендометрію телиць за впливу біологічно активних речовин, n = 4

Показники	Групи тварин		
	1-а контрольна	2-а – дослідна	3-я – дослідна
	M±m	M±m	M±m
Загальні ліпіди	0,98±0,05	1,30±0,11*	1,14±0,01**
Pl	35,19±4,76	37,30±0,31	39,70±2,73
Ch	16,24±0,64	14,47±2,14	13,80±2,60
Dg	9,30±0,62	10,46±2,93	9,56±2,66
FFA	9,62±1,56	8,00±0,33	7,82±1,27
Tg	14,34±1,54	14,57±1,84	14,07±2,23
Ech	15,31±1,00	15,20±1,41	15,05±0,43

Примітка: - P<0,05* - <0,001*** ступінь вірогідності.

Таблиця 7

Вміст ліпідів (г%) і їх склад (%) у тканині яєчників телиць за впливу біологічно активних речовин, n = 4

Показники	Групи тварин		
	1-а контрольна	2-а – дослідна	3-я – дослідна
	M±m	M±m	M±m
Загальні ліпіди	1,24±0,10	1,20±0,05	1,20±0,05
Pl	20,49±2,00	25,82±1,99	30,22±2,36*
Ch	12,29±1,36	8,08±1,86	10,02±1,89
Dg	15,52±2,58	15,04±1,16	16,36±2,28
FFA	13,34±2,78	16,04±4,22	15,59±1,01
Tg	22,41±3,22	22,52±7,24	22,52±1,40
Ech	15,95±1,20	12,50±1,21	15,11±1,50

Примітка: - P<0,05* - <0,001*** ступінь вірогідності.

Таблиця 8

Вміст ліпідів (г%) і їх склад (%) у тканині жовтих тіл телиць за впливу біологічно активних речовин, n = 4

Показники	Групи тварин		
	1-а контрольна	2-а – дослідна	3-я – дослідна
	M±m	M±m	M±m
Загальні ліпіди	3,42±0,17	3,22±0,21	2,92±0,10*
Pl	29,21±0,58	34,81±6,40	35,22±2,40*
Ch	12,42±2,04	10,70±0,65	9,43±1,35
Dg	16,85±2,71	14,23±2,20	14,43±2,12
FFA	9,00±1,41	10,35±0,74	10,10±1,13
Tg	19,26±2,14	16,95±0,71	17,30±3,12
Ech	13,26±1,00	12,96±3,30	13,52±1,40

Примітка: - P<0,05* - <0,001*** ступінь вірогідності.

Відзначено, підвищення кількості загальних ліпідів у тканинах печінки і ендометрію та пониження його у жовтих тілах (2-а і 3-я групи). Спектр ліпідів характеризується лабільністю окремих класів. У тканині печінки виявлено підвищення концентрації фосfolіпідів і суми жирних кислот та незначне пониження холестерину (2-а і 3-я групи). У тканині ендометрію відзначено вищий рівень фосfolіпідів та нижчий – холестерину і жирних кислот (2 і 3 групи). У тканинах яєчників і жовтих тіл характерними змінами були

підвищення фосфоліпідів і жирних кислот та пониження холестерину. Як видно, з даних ліпідного обміну, окремі класи ліпідів знаходяться у тісному взаємозв'язку з процесами проліферації матки і фолікулогенезу.

Висновки. На основі вищевикладеного, можна сказати, що дія фолікотропіну окремо і фолікотропіну в комплексі з тривітамінами А, Д₃, Е та мікромагом при різних схемах введення неоднаково впливають на вміст нуклеїнових кислот, білків і ліпідів та ефективність поліовуляції. Отже, шляхом впливу дотичних біологічно активних речовин на репродуктивну систему донорів можна оптимізувати механізм реалізації репродуктивного процесу.

Література

1. Прокофьев М.И. Регуляция размножения с-х животных. Л. "Наука", 1983. - 263 с.
2. Rosbech N.O. Aktuelle Ergebnisse zur Superovulation beim Rind. *Vet. Med.*, 1980. –V.35.-N.13.-P.516.
3. Былицкий Н.М. Влияние различных гонадотропинов на функциональную активность яичников и качество эмбрионов у КРС. // Известия Академии аграрных наук Беларусь, 1996.-№ 4.-С.69-71.
4. Былицкий Н.М., Федосова Н.Х., Давыдович М.В., Зеленко И.А., Лавушев В.И. Эффективность использования различных гонадотропинов для обработки коров-доноров. //Селекционно-генетические и биотехнологические проблемы разведения КРС: Тез. докл. научно-практ. конф. Брест, 1995.-С.47-48.
5. Былицкий Н.М., Федосова Н.Х., Курькин Е.В. Ответная реакция яичников на обработку гонадотропинами и результативность эмбриотрансплантации у телок-реципиентов //Материалы респ. научно-практ. конф. по животноводству и вет. медицине. Витебск, 1994.-С.11.
6. Клинский Ю.Д., Сергеев Н.И. Результаты трансплантации эмбрионов у КРС в СССР. //Arch. Exper. Veter. Med., 1982.-V.36.-N.1.-P.55-60.
7. Ковалів Л.М. Вплив комплексних гормонально-вітамінних препаратів на окремі показники обмінних процесів в організмі донорів при індукції поліовуляції. //Науково-техн. бюл., 1997.-В.19/1.-С.62-65.
8. Ковалів Л.М. Вплив комплексних гормонально-вітамінних препаратів на ефективність трансплантації ембріонів. //Науково-техн. бюл., 1997. –В. 19/1.-С.67-69.

Summary

Kovaliv L.M.

Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies of the name of S.Z.Gzhickogo, Lviv

INFLUENCE BIOLOGICALLY OF ACTIVE MATTERS IS ON PHYSIOLOGY BIOCHEMICAL HOMOEOSTASIS OF GENESIAL SYSTEM OF HEIFERS

The administration to donors of folicotropin in a complex from vitamin A, D₃, and E on the phone micromag increase the level biosynthetical processes in reproductive organs and the effectivity of polyovulation.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК 619: 612.1:636.2.084

Колтун Є.М., док. с-г. наук, професор ©
*Львівський національний університет ветеринарної
медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*

БІЛКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ХУДОБИ НА ТЛІ МІНЕРАЛЬНОГО ПРЕМІКСУ В ОНТОГЕНЕЗІ

Вивчено рівень білків у сироватці крові худоби в онтогенезі на тлі мінерального преміксу.

В організмі тварин відбуваються складні біохімічні процеси, у яких надзвичайно важливу роль відіграють білки крові. Останні складні за будовою, різноманітні за формою та лабільні до будь-яких впливів [1.2].

Крім цього, білки транспортують до тканин організму вуглеводи, ліпіди, вітаміни, гормони, пігменти, беруть участь у збереженні кислотно-лужної рівноваги, пов'язані з водним обміном, а також виконують захисну функцію [3].

Надзвичайно важливим показником функціональної діяльності організму худоби є метаболічні процеси білків. Порушення вказаного біохімічного стану може викликатись багатьма факторами як зовнішнього, так внутрішнього походження [4,5].

Особливе місце серед них займає поживність кормів раціону годівлі, його збалансованість за мінеральним, вітамінним, вуглеводним та енергетичним складом. При цьому рівень якості кормів впливає на процеси синтезу, засвоєння останніх та виведення кінцевих продуктів обміну речовин [6.7].

Слід зауважити, що біологічно необхідними у цьому процесі є металодефіцити, етіологічним фактором виникнення яких є збіднені на основні макро - мікроелементи корми[8,9].

Вони забезпечують організм тварини, у першу чергу, білками, а також мінеральними та енергетичними інгредієнтами, необхідними для процесів метаболізму[10].

Тому за зміною білків сироватки крові судять про стан основних функцій білків, оскільки альбуміни виконують пластичну функцію, транспортують пігменти, жирні кислоти; альфа і бета-глобуліни транспортують гормони, холестерин, фосфатиди, жирні кислоти; гамма-глобуліни-захисні білки, аглютиніни та комплімент.

Мета роботи

Вивчення динаміки загального білку і білкових фракцій у сироватці крові худоби в онтогенезі за мінерального преміксу.

Матеріал і методи. Дослідження проводились у приватній агрофірмі «Злагода» села Зубів Міст Кам'яно-Бузького району Львівської області на худобі чорно-рябої породи в онтогенезі протягом 120 днів. З цією метою

підібрано за принципом аналогів 30 голів худоби 4-6, 16-18 та 24-36місячного віку, з яких сформовано контрольну і дослідну групи, по п'ять голів у кожній.

Тваринам контрольної групи згодовували корми основного раціону,- дослідної-аналогічний раціон з мінеральним преміксом(вітамін В⁶-0,1, CuSO₄-0,005; ZnSO₄-0,2, КJ-0,03мг/кг живої маси тіла).

Основний раціон годівлі вмщував: силос кукурудзяний-40 кг.сіно різнотрав'я 1, солома пшенична озима-3, комбікорм -3, м'яса-1,2 кг., натрію хлорид -60г. Поживність раціону становила 9,4 кормових одиниць, перетравного протеїну містилося -800 г, кальцію-50 г, фосфору-20 г., та каротину-326 мг., на кормову одиницю припадало 80 г перетравного протеїну; кальцій-фосфорне співвідношення складало 2,5:1.

Концентрацію загального білка сироватки крові визначали рефрактометричним методом, а його фракцій -електрофорезом на поліакриламідному гелі. Матеріалом для досліджень слугувала кров, яку брали з яремної вени до ранішньої годівлі.

Результати дослідження. У результаті досліджень встановлено, що концентрація загального білка в сироватці крові телиць контрольної групи віком 4-6 місяців становила $6,0 \pm 0,09$ г%, тоді як у тварин, яким з кормами раціону згодовували мінеральний премікс вона збільшилась на 5,0 % ($P < 0,05$).

Аналогічні зміни спостерігались у тварин і стосовно концентрації альбумінів. Так, у телиць дослідної групи їх рівень порівняно з контрольною збільшувався на 11,5 % ($P < 0,05$)

У той час рівень глобулінів крові тварин другої групи залишався на рівні контролю що вказує на стимулювання інгредієнтами преміксу синтетичної функції печінки, в рибосомах якої проходив синтез білків.

Останній проходив з білків корму, які у процесі травлення втрачали свою видову специфічність перетворюючись у процесі метаболізму в амінокислоти організму.

Одночасно проходила організація фагоцитарно- мононуклеарної системи організму тварин, утвореної загальною кількістю макрофагів.

Таким чином, згодовування теличкам 4-6 місячного віку в складі основного раціону мінерального преміксу позитивно вплинуло на збільшення рівня білків сироватки крові за рахунок інтенсифікації синтезу альбумінів та росту продуктивності тварин.

Фізіологічний процес зміни рівня глобулінів сироватки крові проходив внаслідок перерозподілу концентрації альбумінів, що відповідно вплинуло до збільшення кількості загального білка.

Вказаний біологічний стан в організмі телят відбувався внаслідок стимулювання відповідних ланок основного обміну інгредієнтами преміксу.

Дослідженнями встановлено, що у тварин контрольної групи старшого віку, а саме 16-18 місячних нетелів, загальний білок складав $6,4 \pm 0,12$ г.%, достовірно зростаючи на 3,1% у тварин другої дослідної групи. Разом із збільшенням кількості загального білка у сироватці крові останніх зростав рівень альбумінів.

Таблиця

Загальний білок і його фракції у сироватці крові худоби в онтогенезі на тлі мінерального преміксу. $M \pm m, n=5$, г%

Групи тварин	Показники		
	Загальний білок	Альбуміни	глобуліни
Телички 4-6 місяців			
Контрольна	6,0±0,09	2,6±0,06	3,4±0,06
Дослідна	6,3±0,11	2,9±0,10	3,4±0,05
P<0,05			
Нетелі 16-18 місяців			
Контрольна	6,4±0,12	2,9±0,09	3,5±0,12
Дослідна	6,6±0,40	3,2±0,15	3,4±0,07
P <0,05			
Корови 24-36 місяців			
Контрольна	7,2±0,06	3,5±0,08	3,7±0,08
дослідна	7,3±0,10	3,4±0,24	3,9±0,09

P <0,05

Таким чином, згодовування нетелям мінерального преміксу обумовило перерозподіл білкових фракцій у сторону зниження в сироватці крові концентрації глобулінів.

Такий стан обміну білків сироватки крові молодняка худоби вказує на недостатні умови догляду та годівлі тварин.

Слід зауважити, що у корів 24-36 місячного віку концентрація загального білка, альбумінів та глобулінів мала тенденцію до зростання. В основному це стосується перших двох показників. Так, у тварин контрольної групи кількість загального білка становила $7,2 \pm 0,06$ г %, а згодовування їм з кормами основного раціону мінерального префіксу сприяло зменшенню концентрації альбумінів.

Рівень глобулінів, при цьому, у корів дослідної групи, навпаки, збільшився на 5,4 % $P < 0,05$, що позитивно характеризує імунологічну реакцію фізіологічно зрілого організму худоби.

Такий стан білкового обміну у тварин старшого віку пройшов внаслідок перерозподілу альбумінів і глобулінів на тлі фізіологічно-регуляторної дії мінерального префіксу.

Висновки

1. Згодовування мінерального преміксу теличкам 4-6 місячного віку обумовило корекцію біохімічного складу крові в сторону збільшення концентрації альбумінів.

2. У процесі онтогенезу дослідних тварин, яким згодовували у складі основного раціону мінеральний премікс в сироватці крові проходив перерозподіл альбумінів і глобулінів з одночасним зростанням концентрації імуноглобулінів.

Література

1. Колтун Є.М. Білки сироватки крові корів за кетозу. // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького. № 2(42) т.11, ч.1-Львів, 2009 с.110

2. Шарандак П.В., Шарандак В.І., Кузьміна Ю.В. Показники білкового та ліпідного обмінів в корів в умовах Луганської області. // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького. № 2(41) т.11, ч.1-Львів, 2009 с.343

3. Гончаренко В.В. Вплив калію йодиту на біохімічний склад крові нетелей Української чорно-рябої породи. // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького. № 2 (37) т.10, ч.1-Львів, 2008 с.49.

4. Маменко О.М. Портянник С.В. Порушення гомеостазу білків в організмі дійних корів при згодовуванні кормів з перевищеним вмістом важких металів. // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького. № 2(37) т.10, ч.1-Львів, 2008 с. 222.

5. Лаврів П.Ю. Білковий обмін у крові лактуючих корів при згодовуванні їм вико-вівсяно-горохової суміші в молочно-восковій стиглості на тлі нітратного навантаження раціонів.

// Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького. т.7, № 4(27) ч.2.-Львів, 2005 с.40-48

6. Холод В.М. Белки сыворотки крови в клинической и экспериментальной ветеринарии. -Минск. Урожай, 1983. с.68

Summary**BLOOD SERUM PROTEINS OF LSVE STOK ON THE BASIS OF MINERAL PREMIXES IN ONTOGENESE.**

During the live – stock ontogenesis. mineral premixes hand stimulates the synthesis of blood serum proteins and its fractions taking into account the increase of immunoglobulin's at the same time.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК 636.2:087.7:577.15:591.11.

Кропивка С.Й., кандидат с.-г. наук ©
Інститут біології тварин НААН України, м. Львів

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ У КРОВІ ТЕЛИЦЬ ЗА ЗГОДОВУВАННЯ СОЛЕЙ СЕЛЕНУ, ЦИНКУ І КАДМІЮ

У статті представлені дані про вплив згодовування добавок селеніту натрію, сульфату кадмію та сульфату цинку на біохімічні показники крові телиць. Встановлено, що аліментарне навантаження організму телиць селенітом натрію, сульфатом кадмію і цинку позитивно впливає на активність АТФ-ази, каталази, АЛАТ, АсАТ, рівень окисненого глутатіону.

Ключові слова: селен, цинк, корови-первістки, біохімічні показники, кров

Вступ. Біологічне значення селену, що застосовується як з профілактичною так і лікувальною метою, поширює інтерес дослідників до поглибленого вивчення його ролі в організмі тварин[1,2]. У корів селен як і вітамін Е впливає на чутливість до інфекцій. Так, забезпечення тварин цими біологічно-активними компонентами під час сухостійного періоду зменшує частоту післяродових маститів та їх тривалість[3,4]. Дані літератури свідчать про те, що селен є важливим чинником не лише в антиоксидантному захисті організму. Він відіграє важливу роль у функціонуванні імунної системи, є активнішим антиоксидантом, ніж вітаміни А, С, Е, активізуючи різні ланки імунітету і підвищуючи резистентність до захворювань[5,6,7]. Кадмій хімічно дуже близький до цинку і здатний заміщати його в біохімічних реакціях, зокрема, виступати як псевдоактиватор або, навпаки, інгібітор білків і ферментів, що містять цинк. Крім того, засвоєння кадмію можна зменшити, призначаючи одночасно селен, який служить протиотрутою не тільки для ртуті, але і для інших металів.

Тому метою роботи було порівняльне дослідження впливу солей цинку, кадмію та селену на сироватки крові телиць, нетелей і первісток та їх вплив на деякі високомолекулярні жирні кислоти.

Матеріал і методи. Дослід проводився в агрофірмі "Нива" Підволочиського району на чотирьох групах ремонтних телиць чорно-рябої породи парувального віку (14 – 15 місяців), живою масою 350-360 кг, нетелях і коровах-первістках, по 7 голів у кожній. Перша група (контрольна) утримувалася на раціоні годівлі згідно рекомендованих норм. Тваринам другої групи (II, дослідної) до основного раціону вводили селеніт натрію з розрахунку 0,3 мг селену на 1 кг сухої маси раціону, а третьої групи (III, дослідної) отримували аналогічну кількість селену в поєднанні з введенням в раціон кадмію і цинку відповідно 12,5 мг/гол/добу і 2,5 г/гол/добу у вигляді сірчаноокислих солей. Тваринам IV (дослідної) групи в раціон вводили таку ж кількість солей кадмію і цинку, але без селеніту натрію. Для біохімічного

дослідження відбирали кров із яремної вени у віці 15 міс. – до першого осіменіння, на 2-3, 5-6, 8-9 місяцях тільності, а також на 2-3 дні після отелення. У крові визначали вміст SH-груп, активність АлАТ, АсАТ, АТФ-ази еритроцитів, каталази[8].

Результати та обговорення. Аналіз результатів досліджень (табл. 1) свідчить, що у плазмі крові телиць у підготовчий період (до згодовування добавок селену, цинку і кадмію) всі показники знаходились в межах фізіологічної норми. Біологічна дія кадмію і цинку проявлялась вірогідним підвищенням активності SH-груп на 2 му місяці згодовування добавок у тварин III дослідної групи. В той же час рівень окисненого глутатіону, активність АТФ-ази в крові нетелів IV групи були вірогідно підвищені порівняно з контролем ($p < 0,05$), що очевидно є проявом дії для організму мінеральних добавок, коли інтенсифікуються біохімічні процеси. Натомість вірогідно знижувались активність АсАТ (на 21,6%), вміст глутатіону у відновленій формі (на 12,8%) в крові.

У дослідному періоді досліджень (на 5 місяці згодовування добавок) у дослідних групах тварин порівнянно до контролю спостерігалася тенденція до вищого вмісту SH-груп. Вміст глутатіону незначно знижувався у крові тварин II і III дослідних груп, і для IV дослідної групи різниці були вірогідні. Поряд з цим, у тварин III і IV груп зростала концентрація відновленого і окисненого глутатіону. У цьому ж періоді досліджень вірогідні зміни відмічені для АсАТ та каталазної активності у крові тварин III і IV дослідних груп відповідно.

Через сім місяців після початку згодовування добавок у крові нетелей IV групи знижувалася активність АсАТ на 19,4 ($p < 0,05$), АТФ-ази на 30,0% ($p < 0,05$), каталази на 12,0 % ($p < 0,05$) та в меншій мірі рівень відновленого глутатіону. Поряд з цим, у тварин цієї групи значно зростала концентрація окисненого глутатіону крові (на 14%). У тварин III групи при згодовуванні селеніту натрію у поєднанні з сульфатом кадмію і сульфатом цинку не виявлено суттєвої різниці в активності АТФ-ази та каталази крові.

Після отелення нетелей у крові тварин III групи вірогідно підвищувався вміст глутатіону, а у IV групи – знижувалася активність АлАТ у крові на 21,8%, АсАТ – на 15,4%. Однак, активність АТФ-ази в крові тварин II дослідної групи вірогідно підвищувалася на 26,8%, що вказує на позитивну дію селену на обмінні процеси в організмі в післяотельний період. У цей період вірогідно змінюється активність каталази у III і IV дослідних груп, зменшуючись на 9 і 15% відповідно.

Проведені нами дослідження дають підставу сформулювати висновок, що збагачення раціону селеном виявляє протекторну дію, знижуючи токсичний вплив ксенобіотиків в організмі піддослідних тварин, про що свідчать зміни досліджених показників крові телиць, нетелей і корів-первісток.

Висновки. Підвищений рівень селену в раціоні телиць позитивно впливає на активність АТФ-ази, що підвищувалася на 16% ($p < 0,05$) (IV група), каталази, АлАТ, АсАТ, зростала кількість окисненого глутатіону ($p < 0,05$).

Активність АТФ-ази, а також рівень окисненого глутатіону в крові через п'ять місяців після початку згодовування мінеральних добавок у нетелів IV групи були підвищені порівняно з їх величинами у крові тварин контрольної групи ($p < 0,05$).

1. Біохімічні показники крові нетелів і корів-первісток, $M \pm m$, $n = 4-5$

Показники	Група тварин	Періоди досліджень				
		підготовчий- до згодову- вання добавок	дослідний – місяці тільності та дні після отелення			
			2-3	5-6	8-9	2-3 після отелення
SH-групи, ммоль/л	I	0,283±0,044	0,187±0,003	0,286±0,009	0,267±0,017	0,386±0,019
	II	0,250±0,029	0,196±0,037	0,280±0,012	0,250±0,029	0,366±0,022
	III	0,217±0,017	0,159±0,008*	0,300±0,014	0,322±0,036	0,350±0,017
	IV	0,267±0,017	0,205±0,031	0,292±0,019	0,375±0,043	0,392±0,006
Глютатіон, мг%: загальний	I	32,27±0,84	33,62±1,19	32,51±0,94	31,49±1,47	33,33±1,44
	II	32,88±0,74	32,71±0,74	32,92±1,14	31,28±2,76	33,53±0,54
	III	31,90±1,45	32,02±1,59	33,74±0,94	32,92±1,95	34,35±0,71
	IV	32,51±1,15	32,15±1,28	30,88±1,02	30,26±0,41	32,31±0,20
відновлений	I	28,34±0,65	29,69±1,02	28,83±0,93	28,01±1,59	28,63±1,34
	II	28,95±0,71	28,34±0,85	28,42±1,67	27,20±3,29	28,43±0,54
	III	27,85±1,26	26,99±1,46	28,22±1,27	26,79±1,95	27,81±0,89
	IV	28,34±1,09	26,99±1,27	28,15±0,35*	24,75±0,54	26,79±0,41
окиснений	I	3,93±0,24	3,92±0,37	3,68±0,35	3,47±0,54	4,70±0,73
	II	3,93±0,15	4,40±0,30	4,50±0,73	4,09±0,54	5,11±0,21
	III	4,05±0,31	5,03±0,23	5,52±0,35*	6,13±0,31*	6,54±0,20
	IV	4,17±0,45	5,15±0,31*	5,73±0,74	5,51±0,35*	5,52±0,35
АлАТ мккат/л	I	-	0,287±0,030	0,373±0,047	0,280±0,024	0,248±0,034
	II	-	0,305±0,021	0,312±0,013	0,278±0,023	0,214±0,018
	III	-	0,287±0,020	0,353±0,010	0,276±0,024	0,255±0,017
	IV	-	0,243±0,025	0,333±0,025	0,233±0,032	0,194±0,025
АсАТ мккат/л	I	-	0,379±0,012	0,486±0,033	0,460±0,009	0,395±0,030
	II	-	0,411±0,031	0,407±0,035	0,419±0,025	0,302±0,028
	III	-	0,387±0,020	0,411±0,019	0,430±0,012	0,356±0,040
	IV	-	0,388±0,013	0,381±0,014*	0,371±0,013*	0,334±0,033
АТФ-аза мкМФ _n / год/100мл	I	70,30±2,20	58,27±1,93	56,66±4,41	67,53±3,42	46,67±1,94
	II	73,42±1,03	56,45±2,60	55,14±3,72	69,27±5,83	59,19±1,99*
	III	70,37±2,79	62,98±1,85	56,65±4,68	57,68±3,15	49,89±2,01
	IV	71,04±1,88	67,49±2,13*	62,98±2,19	47,30±3,23*	45,95±2,66
Каталаза, од. активності	I	12,38±0,29	11,15±0,52	11,39±0,29	11,47±0,43	12,04±0,13
	II	11,79±0,25	12,07±0,54	11,39±0,45	12,13±0,29	12,21±0,26
	III	12,07±0,28	11,32±0,57	10,31±0,40*	10,65±0,59	10,96±0,25*
	IV	12,12±0,27	10,23±0,39	11,16±0,39	10,09±0,06*	10,22±0,06*

Проявляючи детоксикаційну функцію, селеніт натрію, очевидно, збільшує інтенсивність виведення кадмію і цинку з організму та створює можливість профілактики і корекції кадмієвої інтоксикації та впливу на гомеостаз організму.

Література

1. Дьяченко Л.С., Приліпко Т.М. Ефективність різних рівнів селену в раціоні сухостійних корів // Наук. Вісник ЛДАВМ. — 2000. — Т.2, №2 (ч.3). — С.45—48.
2. Хомин М.М., Федорук Р.С., Цап О.Ф., Храбко М.І. Вплив селеновмісних препаратів на антиоксидантну та дезінтоксикаційну здатність організму телят //НТБ ІБТ і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – Львів. – 2006. – Вип. 7, № 1, 2. – С. 227 – 230.
3. Кравців Р. Й. Роль селену в життєдіяльності тварин (біологічні, ветеринарно-медичні, екологічні аспекти) [Текст] / Р. Й. Кравців, Д. О. Янович // Біологія тварин. — 2003. — Т.5, № 1–2. — С. 23–38.
4. Голубкина Н.А. Селен в медицине и экологии / Н.А. Голубкина, А.В. Скальный, Я.А. Соколов, Л.Ф. Щелкунов. М., изд-во КМК, – 2002. – 134с.
5. Снітинський В.В., Антоняк Г. Л. Біохімічна роль селену // Укр. біохім. журнал – 1994. – Т.66, – №5. – С. 3-16.
6. Приліпко Т.М. Вплив різних рівнів селену на перетравність і обмін речовин у телят // Наук. Вісник ЛДАВМ.- 2001.- т.3, №3 – С.94-97.
7. Tuner R.S., Finch J.M. Selenium and the immune response // Proc. – Nutr. Soc. – 1991. – Vol. 50, №2. – P. 275-285.
8. Влізло В. В., Федорук Р. С., Макар І. А. Довідник: Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині.— Львів, 2004. — 399с.

Summary

S.Y. Kropyvka

The Institute of Animal Biology UAAS, Lviv

PHYSIOLOGIC-BIOCHEMICAL PROCESSES IN THE ORGANISM OF HEIFERS, NON-CALVING YOUNG COWS AND FIRST-CALF HEIFERS UNDER THE FEEDING OF SELENIUM, ZINK AND CADMIUM SUPPLEMENTS

The data about the influence of feeding of sodium selenite, cadmium sulphate, zink sulphate on the biochemical indices in the blood of heifers were presented. It was established alimentary loading of selenium, cadmium, zink positive influences on the ATP-ase, catalase, AST, ALT activities, oxidized glutathione content.

Стаття надійшла до редакції 8.09.2010

УДК 636.2:577.15:612.616.

Кузьміна Н.В., пров.фахівець,
Остапів Д.Д., док. с/х наук, пров. наук. співробітник
Яремчук І.М., наук.співробітник ©
Інститут біології тварин НААН України, Львів

ІЗОФОРМИ АСПАРТАТАМІНОТРАНСФЕРАЗИ В ЕЯКУЛЯТАХ БУГАЇВ

Досліджували ізоформи АСТ в еякулятах бугаїв у зв'язку з виживанням спермійв. У спермі плідників виявлено дві ізоформи аспартатамінотрансферази (АСТ1 та АСТ2), які відрізняються між собою електрофоретичною рухливістю та інтенсивністю зафарбування у 7,5% поліакриламідному гелі. Між часом виживання спермійв та активністю аспартатамінотрансферази існує кореляція - сильна пряма з АСТ1 ($\eta^2_{АСТ1} = 0,88$) і обернена - з АСТ2 ($\eta^2_{АСТ2} = 0,87$). В процесі інкубування сперми співвідношення ізоформ АСТ змінюється – зростає вміст АСТ1 і знижується - АСТ2. Кореляційне відношення за часом виживання спермійв при інкубуванні еякулятів для ізоформ ферменту становить, відповідно, до 100 год. - $\eta^2_{АСТ1} = 0,68$ і $\eta^2_{АСТ2} = 0,69$ і більше 100 год. - $\eta^2_{АСТ1} = 0,92$ і $\eta^2_{АСТ2} = 0,69$.

Ключові слова: аспартатамінотрансфераза, ізоформи, виживання спермійв, сперма, електрофорез.

Вступ. Аспартатамінотрансфераза (ЕС 2.6.1.1 L-аспартат : 2-оксоглутарат амінотрансфераза, АСТ; глутамат: оксалоацетат трансаміназа, ГОТ), фермент класу трансфераз, що каталізує за участю коферменту піридоксаль-5'-фосфату, обернене перенесення аміногрупи (трансамінування) від L-аспартату на α -кетоглутарат з утворенням оксалоацетату і L-глутамату. АСТ міститься в більшості тканин ссавців, є внутрішньоклітинним ферментом, складається переважно з двох субодиниць і існує у вигляді двох ізоформ – цитозольної (цАСТ, мол.в. ~ 92,6 тис.) і мітохондріальної (мАСТ, мол.м. ~ 89,8 тис.), які відрізняються між собою за фізико-хімічними властивостями. Близько 1/3 загальної внутрішньоклітинної активності АСТ локалізується в цитоплазмі клітин, 2/3 - в мітохондріях [1, 2]. АСТ виконує роль зв'язуючої ланки між білковим і енергетичним обмінами. Продукт її реакції глутамат – вихідна сполука катаболізму амінокислот; а оксалоацетат – один з головних регуляторних чинників, що визначає швидкість функціонування циклу трикарбонних кислот [3]. Ізоформи АСТ є компонентами малат-аспартаного шунту функціонуючого в клітках печінки, нирок та серця [4].

Визначення активності АСТ в сироватці або плазмі крові широко використовується в клінічній практиці для діагностики захворювань серця, печінки, крові, опорно-рухової системи та інших. При порушенні цілісності цитоплазматичної мембрани фермент виділяється з пошкоджених клітин в кров де його активність значно зростає. Для ензимодіагностики має велике значення

знання про субклітинну локалізацію ферменту. Так, поява в позаклітинній рідині цАСТ, свідчить про запальний процес, а при виявленні мітохондріальної фракції - про значні пошкодження тканин, наприклад, некроз.

Активність аспартатамінотрансферази проявляється у спермі плідників. Встановлено, що величина активності ферменту в еякулятах, поряд з іншими показниками, може служити маркером запліднювальної здатності сперміїв [5-8]. Тому метою роботи було вивчити ізоформи АСТ в еякулятах бугаїв у зв'язку з виживанням сперміїв.

Матеріали і методи. Для досліджень використовували свіжоотримані еякуляти бугаїв ($n = 22$), які належать НВО «Західплемресурси». У спермі свіжоотриманій та інкубованій при температурі $+2-4^{\circ}\text{C}$ (на першу, другу, третю та четверту доби) вивчали ізоформи білків АСТ (%) і виживання сперміїв (год.) до припинення прямолінійного поступального руху. Ізоформи АСТ виявляли після електрофорезу у 7,5% поліакріламідному гелі (ПААГ), для чого цільну сперму розбавляли 1:1 Трис-гліциновим буфером і додавали 0,05 мл 40% сахарози. У лунки концентруючого гелю вносили 0,04 мл проби (концентрація білка 50-100 мкг). Фарбування пластин гелю для виявлення ізоформ АСТ здійснювали методом [9] в нашій модифікації: після електрофорезу пластини ПААГ занурювали у середовище, що містило 0,5 мг/мл пірідоксаль-5-фосфату, 30 мг/мл альбуміну, 0,2 М L,D-аспарагінової кислоти, 0,1 М α -кетоглутарату та 150 мг діазолію синього С (міцного синього В) на 50 мл 0,2 М Na/K фосфатного буферу (рН 7,5) та інкубували 30 хв. при температурі 37°C . При інкубуванні гелю ізоформи аспартатамінотрансферази зафарбовуються в червоно-коричневий колір в наслідок наступних реакцій:

1. аспартат + α -кетоглутарат \leftrightarrow оксалоацетат + глутамат;
2. оксалоацетат + діазолій синій С \rightarrow зафарбований комплекс.

Після фарбування гелі фіксують в 7% розчині трихлороцтової кислоти протягом 20 хв., а потім відмивають залишки не зв'язаної фарби і зберігають в 7% розчині оцтової кислоти.

Результати досліджень. В досліджених еякулятах бугаїв виявлено дві ізоформи АСТ, які в залежності від електрофоретичної рухливості у 7,5 % ПААГ позначили як АСТ1 (менш рухлива) та АСТ2 (більш рухлива; рис. 1).

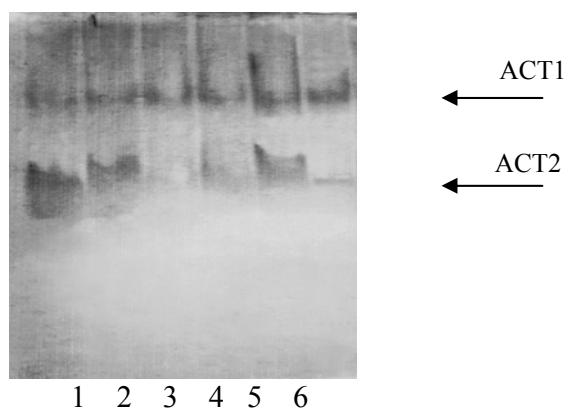


Рис. 1. Білки АСТ сперми бугаїв (АСТ1 і АСТ2 - ізоформи АСТ; 1 - 6 треки - свіжоотримана сперма бугаїв).

Як видно з рис. 1 ізоформи АСТ відрізняються як за швидкістю руху в процесі електрофоретичного розділення білків, так і за інтенсивністю прояву та площею зафарбованих смуг ізоформ ферменту.

Встановлена відмінність свідчить про неоднакову активність ізоформ ферменту у еякулятах бугаїв, що, відповідно, вказує на якість статевих клітин. Так, для сперми бугаїв з часом виживання сперміїв менше 100 та більше 100 год. характерний різний вміст ізоформ АСТ (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст ізоформ АСТ (%) свіжоотриманої сперми бугаїв та виживання сперміїв

Ізоформи АСТ	Вживання, год.		
	<100 n=8	100-144 n=9	>144 n=5
АСТ1	37,6±1,45	64,4±2,03***	68,5±1,80***
АСТ2	62,4±1,80	35,6±2,14***	31,5±1,79***

Примітка: *** - $p < 0,001$ різниця статистично вірогідна порівняно з мінімальною величиною.

У свіжоотриманих еякулятах з величиною фізіологічного показника більше 100 год. вміст АСТ1-ізоформи вищий на 26,8 - 30,9% ($p < 0,001$), ніж при виживанні сперміїв менше 100 год (37,6±1,45%), а вміст АСТ2-ізоформи, навпаки, нижчий. Аналіз кореляції свідчить, що між ізоформами АСТ та тривалістю виживання статевих клітин існує сильна залежність: для АСТ1 – пряма, а для АСТ2 – обернена. Кореляційне відношення за виживанням сперміїв для ізоформ становить: $\eta^2_{АСТ1} = 0,88$ та $\eta^2_{АСТ2} = 0,87$. Таким чином, співвідношення ізоформ ферменту у свіжоотриманих еякулятах бугаїв є показником тривалості виживання сперміїв.

В процесі інкубування сперми співвідношення ізоформ АСТ змінюється. В еякулятах з величиною фізіологічного показника менше 100 год. на другу добу інкубування, в порівнянні з першою, зростає вміст АСТ1-ізоформи на 16,8 %, досягаючи свого максимуму на третю (61,43±2,41%, $p < 0,001$), а вміст АСТ2-ізоформи, відповідно, знижується з 65,5±1,20% (перша доба) до 39,0±2,70% (третя доба; рис. 1).

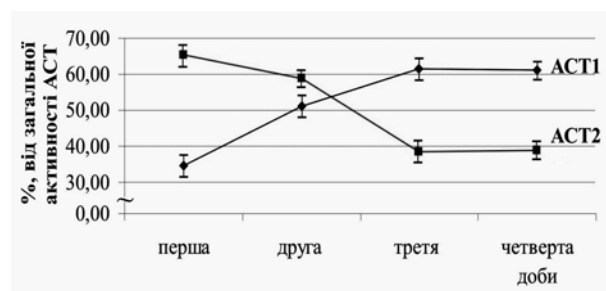


Рис. 1. Вміст ізоформ АСТ при інкубуванні у еякулятах з виживання сперміїв менше 100 год.

При тривалості виживання сперміїв більше 100 год. вміст АСТ1-ізоформи зменшується на другу добу - на 12,9%, на третю повертається до вихідної

величини ($65,0 \pm 1,52\%$) і на четверту збільшується на 5,8%, порівняно з першою добою (рис. 2). Отже, з вищою величиною фізіологічного показника

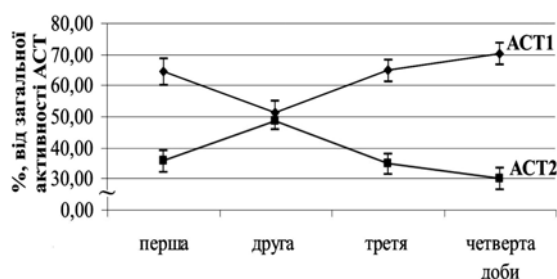


Рис. 2. Вміст ізоформ АСТ при інкубуванні у еякулятах з виживання спермій більше 100 год.

співвідношення ізоформ АСТ змінюється у спермі меншою мірою ($p < 0,05$), порівняно з низьким часом виживання спермій ($p < 0,001$). Із аналізу кореляції випливає, що між часом інкубування сперми та вмістом ізоформ АСТ існує сильна залежність: для АСТ1 – пряма, а для АСТ2 – обернена. Кореляційне відношення за часом інкубування для ізоформ ферменту становить, відповідно, до 100 год. - $\eta^2_{\text{АСТ1}} = 0,68$ і $\eta^2_{\text{АСТ2}} = 0,69$ і більше 100 год. - $\eta^2_{\text{АСТ1}} = 0,92$ і $\eta^2_{\text{АСТ2}} = 0,69$.

Таким чином, при збільшенні часу інкубування еякулятів відбуваються зміни активності АСТ-ізоформ, які можуть свідчити про оптимізацію забезпечення енергією статевих клітин в процесі виживання, а співвідношення ізоформ ферменту у свіжоотриманій спермі служить критерієм життєздатності спермій.

Висновки.

1. В спермі бугаїв виявлено дві ізоформи АСТ, які відрізняються між собою за електрофоретичною рухливістю та інтенсивністю зафарбування у ПААГ.

2. Встановлена кореляція з часом виживання спермій - сильна пряма для АСТ1 ($\eta^2_{\text{АСТ1}} = 0,88$) та обернена - для АСТ2 ($\eta^2_{\text{АСТ2}} = 0,87$) ізоформ.

3. В процесі інкубування сперми співвідношення ізоформ АСТ змінюється. Кореляційне відношення за часом інкубування еякулятів для ізоформ ферменту становить, відповідно, до 100 год. - $\eta^2_{\text{АСТ1}} = 0,68$ і $\eta^2_{\text{АСТ2}} = 0,69$ і більше 100 год. - $\eta^2_{\text{АСТ1}} = 0,92$ і $\eta^2_{\text{АСТ2}} = 0,69$.

Література.

1. Биохимия. /Под ред. Е.С. Северина. — Москва: Мир. — 2003. — С. 119-124.

2. Leung F.Y. Isolation and purification of aspartate aminotransferase isoenzymes from human liver by chromatography and isoelectric focusing / Leung F.Y., Henderson A.R. //Clin. Chem. — 1981. — Vol.27. — N2. — P. 232-235.

3. Córdoba M. Heparin and quercetin generate differential metabolic pathways that involve aminotransferases and LDH-X dehydrogenase in cryopreserved bovine spermatozoa / Córdoba M., Pintos L.N., Beconi M.T. //Theriogenology. — 2007 — Vol. 67 — P. 648-654.

4. Mitchell M. Disruption of Mitochondrial Malate-Aspartate Shuttle Activity in Mouse Blastocysts Impairs Viability and Fetal Growth / Mitchell M., Cashman K. S., Gardner D., Thompson J., Lane M. // *Biology of Reproduction*. — 2009. — Vol. 80. — N. 2. — P. 295-301.

5. Nizański W. Effects of three cryopreservation methods and two semen extenders on the quality of dog semen after thawing / Nizański W., Dubiel A., Bielas W., Dejneka G.J. // *Reprod. Fertil. Suppl.* — 2001. — Vol. 57. — P. 365-369.

6. Gaczarzewicz D. Plasma membrane changes during the liquid storage of boar spermatozoa: a comparison of methods. / Gaczarzewicz D., Piasecka M., Udała J., Błaszczuk B., Stankiewicz T., Laszczyńska M. // *Acta Vet. Hung.* — 2010. — Vol. 58. — N. 1. — P. 105-116.

7. Gündoğan M., Yeni D., Uçar M., Ozenç E. Relationship between some reproductive parameters and biochemical properties of blood serum in rams. / Gündoğan M., Yeni D., Uçar M., Ozenç E. // *Arch. Androl.* — 2004. — Vol. 50. — N. 6. — P. 387-390.

8. Kozdrowski R., Dubiel A. The effect of season on the properties of wild boar (*Sus scrofa* L.) semen. / Kozdrowski R., Dubiel A. // *Anim. Reprod. Sci.* — 2004. — Vol. 80. — N. 3-4. — P. 281-289.

9. Alfano J. Isolation and characterization of a gene coding for a novel aspartate aminotransferase from rhizobium meliloti / Alfano J., Kahn M. // *Journal of Bacteriology* — 1993. — Vol. 175. — P. 4186-4196.

Summary

Kuzmina N.V., Ostapiv D. D., Yaremchuk I. M.

Institute of animal biology NAAS of Ukraine

ISOFORMS OF ASPARTATEAMINOTRANSFERASE IN BULL'S EJACULATES

The isoforms of AST in bull's ejaculates in connection with survival of spermatozoa were studied. In sperm of bulls – sires were found two isoforms of aspartateaminotransferase (AST1 and AST2) that differ by their electroforetical mobility, and intensity of colouring in 7,5% polyacrylamide gel. Between time of survival of spermatozoa and activity of aspartateaminotransferase exists strong direct correlation for AST1 ($\eta^2_{AST1} = 0,88$), and inverse – for AST2 ($\eta^2_{AST2} = 0,87$). During the incubation of sperm correspondence of isoforms of AST changes: increases the content of AST1 and decreases AST2. Correlation ratio between time of incubation of ejaculates and isoforms of enzyme, to 100 hours, is: - $\eta^2_{ACT1} = 0,68$ i $\eta^2_{ACT2} = 0,69$, and more than 100 hours: $\eta^2_{AST1} = 0,92$ i $\eta^2_{AST2} = 0,69$.

Стаття надійшла до редакції 3.09.2010

УДК 577.115 : 612,128 : 636.087.7.

Куртяк Б.М., доктор ветеринарних наук**Ненич Н.П.**, пошукач[©]*Львівський національний університет ветеринарної медицини**та біотехнологій ім. С.З. Гжицького**Інститут біології тварин НААН України*

МЕТАБОЛІЧНИЙ ПРОФІЛЬ КРОВІ КУРЧАТ – БРОЙЛЕРІВ ЗА РІЗНОГО РІВНЯ ХРОМУ В РАЦІОНІ

У статті наведені дані про вплив хрому при додаванні його до згодовуваного курчатам–бройлерам комбікорму в кількості 400, 800, 1600, 3200 мкг/кг на ряд показників білкового, ліпідного і вуглеводного обмінів в їх крові. Виявлено достовірне зменшення вмісту загальних ліпідів і триацилгліцеролів та збільшення вмісту глюкози і вільних амінокислот в крові курчат–бройлерів, яким згодовували комбікорм, що містив 400, 800 і 1600 мкг/кг хрому, порівняно до їх вмісту крові курчат–бройлерів контрольної групи.

Ключові слова: курчата-бройлери, кров, білки, ліпіди, вуглеводи, продукти ПОЛ, вільні амінокислоти, вільні жирні кислоти.

В останні роки встановлено, що додавання неорганічних і органічних сполук хрому до раціону курей – несучок позитивно впливає на їхню продуктивність і обмін речовин в організмі. Зокрема, встановлено, що хромпіколінат при додаванні його до раціону курей–несучок попереджує зниження їхньої яєчної продуктивності за умов холодого і теплового стресів [1-5]. При цьому в крові курей–несучок зменшується концентрація кортизолу [5], глюкози, холестеролу [2,7] і продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [4]. Є дані про позитивний вплив добавок хрому до раціону курчат–бройлерів на їх ріст, засвоєння поживиних речовин корму і покращення якості тушок [6,7]. При цьому в тушці курчат–бройлерів зменшується кількість внутрішнього жиру та збільшується маса грудних м'язів. Проте, біохімічні механізми впливу добавок до раціону курчат–бройлерів на їхню продуктивність вивчені значно менше, ніж у курей–несучок.

Мета досліджень. Метою досліджень було вивчення впливу хрому при додаванні різної його кількості до курчат–бройлерів у вигляді CrCl₃ на вміст білків, ліпідів, глюкози і продуктів ПОЛ в їх крові.

Матеріал і методи. Дослід проведено в умовах віварію Інституту біології тварин НААН України на 5-ти групах курчат–бройлерів кросу Cobb-500, по 7 голів у кожній. Курчатам 1-ї (контрольної) групи згодовували стандартний комбікорм, до якого хром не додавали. Курчатам 2-, 3-, 4- і 5-ї (дослідних) груп з 15-денного віку згодовували той же комбікорм, що і курчатам 1-ї групи, до якого додавали відповідно 400, 800, 1600 і 3200 мкг/кг хрому у вигляді хлористого хрому. У 45-денному віці від курчат–бройлерів всіх груп

одержували кров для біохімічних досліджень. У сироватці крові визначали вміст загального білка [8], у плазмі крові – вміст загальних ліпідів, триацилгліцеролів, холестеролу [8], гідро перекисів ліпідів [9] і ТБК-продуктів [10], у цільній крові – вміст глюкози, пірвіноградної і молочної кислот [8] шляхом використання стандартних наборів фірми “Lachema” (Чехословаччина). Одержані цифрові дані опрацьовували статистично.

Результати дослідження. З наведених у таблиці даних видно, що підвищення рівня хрому в раціоні курчат–бройлерів шляхом додавання до комбікорму CrCl_3 селективно впливає на ряд досліджуваних показників обміну речовин в їх крові. Про це свідчать значні, у більшості випадків достовірні, різниці в ряді показників білкового, ліпідного і вуглеводного обмінів у крові курчат–бройлерів дослідної групи, порівняно до показників у курчат–бройлерів контрольної групи. Зокрема, у сироватці крові курчат–бройлерів 2-, 3- і 4-ї груп виявлено більший вміст вільних амінокислот, ніж і сироватці крові курчат–бройлерів 1-ї групи ($P < 0,05 - 0,001$), а різниці у вмісті загального білка при цьому були не суттєві ($P < 0,05$).

Таблиця

Вміст білків, ліпідів, глюкози і продуктів пер оксидного окиснення ліпідів у крові курчат–бройлерів за різного рівня хрому в раціоні ($M \pm m$, $n=4$)

Досліджувані показники	Групи курчат				
	1 (контроль-на)	2 (400 мкг/кг Cr)	3 (800 мкг/кг Cr)	4 (1600 мкг/кг Cr)	5 (3200 мкг/кг Cr)
Загальний білок, г/л	37,2±2,53	35,6±1,91	37,3±3,08	38,5±1,90	38,1±0,65
Загальні ліпіди, г/л	6,27±0,71	5,70±0,18	5,44±0,31*	5,46±0,23**	4,81±0,23***
Триацилгліцероли, г/л	1,71±0,12	1,16±0,08**	0,99±0,16*	1,12±0,09**	1,30±0,07*
Холестерол, г/л	3,66±0,08	3,23±0,07	3,50±0,05	3,33±0,03**	3,60±0,03
Глюкоза, ммоль/л	7,58±0,16	9,62±0,49**	8,87±0,18***	7,68±0,42	7,31±0,08
Піруват, ммоль/л	57,08±6,38	79,0±6,71*	63,1±5,13	67,4±5,99	6,4±5,15
Лактат, ммоль/л	2,52±0,09	1,98±0,07**	2,02±0,22*	2,00±0,19*	2,35±0,27
Вільні жирні кислоти, мкекв/л	111,0±9,53	97,5±5,90	93,5±10,9	105,7±8,42	108,8±9,53
Вільні амінокислоти, мг/л	93,1±9,25	146,2±10,8**	126,1±4,87***	1,18±11,7*	113,5±5,18
Гідроперекиси ліпідів, ОЕ/мл	2,39±0,04	2,45±0,14	2,45±0,06	2,32±0,20	2,35±0,05
ТБК-продукти, нмоль/мл	1,76±0,06	1,51±0,06*	1,59±0,05	1,67±0,06	1,61±0,09

Примітка: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$.

Ці дані становлять інтерес у зв'язку з наявними в літературі даними [6,7] про стимулювальний вплив хрому при додаванні його до раціону курчат–бройлерів на їх ріст, в основі якого лежить підвищення інтенсивності синтезу білків, попередником яких є вільні амінокислоти. Разом з цим, показаний вплив добавок хрому до раціону курчат–бройлерів на засвоєння поживних речовин, у тому числі протеїну корму [6,7].

При цьому у плазмі крові курчат–бройлерів 2-, 3- і 4-ї груп, порівняно до курчат–бройлерів 1-ї групи, виявлено значно менший вміст загальних ліпідів ($P < 0,5 - 0,01$), триацилгліцеролів ($P < 0,05 - 0,01$) і холестеролу ($P < 0,5 - 0,01$). Ці дані свідчать про антиліпогенну дію хрому в організмі курчат–бройлерів, що дозволяє пояснити виявлене деякими авторами [6,7] зменшення вмісту мезентеріального жиру у курчат–бройлерів при підвищенні рівня хрому в їхньому раціоні.

Разом з цим, у крові курчат–бройлерів 2-ї і 3-ї груп виявлено більший вміст глюкози ($P < 0,01$; $P < 0,001$), ніж у крові курчат–бройлерів 1-ї групи. Ці дані заслуговують на увагу у зв'язку з наявними в літературі даними [2,3] про зменшення рівня глюкози в крові курей–несучок при підвищенні рівня хрому в раціоні. З'ясування причинно-наслідкового значення цих різниць вимагає дальших досліджень. Виявлене нами збільшення вмісту лактату у крові курчат–бройлерів 2-, 3- і 4-ї груп, порівняно до його вмісту в крові курчат–бройлерів 1-ї групи, дозволяє зробити припущення, що причиною більшого вмісту глюкози у крові курчат–бройлерів 2-ї і 3-ї груп може бути зниженням інтенсивності її метаболізму глікотичним.

Різниця у вмісті продуктів ПОЛ, за винятком більшого вмісту ТБК-продуктів, у плазмі крові курчат–бройлерів дослідних груп, порівняно до курчат контрольної групи, невірогідні. З цих даних випливає, що на відміну від курей–несучок підвищення рівня хрому в раціоні курчат–бройлерів суттєво не впливає на пероксидні процеси в їхньому організмі.

З інших даних заслуговує на увагу відсутність вірогідних різниць у всіх досліджуваних показниках у крові курчат–бройлерів 5-ї групи, порівняно до показників у крові курчат–бройлерів 1-ї групи. З цих даних випливає, що вплив на досліджувані показники обміну речовин в крові курчат–бройлерів, в основному виявляють менші дози хрому (400, 800 мг/кг), ніж великі, особливо 3200 мг/кг.

Висновки.

При згодовуванні курчатам–бройлерам з 15 до 45-денного віку комбікорму з добавкою хрому в кількості 400, 800, 1600 мг/кг у вигляді CrCl_3 виявлено достовірне зменшення вмісту загальних ліпідів, триацилгліцеролів і збільшення вмісту глюкози і вільних амінокислот, порівняно до їх вмісту в крові курчат–бройлерів контрольної групи.

Збільшення вмісту хрому в комбікормі до 3200 мг/кг суттєво не вплинуло на досліджувані показники обміну речовин в крові курчат–бройлерів.

Перспектива дальших досліджень. Виходячи з одержаних результатів становить інтерес дослідження впливу менших доз хрому на метаболічний профіль крові курчат–бройлерів.

Література

1.Sahin N. Effects of dietary combination of chromium and zinc on egg production, egg quality and some blood metabolites of laying hens reared under low ambient temperature / N. Sahin, M. Onderci, K. Sahin // Biol. Trace Elem. Res. – 2002 (a). – Vol.85. – P. 47 – 58.

2.Sahin K. Chromium supplementation can alleviate nehatve effects on heat stress on egg production, egg quality and some serum metabolites of laying hans / K. Sahin, O. Ozbey, M. Onderci // J. Nutr. – 2002 (b). – Vol.132. – P. 1265–1268.

3.Sahin K. Effects of dietary chromium picolinate an ascorbic acid supplementation on egg production, egg quality and some serum metabolites of laying hens reared under a low ambient temperature / K. Sahium, M. Ondercy, N. Sahin, S. Aydin // Arch. Tierernahr. – 2002 (c). – Vol.56, № 1. – P. 41–49.

4.Sahin K. Effects of dietary chromium and ascorbic acid supplementation on digestion of nutrients, serum antioxidant status, and mineral concentrations in laying hens reared at a low ambient temperature / K. Sahin, N. Sahin, O. Кусук // Biol. Trace Elem. Res. – 2002 (d). – Vol.87, № 1–3. – P. 113–124.

5.Sahin K. Effects of dietary chromium picolinate supplementation on performance, insulin and corticosterone in laying hens under low ambient temperature // K. Sahin, O. Kucuk, N. Sahin // Anim. Physiol. Anim Nutr. (Berl.). – 2001. – V.85, № 5–6. – P. 142–147.

6.Sahin K. Optimal dietary concentration of chromium foralleaviating the effect of heat stress on growth, carcass qualities, and some serum metabolites of broiler chickens / K.Sahin, N.Sahin, M.Onodery et. al. // Biol. Trace Elem. Res.– 2002.– V.89, № 1. – P. 53–69.

7.Fognyani M. Performance carcass traits and hematological parameters of heat stressed broiler chicks in response to dietary levels of chromium picolinate / M.Fognyani, M.Svivazad, A.A. Cheisari [et al.] // Int. J. Poultry Sci. – 2006. – V.5, N 1. – P. 65 – 69.

8.Методики досліджень з фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин. – Львів, 1998. – 131с.

9.А.С. N 1084681 СССР МКИ G № 33/48 Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / В.В. Мирончик (СССР). - № 3468369/28-13; заявл. 0.8.07.82; опуб. 07.04.84, оф. бюл. №13. – 2 с.

10.Э.Н.Коробейникова. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э.Н.Коробейникова // Лаб. Дело. – 1989. – В.7. –с. 8– 9.

Summary

Kurtyak B.M., Nenysh N.P.

METABILICAL BLOOD PROFILE OF BROILER CHICKENS AT DIFFERENT CHROMIUM LEVEL IN DIET

Data concerning chromium influence after its addition to chickens diet in the dose of 400, 800 and 1200 mkg/kg on protein, fat and carbohydrates metabolism in blood are presented. Realisticolly significant decreasing of total lipids and triacylglycerols and increasing of glucose and free acids concentration in blood in comporison to control group was established.

Key words: broiler chickens, blood, proteins, lipids, carbohydrates, lipids peroxidation products, free aminoacids, free fatty acids.

Стаття надійшла до редакції 16.09.2010

УДК: 616.2-002.018:612.013

Маслянюк Р.П., доктор біологічних наук, професор,
Левківський Д.М., кандидат ветеринарних наук, доцент ©
*Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького*

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ ІНТЕРФЕРОНУ У НЕОНАТАЛЬНИХ ТВАРИН

У статті представлено сучасні уявлення про морфофункціональні особливості системи інтерферону. Детально описано механізм дії інтерферонів, питання взаємозв'язку між імунною системою та системою інтерферонів.

Представлено сучасні дані про роль і функціонування системи інтерферонів в організмі тварин у ранньому віці, проаналізовано результати досліджень інтерферонів у телят і ягнят з гострим захворюваннями органів дихання та шлунково-кишкової патології.

Ключові слова: тварини, система інтерферону, імунна система, хвороби телят, ягнят.

Проблема профілактики та лікування новонароджених тварин з різними патологіями респіраторного та шлунково-кишкового тракту постійно знаходиться в сфері уваги ветеринарної медицини. Щорічно в Україні та в інших країнах захворюваність неонатальних тварин складає не менше 40%, значна частина їх гине. Високий рівень захворювань тварин пов'язаний з виключно легкістю розповсюдження інфекції в ранньому віці через низький імунний статус їх організму. Особливо небезпечними для неонатальних тварин є гострі захворювання вірусного походження.

Складності проблеми профілактики та лікування неонатальних тварин спонукали дослідників до всебічного вивчення як самих вірусів, так і систем противірусного захисту, в першу чергу, системи інтерферону.

Протягом останніх років досягнуто значних успіхів у розумінні молекулярних механізмів противірусної дії інтерферонів (ІФН), а також механізмів протидії інтерферонового захисту організму самих вірусів [9].

Відомо, що система ІФН завжди знаходилась в центрі уваги дослідників її унікальної здатності пригнічувати репродукцію вірусів в імунокомпетентних клітинах без негативного впливу на метаболізм. Відомо також, що противірусна активність ІФН не пов'язана з безпосередньою дією на віріон, що є наслідком змін обмінних процесів на клітинному рівні. Так, за дії ІФН в клітині синтезуються ферменти, що пригнічують утворення вірусних білків і розщеплюючи вірусні РНК [7].

Згідно сучасних даних систем ІФН функціонує в організмі тварин і людини як інтегральна частина імунної системи.

На сьогодні відкрито та достатньо повно вивчено понад 20 ІФН, різних за структурою та біологічними властивостями, що об'єднані в два типи: вірус-індукований І-типу (ІФН- α та β) та імунний ІІ-типу (ІФН- γ).

Основна функція ІФН І-типу – індукція антивірусного стану клітин. Утворення α - і β -ІФН індукується вірусами, бактеріальними ліпополісахаридами, двоспиральною РНК та їх аналогами.

Для реалізації повного протівірусного ефекту ІФН І-типу потрібен достатній синтез α - і β -ІФН. В експериментах та тваринах встановлено, що в результаті селективної руйнації єдиного гена, що кодує синтез ІФН- β , підвищується чутливість до вірусних захворювань, оскільки ізотипи ІФН- α не здатні компенсувати цю втрату ІФН- β [12].

Слід відзначити, що синтезувати ІФН І-типу в різній мірі здатні всі клітини організму, хоча найбільш виражена здатність в імунокомпетентних клітин (в основному у макрофагів та В-лімфоцитів). Така універсальність синтезу ІФН зумовлена тим, що будь-яка клітина може бути заражена вірусом і повинна мати систему розпізнавання та елімінації чужорідного чинника.

ІФН- α характеризується високою дифузійною здатністю. Це, очевидно, пов'язано з необхідністю вільної циркуляції та захисту організму, окремих органів, які віддалені від місць вторгнення вірусу, в тому числі й тих, що наділені природними захисними бар'єрами, такі як гематоенцефалічний бар'єр тощо [8].

Основними продуцентами ІФН- β є клітини фібробластичного та епітеліального типу. Він діє локально для запобігання розповсюдженню вірусу із місць його проникнення та реплікації. Внаслідок низької дифузійної здатності в інфікованій клітині (тканині) нагромаджується надзвичайно висока концентрація ІФН- β [7, 8].

Важливою функцією ІФН ІІ-типу є модуляція імунної системи, зокрема відповіді на чужорідні антигени. Основними продуцентами ІФН- γ є Т-лімфоцити, особливо Т-гелпери (СД4⁺ Т-клітини). Процес синтезу ІФН- γ залежить від присутності допоміжних клітин, зокрема моноцитів і макрофагів. Крім Т-лімфоцитів синтез ІФН- γ може відбуватися в дендритних клітинах, В-лімфоцитах, натуральних кілерах [11]. Протівірусна активність ІФН ІІ-типу значно нижча, ніж в α - і β -інтерферонів.

Взаємодія ІФН з клітиною здійснюється лише за допомогою специфічного рецептора, який знаходиться на цитоплазматичній мембрані. Позаклітинна його ділянка містить розпізнавальний домен, внутрішньоклітинна ділянка містить понад 500 амінокислотних залишків і здійснює передачу сигналу контрольними елементами, які генетично детерміновані [12].

Для реалізації біологічної дії ІФН І-типу використовують одні і ті ж клітинні рецептори, які володіють високим афінитетом до специфічних молекул. Число рецепторів на клітині коливається в широкому діапазоні (від сотень до десятків тисяч). Максимальна кількість рецепторів виявлена на клітинах плаценти.

Реалізація основних ефектів ІФН безпосередньо залежить від рецепторної активності. В експериментах на мишах окремих ліній з дефектом рецепторів α - і β -інтерферону було виявлено неоднакову чутливість до

інфекцій. Так, при селективному руйнуванні рецепторів ІФН- γ тварини демонстрували високу чутливість до бактеріальних антигенів при збереженні стійкості до вірусів і навпаки, при руйнуванні рецепторів ІФН- α/β тварини зберігали стійкість до бактеріальних інфекцій і мали підвищену чутливість до вірусів [29].

Після взаємодії з рецептором відбувається цілий каскад реакцій, які проявляються на молекулярному, клітинному та системному рівнях. Усю їх сукупність умовно можна розділити на противірусний, антипроліферативний та імуномодельючий ефекти.

ІФН був відкритий як фактор, який характеризується вираженою противірусною дією, пригнічення вірусної репродукції спостерігається при концентрації ІФН 3×10^{-14} М [7. 12], що може бути співставленим з активністю феромонів.

Таким чином, ІФН входить до складу першої «лінії оборони» проти вірусів, яка діє до того, поки імунні механізми повністю задіяними. ІФН не володіє специфічністю у відношенні до вірусів, а діють, пригнічуючи репродукцію вірусів, хоча останні характеризуються неоднаковою чутливістю до цього фактору захисту.

Що стосується основних етапів розвитку антивірусного захисту, то їх можна представити наступним чином. Зв'язування ІФН з рецепторами призводить до активізації факторів транскрипції, зокрема таких, як інтерферон-реагуючі фактори (ІРФ) та фактори сигнальної трансдукції та активації транскрипції – STAT (Signal transducer and activator of transcription). В результаті активації ІФН- γ , фактор транскрипції STAT – і α (gamma-активуючий фактор GAF) переміщується в ядро клітини та взаємодіє з гама-активуючою послідовністю ДНК (DAS), що призводить до активації транскрипції ІФН- γ з індукцибельних генів. При взаємодії α/β інтерферонів з рецептором відбувається активація інтерферон-регулюючих факторів, які, зв'язуючись з факторами транскрипції STST, переміщуються в ядро клітини, де утворюють комплекс-інтерферон-стимулюючий генний фактор 3 (ISGF 3), який активує транскрипцію генів-мішеней [7. 12].

В клітині за дії ІФН активуються ІФН-залежні гени, на яких основними є гени 2', 5'-оліго-аденілатсинтетази, протеїнкінази, фактори ініціації синтезу білка (eIF2), антигенів головного комплексу гістосумісності (гени МНС I класу, один із генів МНС II класу), гени 2-мікроглобуліну та деяких генів Т-лімфоцитів [31]. Для всіх цих генів характерна гомологічна послідовність 28 нуклеотидів з мінливими початковими 5'-послідовностями. Збільшення вмісту ІФН-залежних білків у цитоплазмі відбувається за рахунок збільшення швидкості транскрипції [15].

В даний час питання про механізми дії ІФН і, тим більше, ініціації інтерфероногенезу, залишається відкритим. У загальних рисах стає зрозумілим, що ІФН пригнічує трансляцію вірусних білків на рівні транскрипції. Але досі залишається неоднозначність між розумінням біологічної суті інтерфероногенезу та застосуванням ІФН-терапії, що не сприяє раціональному використанню цих високоактивних препаратів, і тому мета цієї роботи –

висвітлення сучасних уявлень про інтерферогенез та механізм дії ІФН на організм тварин в нормі та патології.

Перш за все слід підкреслити, що природа гомеостазу тварин і людини полягає в збереженні біологічної повноцінності протягом життя. Першою системою гомеостазу в процесі еволюції.

В результаті активації групи генів, локалізованих у 21-й хромосомі, формується більше 20 нових специфічних білків, які сприяють виникненню стійкості до вірусів, але відсутні в клітинах, які не піддаються дії ІФН. Найбільш повно вивчена роль таких білків, як ендорибонуклеаза, РНК-залежна протейніназа, РНК-специфічна аденозиндезамінокіназа та ін. [10. 14. 15].

ІФН також активує фосфодіестеразу, яка розщеплює частину транспортної РНК і, таким чином, запобігає продовженню пептидних ланцюгів. Активація ІФН-залежної ферментної системи 2', 5'-OAS R Nase I4 є основним механізмом противірусної дії ІФН [16].

За останні роки вивчена роль Мх-специфічного клітинного білку в противірусному захисті інтерферонів. Цей білок має вплив на РНК- і ДНК-вмісні віруси, пригнічуючи транскрипцію вірусного геному РНК-вмісного вірусу та трансляцію ДНК-вмісних вірусів [14].

Відкрито та достатньо вивчено інші механізми противірусної дії ІФН. Серед них – пригнічення процесу метилування синтезованих мРНК, що обить неможливим їх участь в синтезі білку, активації фосфодіестерази, що призводить до пригнічення участі тРНК у збірці білкового поліпептиду на рибосомах. Проте, ці механізми захисту ефективні лише у відношенні обмеженого числа вірусів. Тільки поєднання всіх цих механізмів забезпечує надійність противірусного захисту [8].

Ще однією функцією системи ІФН є регуляція імунної відповіді, а також поділ, диференціація та апоптоз клітин.

Між інтерференовою та імунною системами існують тісні прямі та зворотні зв'язки. Останнім часом визначені також основні різниці у спрямованості дії цих систем. Якщо головною функцією імунної системи є контроль білкової постійності багатоклітинної популяції організму, то системі ІФН належить провідна роль у нагляді за генетичною (нуклеотидною) постійністю.

ІФН можуть діяти на імунну систему різними шляхами, змінюючи експресію мембранних рецепторів та антигенів МНС різних класів, продукцію та секрецію внутрішньоклітинних білків, функціональну активність імунокомпетентних клітин, кількісний та якісний склад цитокінів [11].

Модуляція експресії білків МНС є важливим аспектом імунобіологічної дії ІФН, оскільки через ці поверхневі структури здійснюються міжклітинні взаємодії в процесі імунної відповіді. Так, біологічна активність ІФН- α та ІФН- β здійснюється лише в результаті посилення експресії антигенів I-класу МНС, а ІФН- γ – при посиленні експресії антигенів II-класу МНС, що має важливе значення для контролю імунної відповіді. Відомо, що Т-гелпери (CD4⁺) клітини розпізнають екзогенні антигени за участі HLA (Human leukocyte antigens) DR на поверхні антиген-презентуючих клітин людини. В свою чергу, активовані Т-

лімфоцити CD4⁺ субпопуляції декретують ІЛ-1, ІЛ-2, ФНО, ІФН- γ , які посилюють експресію антигенів цього класу на макрофагах [12].

Важливою властивістю ІФН в імунологічному нагляді є їх здатність активувати дозрівання цитолітичних Т-лімфоцитів і натуральних кілерів (NK)клітин. Однією з функцій NK-клітин є знищення вільно циркулюючих віріонів, які знаходяться в біологічних рідинах, а також знищення всіх клітин, які містять ці віріони.

ІФН- γ є потужним спеціалізованим індуктором диференціації моноцитів в ефекторні клітини, індукуючи експресію більше 100 різних генів у геномі макрофагів [9].

Таким чином, на ранніх стадіях гострих респіраторних та шлунково-кишкових захворювань в неонатальних дітей і тварин різних видів активуються переважно механізми противірусного захисту, зумовлені ІФН- α і β , в цей же час, як ІФН- γ забезпечує більш пізній контроль над інфекційним процесом, відіграючи роль в неспецифічному захисті організму, стимулюючи цитолітичну активність NK-клітин, фагоцитарну активність макрофагів [5. 14. 16].

Негативним фактором регуляції ІФН в клітині є специфічний інгібітор різних інтерферонів. Він виявляється на невисокому рівні у 50-60% людей і тварин. Інгібітор ІФН був виділений та очищений у мишей і визначений як поліпептид з молекулярною масою 8-10 кДа [12].

В клінічній практиці стан системи ІФН оцінюється за рівнем його в сироватці крові та за здатністю клітин продукувати *in vitro* після дії різних індукторів (вірусів, мутагенів) [1. 10].

На даний час достатньо повно вивчено закономірності продукції ІФН у людей і тварин різного віку. Відмічено, що на ранніх стадіях розвитку здатність лейкоцитів продукувати ІФН- α і ІФН- γ нижча, ніж у дорослих. У новонароджених в крові циркулює значна кількість «раннього» ІФН. Він відрізняється від ІФН дорослих менш вираженими антивірусними властивостями, що визначає підвищену їх чутливість до вірусних інфекцій шлунково-кишкового та респіраторних трактів. У новонароджених захисні функції проти вірусів виконує переважно ІФН- γ , хоча синтез його знижений [8]. Встановлено, що в ранньому віці знижена продукція лейкоцитарного ІФН- α та ІФН- γ [15], функціонування системи ІФН порушуються в умовах стресів, при недостатності живлення, гіповітамінозах, мікроелементозах тощо [3. 4]. В ряді досліджень, в основному на дітях та дрібних лабораторних тваринах, відмічено різке зниження інтерферонового статусу при різних захворюваннях [1. 5].

Таким чином, застосування ІФН або їх індукторів у лікуванні людини чи тварин з різними патологіями свідчить про можливість виникнення побічних ускладнень. Тому призначення ІФН препаратів в якості імуномодуляторів повинні базуватися на фундаментальних знаннях про систему цієї важливої ланки імунної системи людини і тварин.

Література

1. Бохонько А. И. Инструкция интерференообразования: интерферон как возможный репрессор / А. И. Бохонько // Вопросы вирусологии. – 1988. – №6. – С.745-747.

2. Ершов Ф. И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств)/Ф. И. Ершов//М.-2005.-368 с.
3. Ершов Ф. И. Ранние цитокиновые реакции при вирусных инфекциях/Ф. И. Ершов, А. Н. Наровлянский, М. В. Мезенцева//Цитокины и воспаление.-2004.Т.3., №1.-С.3-6.
4. Кетлинский С. А. Цитокины/С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев//М.-Фомант.-2008.-552с.
5. Корнеев Я. Я. Интерферон – пара гормон или про гормон/Я. Я. Корнеев, Ф. И. Ершов//Вопросы вирусологии.-1987.-№6.-С.753-756.
6. Кузнецов В. П. Интерфероны как средство иммуномодуляции/В. П. Кузнецов//иммунология.-1987.-№4.-С.30-34.
7. Соколова Т. М. Активность ферментов системы интерферона при вирусных заболеваниях/Т. М. Соколова//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-1991.-т.111.-С.315-316.
8. Сорокин А. М. Иммуномодулирующая активность отечественных природных перпаратов интерферон-альфа/А. М. Сорокин//Иммунология.-1991.-№4.-С.17-20.
9. Чекнев С. В. Взаимодействие интерферона в регуляции активности естественных киллеров/С. В. Чекнев// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.-1992.-т.113.-С.179-182.
10. Biron С.А. Interferons α and β Immuneregulators/t. New Look/С. А. Biron//Immunity.-2001.-v.14.-P.661-664.
11. Desloges N. Role of the proteinkinase PKR in the inhibition of varicella-zoster virus replication by beta-interferon and gamma-interferon/N. Desloges, M. Rahaus, M. H. Wolff//J. Gen. Viral.-2005.-v.86.-P.1-6.
12. Ellis T. N. Interferon- γ activation of polymorphonuclear neutrophil function/T. N. Ellis, B. L. Beaman//J.Immunol.-2004.-v.112.-P.2-12.
13. Kolumam G. A. Type I interferons act directly on CD8T-lymphocytes to allow clonal expansion and memory formation in response to viral infection/G. A. Kolumam, S. Thomas//J. Exp. Med.-2005.-v.202.-P.637-650.
14. Samuel C. E. Antiviral actions of interferons/C. E. Samuel//Clin. Microbiol. Rev.-2001.-v.14.-P.778-809.
15. Shtrichman R. The role of gamma-interferon in antivacterial immunity/R. Shtrichman, C. E. Samuel//Curr. Opin. Microbiol.-2001.-v4.-P.251-259.
16. Uddin S. Mechanisms of type-I interferon signal transduction/S. Uddin, L. S. Plataniias//J. Biochem. Mol. Biol.-2004.-v.37.-P.635-641.

Summary

FUNCTION OF SYSTEM OF INTERFERON IN NEONATAL ANIMALS

Contemporary views of structure and functions of interferon system are expounded in the article. Mechanism of effect of interferon system is described in details. Issues of connection between immune and interferon system are elucidated.

Contemporary data about features of function of interferon system in neonatal animals and children are presented. Results of research of interferon status in animal with repeated diseases of respiratory and gastro-duodenal pathology.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК 615.281.8

Маслянюк Р.П., д.б.н., професор
Падовський А.І., к.вет.н., доцент, padovsky@ukr.net
Флюнт Р.Б., к.вет.н., в.о. доцента
Шекель В.Ф., к.вет.н., ст. викладач ©

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З.Гжицького*

СИСТЕМА ІНТЕРФЕРОНУ І ЇЇ РОЛЬ У ЗАХИСНИХ ФУНКЦІЯХ ОРГАНІЗМУ

Висвітлено сучасні уявлення про інтерферон як систему захисних факторів людини і тварин, його характеристики та механізми інтерференогенезу. Охарактеризовано протипроліферативні, імуномодульовані антипроліферативні ефекти інтерферону.

Ключові слова: *інтерферон, імунітет, модуляція, інтерференогенез.*

Гуманна та ветеринарна медицина знає немало випадків, коли детальному вивченню певного явища чи об'єкту передувало втілення його в практику. Наглядним прикладом може служити наукова розробка геніальним Пастером у 1885 р. антирабічної вакцини та її успішне впровадження в той період, коли про віруси, як організми, відмінні від інших відомих мікробів, що викликають заразні хвороби, ще нічого не знали.

Вперше інтерференцію вірусів було відкрито на початку становлення вірусології як науки, у 20–30-х роках минулого століття, коли почалася інтенсивна розробка способів виділення, культивування та ідентифікації вірусів і створення експериментальних моделей вірусних інфекцій. На той час суть інтерференції уявлялася як неможливість репродукції вірусів в системі, в якій попередньо відбувалась репродукція іншого вірусу.

Нам не вдалося точно встановити, кому саме належить авторство терміну "інтерференція". Мабуть, це слово походить від перекладу поняття латинського префіксу *inter* – поміж та *ferens* – той, що несе або *ferio* – б'є, вражає. Крім того, вважається, що він був запозичений з фізики, за аналогією з інтерференцією хвиль. Взагалі з англійської *interference* – це втручання, перешкода.

Тим не менше, проаналізовані результати вивчення інтерференції за попередні десятиліття дозволили Айзексону і Лінденману (Isuakcs A., lindenman J., 1957) встановити, що клітини, інфіковані вірусом грипу, починають перешкоджати репродукції вірусів. Було відмічено, що цей білок відрізняється специфічністю – діє лише в межах одного виду або в культурах клітин одного видового походження та має широкий спектр противірусної дії. Невдовзі були встановлені основні характеристики інтерферуючих білків, які отримали назву інтерферони (ІФН) [28, 16, 17], а також відпрацьовані методи їх одержання, очистки та концентрації [6, 7, 12]. Виявилось, що ІФН відзначаються високою біологічною активністю. Відразу виникла ідея їх

широкого застосування для профілактики вірусних і не тільки вірусних хвороб, їх профілактики та лікування. Це дозволило вже у 70-х роках минулого століття застосувати лейкоцитарний ІФН людини як противірусний препарат. Пізніше його застосували у ветеринарній практиці [26, 32]. Наприкінці минулого століття було налагоджено виробництво ІФН на основі методів «генної інженерії», де продуцентом ІФН виступали не лейкоцитарні культури, а бактерії або дріжджі.

Тип продукуючого ІФН залежить від клітин господаря, а не від вірусу. Для синтезу ІФН необхідне утворення ДНК-залежної РНК, яка завершується протягом 2–4 год. після введення в культуру тканин вірусу, живого або інактивованого ультрафіолетовим опроміненням. Синтез ІФН відбувається зі швидкістю до 40 год. після зараження, відтак швидкість його репродукції знижується; синтез вже не можна рестимулювати додатковим введенням індуктора інтерфероноутворення у зв'язку з виснаженням первинного стимулу. Утворення ІФН пригнічується дією Х-променів, температури, ультразвуку.

ІФН утворюється при введенні будь-якого вірусу, а також пригнічує розвиток будь-якого вірусу. РНК-залежні віруси викликають продукцію ІФН клітинами раніше та в більших кількостях, ніж ДНК-залежні віруси; останні й більш чутливі до ІФН.

Ступінь нагромадження ІФН у заражених клітинах залежить від температури розвитку вірусу-індикатора, періоду реплікації його нуклеїнової кислоти, інтенсивності зараження, виду тканин і їх фізіологічного стану. Чим вища температура, тим менше він продукує ІФН і менш чутливий до нього. Очевидно, всі соматичні клітини здатні продукувати ІФН, проте найбільш активними є тканина селезінки та лейкоцити. ІФН можна розглядати як важливий противірусний антибіотик широкого спектру дії.

В даний час питання про механізми дії ІФН і тим більше, ініціації інтерфероногенезу залишається відкритим. У загальних рисах було зрозуміло, що ІФН якимось чином пригнічує трансляцію вірусних білків на рівні транскрипції. Слід підкреслити, що досі залишається неоднозначність між розумінням біологічної суті інтерфероногенезу та застосуванням ІФН-терапії, що не сприяє раціональному використанню цих високоактивних препаратів і тому мета цієї нашої роботи – висвітлення сучасних уявлень про інтерфероногенез та механізм дії ІФН.

Перш за все слід відмітити, що природа гомеостазу людини і тварин полягає у збереженні біологічної постійності протягом життя. Першою системою гомеостазу в процесі еволюції став генетичний код, який започаткував біологічну еру на нашій планеті. Однак, коли у прокаріотів геном досяг розміру 10,6 КДа, його величина стала на заваді правильності зчитування матричного синтезу ДНК, якщо врахувати, що помилки відбуваються 1 раз на 10 КДа нуклеотидного ланцюга ДНК. У еукаріотів геном виріс до 10,9 КДа, в результаті створилась розділена, але взаємозалежна система – ядро (хромосоми) – рибосоми. Логічно припускати, що складна система контролю за синтезом матричних ДНК не розвинулася для клітинних РНК, розмір яких не перевищує 10,4 КДа, тобто критичної довжини, коли помилки зчитування

незворотні. Матричний синтез дозволив вирішити проблему спадковості і в той же час не припинив дорогу мутаціям як головному фактору еволюції. Попри інші мутагенні (еволюційні) фактори, наприклад, симбіоз, хімічні та радіаційні впливи, чільне місце, як це показали дослідження останніх десятиліть, безперечно належить вірусам, як найбільш універсальному засобу перенесення та ампліфікації генів в інший геном. Адже у бактерій геном майже на 30 відсотків складається із мозаїки генів вірусного походження, а у хребетних вважається, що майже половина геному – це гени вірусного походження та модифіковані гетерогенні гени. У вищих хребетних тварин (савців) процес еволюції за своїми результатами виявився найуспішнішим, що, в свою чергу, вимагало створення досконалих систем гомеостазу, чого не спостерігалось у безхребетних тварин [4, 31].

Очевидно, найяскравішим і до певної міри вивченим феноменом є імунна система (ІС). Оскільки мутації генів реалізуються зміною кодованих ними білків, то й функцією імунної системи є підтримання білкового та клітинного гомеостазу. Не дивно, що вивчення патогенезу інфекційних хвороб і стійкості до них після перенесення інфекції чи активної імуностимуляції стали відправним пунктом і наріжним каменем у вивченні системи імунітету. Адже патогенні мікроорганізми обов'язково через свої білкові молекули (антигени) викликають імунні реакції. Пізніше прийшло розуміння патогенезу аутоімунних захворювань, алергічних станів і онтогенезу як процесів, тісно зв'язаних з імунною недостатністю.

Проте до компетенції імунної системи не може входити аспект підтримання постійності геному і контролю за передачею генетичної інформації за класичною схемою: один ген – один білок, адже її дія обмежується кінцевим результатом – елімінацією клітин зі зміненою мембраною чи нейтралізацією мікроорганізмів і вільних білків (екзо- і ендотоксинів, продуктів зруйнованих тканин тощо).

Таким чином, в процесі еволюції необхідно було створити ефективну систему ліквідації порушень у передачі генетичної інформації на рівні транскрипції та трансляції. Такі ефекти, поза сумнівом, належать ІФН.

Для подальшого розгляду цього питання слід зупинитися на деяких аспектах стосовно ролі ІФН. За сучасними даними ІФН розглядаються як сигнальні білки, що блокують транскрипцію-трансляцію внаслідок ініціації їх синтезу в клітинах, де відбулося порушення в передачі генетичної інформації. Ця система багатоконпонентна і її контроль охоплює увесь процес.

Численні дослідження інтерференції останніх десятиріч дозволили перейти від уявлень про ІФН як інгібітора репродукції вірусів до формулювання теоретичних положень про систему ІФН [21, 22, 31].

Останнім часом тривають дискусії відносно специфічності системи ІФН. Виходячи з аналогій із імунною системою: один антиген – відповідне антитіло або Т-лімфоцит (незалежно від їх походження – гомогенні чи гетерогенні) нейтралізують антигени. ІФН-система не є специфічною, оскільки вона не розрізняє, що саме спричинило порушення транскрипції-трансляції. Отже, можна бачити, що специфічність системи ІФН, будучи принципово відмінною

від специфічної імунної системи, все ж залишається найважливішою її особливістю. З цього випливає й інший аргумент щодо специфічності – за біологічними ефектами можлива лише видова ІФН-резистентність. Адже система ІФН за своїми механізмом дії здатна контролювати синтез лише власних нуклеїнових кислот і, як наслідок, синтез власних білків [9, 19, 20].

Якщо розглядати специфічний захист організму як одне ціле, то напрошується висновок про невіддільність імунної та інтерференової систем. Можна вважати, що ІФН є складова імунної системи в цілому. Тому цілком обгрунтованим видається об'єднання цих систем в єдину систему специфічної резистентності організму людини чи тварин, які, попри різницю в механізмах дії, мають подібну кінцеву мету [18, 21].

Що стосується клінічних аспектів, то вже на початкових етапах вивчення явищ інтерференції було встановлено, що віруси значно відрізняються за ступенем інтерферогенності і репродукція внесеного в систему наступного вірусу також може супроводжуватися значними коливаннями, від повного унеможливлення репродукції до утворення повноцінних віріонів [22, 27]. Навіть деякі штами вірусу в межах одного виду відрізняються за цими двома параметрами і комбінація – інтерферуючий вірус та блокований вірус, вповні не передбачувана. Очевидно, що інтерферогенні властивості вірусів не є абсолютними, це залежить від основної їх біологічної природи та патогенних властивостей [2, 4]. Патогенез вірусних інфекцій є прямим свідченням інтерферогенних та імунних реакцій. Умовно вірусні інфекції за цими параметрами можна поділити на 3 групи.

Перша – це інфекції з ефективним інтерферогенезом (збудники РНК-вмісні). Особливості патогенезу свідчать, що блокування ІФН репродукції вірусів є швидким і ефективним, передуює імунній відповіді.

До другої групи відносять інфекції, спричинені, передусім, ДНК-вмісними вірусами, для яких характерною рисою є здатність до персистенції, хронізації, загострень у випадках стресових ситуацій [6, 12].

Третя група – це інфекції з високою летальністю, важким і не прогнозованим перебігом, спричинені найчастіше арбовірусами або близькими до них за вірусологічними параметрами збудниками (сказ, енцефаліт, арбовірусні геморагічні гарячки).

Ми не претендуємо на всеохоплюючу класифікацію вірусних інфекцій за ознакою ефективності системи ІФН. Проте, викладені в цих коротких тезах патогенетичні відмінності вірусних інфекцій свідчать не лише на користь головного – системи ІФН, це система контролю передачі генетичної інформації та блокування порушень цього процесу. Факт існування онкозахворювань і летальних вірусних інфекцій лише свідчать, що можливості системи ІФН, її ефективність не можна абсолютизувати, так само, як й систему імунітету.

Що стосується механізму інтерферогенезу, то сьогодні відомо біля 30 генів ІФН у людини, але лише біля 15 з них мають самостійне значення. Вважають, що гени ІФН локалізуються в 13-ій хромосомі (ІФН- α), 9-ій (ІФН- β) і 12-ій (ІФН- γ), однак найімовірніше, що головна локалізація ІФН-саме 9-а хромосома [11, 15].

З механізмом інтерферогенезу існує більше теоретичних припущень, ніж встановлених фактів. В останнє десятиріччя в циклі робіт Fire, Mello (Нобелівська премія за 2006 р.) показано, що невідповідна двониткова РНК є пусковим фактором супресії гена у гомологічно-залежний спосіб. Цей процес отримав назву РНК-інтерференції.

Відкриття, що клітини мають спеціальний механізм супресії гомологічних генів шляхом відстежування двониткових РНК, значно розширило знання про управління генами. Важливо, що механізм інтерференції спрацьовує як у випадку екзогенної, так і ендогенної двониткової РНК, не властивих цій клітині. Встановлено, що механізм РНК-інтерференції найчастіше проявляється у випадках інфікування РНК-вмісними вірусами.

Суть механізму, у загальних рисах, полягає в тому, що РНК (messenger RNA) має не тільки інформаційну (ДНК>РНК>білок), але й контролюючу функцію. Якщо на рибосомі знаходиться не гомологічна РНК, то спостерігається тригерний ефект – відбувається деградація РНК з негомологічною послідовністю нуклеотидів, а РНК розпадається на так звані мікро-РНК, які блокують гени [21].

Що ж до характеристики інтерферонів і механізму їх дії, то відомо декілька десятків ІФН, які поділяють на три класи – α , β , γ . Питання про можливість ІФН, гени яких знаходяться навіть у різних хромосомах, можна порівняти з класами імуноглобулінів (G, A, M) у сільськогосподарських тварин [26].

Кожен ген, що кодує РНК, складається із 494–498 пар нуклеотидів, які детермінують послідовність 165–166 амінокислот. Отже, ІФН є скоріше поліпептидом, а не білком, що пояснюється його стійкістю та ефективністю очистки.

У загальних рисах дія ІФН полягає в індукції ініціюючих факторів трансляції. Вибіркове пригнічення трансляції в час репродукції вірусу можна пояснити або більшою чутливістю вірусної трансляції, або виключенням трансляції в клітині, до якої приєднався ІФН.

Важливою частиною ефектів ІФН є їх взаємодія з імунною системою. ІФН посилює експресію антигенів МНС (головного комплексу гістосумісності) і, таким чином, активує Т-лімфоцити. Одним із факторів стимуляції В-лімфоцитів Т-клітинами виступає ІФН- β 2 (IL-6). В активації макрофагів, основних антигенопрезентуючих клітин бере участь ІФН- γ [18–20, 28]. У той же час, ІФН- α здатний продукувати практично усі імунокомпетентні клітини. ІФН- β синтезується клітинами епітеліального та фібробластного типу. ІФН- α і ІФН- β відзначаються вираженим противірусним ефектом [15, 24], тоді як ІФН- γ відповідає за імуномодулюючі властивості, характерні для цитокінів [24].

Досвід застосування ІФН або їх індукторів у лікуванні людини чи тварин з різними патологіями свідчить про можливість виникнення побічних ускладнень. Тому призначення високоактивних ІФН-препаратів у великих дозах, які виступають як потужні імуномодулятори, вимагає зваженого підходу і в цьому відношенні фундаментальні знання про систему ІФН є надзвичайно необхідні для науковців і клініцистів гуманної та ветеринарної медицини.

Література

1. Деев В.В. Индукторы интерферону // Лаб. диагностика. – 2005. – №1. – С. 59–63.
2. Ершов Ф.И. Медицинская значимость интерферонов и их индукторов // Рос. АМН. – 2004. – №2. – С. 9–14.
3. Коровин С.Н. Рекомбинантный альфа-2 интерферон в лечении больных меланомой кожи // Лікар. справа. – 1998. – №2. – С. 139–141.
4. Лазаренко Л.І. Роль системи інтерферону в імунопатогенезі папіломи вірусної інфекції // Автореф. дис. ... докт. біол. наук. – Київ, 2006. – 34 с.
5. Майчук Ю., Козаченко М. Новый интерферон - локферон - в лечении герпетического гепатита // Офтальмо. журн. – 1998. – №6. – С. 447–451.
6. Масляк Р.П. Основи імунобіології. – Львів: Вертикаль, 1999. – 472 с.
7. Милашенкова И. Интерферон и индукторы их синтеза // Терап. архив. – 1998. – №11. – С. 35–39.
8. Мірошниченко В.П. Інтерферони та їх індуктори: теоретичні та клінічні аспекти застосування // Лаб. диагностика. – 2002. – №4. – С. 69–76.
9. Никитин И.Г. Пегимерованные интерфероны-альфа: новые возможности в лечении // Сучасна інфекція. – 2003. – №1. – С. 120–128.
10. Новокшонова В. Рекомбинантный α_2 -интерферон. Сообщ. 1-е. Использование при бактериальных инфекциях // Врач. – 1997. – №3. – С. 27–30.
11. Озгур О., Каргин С., Сонмез М. Действие интерферона- α на клетки Нер С2 // Эксперим. онкология. – 2003. – №2. – С. 105–110.
12. Співак МЛ. Інтерферони: властивості та перспективи клінічного застосування // Памяті Л.В.Громашевського // Міжнар. наук. конф. – Київ, 2002. – С. 411–414.
13. Суркіна И.Д. Индуцирующие интерферонэфекты дипиридамола: противовирусные и регуляторные // Терап. архив. – 2000. – №8. – С.81–84.
14. Сысоева Г.М. Перспективы использования индукторов интерферона в лечении и профилактике гриппа ОРВИ // Вестн. Рос. АМН. – 2004. – №11. – С. 33–37.
15. Феклистова Л., Новокшонова В., Мескина Е. и др. Рекомбинантный α_2 -интерферон // Врач. – 1997. – №4. – С. 27–30.
16. Ченкев С.Б. Индексы реактивности клеток крови в диагностике и характеристике недостаточности системы интерферона // Иммунология. – №2. – С. 33–36.
17. Яковенко Л.Ф. Вплив інтерферону і його типу на неспецифічну резистентність організму при вторинних імунodefіцитах // Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 1999. – 20 с.
18. Aas V., Tojlesen P., Iversen J. Interferon- γ affects protein kinase c activity in human neutrophils // J. Interferon Cytokine Res. – 2005. – V. 20. – P. 777–782.
19. Bonecchi R., Polentarutti N., Luini W. et al. Up - regulation of CCR1 and CCR3 and induction of chemotaxis to CC chemokines by IEN- γ // J. Immunol. – 1999. – V. 162. – P. 474–479.
20. Berton G., Cassatella M.A. Modulation of neutrophil functions by interferon- γ // Immunol. Series. – 2005. – V. 20. – P. 777–782.

21. Epstein L.B. The comparative biology of immune and classical interferon // *Mol. Aspects Med.* – 2002. – 25. – P. 183–196.
22. Hooks I.J. Detrick-Hooks B. Immunoregulatory actions of interferon // *Mol. Aspects Med.* – 2002. – V. 25. – P. 197–204.
23. Isoacs A., Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon // *Proc. R. Soc. London (Biol.)*. – 1957. – V. 147. – P.258–264.
24. Yablonska E., Kiluk M., Mazurkiewicz W., Yablonski J. Priming effects of GM-CSF, IEN- γ and TNF- α on human neutrophils // *Melanoma Res.* – 2002. – V. 12. – P. 123–129.
25. Kasama T. Interferon gamma modulated the expression of neutrophil derived chemokines // *J. Invest. Med.* – 2005. V. 53. – P. 58–64.
26. Kronenberg L.H., Rosenblatt H.M. Interferon: Immunobiology and clinical significance // *Ann. Intern. Med.* – 1992. – V. 106. – P. 80–93.
27. Lett-Brown M.A. Enhancement of basophil chemotaxis in vitro by virus induced interferon // *J. Clin. Invest.* – 2001. – V. 87. – P. 547–552.
28. Marodi L., Kaposzta R. Survival of group b streptococcus type III in mononuclear phagocytes: differential regulation of bacterial killing in cord macrophages by human recombinant γ -interferon // *Infect. Immunol.* – 2000. – V. 68. – P. 2167–2170.
29. Marodi L. Deficient IFN- γ receptor - mediates signaling in neonatal macrophages // *Acta Pediatr.* – 2002. V. 91. – P. 117–119.
30. Renisch W. Donor dependent interferon- γ // *Clin. Exp. Immunol.* – 2003. – V. 133. – P. 476–480.
31. Stewart W.E. The interferon system // *New York. Springer-Verlad.* – 1999. – P. 475–481.
32. Worku M., Paape M.J. Modulation of Fc receptors for IgG on bovine neutrophils by IFN- γ through de novo RNA transcription and protein synthesis // *Am. J. Vet. Res.* – 2004. – V. 65. – P. 234–241.

Summary

Historical development of notions about interferon (IFN) - system, its clinical importance, general characteristics of interferon's and interferogenesis mechanism is described. Antivirus, antibacterial, antiproliferative (antitumorigenic), immunomodulating and radioprotective effects of IFN - system are marked.

Prescription of highly active IFN - preparations as effective immunomodulators requires specific approach and in this aspect fundamental knowledge about IFN - system are immediate necessity for great number of clinicians.

Стаття надійшла до редакції 1.09.2010

УДК 636.5.084.087.8:591.465.12

Мельниченко О.П., кандидат с.-г. наук ©

Білоцерківський національний аграрний університет, e-mail: mela731@rambler.ru

АНТИОКСИДАНТИ ВЛАСТИВОСТІ КАРОТИНОЇДІВ ТА АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ В ЕМБРІОГЕНЕЗІ ПТИЦІ

Встановлено відмінності активності каротиноїдів та аскорбінової кислоти в тканинах (печінка, серце, мозок, мембрана жовткового мішка та залишковий жовток) перепелів та курей протягом ембріонального розвитку. Виявлено більш високий рівень каротиноїдів та вітаміну С в тканинах ембріонів перепелів в порівнянні з ембріонами курей. Різниця активності розглянутих антиоксидантів в тканинах ембріонів птиці видів, що досліджувалися, достовірна в певні періоди ембріонального розвитку.

Ключові слова: антиоксидантна система, каротиноїди, аскорбінова кислота, курі, перепела.

Клітинний гомеостаз в нормальному фізіологічному стані організму може бути змінений під дією різних, як зовнішніх, так і внутрішніх, факторів. Для аеробних організмів одним із головних факторів, що впливають на гомеостаз клітини, є проміжні продукти окислення різних речовин. Для забезпечення ефективності клітинного захисту проти окислювальних ушкоджень важливим є повноцінне функціонування антиоксидантної системи цитоплазми і мембран [1, 2]. До її компонентів входять жиророзчинні вітаміни (Е, А, каротиноїди), водорозчинні речовини (аскорбінова кислота) та ферментні системи (супероксиддисмутаза, каталаза і глутатіонпероксидаза).

Велике практичне значення має підтримка високого рівня антиоксидантного захисту організму під час ембріонального розвитку, коли відбувається закладання захисних систем організму.

Враховуючи біологічні особливості перепелів [3], зокрема, природну стійкість до інфекцій, а також причетність антиоксидантної системи до функціонального стану ключових систем організму [2], дослідження стану антиоксидантної системи, і безпосередньо динаміки каротиноїдів та аскорбінової кислоти, у тканинах перепелів і порівняння її з іншими видами птиці є актуальним.

Метою роботи було охарактеризувати рівень каротиноїдів та аскорбінової кислоти в тканинах ембріонів перепелів і курей в процесі ембріонального розвитку.

Матеріали і методи досліджень. Робота виконана на перепелах м'ясної породи фараон, курях породи адлерська срібляста. Інкубацію яйця здійснювали з дотриманням стандартних вимог до певного виду птиці [4]. Зразки органів (печінка, серце, мозок, мембрана жовткового мішка, залишковий жовток) ембріонів брали після декапітації на відповідних етапах розвитку: у 9-, 11-, 13-, 15-, 17-добових ембріонів перепелів і курей та 19-, 21-добових ембріонів курей.

Гомогенати тканин готували у 50 мМ Трис-НСІ буфері (рН=7,4) із розведенням 1:100. Каротиноїди визначали за методом Бессея [5]. Вміст вітаміну С визначали за методикою Сурая [6]. Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням *t*-критерію Стьюдента [7].

Результати дослідження. Вивчення питання ролі каротиноїдів у функціонуванні живої клітини завжди було актуальним. Однією з функцій жовтих пігментів як попередників вітаміну А вивчена досить повно [8]. Але серед більше ніж 600 описаних каротиноїдів лише 50 можуть перетворюватися в вітамін А, серед яких лише 20% вносять суттєвий вклад в А-вітамінну забезпеченість живих організмів [9]. Серед можливої дії каротиноїдів, що не перетворилися в вітамін А, в метаболізмі ембріональних тканин птиці заслуговує увагу їх антиоксидантні властивості. Це особливо важливо у зв'язку з тим, що каротиноїди мають високі антиоксидантні властивості в умовах пониженого парціального тиску.

Одержані результати свідчать про те, що в ембріональній печінці на ранніх етапах їх формування (9–11-та доба для ембріона перепела і 11–13-та для ембріона курки) концентрація каротиноїдів підтримується на достатньо низькому рівні і протягом наступного терміну інкубації відбувається повільне збільшення концентрації жовтих пігментів (Рис. 1). Але в останні два дні розвитку в печінці, як ембріона перепела, так і курки, характерне істотне збільшення концентрації каротиноїдів (у 1,7 рази для ембріонів перепелів і на 60% для курей). Даний факт пов'язаний з максимальним перенесенням та накопиченням ліпідів у печінці в цей віковий період [9]. Отже, можна припустити існування загально транспортних механізмів для різноманітних класів ліпідних речовин, у тому числі фосфоліпідів та α -токоферолу здійснюється за участю спеціальних транспортних протеїнів.

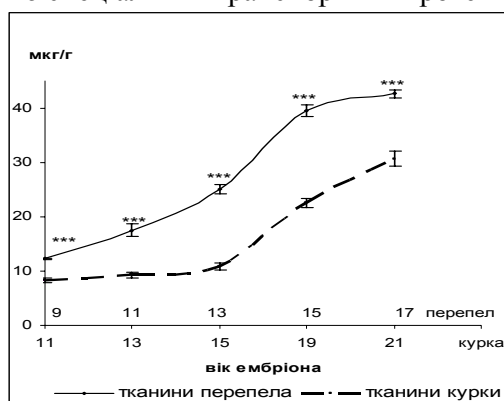


Рис. 1. Вміст каротиноїдів у тканинах печінки ембріонів перепелів та курей м'ясної породи ($M \pm m$; $n=7$; мкг/г)

Примітка: – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, порівняно з тканинами ембріону курей відповідного строку ембріонального розвитку

В ембріональних тканинах мозку та серця (Рис. 2) спостерігається схожа динаміка: незначний рівень на ранніх стадіях ембріонального розвитку з подальшим зростанням каротиноїдів. Варто відмітити, що протягом всього ембріонального розвитку рівень каротиноїдів, як в тканинах мозку так і серця,

ембріона перепела вірогідно перевищував рівень цього природного антиоксиданту в тканинах вказаних органів ембріона курки ($p < 0,001$). Так як каротиноїди обумовлюють пристосованість ембріонів птиці до несприятливих умов, велику резистентність до стрес-факторів, у тому числі підвищену температуру, деякі хімічні речовини, можна зробити висновок, що ембріон перепела більш пристосований до температурних змін і впливу хімічних речовин.

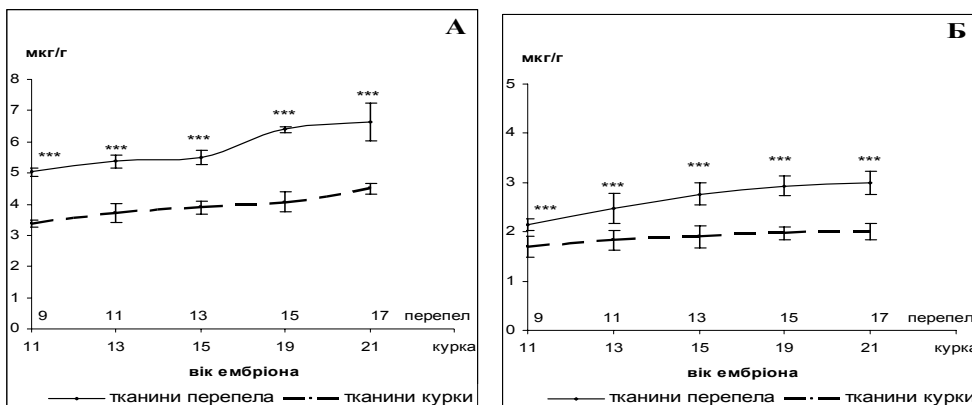


Рис. 2. Вміст каротиноїдів у тканинах мозку (А) та серця (Б) ембріонів перепелів та курей м'ясної породи ($M \pm m$; $n=7$; мкг/г)

У мембрані жовткового мішка накопичення каротиноїдів розпочинається декілька раніше (Рис. 3.А), у порівнянні з печінкою, і за період дослідження збільшується у 1,4 рази у ембріонів перепелів і у 2,3 рази у ембріонів курей.

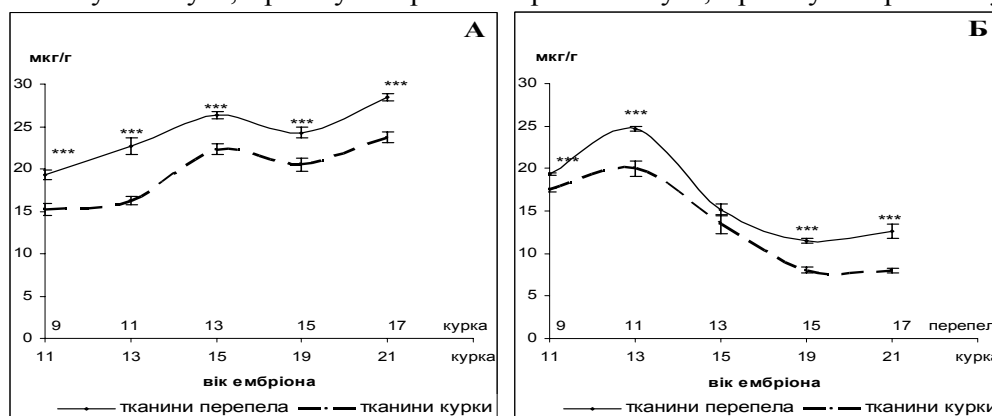


Рис. 3. Вміст каротиноїдів у тканинах мембрани жовткового мішка (А) та залишковому жовтку (Б) ембріонів перепелів та курей м'ясної породи ($M \pm m$; $n=7$; мкг/г)

Жовткова мембрана виконує важливу фізіологічну роль у процесі ембріонального розвитку птиці, вона є своєрідним продовженням тонкого кишечника та виконує роль органу, який здійснює поглинання та перенесення ліпідних речовин із залишкового жовтка у печінку й далі в інші органи ембріона. Таким чином, разом з іншими ліпідними речовинами, каротиноїди

поглинаються з залишкового жовтка мембраною з подальшим перенесенням в органи і насамперед в печінку.

Концентрація каротиноїдів у залишковому жовтку у період 11-ти добових перепелиних ембріонів і 13-ти добових курячих ембріонів вірогідно збільшується (Рис. 3.Б), що напевно відображає переважне поглинання неліпідних речовин жовтка та значної частини води в цей період ембріонального розвитку. З моменту замикання алантоїса (9-та доба для перепела та 11-та доба для курей) і до виведення спостерігається зниження каротиноїдів в залишковому жовтку на фоні підвищення цього антиоксиданту в печінці та мембрані жовткового мішка.

Серед природних водорозчинних антиоксидантів вітамін С вважається найбільш важливим [12]. Він разом з каротиноїдами відіграє основну роль у гальмуванні перекисного окислення ліпідів в різних модельних системах [1], а також має здатність знижувати рівень вільних радикалів. Антиоксидантна система ембріонів птиці базується на взаємодії каротиноїдів з аскорбіновою кислотою та іншими речовинами. Варто відмітити, що пташине яйце взагалі не містить вітаміну С. Аскорбінова кислота (АК) починає синтезуватися мембраною жовткового мішка в процесі розвитку ембріона птиці.

Печінка відіграє важливу роль у метаболізмі аскорбінової кислоти тваринного організму. Вона є головним органом, який забезпечує перерозподіл цього вітаміну між органами та тканинами у процесі розвитку. Показано (Рис. 4.А), що концентрація вітаміну С в тканинах цього органу відрізняється на 20% на користь перепела. Її максимум припадає на однаковий період – 13-та доба інкубації перепелів та 15-та доба інкубації курей, що свідчить про однакову функціональність печінки птиці обох видів. Після цього спостерігається незначне зниження.

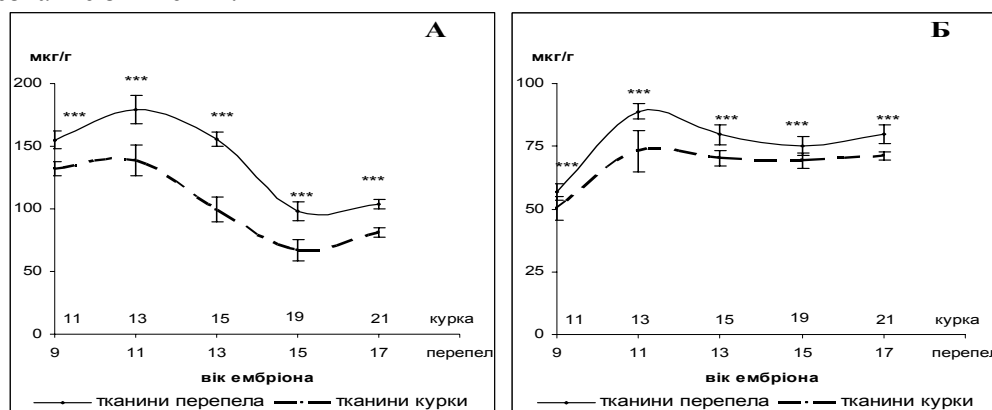


Рис. 4. Вміст аскорбінової кислоти у тканинах печінки (А) та серця (Б) ембріонів перепелів та курей м'ясної породи ($M \pm m$; $n=7$; мкг/г)

Динаміка рівня аскорбінової кислоти в серці (Рис. 4.Б) дещо схожа на динаміку рівня цього вітаміну в печінці, але в добової птиці концентрація вітаміну С збільшується відносно рівня в період наклыву і становить $80,00 \pm 3,80$ мкг/г тканини для перепелів і $71,22 \pm 1,78$ мкг/г для курей.

Ембріональний мозок птиці заслуговує особливої уваги, він характеризується високою мірою не насиченості ліпідів, яка була вищою ніж в усіх розглянутих органах. Мозок здатний генерувати значно більше вільних радикалів, ніж інші тканини [11]. Концентрація АК в даному органі переважала рівень цього вітаміну в ембріональній печінці в 4-7 разів птиці обох видів. Максимальне підвищення концентрації аскорбінової кислоти спостерігалось в той же період, що і в тканинах печінки, але різниця активності даного антиоксиданту між тканинами мозку перепелів і курей становила 7% на користь перепелів ($p < 0,001$). Після цього рівень аскорбінової кислоти у перепелиного та курячого ембріона дещо знижується (Рис. 3.А) і сягає, відповідно, $651,62 \pm 19,56$ і $578,82 \pm 25,01$ мкг/г.

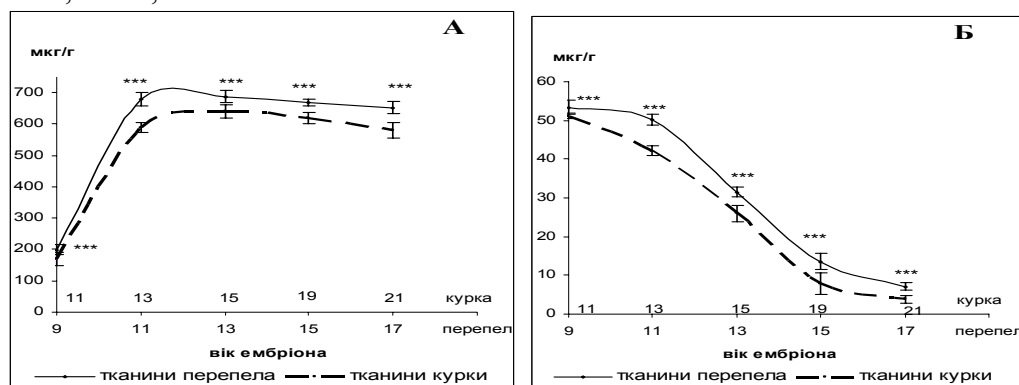


Рис. 5. Вміст каротиноїдів у тканинах мозку (А) та мембрани жовткового мішка (Б) ембріонів перепелів та курей м'ясної породи (M±m; n=7; мкг/г)

Як було зазначено вище, мембрана жовткового мішка відіграє важливу роль в процесі розвитку ембріона птиці: вона синтезує аскорбінову кислоту. Тому зрозумілий той факт, що концентрація даного антиоксиданту зазнає постійного зниження, як для ембріона перепела так і курки, але є вищою у ембріона перепела з вірогідною різницею протягом всього ембріонального розвитку ($p < 0,001$). У період накльову (15-та доба для перепелів і 19-та для курей) ця різниця була майже у два рази, хоч на початкових етапах дослідження була незначною (4%).

Зважаючи на порівняно невисокий вміст каротиноїдів в мозку і високий вміст аскорбінової кислоти, виникає підвищений інтерес до механізму регуляції перекисного окиснення ліпідів в цьому органі. Висока концентрація вітаміну С може бути ефективно використана в реалізації навіть для низького рівня каротиноїдів.

Висновки: Приймаючи до уваги дані про високі антиоксидантні властивості каротиноїдів та аскорбінової кислоти, можна припустити, що представлене накопичення в тканинах печінки, серця, мозку та мембрани жовткового мішка носить захисну функцію та разом з іншими антиоксидантами забезпечує надійний антиоксидантний захист тканин від кисневого стресу, яким є процес виведення пташенят. Проведений аналіз виявив більш високий рівень

каротиноїдів та вітаміну С в організмі перепелів порівняно з організмом курей. Особливо це виражено в тканинах печінки та мозку.

Отримані дані можуть використовуватися при розробці нових режимів інкубації і оптимізації вітамінного харчування птиці ряду курячих.

Література

1. Вальдман А. Р. и др. Витамины животных. / А. Р. Вельдман, Р. Ф. Сурай, И. А. Ионов, Н. И. Сахацкий // Харьков : РИП «Оригинал», 1993. – 423с.
2. Surai P. Tissue-specific changes in the activities of antioxidant enzymes during the development of the chicken embryo. – Biochem. Biophys. – 1996. – №1304. – P. 1–10.
3. Шаповалов С. О., Ионов И. А. Сравнительная характеристика активности антиоксидантной системы у птиц // Материалы IV международного симпозиума «Биологические механизмы старения» – Харьков. – 2000. – С. 59.
4. Буртов Ю.З., Владимиров Ю.Н., Голдин Ю.С. Справочник по инкубации яиц. – М.: Колос, 1983. –176 с.
5. Исследование крови животных и клиническая интерпретация полученных результатов. / Методические рекомендации для студентов ветеринарных факультетов / В.И. Левченко, П.Ф. Шевчук, Н.П. Прудеус, М.З. Черныш, Л.М. Богатко. – Белая Церковь. – 1987. – С. 32-33.
6. Сурай П.Ф., Ионов И.А. Методы анализа кормов и продуктов птицеводства: Метод. рек. – Харьков, 1989. – 95 с.
7. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. – М.: Колос, 1969. – 256 с.
8. Burton G. W., Joyce A., Ingold K. U. Is vitamin E the only lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in human blood plasma and erythrocyte membrane // Arch. Biochem. Biophys. – 1983. – Vol. 221, №1. – P. 281-290.
9. Noble R. C., Cocchi M. Lipid metabolism and the neonatal chicken // Prog. Lipids. – 1990. – Vol. 29. – P. 107-140.
10. Ghiselli A., Serafini M., Maiani G., Azzini E., Ferroluzzi A. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability // Free Radical Biol. Med. – 1995. – V. 18, №1. – P. 29–36.
11. Englard S., Seifter S. The biochemical function of ascorbic acid // Ann. Rev. Nutr. – 1986. – №6. – P. 365-406.

Summary

It is shown dynamics of carotenoids activity and ascorbic acid of quail and hen embryos of meat breeds in a liver, heart, brain, yolk sac membrane and resting yolk . The results of the present study indicate that different tissues of the embryo display distinct development strategies with regard to the acquisition of antioxidant capacity. It is detected the difference between the antioxidant activity of quail and hen embryos tissues.

Key words: *antioxidant systems, carotenoid, ascorbic acid, hens, quails.*

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК 636.2.084:619:612

Пеленьо Р.А., кандидат ветеринарних наук, доцент.
Семанюк В.І., кандидати біологічних наук, професор.
Турко І.Б., кандидати біологічних наук, доцент.
Огура О.В., магістр ветеринарної медицини[©]

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З. Гжицького*

ВПЛИВ ЗГОДОВУВАННЯ КОРОВАМ МІКОРМУ, ЗА РІЗНОГО СПОСОБУ ЇХ УТРИМАННЯ, НА ХІМІЧНИЙ СКЛАД МОЛОКА

*У порівняльному аспекті вивчали вплив систем утримання корів і згодовування їм мікорму, одержаного після культивування *Pleurotus ostreatus* на хімічний склад молока.*

Ключові слова: *Корови, мікорм, *Pleurotus ostreatus*, жир, білок, казеїн, молоко.*

Вступ. Вивчення забезпеченості тварин поживними і біологічно активними речовинами, з метою підвищення продуктивності належить до важливих завдань сільськогосподарської науки. Одним із найважливіших фізіологічних процесів у корів є лактація. Молоко забезпечує молодняк всіма необхідними поживними, мінеральними та біологічно активними речовинами [3]. Поряд з цим, воно є одним з основних продуктів харчування людини [7]. До складу молока входять вода, білки, жири, молочний цукор, фосфатиди, стерини, солі органічних кислот, мінеральні й біологічно активні речовини [5]. Рациональне співвідношення вказаних речовин у молоці визначається, в основному, генетичним потенціалом організму, годівлею та умовами утримання [3,5]. Доведено, що додавання до раціону тварин продуктів мікробного синтезу стимулює метаболічні процеси [4,6,9,11], підвищує продуктивність і покращує якість продукції [1,2,8,10,12]. Саме тому, метою наших досліджень було визначити фізико-хімічні та якісні показники молока корів у динаміці протягом лактації при додаванні до раціону корів, за різного способу їх утримання, запропонованого мікорму.

Матеріал і методи. Дослід проводили на коровах української чорно-рябої молочної породи, 3-5 лактації. Комплектування груп проводили за принципом парних аналогів: за фізіологічним станом, віком, лактацією, живою масою та продуктивністю за попередню лактацію.

Для досліду було підібрано 20 корів, яких розділили на чотири групи, по 5 голів у кожній, з яких перша (контрольна) і друга (дослідна) утримувалися на прив'язі, а третя і четверта (дослідні) групи – безприв'язно. Коровам другої дослідної групи, на відміну від першої (контрольної), 30% січки соломи основного раціону замінювали кормовою добавкою (мікормом), одержаною після культивування на січці соломи грибниці *Pleurotus ostreatus*. Корови

третьої дослідної групи, так як і корови першої (контрольної) групи, споживали корми основного раціону, але за безприв'язної системи утримання. Тварини четвертої дослідної групи, котрі знаходилися на безприв'язному утриманні, на відміну від корів другої групи, мали вільний доступ до грубих кормів та мікорму і споживали їх вволю.

Міцеліальний корм, основою якого є пропарена січка пшеничної соломи і міцелій гливи, використовували після збору третього урожаю плодкових тіл.

Проби молока для проведення досліджень відбирали з добового надою згідно вимог ДСТУ ISO 707-2002. У відібраних пробах молока визначали: вміст жиру – кислотним методом (ГОСТ 5867-90), загальну кількість білка та казеїну – методом формольного титрування згідно ТУ 49 1212-85, молочний цукор – рефрактометрично (ГОСТ 3628-47), золу – спалюванням наважки у муфельній печі при температурі біля 500°C.

Результати дослідження. Необхідно відмітити, що згодовування коровам протягом лактаційного періоду грибниці *Pleurotus ostreatus* не викликало змін в органолептичних показниках молока, що вказує на нормальний перебіг його секреції у молочній залозі. Проте, нами встановлено зміни хімічного складу молока, про що свідчать дані представлені на рис. 1-5.

У проведених нами дослідженнях встановлено, що рівень загального білка у молоці корів на початку експерименту знаходився в межах від $3,18 \pm 0,08$ до $3,23 \pm 0,03\%$, що відповідає фізіологічним показникам корів досліджуваної породи (рис. 1).

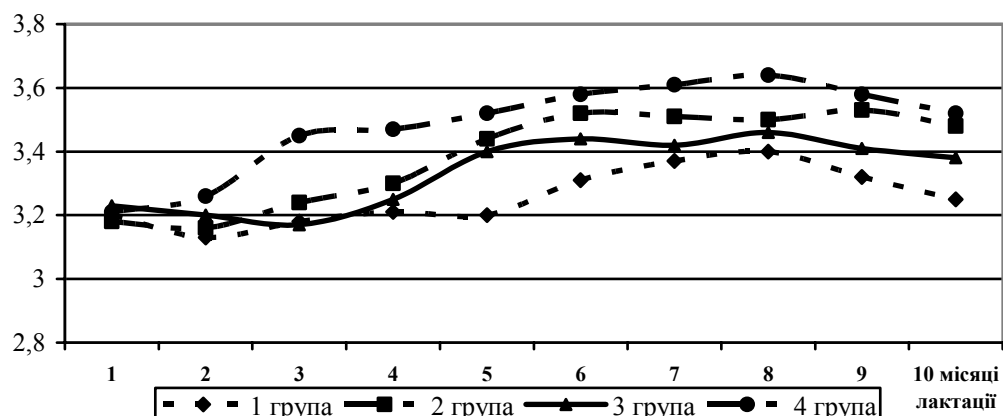


Рис. 1. Динаміка вмісту загального білка у молоці корів протягом лактації за впливу чинників годівлі та утримання

На другому місяці лактації встановлено незначне зниження (від 0,02 до 0,05%) кількості загального білка у молоці корів всіх досліджуваних груп. Починаючи з третього місяця, рівень досліджуваного показника поступово наростає, досягаючи найбільших величин під завершення періоду секреції молока. Найвищий вміст загального білка у молоці корів досліджуваних груп був на 8-му місяці лактації і становив у контрольній групі 3,40%, другій групі – 3,50%, третій – 3,46% і четвертій – 3,64%. Вірогідно вищий вміст загального

білка ($p < 0,05$), порівняно з молоком корів контрольної групи, був у молоці корів четвертої групи на третьому місяці лактації і зберігався до дев'ятого місяця. Вміст білка у молоці корів другої групи був вірогідно вищим ($p < 0,05$), порівняно із коровами контрольної групи, на п'ятому і шостому місяцях лактації, а у молоці корів третьої групи – лише на п'ятому місяці. Різниця при цьому, у корів другої групи становила 0,24 %, а у корів третьої групи 0,20%.

Відомо, що основна частина загальної кількості білків молока представлена казеїном, який являє собою суміш білків подібних за структурою, але різних за амінокислотним складом. Динаміка вмісту казеїну у молоці корів протягом лактації за впливу чинників годівлі та утримання показана на рис. 2.

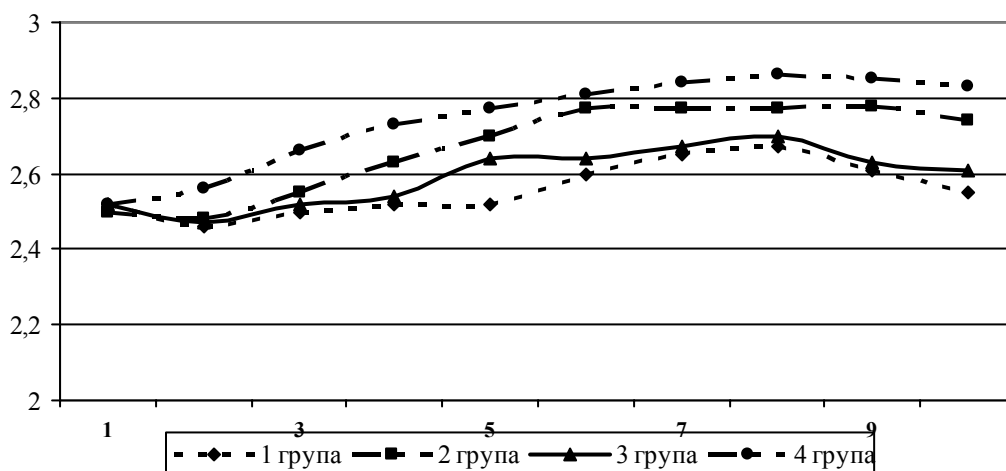


Рис. 2. Динаміка вмісту казеїну у молоці корів протягом лактації за впливу чинників годівлі та утримання

Із наведених даних видно, що рівень казеїну був вищим у всі місяці лактації в молоці корів дослідних груп. Так, у молоці корів другої групи, котрі за прив'язної системи утримання споживали кормову добавку грибниці гливи, вміст казеїну був найвищий на дев'ятому місяці, а вірогідні різниці ($p < 0,05$) були встановлені з 5-го по 10-й місяці лактації. У молоці корів третьої групи вірогідно вищий ($p < 0,05$) рівень казеїну на 0,12% виявлено на п'ятому місяці лактації. У молоці корів четвертої групи зростання даного показника було найбільш вираженим. Рівень казеїну в даній групі перебував у межах від $2,52 \pm 0,08$ до $2,86 \pm 0,07\%$ залежно від періоду лактації. Вірогідні різниці ($p < 0,05$) за досліджуваним показником були встановлені на 4-9-му місяцях (відповідно його кількість була вищою, порівняно з контролем на 0,25; 0,21; 0,19; 0,19; 0,24 і 0,28%.

Отже, підсумовуючи одержані нами дані, представлені на рис.1-2, можна зробити висновок, що у молоці корів другої і четвертої груп встановлене зростання кількості загального білка відбувається в основному, за рахунок казеїнової фракції. Вищі показники були у корів четвертої групи, які споживали мікорм в волю за безприв'язної системи утримання. Очевидно, це вказує на те, що біологічна дія грибниці у поєднанні із руховим чинником має кращий індукуючий

вплив на процеси біосинтезу складових частин молока, зокрема білків, ніж за прив'язної системи утримання.

Динаміка вмісту жиру у молоці корів протягом лактації, за впливу чинників годівлі та утримання, представлено на рис. 3. Із наведених даних видно, що вміст молочного жиру на початку дослідження знаходився в межах від $3,40 \pm 0,09$ до $3,46 \pm 0,04\%$. Найнижчий вміст жиру у перший місяць лактації було відмічено у молоці корів третьої групи, дещо вищим він був у молоці корів контрольної групи і приблизно на одному рівні у молоці корів другої і четвертої груп, які споживали мікорм *Pleurotus ostreatus*.

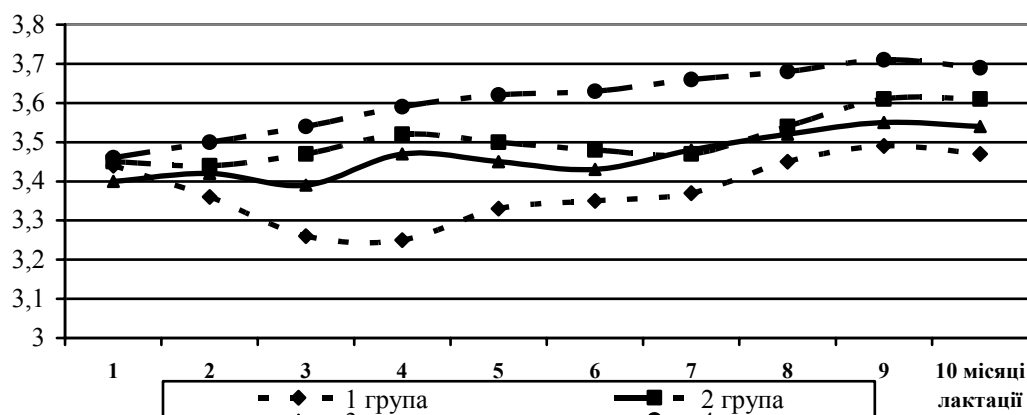


Рис. 3. Динаміка вмісту жиру у молоці корів протягом лактації за впливу чинників годівлі та утримання

На другому місяці лактації рівень жиру в молоці корів контрольної групи був нижчим від його вмісту у молоці корів другої групи на 0,08%, третьої – на 0,06% і четвертої – на 0,14%. Починаючи з третього місяця лактації, у корів, які споживали субстрат, одержаний внаслідок культивування грибниці *Pleurotus ostreatus*, вміст жиру у молоці був вірогідно вищим ($p < 0,05$), як у корів за прив'язної, так і безприв'язної систем утримання. Різниця за вказаним показником молока становила у корів другої групи 0,21% і четвертої групи – 0,28%. Подібна різниця за вмістом молочного жиру нами встановлена і на четвертому місяці лактації. У цей місяць вірогідно вищим ($p < 0,05$) вміст жиру був і у молоці корів третьої групи і вказана різниця становила 0,22%. Вільний доступ і споживання вволю субстрату, одержаного після культивування грибниці гливи, які мали корови четвертої групи, що утримувалися за безприв'язної системи, зумовили вірогідно вищий ($p < 0,05$), порівняно з коровами контрольної групи, вміст молочного жиру на 3-9-му місяцях лактації. На десятому місяці лактопоезу вміст жиру у молоці, порівняно з молоком корів контрольної групи, був вищим у корів другої групи на 0,14%, третьої – на 0,07% і четвертої групи – на 0,22%.

На нашу думку підвищення вмісту у молоці корів молочного жиру відбувається за рахунок як фітогормональної дії гливи звичайної на організм

тварин, так і повнішого засвоєння кормів раціону внаслідок дії на них протеолітичних ферментів і стимуляції синтезу мікрофлори рубця

Важливе значення при оцінці якості молока має лактоза (рис.4). Молочний цукор майже повністю засвоюється організмом (близько 98%). Є припущення, що від того, з якою інтенсивністю проходить синтез лактози у молочній залозі, залежить величина надою. У результаті проведених нами досліджень встановлено, що на початку досліду вміст лактози у молоці корів досліджуваних груп знаходився в межах від $4,30 \pm 0,15$ до $4,39 \pm 0,07\%$. Вірогідно вищі різниці ($p < 0,05$) вмісту лактози виявлено у молоці корів другої групи з сьомого до дев'ятого місяця лактації, в той час, як у корів четвертої групи, котрі, крім споживання мікорму, знаходилися на безприв'язному утриманні, вірогідне зростання ($p < 0,05$) відмічено з шостого до останнього місяця лактації.

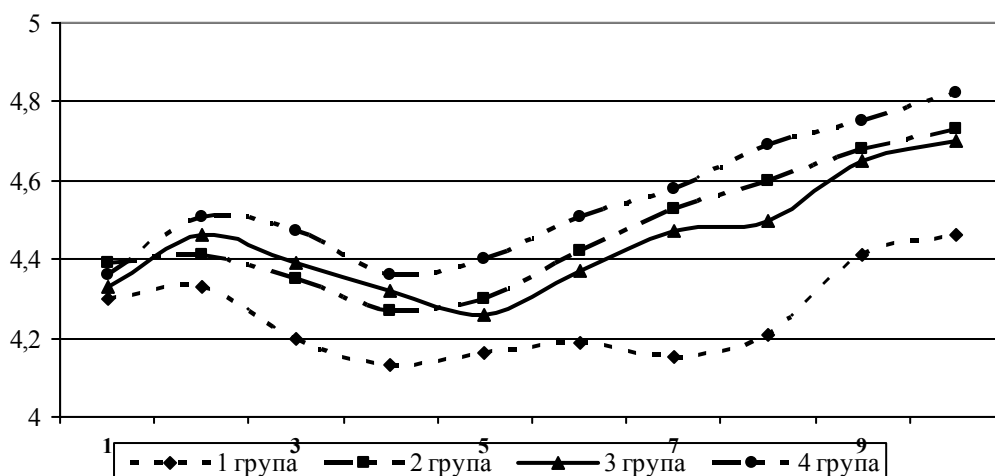


Рис. 4. Динаміка вмісту лактози у молоці корів протягом лактації за впливу чинників годівлі та утримання

Різниці у вказані місяці досліджень, відносно контролю, становили відповідно у другій групі 0,38, 0,39 і 0,27%, в той час, як у корів четвертої групи – 0,32, 0,43, 0,48, 0,34 і 0,36%. У молоці корів третьої групи вміст лактози був вищим, порівняно із молоком корів контрольної групи у всі місяці лактації, проте вірогідна ($p < 0,05$) різниця була лише на сьомому місяці і становила 0,32%.

Поряд з органічними речовинами важливе місце у молоці займають мінеральні речовини, які не тільки підвищують його поживну цінність і смакові якості, але й впливають на фізичні властивості та стійкість молочних білків. Вміст золи у молоці корів за згодовування грибниці *Pleurotus ostreatus* і різних систем утримання представлено на рис.5. З аналізу одержаних даних, видно, що рівень золи у молоці корів контрольної та дослідних груп на початку лактації був в межах від $0,490 \pm 0,006$ до $0,570 \pm 0,011\%$. Згодовування коровам грибниці гливи (друга група) і вільний доступ корів до неї (четверта група) привели до вірогідного зростання ($p < 0,05$), порівняно з молоком корів контрольної групи,

вказаного показника у молоці корів другої групи з 5-го по 8-ий місяці, а четвертої групи – з 3-го по 10-ий місяці лактопоезу.

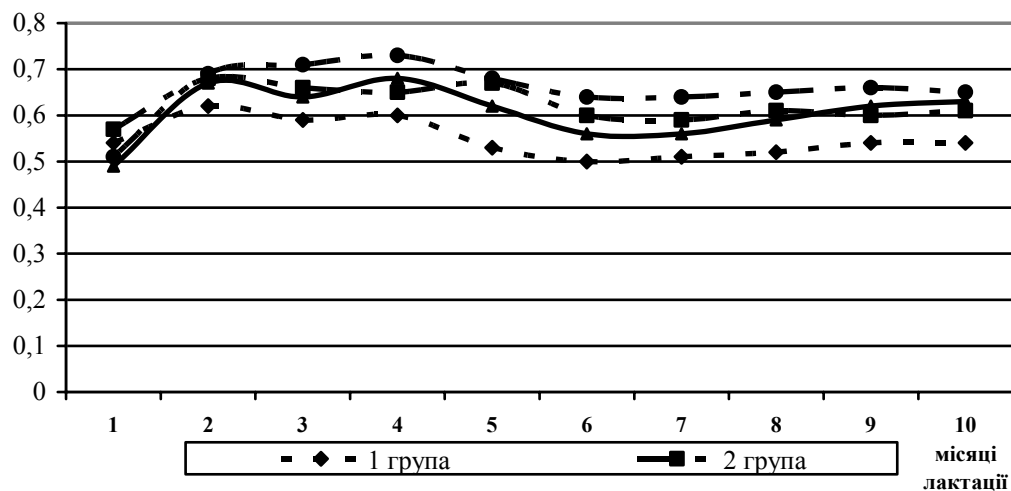


Рис. 5. Динаміка вмісту золи у молоці корів протягом лактації за впливу чинників годівлі та утримання

За вмістом золи у молоці групи корів розмістилися в такому порядку: найменша кількість була у корів першої групи, на другому місці знаходилися корови, які споживали корми основного раціону за безприв'язної системи утримання (третья група), далі корови другої групи, яким до основного раціону за прив'язної системи додавали кормову добавку грибниці гливи звичайної і корови четвертої групи, що мали вільний доступ до мікорму і споживали його вволю. Найвищий вміст золи $0,730 \pm 0,028\%$ був встановлений у молоці корів четвертої групи на 4-му місяці лактації.

Підвищення рівня золи у молоці корів ймовірно обумовлено поступленням в організм корів залишків кальцію, та інших хімічних елементів які використовуються при культивуванні грибниці на січці соломи і виготовленні зернового міцелію.

Висновки.

1. Згодовування коровам субстрату, одержаного після культивування грибниці гливи зумовило зростання вмісту в молоці білка на 3,39%, жиру на 3,51%, лактози на 4,47% та мінеральних речовин на 1,10% .
2. Поєднання безпривязного способу утримання із згодовуванням мікорму сприяло підвищенню рівня в молоці білка на 3,48%, жиру на 3,61%, лактози на 4,55% та мінеральних речовин на 1,30% .
3. Для підвищення біологічної цінності молока корів доцільно згодовувати їм в якості кормової добавки субстрат міцелію, одержаний після плодоношення гливи звичайної, який вводять в кількості 25-35% в заміні маси грубих кормів раціону. Вищі результати одержують у тих господарствах, у яких добавку грибниці використовують за безприв'язної системи утримання корів, де тварини мають вільний доступ до мікорму.

Література

1. Бабарика І.Г. Природний добір у стадах української чорно-рябої худоби при різних способах її утримання: автореф. дис...канд. с/г. наук.- Х., 2000. - 21с.
2. Бабицкая В.Г., Щерба В.В. Антиоксидантная активность грибов – деструкторов лигноцеллюлозных субстратов // Прикл. биохимия и микробиол. - 2002. - Т.38, №2. - С. 169-173.
3. Бурыкина И.М. Качество сырого молока – залог качества молочных продуктов // Материалы 2-ой Всероссийской научно-технической конференции "Современные достижения биотехнологии"// Северо-Кавказский государственный технический университет, Ставрополь, Т 2 2002. - 174 с.
4. Высокос Н.П., Хозей В.Е., Омельчак Н.П. Опыт применения кормового препарата микробиологического каротина молодняку крупного рогатого скота // Биотехнология получения кормового белка, экологически чистых препаратов, повышающих урожайность, премиксов, ферментов и витаминов кормового назначения. - Днепропетровск, 1990. - С.64.
5. Ветеринарно-санітарна експертиза молока //Кравців Р.Й., Біленчук Р.В., Козак М.В та ін. Навч. метод. посібник. - Львів, - 2005. -93 с.
6. Грик Ж. Отработанный грибной субстрат – отходы или доходы. Школа грибоводства. - 2003. - №3. – С. 27-32.
7. Молоко і молочні продукти / Р.Й. Кравців, В.І. Хоменко, Я.Ю. Островський та ін. — Львів : ЛА "Піраміда", 2001. — Cihangir N., Saglam N. Removal of cadmium by *Pleurotus sajor-caju* basidiomycetes. Acta biotechnol. –1999. –19, №2.– p. 171-177.
8. Снітинський В.В., Вовк С.О., Вантух А.Є. Високопротеїнові кормові добавки для великої рогатої худоби на основі ріпакового шроту // Вчені ЛДАУ – виробництву. – Львів, 2001. – С. 73-74.
9. Akhmedova Z. R., Dalimova G. N. Biotechnology for production of different hydrolytic, oxidative enzymes from fungi // International Symposium „Modern Problems of Microbial Biochemistry and Biotechnology”. - Pushcino, 2000. - P.139.
10. Bossuyt C.V., Wittenberg K.M., Crow G.H. Effect of fungal biomass in alfalfa hay on intake and total tract digestion in growing beef calves // J. Anim. Sci. - 1996. - Vol. 74, № 6. - P. 1336-1342.
11. Elisashvili V., Kachlishvili E., Chuchua D., Tsiklauri N., Khardziani T. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. and *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. lignocellulolytic enzyme activity. IJMM. Vol. 3. 2001. p.140311 с.
12. Rajarathnam S., Bano Z. *Pleurotus* mushrooms. Parte 1 A: Morfology, life cycle, taxonomy, breeding and cultivation // CRR Critical Recviews in Food Science. – 1987. - V. 26. - P. 157-223.

Summary

**INFLUENCE OF COWS FEEDING WITH MICELE FOOD BY THE
DIFFERENT WAYS OF THEIR KEEPING, ON CHEMICAL CONTENT OF
MILK**

Cows feeding with substrate, had gotten after Pleurotus ostreatus cultivation by unstring way of keeping specified the content rising in milk protein, fat, lactose, mineral substance.

To rise the biological value of cows milk, it would be better to give mycelium as a fodder addition after Pleurotus ostreatus productivity, which is included in a quantity of 25-35 per cent instead of forage ration.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК 636.22/28:612.621:619:618.2

Пилипець А. З., канд. с.-г. наук,
Грабовська О. С., канд. біол. наук, с. н. с.,
Сачко Р. Г., канд. с.-г. наук, с. н. с.

Мартин Ю. В., м. н. с.,
Інститут біології тварин НААН України, м. Львів, Україна

Вороняк В. В., канд. вет. наук, доцент
Венгрин А. В., канд. вет. наук, старший викладач ©
Львівський національний університет ветеринарної медицини та
біотехнології імені С. З. Ґжицького

ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ЯЄЧНИКАХ ТА МАТЦІ КОРІВ ЗА РІЗНОГО ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ СТАТЕВОЇ ЗАЛОЗИ

У статті представлені результати досліджень вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в яєчниках та матці корів різного фізіологічного стану статеві залози. Виявлено, що зміни вмісту дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду у зв'язку з фізіологічним станом яєчника та матки свідчать про перебудову й інтенсивну функціональну активність статеві залози «пізнього жовтого тіла».

Ключові слова: перекисне окиснення ліпідів, жовте тіло, корови, яєчники, матка.

Вступ. У репродуктивних органах клінічно здорових тварин існує баланс між утворенням активних форм кисню (АФК) та рівнем активності антиоксидантних систем [1]. При зміні вказаного відношення в бік збільшення АФК зростає оксидативний стрес (ОС), що викликає порушення репродуктивної функції корів [2–4]. Характерним підтвердженням розладу фізіологічних процесів у статевих органах є зростання оксидативного стресу з віком та зниження репродуктивної функції корів [5, 6].

Наслідком ОС є інтенсифікація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) з утворенням цитотоксичних продуктів, змін у конформації ліпопротеїнів, які супроводжуються порушенням структур мембран клітин, підвищенням їх проникності, виходом в екстацелюлярний простір та активуванням мембранозв'язаних ферментів [7, 8]. Поряд з цим, ПОЛ можуть впливати на процеси проліферації і диференціації клітин на рівні синтезу простагландинів, простациклінів, тромбоксанів і прогестерону [9, 10].

Мета роботи - вивчити вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у тканинах яєчників та матки корів у зв'язку з фізіологічним станом статеві залози.

Матеріали і методи. Після забою корів (n = 16) відбирали статеві

залози, які оцінювали за фізіологічним станом («раннього жовтого тіла», діаметр 10–20 мм, колір червоний або брунатний; «пізнього жовтого тіла», діаметр 5–15 мм, колір жовтий; «фолікулярного росту», без жовтого тіла) і тканину матки. Готували гомогенат: подрібнені тканини яєчника та матки гомогенізували у гомогенізаторі Потера у фосфатному буфері за температури 0 – +4°C. Вміст дієнових кон'югатів (мкМ/г), малонового діальдегіду (МДА; нМ/мл) та гідроперекисів (од Е480/мл) визначали за допомогою спектрофотометра СФ-46 [11]. Одержані цифрові дані опрацьовували статистично [12].

Результати дослідження. Тканини яєчників характеризуються вмістом дієнових кон'югатів — $1,3 \pm 0,65$ мкМ/г, гідроперекисів — $1,4 \pm 0,40$ од Е480/мл та малонового діальдегіду — $0,7 \pm 0,33$ нМ/мл і матки, відповідно, $1,5 \pm 0,73$ мкМ/г, $2,4 \pm 0,76$ од Е480/мл та $2,3 \pm 0,95$ нМ/мл. Таким чином, у тканині матки, порівняно з яєчниками, більш інтенсивно протікають процеси перекисного окиснення ліпідів.

Вивченням залежності продуктів перекисного окиснення ліпідів від фізіологічного стану яєчників виявлено, що вміст гідроперекисів максимальний ($2,9 \pm 1,09$ од Е480/мл) при «пізньому жовтому тілі», нижчий у 3,6 рази при «ранньому жовтому тілі» і найнижчий ($0,6 \pm 0,06$ од Е480/мл) у тканині статевої залози при «фолікулярному рості» (рис. 1). У тканині матки, відповідно до

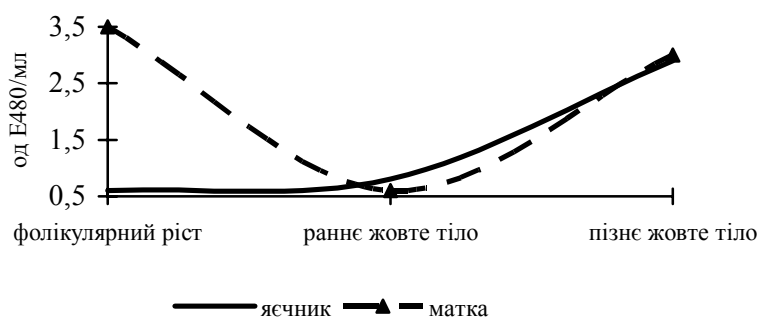


Рис 1. Вміст гідроперекисів у тканині яєчників та матки корів у зв'язку з фізіологічним станом статевої залози

фізіологічного стану яєчників, встановлено низький вміст гідроперекисів ($0,6 \pm 0,05$ од Е480/мл) за «раннього жовтого тіла» і вище у 5 та 6 раз при «пізньому жовтому тілі» та «фолікулярному рості».

Вміст дієнових кон'югатів у тканині статевої залози пропорційно знижується зі зміною фізіологічного стану: «раннє жовте тіло» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст», відповідно, з $2,1 \pm 0,85$ мкМ/г на 28,4% та 71,5% (рис. 2). При цьому, у тканині матки, навпаки, низька величина досліджуваного



Рис. 2. Вміст дієних кон'югатів у тканині яєчників та матки корів у зв'язку з фізіологічним станом статевих залоз

показника ($1,2 \pm 0,51$ мкМ/г) встановлена за фізіологічного стану яєчника «раннього жовтого тіла» і вища на 29,5 % та 25,0 % при «пізньому жовтому тілі» та «фолікулярному рісті».

Вміст малонового діальдегіду низький ($0,6 \pm 0,29$ нМ/мл) за фізіологічного стану яєчника «раннього жовтого тіла» та «фолікулярного росту» і вищий на 33,3% при «пізньому жовтому тілі» (рис. 3). Подібну

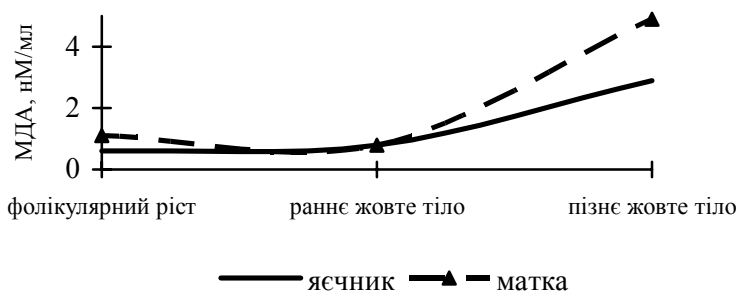


Рис. 3. Вміст малонового діальдегіду у тканині яєчників та матки корів у зв'язку з фізіологічним станом статевих залоз

залежність проявляє вміст вказаного продукту окиснення ненасичених жирних кислот у тканині матки: величина значення низька ($0,8-1,1$ нМ/мл) за фізіологічних станів яєчника «фолікулярного росту» і «раннього жовтого тіла» і вища на 77,6 % ($4,9 \pm 2,08$ нМ/мл) при «пізньому жовтому тілі».

Низький вміст продуктів окиснення ненасичених жирних кислот у репродуктивних органах може бути зумовлений фізіологічним станом яєчника і визначатися концентрацією гормонів в організм корів. Так, відомо, що за фізіологічного стану статевих залоз «фолікулярного росту» підвищується

концентрація гормонів (ФСГ, ЛГ та естрогенів) у крові та тканинах репродуктивних органів тварин [13]. При цьому, естрогени проявляють антирадикальні властивості, що і зумовлює зниження ПОЛ. Підвищення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів за фізіологічного стану яєчника «пізнього жовтого тіла» може бути зумовлена гормональною активністю жовтого тіла або ж утворенням простагландинів (P_gF_{2α}) [14], що свідчить про перебудову й інтенсивну функціональну активність репродуктивних органів корів.

Висновки:

1. У тканині матки, порівняно з яєчниками, більш інтенсивно протікають процеси перекисного окиснення ліпідів.

2. Вміст дієнових кон'югатів у тканині статевої залози пропорційно знижується зі зміною функціонального стану: «раннє жовте тіло» → «пізнє жовте тіло» → «фолікулярний ріст».

3. Високий вміст МДА характерний для репродуктивних органів корів за фізіологічного стану яєчника «пізнього жовтого тіла».

Література

1. Miller J. K., Brzezinska-Slebodzinska E., Madsen F. C. Oxidative Stress, Antioxidants, and Animal Function // *J. of Dairy Sci.* – 1993. – V.76 -№. 9 –P. 2812-2823.

2. Fujitani Y., Kasai K., Ohtani S., Nishimura K., Yamada M., Utsumi K. Effect of oxygen concentration and free radicals on in vitro development of in vitro-produced bovine embryos // *J. of Animal Sci.* - 1997. - V.75. –P. 483-489;

3. Olson S.E., Seidel G.E. Jr Culture of In Vitro-Produced Bovine Embryos with Vitamin E Improves Development In Vitro and After Transfer to Recipients // *Biology of Reproduction* – 2000. - V.62. –P. 248-252

4. Ashok Agarwal, Sajal Gupta, Rakesh K Sharma Role of oxidative stress in female reproduction // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2005. - V.3. - 28.

5. Tarin J.J., Ten J., Vendrell F.J. Dithiothreitol prevents age-associated decrease in oocyte/conceptus viability in vitro // *Hum. Reprod.* – 1998. –V. 13. –P. 381–386.;

6. Tarin J.J., Vendrell F.J., Ten J. Antioxidant therapy counteracts the disturbing effects of diamide and maternal ageing on meiotic division and chromosomal segregation in mouse oocytes // *Mol. Hum. Reprod.* – 1998. –V. 4. – P. 281–288.

7. Богач П. Г. Структура и функция биологических мембран [Текст] / П.Г. Богач, М.Д. Курский, Н.Е. Кучеренко, В.К. Рыбальченко. — К. : Вища школа, 1981. — 336 с.

8. Лабори А. Регуляция обменных процессов [Текст] / А. Лабори, Пер. с франц. — М. : Медицина, 1970. — 384 с

9. Владимиров Ю. А. Перекисное отделение липидов [Текст] / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков — М. : Наука, — 1972. — 252 с.

10. Cornwell D. G., Zhang H., Downs E. et al. / *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1986,

V. 63, № 4, P. 439; Tappel A. L. Fed. Proc., 1973, V. 32, P. 1870

11. Довідник: Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині — Львів, 2004. — 399 с.

12. Лакин Г. Ф. Биометрия [Текст] / Г. Ф. Лакин — М. : Высшая школа, 1990.— 351 с.

13. Ginther O.J., Bega M.A., Bergfelta D.R., et al. Follicle Selection in Monovular Species //Biol. Reprod. —2001 —V.65, —P.638-647

14. Sugino N., Karube-Harada A., Kashida S. et al. Reactive oxygen species stimulate prostaglandin F2 alpha production in human endometrial stromal cells in vitro. //Hum. Reprod. — 2001.—V.16. —P.1797–1801.

Summary

**Pylypets' A. Z. , Grabovs'ka O. S., Sachko R. H., Martyn Yu. V.,
Voronjak V. V., Vengryn A. V.**

CONTENT OF LIPID PEROXIDATION PRODUCTS IN COWS' OVARIES AND UTERUS AT DIFFERENT STATES OF REPRODUCTIVE GLAND

The results of researches concerning lipid peroxidation products content in ovaries and uterus at different states of reproductive gland are presented in this article. It was revealed that diene conjugates and malonic dialdehyde content in connection with physiologic state of ovaries and uterus whiteness about reconstruction and intensive functional activity of reproductive gland "with regressing corpora lutea".

Стаття надійшла до редакції 1.09.2010

УДК : 636. 4 : 612.015 : 632. 95

Рапа О.І. ©

Маслянюк Р.П., д-р біол. наук, професор

*Львівський національний університет ветеринарної медицини
ім. С.З.Гжицького***ПОКАЗНИКИ ІМУНІТЕТУ У ВАГІТНИХ КОРІВ І ЇХ ТЕЛЯТ ЗА
КОРЕКЦІЇ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОГО СТАНУ**

Добавки до залізодефіцитних раціонів хелатів заліза сприяє підвищенню імунобіохімічного статусу в організмі вагітних корів і їх телят.

Ключові слова: корови, телята, вагітність, імунітет, годівля, дефіцит заліза, корекція залізодефіциту.

Вступ. Дефіцит заліза, як правило розвивається внаслідок його нестачі в кормах [1-4]. Вміст заліза в кормах і фактори, що впливають на його засвоюваність, є основними детермінантами забезпеченості тварин залізом і поширення залізодефіцитних станів [5-8].

Залізо – важливий фактор, який забезпечує адекватне функціонування імунної системи [9-12]. Закономірним наслідком порушень в імунній системі через дефіцит заліза є хронізація багатьох захворювань, зниження продуктивності та розвиток імунодефіцитних станів у тварин [12-15], що зумовлює необхідність оцінки стану імунітету у тварин з залізодефіцитним статусом, з врахуванням відповідної корекції при застосуванні превентивної терапії. Оскільки зміни в імунній системі при імунодефіцитному стані корів останніх місяців вагітності та їх телят в неонатальний період недостатньо вивчені, ми провели відповідні дослідження.

Матеріали і методи дослідження. Досліди проведено в науково-виробничому центрі(ННВЦ) "Комарнівський" ЛНУВМ ім. С.З. Гжицького, на 20 коровах чорно-рябої породи і їх телятах. Корови в другій половині вагітності були поділені за принципом аналогів на 4 групи : I група (контрольна) корекції залізодефіциту не проводили, II-й, III-й і IV-й дослідним групам за 3 місяці перед родами до залізодефіцитних раціонів щоденно додавали з розрахунку на кг маси тіла відповідно 0,03 мг сульфату заліза, 0,03 мг метіонату заліза і 0,04 мг метіонату заліза. Добавки заліза в розчинній формі поливали силос або сухий корм. Умови годівлі, догляду та утримання тварин були однакові. Корови були віком 5– 7 років , середня продуктивність за останню лактацію становила 3100 кг молока.

Ступінь тяжкості залізодефіциту визначили за рівнем заліза в сироватці крові, трансферину, лактоферину, гаптоглобіну та вмістом гемоглобіну, еритроцитів і гематокриту.

Показники клітинного імунітету визначали за кількістю лімфоцитів, числом Т- і В- лімфоцитів різних субпопуляцій за реакцією спонтанного розеткоутворення. Субпопуляції Т-лімфоцитів оцінювали за чутливістю Е-розеткоутворюючих клітин до теофіліну. Як відомо, теофілін-резистентні лімфоцити (ТР-РУК) відповідають Т- гелперам, а теофілін-чутливі (ТЧ-РУК) – Т-супресорам-кілерам.

В сироватці крові досліджували вміст загального білка рефрактометрично, відносну та абсолютну концентрацію окремих білкових фракцій методом електрофорезу в агаровому та полікриламідному гелях та імуноелектрофорезу за методами, описаними (16).

В процесі досліджень проводили спостереження за перебігом вагітності, родів і післяродового періоду в корів, наявністю та характером захворювань корів і їх новонароджених телят.

Цифровий матеріал обробляли статистично, оцінку достовірності проводили за критеріями Стюдента та Фішера. Результати вважали достовірними при $P < 0,05^*$, $P < 0,01^{**}$, $P < 0,001^{***}$.

Результати та обговорення. Дані про основні параметри периферійної крові та показники метаболізму заліза у крові до і після корекції залізодефіциту наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Параметри червоної крові та показники метаболізму заліза у обстежених корів (M±m).

Показники	Групи тварин							
	До корекції залізодефіциту				Після корекції залізодефіциту			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Еритроцити, $10^{12}/л$	5,42±0,02	5,31±0,3	5,24±0,2	5,31±0,2	5,11±0,2	6,21*±0,3	6,96**±0,3	6,34*±0,3
Гемоглобін, г/л	75,2±2,1	76,9±1,7	74,5±1,4	78,4±1,8	60,1**±2,1	91,4**±2,2	98,9***±2,3	93,2**±0,1
Гематокритне число, %	3,7±0,1	3,9±0,1	4,1±0,1	3,8±0,1	3,1*±0,1	4,7*±0,1	4,9*±0,1	4,7*±0,1
Залізо сироватки, мг/л	265,6±7,9	271,4±8,2	270,0±9,1	275,0±8,4	211,3*±8,4	296,3*±8,2	298,8**±8,7	287,4*±9,1
Трансферин, г/л	4,6±0,1	4,9±0,1	4,5±0,09	4,8±0,1	4,3±0,06	11,26***±0,3	11,46***±0,4	11,32***±0,07
Гаптоглобулін, г/л	1,2±0,04	1,5±0,06	1,3±0,03	1,2±0,03	1,0±0,03	1,7*±0,04	2,1**±0,07	1,8*±0,06

Аналіз таблиці показує, що в крові корів всіх груп до початку застосування залізодефіцитної корекції раціонів, кількість еритроцитів була нижчою від загальноприйнятих фізіологічних норм, які складають – 6-9*10¹²/л.

Після проведеної ферокорекції протягом трьох місяців, число еритроцитів у крові контрольних тварин істотно не змінилося, а у дослідних – зросло на 14-25% ($P < 0,01$). Одночасно після залізодефіцитної корекції в крові контрольних тварин достовірно знизився вміст гемоглобіну ($P < 0,01$), а у дослідних тварин цей показник значно зріс ($P < 0,01$), особливо у тварин третьої групи ($P < 0,01$).

Зниження у крові контрольних корів в кінці вагітності вмісту гемоглобіну та еритроцитів, очевидно, зв'язано з дефіцитом заліза в кінці вагітності внаслідок інтенсивного росту плода, формування молозива та підготовкою організму до майбутньої лактації. Ці припущення підтверджуються нашими даними по поліпшенню гематологічних показників у тварин в результаті ферококорекції.

Щодо показників, які характеризують стан обміну заліза в організмі, то вони у дослідних корів також зростали, причому найбільш виражено у тварин третьої групи. Так, вміст трансферину збільшився у цих тварин майже в 3 рази, а гаптоглобіну на 39% у корів третьої дослідної групи ($P < 0,01$). Зниження вмісту гаптоглобіну сироватки крові контрольних тварин перед родами на 26%, можливо, зв'язано зі зниженням осмотичної резистентності еритроцитів при дефіциті заліза та вивільнення вільного гемоглобіну. Останній здатний утворювати з гаптоглобіном комплекс Нр-Нв, котрий запобігає втраті гемового заліза через нирки. Цей комплекс швидко утилізується і зникає з кровообігу (17).

Дані про стан клітинних і гуморальних факторів імунітету вагітних корів при залізодефіцитній корекції наведені в таблиці 2.

Із таблиці видно, що загальна кількість лімфоцитів і число Т-клітин в крові корів протягом останніх місяців вагітності не зазнавало виражених змін навіть у відповідь на феродефіцитну корекцію. В той же час кількість гелперних і супресорних клітин у тварин третьої та четвертої груп достовірно зростала ($P < 0,01$), що може бути наслідком активізації їх регуляторної функції.

Таблиця 2.

Імуноглобінні показники у обстежених корів процесі залізодефіцитної корекції ($M \pm m$)

Показники	Групи тварин							
	До корекції 3Д				Після корекції 3Д			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Лімфоцити, %	62,4 ±2,1	67,1 ±2,2	59,8 ±2,1	60,7 ±2,2	63,1 ±1,2	65,4 ±2,3	62,1 ±2,3	64,3 ±2,2
T – лімфоцити, %	68,4 ±3,1	64,7 ±2,6	69,1 ±2,4	64,9 ±2,7	65,1 ±2,3	67,4 ±2,7	64,5 ±2,9	67,5 ±2,5
T – гелпери, %	34,7 ±1,2	35,6 ±1,5	34,9 ±1,6	35,7 ±1,5	35,1 ±1,7	39,7 ±1,7	42,4*	42,9*
T - супресори, %	2,25 ±0,8	23,1 ±1,1	22,6 ±1,1	23,7 ±1,0	23,1 ±2,1	27,3 ±1,1	29,6*	28,2*
Tг/Tс	1,54	1,54	1,54	1,54	1,52	1,44	1,40	1,52
Ig G1, г/л	6,7 ±0,2	6,5 ±0,2	6,5 ±0,2	6,7 ±0,2	4,3* ±0,1	4,1* ±0,1	3,9** ±0,1	4,2* ±0,2
Ig G2, г/л	5,1 ±0,1	5,4 ±0,1	5,2 ±0,1	5,4 ±0,1	5,2 ±0,1	5,1 ±0,1	5,3 ±0,1	5,1 ±0,1

Привертає увагу зниження вмісту Ig G1 в сироватці крові всіх корів, найбільш достовірно ($P < 0,01$) у тварин третьої групи, на останньому місяці вагітні. В цей період значна частина імуноглобулінів G1 з крові переноситься в молочні залози, де відіграє головну роль в протийндекційному захисті молозива.

Імуноглобуліни підкласу G2 в сироватці крові корів в цей період не зазнали істотних змін.

При дослідженні білкового складу сироватки молозива та крові новонароджених телят встановлено, що у тварин дослідних груп, порівняно з контролем, вміст IgG, був достовірно вищий ($P < 0,01$). У телят дослідних груп виявлено також кращі гематологічні показники та не відмічено вираженого феродефіциту. Найкращі імунобіохімічні показники встановлено у телят третьої групи, народжених від корів, яким до раціонів додавали сульфат заліза в комплексі з метіоніном в дозі 0,03 мг на кг живої маси.

Таким чином, можна прийти до висновку, що включення метіоніну до складу феродефіцитної корекції раціонів вагітних корів забезпечує підвищений імунний статус організму в системі мати-плід-новонароджений.

Література

1. Бітюцький В.С. Стан транспортного фонду феруму сироватки крові поросят-сисунів при застосуванні антианемічних препаратів / Бітюцький В.С. // Науковий вісник ЛНАВМ ім. С.З. Гжицького. – 2005. – т. 7. – № 4(27). – ч. 2. – С. 6-11.
2. Бучко О.М. Роль заліза в життєдіяльності тварин / Бучко О.М., Іскра Р.Я. // Біологія тварин. – 2000. – т. 2 (1). – С. 25-35.
3. Жеребецька О.І. Особливості розвитку факторів імунної системи у телят / Жеребецька О.І., Масляно Р.П., Матвіїшин Т.С., Пукало Л.Я. // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С.З. Гжицького. – 2005. – Т. 7(4). – № 27. – ч. 2. – С. 106-112.
4. Заволока Л.А. Диагностика и профилактика железодефицитной анемии у телят и поросят / Заволока Л.А., Бережной А.Ф. // Ветеринария. – К. – «Урожай». – 1998. – вип. 63. – С. 43-48.
5. Заволока Л.А. Диагностика и профилактика железодефицитной анемии у телят и поросят / Заволока Л.А., Бережной А.Ф. // Ветеринария. – К. – «Урожай». – 1998. – вип. 63. – С. 43-48.
6. Масляно Р.П. Вплив фізіологічно-активних речовин на імунний статус поросят-гіпотрофіків / Масляно Р.П., Павлюк І.М. // Зб. Передгірне та гірське тваринництво. – 1993. – вип. 46. – С. 37-42.
7. Масляно Р.П. Гаптоглобуліни: роль, структура і їх функції / Масляно Р.П., Пукало Л.Я. // Науковий вісник ЛНУВМтаБТ імені С.З. Гжицького. – 2007. – Т. 9 – №3(34). – ч. 3. – С. 116-119.
8. Сергатенко А.С. Использование хелатных комплексов микроэлементов для профилактики анемии / Сергатенко А.С. // Вет. с.-х. животных. – 2007. – № 10. – С. 50-52.
9. Blot I. Iron deficiency in pregnancy: effects on the newborn / Blot I., Diallo D., Tcherna G. // Curr. Opin. Haematol. – 1999. – Vol. 6. – №2. – P. 65-70.
10. Connor J. Long-Lasting neural and behavioral effect of iron deficiency in infancy / Connor J., Fett B. // Nutr. Rev. - 2007. – v. 65. – P. 34-43.
11. De Wayne A. Chelated trace minerals / De Wayne A. // Vet. Med. – 1994. – v. 24. – P. 467-469.

12. Hunt J.R. Absorption of iron from ferritin. / Hunt J.R. // Am. J. Clin. Nutr. – 2005. – v. 81. – P. 1178-179.
13. Leong W.I. Iron transporters in rat mammary gland: effect of maternal iron status and different stages lactation / Leong W.I., Lonnerdal B.E. // Am. J. Clin. Nutr. – 2004. – v. 78. – P. 42-49.
14. Scholl T.O. Iron status during pregnancy: setting the stage for mother and infants / Scholl T.O. // Am. J. Clin. Nutr. – 2005. – v. 81. – P. 1218-1223.
15. Weiss G. Iron and immune system / Weiss G. // Eur. J. Clin. Invest. – 2002. – v. 32. – P. 70-78.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК 619:616.935:636.2:577.115.3

Сидір-Басараб І.М.¹⁻³, аспірант;**Калачнюк Л.Г.**^{1,2} д.б.н., доцент;**Мельничук Д.О.**¹, д.б.н., професор, академік НАНУ і НААНУ,**Мельничук С.Д.**¹, д.б.н., професор, член-кор. НААНУ**Калачнюк Г.І.**^{1,2}, д.б.н., професор¹Національний університет біоресурсів і природокористування України²НДІ біотехнологічних основ підвищення продуктивності тварин ЛНУВМтаБТ імені С. З. Гжицького³ Інститут фізіології і генетики тварин Чеської АН, Прага, Чеська Республіка

ВМІСТ ВІЛЬНИХ АРОМАТИЧНИХ АМІНОКИСЛОТ У КРОВІ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ГЕПАТОСТЕАТОЗУ ТА ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ ЧИННИКІВ

На експериментальній моделі за умов розвитку алкогільндукованого стеатозу печінки показано, що в плазмі крові щурів вірогідно знижується вміст вільних ароматичних амінокислот (ВААК) – Tyr, Phe, Trp та їхньої сумарної кількості. Відсоткове зниження знаходиться в межах 18,6 -23,1, що прямо вказує на порушення метаболічних шляхів аренів, значна частина реакцій яких очевидно залежить від пошкоджень мембран гепатоцитів. Це узгоджується із раніше отриманими даними. Використання фосфоліпідвмісних комплексних біологічно активних добавок (БАД) рослинного і тваринного походження дозволяє відновити вміст досліджуваних ВААК у крові.

Ключові слова: вільні ароматичні амінокислоти, печінка, етанол, кров, щурі, біологічно активні добавки, фосфоліпіди молока.

В експериментальних моделях алкогільндукованого гепатостеатозу показано не тільки значні зміни багатьох показників внутрішньоклітинного метаболізму в печінці і крові, але й відмічено своєрідні порушення в обміні білків та амінокислот (АК) [1 – 9]. Виявлено, що суттєвих змін зазнають амінокислоти з розгалуженими карбоновими ланцюгами та ряд важливих глікогенних АК [3, 4]. Цікавим є те, що вміст таких АК, як Val, Leu, Ile та їх сумарна кількість вірогідно спадає, тоді як Ala, Glu і Gln та їх сума, навпаки, зростає [3, 4]. Хронічне вживання етанолу (EtOH) по-різному впливає на вміст інших вільних АК та їх груп. Це також чітко видно і на прикладі зрушень вмісту таких ароматичних амінокислот, як Tyr, Phe, Trp та їхньої суми, що наведено нами у цьому повідомленні

Матеріали і методи. Дослідження проводили на 25 щурах-самцях живою масою 130-150 г, які були розділені на п'ять груп, по 5 тварин у кожній. Щурі 1^{oi} групи (контрольної) у складі раціону одержували ізокалорійний розчин глюкози (40 %-ний розчин), 2-, 3-, 4- і 5^{oi} груп, окрім глюкози, – алкоголь (30 %-ний розчин; v/v) по 8 г/кг живої маси *per os*. Крім цього тварини 3^{oi}, 4^{oi} і 5^{oi} груп за 1 год до введення EtOH і глюкози додатково отримували

фосфоліпідвмісний препарат із сої *EPL* (“Есенціале“, 25 мг/1 кг живої маси), *FLP-MD* (фосфоліпідвмісний препарат на основі відходів молока; 25 мг/1кг живої маси) і *LP FLP-MD*, тобто препарат у ліпосомальній формі у кількості 10 мг/1 кг живої маси, відповідно. Детальний опис методики подано раніше [5 – 9]. Плазму крові депротейнізували сульфасалциловою кислотою і супернатант використовували для амінокислотного аналізу іонообмінною хроматографією *HPLC* (model 6300, *Beckman Instruments, Fullerton, CA*). Оптичну густина вимірювали при 440 і 570 нм після постколоночної обробки нінгідрином. У якості внутрішнього стандарту використовували (*S*)-2-аміноетил-L-цистеїн. Отримані цифрові дані обробляли статистично з використанням критерію Стьюдента «*t*».

Результати і обговорення. Отримані результати досліджень наведені у табл. 1 і рис. 1.

Таблиця 1

Вміст (мкмоль/л) вільних ароматичних амінокислот (ВААК) у плазмі крові щурів за умов розвитку алкогольіндукованого стеатозу печінки і впливу фосфоліпідвмісних комплексних добавок ($M \pm m$; $n=5-15$)

Групи тварин	Амінокислоти			
	Tyr	Phe	Trp	$\Sigma_{\text{ВААК}}$
1 (К; контроль)	108±4,1	84±4,3	97±3,2	289±14
2 (К+EtOH)	83±3,7*	62±3,1*	79±3,3*	224±6,2*
3(К+EtOH+EPL)	98±3,4 [#]	75±3,2 [#]	91±3,1 [#]	264±10 [#]
4(К+EtOH+FLP-MD)	99±3,5 [#]	77±3,8 [#]	94±3,3 [#]	270±9,5 [#]
5(К+EtOH+LP FLP-MD)	102±3,8 [#]	81±3,5 [#]	99±3,2 [#]	282±12,7 [#]

Тут і далі : *різниця вірогідна у порівнянні з контролем, [#]різниця вірогідна у порівнянні з 2^{ою} групою

Із даних табл. 1 і рис. 1 видно, що під впливом екзогенного алкоголю в плазмі крові тварин майже на 23 % знижується вміст ароматичних АК. Це вказує на значне порушення метаболізму згаданих аренів під впливом екзогенного *EtOH*. Гальмування етанолом окремих ланок обмінних процесів можна прослідкувати на спеціальних схемах метаболізму Tyr, Phe і Trp [10].

Із наведених схем і конкретних даних видно, що під дією екзогенного *EtOH*, можливо, порушуються цитоплазматичні й субклітинні мембрани печінки і в результаті цього багато важливих сполук не може вчасно і в достатній кількості транспортуватися до місця синтезу аренів, або ж навпаки, паралельно посилюються процеси деградації їх та інших АК. Тому, очевидно, понижені кількості таких амінокислот спостерігаються в плазмі крові.

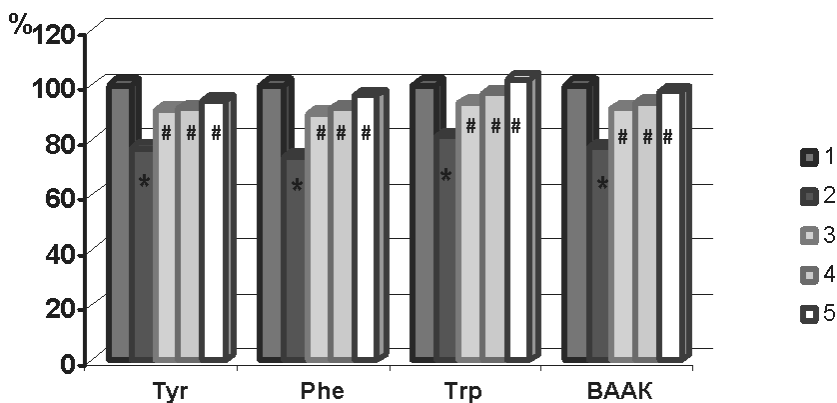
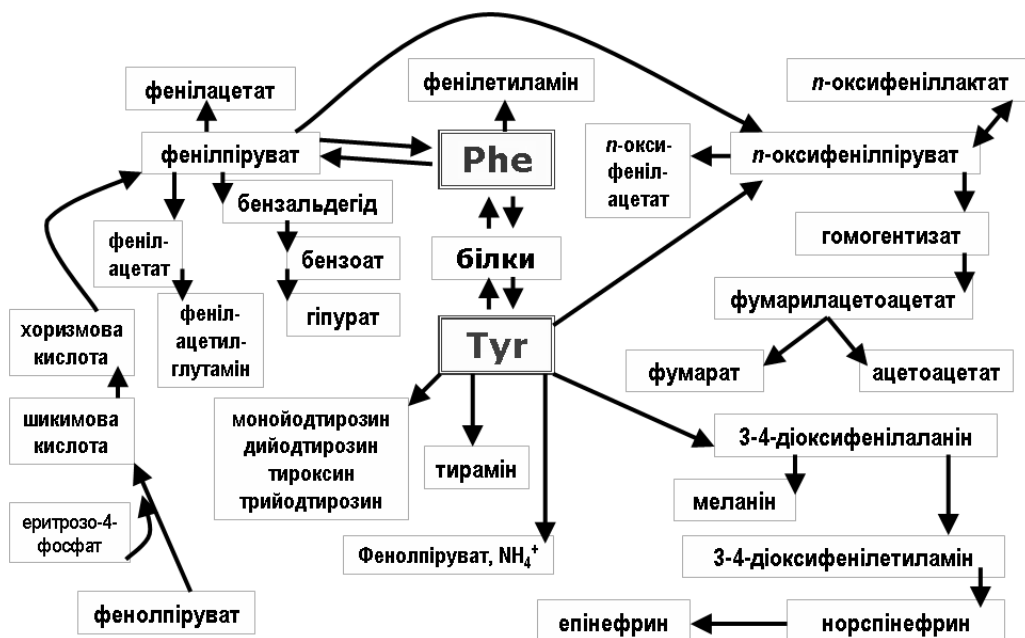


Рис. 1. Відсоткові зміни вмісту ВААК у плазмі крові щурів за умов розвитку алкогольіндукованого стеатозу печінки і впливу фосфоліпідвмісних комплексних добавок (M±m; n=5-15).

Метаболізм Tyr і Phe





Важливо зазначити, що згадані порушення вірогідно зникають при застосуванні фосфоліпідвмісних комплексних біологічно активних добавок рослинного й тваринного походження. При цьому найвищий біологічний ефект проявляє ліпосомальна форма БАД LP FLP-MD, одержана із фосфоліпідів молока.

Висновки:

1. За умов розвитку алкогольіндукованого гепатостеатозу в плазмі крові щурів вірогідно знижується вміст вільних ароматичних амінокислот – *Tyr*, *Phe*, *Trp* та їхньої сумарної кількості.

2. Використання фосфоліпідвмісних комплексних добавок рослинного (*EPL* – «Есенціале») й тваринного (*FLP-MD* і *LP FLP-MD*) походження, виготовлених на основі ліпідів молока, підвищує вміст ароматичних кислот у крові. Причому найвищий ефект проявляє ліпосомальна форма БАД – *LP FLP-MD*.

3. Ушкоджуюча дія *EtOH* і лікувальний вплив нових фосфоліпідвмісних БАД пов'язується із порушеннями та відновленням структурно-функціонального стану мембран клітин печінки.

Література

1. Островский Ю.М. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю.М. Островский, С.Ю. Островский. – Минск: Наука и техника, 1995. – 280 с.

2. Влияние композиции аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, триптофана и таурина на обмен аминокислот в экспериментальных моделях алкоголизма / В.Ю. Смирнов, Ю.Е. Разводовский, Е.М. Дорошенко [и др.] // Укр. биохим. журн. – 2003. – Т. 75, № 4. – С. 101 – 107.

3. Відновлення рівня вільних амінокислот із розгалуженими «С»-ланцюгами в крові за дії токсичних і нейтралізуючих речовин / . Калачнюк, І.

Сидір-Басараб, Д. Мельничук, Г. Калачнюк // Наук. вісник ЛНУВМтаБТ ім. С.З. Гжицького, Львів, 2010. – Т. 12, № 2 (44), Ч. 2. – С. 99 – 103.

4.Корекція обсягів глюкогенних амінокислот у крові за умов розвитку алкогольіндукованого стеатозу печінки / Л. Калачнюк, І. Сидір-Басараб, Д. Мельничук, Г. Калачнюк // Вісник Львівського ун-ту. Серія Біол. 2010. – (у друці).

5.Калачнюк Л.Г., Мельничук Д.О., Калачнюк Г.І. Регуляція метаболізму жирних кислот та інших ліпідних сполук у жуйних тварин // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т. 79, № 1. – С. 22 – 45.

6.Зміни активності внутрішньоклітинних ензимів за дії токсиканта і протектора / Л.Г. Калачнюк, І.М. Сидір-Басараб, Г.І. Калачнюк, Д.О. Мельничук // Наук. вісник ЛНУВМтаБТ ім. С.З. Гжицького, Львів, 2009. – Т. 11, № 2 (41), Ч. 2. – С. 105 – 109.

7.Зміни активності ліпогенних ензимів у клітині за дії екзогенних факторів / Л.Г. Калачнюк, Д.О. Мельничук, І.М. Сидір-Басараб [та ін.] // Наук. вісник ЛНУВМтаБТ ім. С.З. Гжицького, Львів, 2009. – Т. 11, № 3 (42), Ч. 2. – С. 76 – 80.

8.Антиоксидантна здатність фосфоліпідвмісних комплексів за умов розвитку алкогольіндукованого гепатичного стеатозу / Л.Г. Калачнюк, Д.О. Мельничук, І.М. Сидір [та ін.] // Наук. вісник ЛНУВМтаБТ ім. С.З. Гжицького, Львів, 2008. – Т. 10, № 3 (38), Ч. 1. – С. 99 – 105.

9.Зміни біохімічних показників крові за екзогенної дії алкоголю та фосфоліпідвмісних комплексів / Л.Г. Калачнюк, Д.О. Мельничук, І.М. Сидір [та ін.] // Наук. вісник НАУ, Київ, 2008. – Вип. 127. – С. 117 – 120.

10. J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer Biochemistry : [5th ed.]. – New York: W.H. Freeman and Co., 2002. – 572 p.

Summary

**I. Sydir-Basarab¹⁻³, L. Kalachnyuk^{1,2}, D. Mel'nychuk¹, S. Mel'nychuk¹,
G. Kalachnyuk^{1,2}**

CONTENT OF FREE AROMATIC AMINO ACIDS IN THE BLOOD UNDER CONDITIONS OF HEPATIC STEATOSIS DEVELOPMENT AND EFFECT OF EXOGENOUS FACTORS

On the experimental model, under conditions of alcohol-induced hepatic steatosis development, it has been shown that content of free aromatic amino acids (Tyr, Phe, Trp and sum of their amounts) is significantly decreased in the blood plasma of rats. Their percentage decrease is at boundary-line of 18,6 to 23,1% that directly show on alteration of metabolic aromatic amino acids pathways with most of reactions depending obviously on breaches of membranes of hepatocytes. It is coordinated with data obtained previously. Use of phospholipids containing complex biologically active additives of plant and animal origin permits recovery of the investigated free aromatic amino acids content in the blood.

Key words: *free aromatic amino acids, liver, ethanol, blood, rats, biologically active additives, milk phospholipids, liposome.*

Стаття надійшла до редакції 17.09.2010

УДК 636.4:612.015

Степченко Л.М., кандидат біологічних наук, професор ДДАУ**Єфімов В.Г.**, кандидат ветеринарних наук (yefimov@ukr.net)**Ракитянський В.М.**, асистент**Костюшкевич К.Л.**, здобувач**Лосєва Є.О.**, кандидат ветеринарних наук ©

Дніпропетровський державний аграрний університет

ВПЛИВ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ З ТОРФУ НА ФІЗІОЛОГІЧНИЙ СТАН ПОРОСЯТ В ПІДСИСНИЙ ПЕРІОД

Наводяться результати дослідження впливу нової кормової добавки з торфу „Теравіт” на збереженість, прирости маси, гематологічні та біохімічні показники в поросят. Встановлено, що за дії добавки підвищується неспецифічна резистентність і маса тварин при відлученні, стимулюються процеси еритропоезу та покращується функціональний стан печінки.

Ключові слова: торф, поросята, підсисний період, гематологічні та біохімічні показники, відлучення

Вступ. Основою здоров'я і високої продуктивності сільськогосподарських тварин є оптимальний стан обміну речовин, що досягається динамічною рівновагою між фізіологічними потребами і можливостями живого організму. Однак при інтенсивному веденні свинарства промислова технологія утримання і годівлі тварин багато в чому не відповідає цим вимогам, що призводить до розвитку стресу [1].

Відомо, що відлучення поросят від свиноматок є одним із найбільш виражених стресових станів, а на його прояв багато в чому впливає вік поросят при формуванні груп на дорощування. Чим молодші тварини, тим більше виражена у них стрес-реакція на дію технологічних факторів, що зумовлено меншим рівнем реакції та недостатньою зрілістю механізмів неспецифічної резистентності [4]. Враховуючи це, пошук засобів, що підвищують резистентність поросят в підсисний період та при цьому зменшують прояв стресового стану після відлучення, є актуальним.

Тому за мету нашої роботи було встановити вплив розробленої нами кормової добавки з торфу на збереженість поросят в підсисний період, гематологічні та біохімічні показники у них після відлучення.

Матеріал і методи. Робота виконувалася в ТОВ «Агро-Овен» Магдалинівського району Дніпропетровської області та на кафедрі фізіології та біохімії сільськогосподарських тварин Дніпропетровського ДАУ.

Для проведення досліджень було сформовано за принципом аналогів дві групи помісних свиноматок 3-4-ого опоросу за 3-5 днів до нього. Загальна кількість свиноматок у кожній з груп складала 18 тварин. На 3-5-у добу після народження поросят, почали згодовувати розроблену нами кормову

біологічно-активну добавку “Теравіт” (ТУ У 15.7-00493675-003:2009) в розрахунку 250 г на 1 гніздо 1 раз на добу протягом 2-х тижнів. “Теравіт” являє собою вологий порошок від коричневого до темно-коричневого кольору зі специфічним запахом. Одержують його з торфу з подальшим внесенням до складу добавки неорганічних сполук мікроелементів.

Відлучення поросят проводилося на 29-у добу життя поросят. Через 24 години після відлучення відбирали кров з очного синуса для гематологічних та біохімічних досліджень. У відібраній крові визначали: кількість еритроцитів та лейкоцитів – у камері Горяєва, вміст гемоглобіну – гемоглобінціанідним методом, гематокрит та еритроцитарні індекси – загальноприйнятими методами. У сироватці крові досліджували: вміст загального білка – біуретовим методом, альбумінів – за Doumas (1972), сечовини – ферментативно, активність ферментів переамінування – за Райтманом-Френкелем.

Протягом досліджень враховували кількість загиблих поросят та причини загибелі. Після відлучення поросят проводили їх зважування.

Отримані дані статистично оброблялися за допомогою пакету прикладних програм MS Excel із використанням критерію вірогідності Стьюдента.

Результати досліджень. Після опоросу свиноматок було отримано майже однакову кількість поросят – 192 у контрольній та 188 – у дослідній групі. Під час згодовування “Теравіту” нами було відзначено, що тварини дослідної групи поїдали його у повній мірі, з апетитом, швидше привчалися до поїдання підкормок.

За період спостережень у дослідній групі загинуло 7 поросят та 16 – у контрольній. Основною причиною смертності в обох групах були хвороби травного каналу. Після відлучення було проведено зважування тварин. Середня маса тіла поросят складала 7,35 кг в контрольній та 7,82 кг в дослідній групі.

Отже, згодовування “Теравіту” поросят у підсисний період призводить до підвищення їх резистентності, свідченням чого є вища збереженість. Маса тіла поросят після відлучення була більшою на 6,4%.

При дослідженні гематологічних показників (табл. 1) було встановлено, що на тлі післявідлучного стресу спостерігається більша кількість еритроцитів у крові поросят дослідної групи в порівнянні з контрольною на 11,7% ($P \leq 0,2$).

Варто зазначити, що за дії післявідлучного стресу у поросят контрольної групи з’являються ознаки анемії [2]. Середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті у поросят контрольної групи був знижений і становив $14,62 \pm 0,57$ пг, тоді як у тварин дослідної групи – він виявився вищим на 21,4% ($P \leq 0,05$).

Поряд із цим, показник середньої концентрації гемоглобіну в одному еритроциті характеризував недостатню насиченість еритроцитів гемоглобіном у поросят, що не отримували добавку. У той же час, за впливу “Теравіту” показник вірогідно збільшився на 14,8% ($P \leq 0,05$).

Подібні зміни ми схильні розцінювати, як комплекс дії різновекторних факторів.

Таблиця 1

Показники еритропоезу у поросят після відлучення (M±m, n=6)

Показник	група тварин	
	контрольна	дослідна
Кількість еритроцитів, Т/л	5,48±0,33	6,12±0,24 [□]
Вміст гемоглобіну, г/л	80,40±6,61	97,61±3,84*
Гематокрит, %	32,20±1,67	32,23±2,66
Середній об'єм еритроциту, фл	58,94±1,96	55,16±3,99
Середній вміст гемоглобіну в еритроциті, пг	14,62±0,57	16,78±0,73*
Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті, %	24,91±1,25	30,88±2,00*

Примітки: [□] – P≤0,2; * – P≤0,05 у відношенні до контрольної групи

З одного боку, у поросят фізіологічно в процесі їх росту і розвитку спостерігається негативний баланс заліза, що поглиблюється віковою ахлоргідрією. До того ж, під час формування стрес-реакції розвивається оксидативний стрес, що зумовлює посилення процесів гемолізу еритроцитів. Наше припущення підтверджується літературними даними [3]. З іншого боку, застосування “Теравіт”, що містить необхідний набір стимулюючих еритропоз мікроелементів (залізо, кобальт та мідь) дозволяє підвищити й абсорбцію їх з травного каналу, й використання в процесі синтезу гему.

Таким чином, “Теравіт” стимулює процеси еритропоезу і на фоні післявідлучного стресу профілактує розвиток анемії, що проявляється збільшенням у крові кількості еритроцитів, а також їх насиченості гемоглобіном.

Рівень загального білка в сироватці крові поросят міжгрупової різниці не мав (табл. 2).

Таблиця 2

Біохімічні показники в поросят після відлучення (M±m, n=6)

Показник	група тварин	
	контрольна	дослідна
Білок загальний, г/л	62,68±1,23	62,84±2,28
Альбуміни, г/л	32,15±0,43	33,39±0,33*
Глобуліни, г/л	30,53±1,17	29,45±2,30
Білковий коефіцієнт, од.	1,06±0,04	1,16±0,09
АЛТ, ммоль/год*л	0,76±0,09	0,48±0,07*
АСТ, ммоль/год*л	0,71±0,22	0,71±0,25
Сечовина, ммоль/л	4,96±0,39	5,23±0,41

Примітки: * – P≤0,05 у відношенні до контрольної групи

Поряд із цим, концентрація альбумінів була вірогідно вищою (на 3,9%; P≤0,05) у тварин, які споживали “Теравіт”. Очевидно, за дії добавки покращується функціональний стан печінки. Дане припущення підтверджується

і значно нижчою активністю аланінової амінотрансферази (на 38,8%; $P \leq 0,05$). Враховуючи, що цей фермент є цитозольним і в першу чергу вивільнюється під час цитолізу гепатоцитів або при ушкодженні їх мембрани, можна припустити нижчий рівень ушкодження печінки у поросят дослідної групи під час розвитку післявідлучного стресу.

Очевидно, позитивний вплив розробленої нами кормової добавки з торфу на фізіологічний стан поросят пов'язаний з декількома механізмами:

- адсорбцією токсичних сполук, які утворюються в кишечнику під час стресу завдяки самому торфу, що володіє високою сорбційною здатністю;
- стимулюванням еритропоетичних процесів та зменшенням функціонального навантаження на печінку, зокрема, за рахунок стимулювання механізмів антиоксидантного захисту завдяки наявності мікроелементів.

Висновки. 1. Застосування нової кормової добавки з торфу „Теравіт” підвищує збереженість поросят, стимулює прирости їх маси у підсисний період.

2. Згодовування добавки у підсисний період покращує фізіологічний стан поросят після відлучення.

Література

1. Маркович Д. Стресс-факторы в современном свиноводстве // Ветеринария сельскохозяйственных животных / Д. Маркович– 2008. – № 10. – С.18-20.
2. Симонян Г.А. Ветеринарная гематология / Г.А. Симонян, Ф.Ф. Хисамутдинов. – М.: Колос, 1995. – 256 с.
3. Чумаченко В.В. Клінічні та гематологічні показники в поросят при відлучному стресі / В.В. Чумаченко // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. – Дніпропетровськ, 2004. – № 1. – С. 102–105.
4. Чумаченко В.В. Стресовий стан у поросят в залежності від віку їх відлучення від свиноматок / В.В. Чумаченко // Вісник Державної агроекологічної академії України. – Житомир, 2001. – № 2. – С. 55–56.

Summary

Stepchenko L., Yefimov V., Kostyushkevich K., Rakytyans'kyu V., Loseva Y.
**INFLUENCE OF THE SUPPLEMENT FROM PEAT AN PHYSIOLOGICAL
CONDITION OF SUCKLING PIGLETS**

It is investigated of influence of new supplement from peat "Teravite" to body weight, mortality, hematological and biochemical parameters at suckling piglets. It is established, that using of supplement increased resistance and body weight of piglets after weaning, stimulated of erythropoiesis and normalizing the liver function.

Key words: *peat, suckling piglets, hematological and biochemical parameters, weaning*

Стаття надійшла до редакції 23.09.2010

УДК: 619:611:636.5

Тибінка А.М.* , к.вет.н., доцент (tybinka@rambler.ru)*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*

ЗВ'ЯЗОК КІЛЬКОСТІ ЯДЕРНИХ НУКЛЕЙНОВИХ КИСЛОТ В СТОВПЧАСТИХ ЕПІТЕЛІОЦИТАХ КИШЕЧНИКА КУРЕЙ З РІЗНИМ ТИПОМ АВТОНОМНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ

У ядрах епітеліоцитів слизової оболонки кишечника курей з різною типологією автономного балансу визначали відносну площу всіх нуклеїнових кислот та окремо ДНК. При цьому виявили, що інтегруючий тонус симпатичного та парасимпатичного відділів автономної нервової системи має вірогідно високий вплив на величину цих показників. У курей з високим симпатичним тонусом спостерігаються вищі значення обох показників у тонкій кишці та менші їх величини у товстій кишці. Динаміка кожного показника вздовж кишкового тракту не має чіткої закономірності, а носить хвилеподібний характер.

Ключові слова: *типи автономної регуляції, епітеліоцити кишечника курей, ядерна ДНК, ядерна РНК.*

Становлення структурних і функціональних особливостей слизової оболонки кишкового тракту в цілому і епітеліального шару зокрема, тісно пов'язане з динамічними процесами нуклеїнових кислот. При цьому спостерігається зростання кількості РНК в ядрах епітеліальних клітин крипт порівняно з ядрами цих же клітин на ворсинках. Кількість РНК порівняно з ДНК в ядрах має більш інформативне значення для характеристики їх функціональних властивостей та репаративних можливостей [1, 2]. Пренатальна динаміка кількісних показників РНК слизової оболонки кишечника носить змінний характер і супроводжується як підйомами, так і зниженнями показників у певні вікові періоди, що обумовлюється ритмічністю росту різних ділянок плода [3]. Поряд з тим вміст ДНК у клітині пов'язаний з об'ємом ядра і цитоплазми [4]. Проте у літературі не висвітлено зв'язок між вмістом нуклеїнових кислот в епітелії слизової оболонки кишечника курей і типологічними особливостями автономних впливів.

Матеріал і методи. Для виконання експериментальної частини роботи за принципом аналогів була сформована група з 31 курей несучок кросу «Іза-Браун» віком 1 рік. У всієї птиці проведено електрокардіографічне та варіаційно-пульсометричне дослідження [5]. На його основі птицю розділили на дві групи: симпатотоніків (СТ) – 15 курей та симпато-нормотоніків (СТ-НТ) – 16 курей. Після цього проводили забій птиці, видаляли кишечник і з середньої частини кожної кишки відбирали зразки, які фіксувалися у фіксаторі Карнуа з

* Науковий консультант – д.мед.н., професор Кононенко В.С.
Тибінка А.М., 2010

подальшою заливкою у парафін. Сукупне виявлення ДНК та РНК здійснювали на парафінових зрізах згідно відомого методу Ейнарсона [6]. Поряд з тим проводили також селективне виявлення ДНК за методом Фьольгена і Россенбекка [6]. При допомозі комп'ютерних морфологічних програм ми в ядрах стовпчастих епітеліоцитів ворсинок слизової оболонки кишечника визначали сукупну відносну площу всіх нуклеїнових кислот (виражену у %). Статистичні розрахунки здійснювали з використанням комп'ютерних програм на основі 50 визначень кожного показника. Вірогідність різниці між даними різних груп встановлювалася на основі: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$.

Результати досліджень. На основі визначення сумарної відносної площі нуклеїнових кислот, з'ясували, що її показники мають достовірно високий зв'язок з типологічними особливостями автономної нервової системи (АНС) (табл. 1).

Таблиця 1

Відносна площа нуклеїнових кислот у ядрах стовпчастих епітеліоцитів слизової оболонки кишечника курей, % ($M \pm m$).

Назва кишки	Групи птиці	
	Кури СТ	Кури СТ-НТ
Дванадцятипала	20,43±0,358***	17,94±0,290
Порожня	21,50±0,521*	20,75±0,307
Клубова	19,71±0,336**	18,45±0,288
Сліпа	20,36±0,320	20,52±0,308
Пряма	21,57±0,395	23,00±0,388***

На початку кишкового тракту у дванадцятипалій кишці величина вказаної площі є більшою у курей симпатотоніків (20,43±0,358 %). Кури симпатонормотоніки (17,94±0,290 %) поступаються їм на 2,49 % ($P < 0,001$) і для курей даного типу АНС цей показник є найменшим в кишечнику. Зміна дванадцятипалої кишки на порожню супроводжується зростанням досліджуваного показника в обох групах птиці. У курей з акцентованою симпатотонією зростання становить 1,07 % (21,50±0,521 %), а у птиці з нормотонічним нахилом автономного балансу – 2,81 % (20,75±0,307 %). При цьому бачимо, що різниця між групами птиці зменшується до 0,75 % ($P < 0,05$), проте перевага все ж таки залишається на боці курей першої групи. Перехід у клубову кишку зберігає домінуюче становище курей з високим симпатичним тонусом, що поєднується зі зменшення відносної площі сумарної кількості нуклеїнових кислот при обох типах автономної регуляції функцій. У курей симпатотоніків ця площа зменшується до 19,71±0,336 %, або на 1,79 %, що є найменшою величиною в кишечнику для птиці цього типу АНС. У курей симпато-нормотоніків досліджуваний показник знижується до 18,45±0,288 %, або на 2,30 %. Звідси різниця між групами становить 1,26 % ($P < 0,01$).

При зміні тонкої кишки на товсту відносна площа всіх нуклеїнових кислот знову зростає. Більш виражено цей процес проходить у сліпій кишці (рис. 1) курей симпато-нормотонічного типу автономного балансу, до яких і переходить

домінуючий статус у величині цього показника. У них зростання становить 2,07 % ($20,36 \pm 0,320$), в той час, як в курей симпатотонічного типу – лише на 0,65 % ($20,52 \pm 0,308$ %). У результаті цього різниця між групами птиці набуває найменшого значення – 0,16 % і є статистично не достовірною. У прямій кишці продовжується збільшення відносної площі ДНК та РНК, яка при обох типах автономної нервової системи досягає найбільших величини у всьому кишковому тракті. У курей симпатотоніків ця площа збільшується до $21,57 \pm 0,395$ %, тобто на 1,21 %, а в курей симпато-нормотоніків – на 2,48 %. Внаслідок цього перевага курей другої групи не лише зберігається, а й укріплюється до 1,43 %.

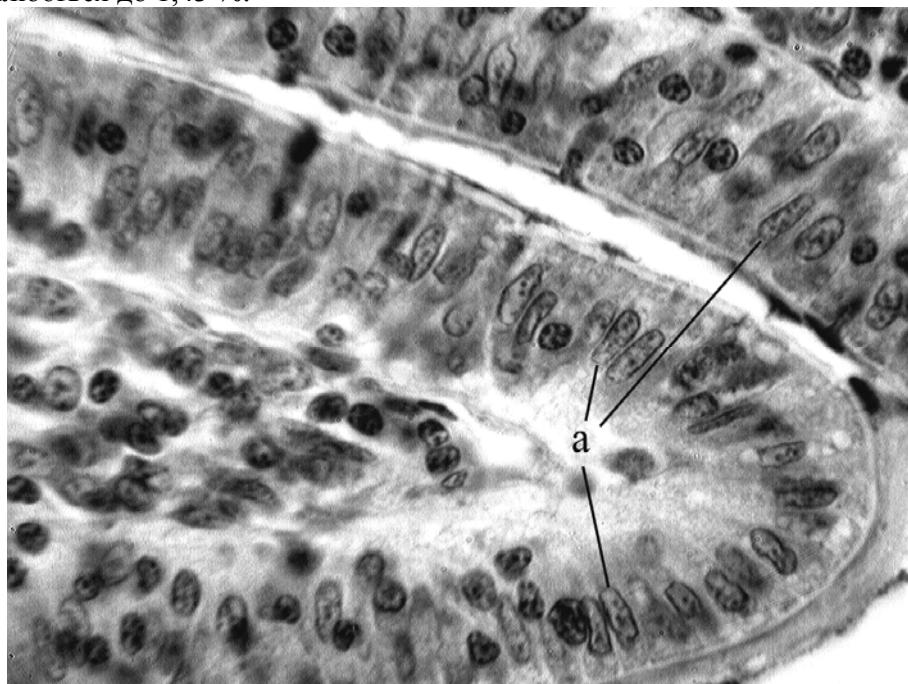


Рис. 1. Сумарне виявлення нуклеїнових кислот у ядрах стовпчастих епітеліоцитів (а) слизової оболонки сліпої кишки курей СТ-НТ. Ейнарсон. х630.

Поряд з вивченням відносної сумарної площі всіх нуклеїнових кислот, ми також досліджували відносну площу лише дезоксирибонуклеїнових кислот (ДНК) і виявили, що її зв'язок з інтегруючим тонусом автономних центрів на фоні спільних ознак з попереднім показником, має і певні особливості. У всьому тонкому відділі кишечника вказана площа набуває більших значень у курей зі стійким симпатичним тонусом, а у товстому відділі – у птиці з підвищеним тонусом блукаючих нервів (табл. 2).

Початкова ділянка кишкового тракту (дванадцятипала кишка) характеризується найменшою відносною площею ДНК в обох групах птиці і кури симпатотоніки ($9,77 \pm 0,231$ %) переважають курей симпато-нормотоніків ($9,12 \pm 0,359$ %) на 0,65 % ($P < 0,01$). Тут також слід наголосити, що у курей першої групи даний показник також має аналогічно низькі величини у шийці сліпих кишок.

Таблиця 2

**Відносна площа ДНК у ядрах стовпчастих епітеліоцитів
слизової оболонки кишечника курей, % (M±m).**

Назва кишки	Групи птиці	
	Кури СТ	Кури СТ-НТ
Дванадцятипала	9,77±0,231**	9,12±0,359
Порожня	12,53±0,418***	10,28±0,266
Клубова	11,65±0,351***	9,57±0,251
Сліпа	9,77±0,187	9,79±0,228
Пряма	10,67±0,188	11,48±0,229***

При переході у порожню кишку відносна площа ДНК у курей з домінуванням симпатичних центрів збільшується до 12,53±0,418 %, або на 2,76 %. Це є найбільшою площею для даної групи птиці у цілому кишечнику. У птиці з нормотонічним нахилом автономного тонузу вказаний показник зростає до 10,28±0,266 %, або на 1,16 %. Така динаміка призводить до збільшення різниці між типами автономної нервової системи і досягання нею максимальної величини – 2,25 % (P<0,001). У клубовій кишці спостерігається певне зменшення досліджуваної площі відповідно на 0,88 % та 0,71 %. У результаті цього перевага курей симпатотоніків (11,65±0,351 %) над курми симпатонормотоніками (9,57±0,251 %) скорочується до 2,08 %, проте її достовірність залишається високою (P<0,001).

У початкових ділянках товстого відділу кишечника динаміка відносної площі ДНК має різнонаправлений характер. У курей симпатотонічного типу автономного балансу спостерігається її подальше зменшення на 11,88 %, а в курей симпато-нормотонічного типу відмічається навпаки певне зростання – на 0,22 %. При цьому кури обох груп набувають майже однакових значень вказаної площі і кури першої групи (9,77±0,187 %) поступаються птиці другої групи (9,79±0,228 %) лише на 0,02 %. Відповідно така різниця є статистично не достовірною. Перехід у пряму кишку супроводжується певним збільшенням відносної площі ДНК в обох типів АНС. У курей симпатотоніків зростання становить 0,90 % (10,67±0,188 %), а в курей симпато-нормотоніків – 1,69 % (11,48±0,229 %). На основі цих даних бачимо, що перевага других над першими дорівнює 0,81 % (P<0,001).

Представлена хвилеподібна динаміка відносної площі всіх нуклеїнових кислот окремо ДНК, вказує на різну активність метаболічних процесів в окремих кишках курей. Це пов'язано з відмінностями процесу травлення у цих ділянках, що у свою чергу визначається регуляторними впливами зі сторони автономних центрів, тонічна активність яких має у цьому процесі незаперечне значення. При цьому, високий симпатичний тонус обумовлює процеси конденсації хроматину та зниження синтетичної активності стовпчастих епітеліоцитів у тонкому відділі кишечника чим сприяє їх мітотичному поділу, а підвищення тонузу парасимпатичних центрів стимулює розвиток таких же явищ у товстому відділі кишкової трубки.

Висновки. 1. Інтегруючий тонус симпатичного та парасимпатичного

відділів АНС має вірогідно високий вплив на відносну площу як сумарного числа нуклеїнових кислот, так і окремо ДНК.

2. Виражена симпатотонія в організмі птиці обумовлює вищі значення обох показників у тонкій кишці та менші їх величини у товстій кишці.

3. Динаміка кожного показника вздовж кишкового тракту не має чіткої закономірності, а носить хвилеподібний характер.

Література

1. Соколовский В.В. Гистохимическое исследование в токсикологии / В.В. Соколовский. – Л. : Медицина, 1971. – 163 с.

2. Изачик Ю.А. Оценка репаративной способности тонкой кишки при целиакии у детей по содержанию ДНК и РНК в ядрах этероцитов / Ю.А. Изачик, Н.А. Изачик // Педиатрия. – 1991. – № 9. – С. 52-56.

3. Марцинкевич Л.Д. Некоторые особенности развития слизистой оболочки тонкой кишки человека и крысы / Л.Д. Марцинкевич, Р.Э. Гарсия Родригес // Архив анатомии гистологии и эмбриологии. – 1983. – № 10. – С. 75-79.

4. Горальський Л.П. Деякі аспекти гістохімії органів і тканин у сільськогосподарських тварин / Л.П. Горальський, О.М. Клименко, Л.П. Камінська // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини імені С.З. Гжицького. – 2001. – Т. 3, № 3. – С.31-34.

5. Баевский Р.М. Математический анализ сердечного ритма при стрессе / Р.М. Баевский, О.И. Кирилов, С.З. Клецкин. – М. : Наука, 1984. – 222 с.

6. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М. : Издательство иностранной литературы, 1962. – 962 с.

Summary

Tybinka A.M. tybinka@rambler.ru

*Lviv National University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj*

CONNECTION OF AMOUNT OF NUCLEIC ACIDS IS IN KERNELS OF EPITHELIAL CAGES OF INTESTINE OF CHICKENS WITH DIFFERENT TYPE OF AUTONOMOUS NERVOUS SYSTEM

In the kernels of epithelial cages of mucus shell to the intestine of chickens with the different type of autonomous balance determined the relative area of all nucleic acids and separately DNA. Discovered thus, that total tone sympathetic and parasympathetic departments of the autonomous nervous system had for certain a high influence on the size of these indexes. Chickens with high likable tone have higher values of both indexes in a thin bowel and their less size in a colon. Dynamics of every index along does not have an intestine clear conformity to law, but carries undulating character.

Key words: types of the autonomous adjusting, epithelial cages to the intestine of chickens, nuclear DNA, nuclear RNA.

Стаття надійшла до редакції 17.09.2010

УДК 636.2.034:577.126

Ткач І. М., аспірант¹ ©**Вудмаска І. В.**, доктор сільськогосподарських наук¹**Дроник Г. В.**, доктор біологічних наук, професор, академік²¹ Інститут біології тварин НААН України, м. Львів² Буковинський інститут АПВ НААН України, м. Чернівці

ВПЛИВ ДОДАВАННЯ ДО РАЦІОНУ КОРІВ БІКАРБОНАТУ НАТРІЮ І КАРБОНАТІВ МАГНІЮ ТА КАЛЬЦІЮ НА ОБМІН ЛЖК І ЛІПІДІВ У ВМІСТІ РУБЦЯ

Досліджували вплив згодовування високопродуктивним коровам буферної суміші, яка містить бікарбонат натрію, карбонат магнію і карбонат калію на рубцеву ферментацію та молочну продуктивність.

Встановлено, що за введення до раціону буферної добавки у рубці корів підвищується рН, збільшується синтез оцтової кислоти та фосфоліпідів, посилюється ліполіз триацилгліцеролів. У молоці корів зростає вміст жиру.

***Ключові слова:** корови, буферна добавка, вміст рубця, ЛЖК, ліпіди, молочна продуктивність.*

Вступ. Повноцінність раціону жуйних тварин визначається не лише наявністю у його складі необхідних поживних речовин, а й інтенсивністю їх трансформації та засвоєння мікрофлорою рубця. Важливим фактором, від якого залежить молочна продуктивність корів є інтенсивність утворення у рубці летких жирних кислот, які використовуються для синтезу довголанцюгових жирних кислот, амінокислот, цукрів, забезпечують енергією синтетичні процеси [1].

Зростання у вмісті рубця концентрації оцтової кислоти сприяє підвищенню надоїв та жирності молока. Масляна кислота також підвищує жирність молока, але на надої не впливає. Пропіонова кислота позитивно корелює з величиною надоїв корів, проте виявляє негативний вплив на синтез молочного жиру.

Кількість утворених у рубці летких жирних залежить від співвідношення структурних та неструктурних вуглеводів у раціоні [2-6], оскільки різні фракції вуглеводів відрізняються за швидкістю ферментації рубцевими мікроорганізмами та кінцевими продуктами метаболізму [7].

Із зростанням молочної продуктивності потреба корів у вуглеводах не може бути забезпечена за рахунок клітковини, тому у їх раціонах збільшують частку легкоферментуючих вуглеводів – крохмалю та цукру. При зростанні у раціоні корів кількості неструктурних вуглеводів змінюється перебіг ферментаційних процесів у рубці. Це проявляється у посиленні

пропіоновокислого бродіння, внаслідок чого знижується ацетат-пропіонатне співвідношення [2-4, 8-10].

Зростання у складі раціону корів частки легкоферментуючих вуглеводів — крохмалю та цукру часто викликає накопичення у вмісті рубця молочної кислоти і зниження показника рН [10-12]. Оскільки значення рН суттєво впливає на життєдіяльність рубцевої мікрофлори, при закисленні рубцевої рідини змінюється інтенсивність та спрямованість ферментаційних процесів, порушується обмін речовин у організмі корови, знижується молочна продуктивність. Для попередження вказаних метаболічних змін рекомендується використовувати буферні суміші, які нормалізують кислотність рубцевої рідини [11,12]. Згодовування коровам раціонів з підвищеним вмістом легкоперетравних вуглеводів при дотриманні фізіологічно нормального їх співвідношення з іншими компонентами корму дозволяє збільшити надої у корів і попередити метаболічні відхилення, пов'язані з дефіцитом енергії та накопиченням молочної кислоти.

Таким чином, при забезпеченні мікрофлори рубця жуйних енергією за рахунок легкоперетравних вуглеводів виникає проблема порушення рубцевого травлення і метаболічної дисфункції організму-господаря. Використання буферних сумішей дозволить нормалізувати метаболічні процеси у рубці.

Матеріал і методи. Дослід проведено на 10 коровах червоно-рябої породи продуктивністю — 5–6 тис. кг молока, розділених на 2 групи по 5 голів у групі. Корови обох груп отримували збалансований за вмістом поживних речовин раціон, який містив: сіна лучного — 4 кг, сінажу різнотравного — 10 кг, силосу кукурудзяного — 20 кг, барди пшеничної — 20 кг, дерті пшеничної — 5 кг, шроту соняшникового — 0,5 кг, меляси — 1,5 кг. До концентратів корів дослідної групи додавали 100 г бікарбонату натрію та по 50 г карбонатів магнію і кальцію на голову в добу. Дослід тривав 3 місяці.

Щомісяця у корів за допомогою зонду брали зразки вмісту рубця. У вмісті рубця досліджували вміст летких жирних кислот та співвідношення окремих класів загальних ліпідів. Концентрацію ЛЖК визначали методом газорідинної хроматографії на газовому хроматографі Chrom-4, набивна колонка Carbowax 20M TPA (Supelco) довжиною 1 м, температура термостату 100 °С, газ носій — азот, температура дозатора 150 °С, температура детектора 100 °С. Ліпіди розділяли на класи методом тонкошарової хроматографії на силікагелі у системі розчинників гексан-диетиловий ефір-оцтова кислота (70:30:1) і визначали вміст кожної фракції у перерахунку на суху речовину.

Під час контрольних надоїв брали зразки молока і визначали їх склад на приладі „Екомілк”.

Результати дослідження. Як видно з даних, наведених у таблиці 1, додавання до раціону карбонатів вплинуло на вміст і концентрацію летких жирних кислот у вмісті рубця (табл. 1). Зокрема, у вмісті рубця корів дослідної групи порівняно до корів контрольної групи збільшувалась кількість оцтової кислоти ($P < 0,05$), за рахунок чого зростав загальний вміст летких жирних кислот ($P < 0,05$). Концентрація пропіонової кислоти у вмісті рубця корів

дослідної групи була меншою, що викликано підвищенням рН вмісту рубця під впливом згодовування буферної добавки.

Карбонати впливали на утворення розгалужених летких жирних кислот у рубці корів. Добавка до раціону буферу підвищувала у вмісті рубця корів дослідної групи кількість ізомасляної та ізовалеріанової кислот порівняно вмісту рубця корів, які отримували раціон, що не містив добавки ($P < 0,05$). Оскільки розгалужені леткі жирні кислоти утворюються з розгалужених амінокислот корму і використовуються для синтезу амінокислот і жирних кислот рубцевої мікрофлори, одержані результати свідчать про

Концентрація масляної кислоти у рубці корів дослідної групи дещо знижувалася ($P < 0,05$).

Таблиця 1

Вміст ЛЖК, ммоль/л ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи корів	
	контрольна	дослідна
Всього ЛЖК, ммоль/л	112,22±2,49	124,73±4,86*
Оцтова	71,59±4,40	90,15±5,86*
Пропіонова	27,04±1,95	22,91±1,27*
Ізомасляна	1,02±0,04	0,86±0,07*
Масляна	8,43±0,92	7,24±0,39
Ізовалеріанова	1,63±0,10	1,38±0,07*
Валеріанова	2,51±0,11	2,19±0,14
рН	6,65±0,15	6,98±0,11

Примітка: P — $< 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$

У вмісті рубця корів дослідної групи зростав вміст фосфоліпідів ($P < 0,05$), що свідчить про збільшення чисельності рубцевої мікрофлори. Кількість триацилгліцеролів у рубці корів дослідної групи була меншою ($P < 0,05$), а кількість неетирифікованих жирних кислот, моноацилгліцеролів і діацилгліцеролів більшою, ніж у рубці корів контрольної групи. Це свідчить про інтенсивніший ліполіз у вмісті рубця корів дослідної групи, що може бути пов'язано із збільшенням кількості мікроорганізмів та підвищенням ферментативної активності за нормалізації рН рубцевої рідини.

Таблиця 2

Вміст і співвідношення ліпідів, мг% ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи корів	
	контрольна	дослідна
Загальні ліпіди	564,57±32,12	632,04±41,34
Фосфоліпіди	129,92±6,58	155,11±8,35*
Триацилгліцероли	47,78±3,81	35,16±4,36*
Моно- і діацилгліцероли	71,58±8,10	93,34±9,62
НЕЖК	99,70±7,39	122,38±5,77*
Стерини	93,94±5,36	96,64±7,61
Воски	121,65±8,43	129,41±10,11

Як видно з таблиці 3, додавання буферної суміші статистично вірогідно підвищувало жирність молока та добовий вихід молочного жиру ($P < 0,05$).

Таблиця 3

Показники молочної продуктивності ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Групи корів	
	контрольна	дослідна
Добовий надій, кг	23,51±1,69	24,73±1,05
Білок, %	3,39±0,15	3,45±0,11
Жир, %	3,38±0,09	3,67±0,07*
Лактоза, %	4,52±0,22	4,55±0,14
Вихід білка, кг	0,80±0,03	0,85±0,04
Вихід жиру, кг	0,79±0,04	0,91±0,02*
Вихід лактози, кг	1,06±0,05	1,10±0,04

Висновки. Додавання до раціону високопродуктивних корів буферної суміші, що містить 100 г бікарбонату натрію та по 50 г карбонатів магнію і кальцію нормалізує рН рубцевої рідини, позитивно впливає на перебіг рубцевої ферментації та підвищує жирність молока і вихід молочного жиру.

Література

1. Hristov A. N. Effect of dietary carbohydrate composition and availability on utilization of ruminal ammonia nitrogen for milk protein synthesis in dairy cows / A. N. Hristov, J. K. Ropp // *J. Dairy Sci.* — 2003. — Vol. 86. — P. 2416–2427.
2. Вудмаска І. В. Вплив підвищеного рівня неструктурних вуглеводів у раціоні корів на показники вуглеводно-білкового обміну у вмісті рубця / І. В. Вудмаска // *Аграрні вісті.* — 2007. — №2. — С. 27–29.
3. Вудмаска І. В. Вплив співвідношення неструктурних вуглеводів на обмін легких жирних кислот і азотних сполук у вмісті рубця корів в умовах *in vitro* / І. В. Вудмаска // *Аграрний вісник Причорномор'я.* — 2007. — № 38. — С. 34–41.
4. Ткач І. М. Вплив співвідношення структурних і неструктурних вуглеводів в раціоні корів на показники азотного обміну і утворення ЛЖК у рубці / І. М. Ткач, Н. В. Голова, І. В. Вудмаска // *НТБ Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.* — 2008. — Вип. 9, № 1, 2. — С. 133–137.
5. Effect of increasing availability of water-soluble carbohydrates on *in vitro* rumen fermentation / M. R. F. Lee, R. J. Merry, D. R. Davies [et al.] // *Anim. Feed Sci. Technol.* — 2003. — Vol. 104. — P. 59–70.
6. Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets / J. D. Sutton, M. S. Dhanoa, S. V. Morant [et al.] // *J. Dairy Sci.* — 2003. — Vol. 86. — P. 3620–3633.
7. Effect of increasing availability of water-soluble carbohydrates on *in vitro* rumen fermentation / M. R. F. Lee, R. J. Merry, D. R. Davies [et al.] // *Anim. Feed Sci. Technol.* — 2003. — Vol. 104. — P. 59–70.

8. Supplemental carbohydrate sources for lactating dairy cows on pasture / J. E. Delahoy, L. D. Muller, F. Bargo [et al.] // J. Dairy Sci. — 2003. — Vol. 86. — P. 906–915.
9. Murphy M. Rumen fermentation in lactating cows selected for milk fat content fed two forage to concentrate ratios with hay or silage / M. Murphy, M. Åkerlind, K. Holtenius // J. Dairy Sci. — 2000. — Vol. 83. — P. 756–764.
10. Russell J. B. The importance of pH in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production *in vitro* / J. B. Russell // J. Dairy Sci. — 1998. — Vol. 81. — P. 3222–3230.
11. Kennelly J. J. Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk composition in early-lactation Holstein cows / J. J. Kennelly, B. Robinson, G. R. Khorasani // J. Dairy Sci. — 1999. — Vol. 82. — P. 2486–2496.
12. Khorasani G. R. Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk composition in late-lactation Holstein cows / G. R. Khorasani, J. J. Kennelly // J. Dairy Sci. — 2001. — Vol. 84. — P. 1707–1716.

Summary

Tkach I.M., Vudvaska I. V.¹, Dronyk G. V.²

¹. *Institute of Animal Biology NAASU Ukraine, Lviv*

². *Bukovina Institute of APK NAAS Ukraine, Chernivtsi*

EFFECT OF SODIUM BICARBONATE AND MAGNESIUM AND CALCIUM CARBONATES SUPPLEMENTATION OF COWS DIET ON VFA AND LIPIDS METABOLISM IN THE RUMEN

Influence of supplementation of cows' diet with buffer contained sodium bicarbonate and magnesium and calcium carbonates on rumen fermentation and milk yields were investigated.

It has been found that addition of buffer increased ruminal fluid pH, stimulated synthesis of acetic acid and phospholipids and lipolysis of triacylglycerols in the rumen. Supplementation with buffer increased milk fat yield.

Стаття надійшла до редакції 1.09.2010

УДК636.2.:619:612.015.3:619:615.357

Федорович В.С., кандидат біологічних наук, доцент**Цимбала В.І.**, кандидат біологічних наук, доцент[©]

Fedorovych V.S.@ ukr.net, Tsymbala V.I.@ ukr.net

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького

МЕТАБОЛІЧНИЙ ТА ПРОДУКТИВНИЙ ЕФЕКТ ВИКОРИСТАННЯ ІН'ЄКЦІЙ ІНСУЛІНУ У ТЕЛЯТ РІЗНОГО ФІЗІОЛОГІЧНОГО РОЗВИТКУ

Проведено дослідження характеру і спрямованості енергетичних та синтетичних процесів у 3-х місячних телят чорно-рябї породи, народжених з різними термінами внутрішньоутробного їх розвитку, а також впливу екзогенного інсуліну в дозі 0,5 ОД/кг живої маси за схемою 3-кратного його введення з 10-добовим інтервалом на фізіологічні процеси телят, що відрізнялись низьким рівнем росту і розвитку.

Ключові слова: *телята, жива маса, сироватка крові, білок, альбуміни, глобуліни, інсулін, амінотрансферази, еритроцити, гемоглобін, глюкоза, ацетонові тіла, ацетат.*

Вступ. На нинішньому етапі ведення тваринництва проблема одержання і збереження поголів'я молодняка великої рогатої худоби неонатального періоду є дуже складною. Розробка і впровадження ефективних способів збереження телят базується на знанні закономірностей процесів росту і розвитку тварин, які залежать від інтенсивності, характеру і спрямованості обмінних процесів в їх організмі.

На основі проведених нами попередніх досліджень [8] встановлені особливості фізіологічного статусу однодобових недоношених телят і у телят народжених в результаті оптимальних термінів вагітності, а також особливості їх енергозабезпечення та біосинтезу в динамічному розрізі окремих вікових періодів на ранньому етапі вирощування, що уможливило науковообґрунтовані підходи щодо застосування різних біологічних важелів необхідних для корекції обмінних процесів у телят, що відстають у своєму фізіологічному розвитку з метою відновлення енерго-коракторно-субстратної рівноваги і стимулювання на їх основі більш повної реалізації потенційних можливостей таких тварин.

У регуляції гомеостазу, реалізації фізіологічних можливостей тваринного організму важлива роль належить гормону підшлункової залози – інсуліну.

Вивчення механізму дії цього гормону на обмінні процеси організму великої рогатої худоби та регуляторних механізмів впливу інсуліну на синтетичні і енергетичні процеси скелетних м'язів таких тварин в умовах ін

vitro приділено достатньо уваги (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9), проте окремі питання його впливу досліджено ще недостатньо.

Робота спрямована на подальше вивчення використання ін'єкцій інсуліну на інтенсивність, характер і спрямованість енергетичних і біосинтетичних процесів недоношених телят, що відрізняються меншою енергією росту у період їх вирощування.

Матеріал і методи. Для досліду відібрано 2 групи телят чорно-рябої породи (по 5 голів у кожній), що відрізнялися різним рівнем розвитку та різною живою масою у 3-місячному їх віці за однакових умов годівлі та утримання.

Першу групу (n=5) склали 3-х місячні телята, народжені від корів з фізіологічно детермінованим перебігом вагітності (275-285 днів), а другу – 3-х місячні телята, що були народжені передчасно від породіль з недоношеною вагітністю (240-255 день гестації).

В подальшому телятам з низьким рівнем росту і розвитку (група піддослідних тварин 2) вводили підшкірно інсулін в дозі 0,5 ОД на кг живої маси за схемою 3-кратного його введення з 10-добовим інтервалом, запропонованою П.І.Головачем [4]. Добре розвинутим телятам (група піддослідних тварин 1) вводили підшкірно аналогічний об'єм ізотонічного розчину натрію хлориду.

Зважування тварин та відбір матеріалу для досліджень проводили на початку і в кінці досліду (на 30-ту добу).

В крові піддослідних телят визначили вміст ацетату, ацетонових тіл глюкози, гемоглобін, кількість еритроцитів та гематокритну величину. У сироватці крові досліджували активність аспартатамінотрансферази (КФ 2.6.1.1) і аланін амінотрансферази (КФ 2.6.1.2), а також загальний білок і його фракції – альбуміни, альфа₁-, альфа₂-, бета- і гама- глобуліни.

Результати дослідження. До введення інсулінових ін'єкцій (табл.1) розвинуті телята чорно-рябої породи (група тварин 1) відрізнялися від своїх ровесників з меншою масою тіла (група тварин 2) більш високим вмістом в крові глюкози. Однак в крові таких тварин менше ацетату і ацетонових тіл, що свідчить про інтенсивніше використання даних метаболітів для забезпечення біоенергетичних процесів в організмі телят з більш високою живою масою. Як видно із приведених у таблиці 1 даних, вміст загального білку сироватки крові добре розвинутих бугайців (група тварин 1) на початку досліду складав 65,6±1,3 г/л. У групі бугайців з меншою масою тіла (група тварин 2) він становив 61,4±1,4 г/л. Добре розвинуті телята відрізнялися також більш високим вмістом γ-глобулінів: 23,09±0,79 % проти 19,58±0,81 % у тварин з меншою масою тіла. Згідно з отриманими даними добре розвинуті телята відрізнялися від вікових аналогів з меншою масою тіла високою активністю ферментів переамінування, що пов'язане з енергією росту і накопиченням в їх організмі м'язової тканини.

5 ОД на 1 кг живої маси з 10-добовим інтервалом засвідчують, що під впливом ін'єкцій гормону покращується використання в організмі телят з меншою живою масою енергетичних метаболітів (табл.2, група тварин 2) якісно змінюється перерозподіл білкових фракцій, підвищується активність досліджуваних ферментів, зростає рівень гематологічних показників крові, що в комплексі забезпечило адекватний приріст живої маси таких тварин за дослідний період.

Таблиця 1

Інтенсивність метаболічних процесів у 3-х місячних телят чорно-рябої породи до введення інсуліну (n=5; M±m)

№ п/п	Показники, одиниці виміру	Групи тварин	
		1	2
1.	Жива маса, кг	87,5±1,6	73,4±1,7
2.	Гемоглобін, г/л	108,1±1,9	101,6±2,1
3.	Гематокритна величина, %	38,2±1,1	36,3±0,9
4.	Кількість еритроцитів, 10 ¹² /л	6,18±0,21	5,79±0,22
5.	Глюкоза, ммоль/л	3,95±0,08	3,71 ±0,09
6.	Ацетат, ммоль/л	2,47±0,07	2,68±0,08
7.	Ацетонові тіла, мг/л	20,42±1,12	24,16±1,06
8.	АсАТ, мкмоль/мл	1,52±0,03	1,38±0,03
9.	АлАТ, мкмоль/мл	1,06±0,03	0,94±0,03
10.	Загальний білок, г/л	65,6±1,3	61,4±1,4
	Білкові фракції, %		
11.	Альбуміни	35,92±0,92	37,7±0,88
12.	Альфа ₁ -глобуліни	10,43±0,64	11,05±0,66
13.	Альфа ₂ -глобуліни	14,24±0,58	14,72±0,62
14.	Бета-глобуліни	16,32±0,67	16,94±0,74
15.	Гама-глобуліни	23,09±0,79	19,58±0,81

Дані, отримані у 4-місячних телят після 3-кратного введення інсуліну в дозі 0,

Таблиця 2

Інтенсивність метаболічних процесів підслідних телят в кінці дослідного періоду (n=5; M±m)

№ п/п	Показники, одиниці виміру	Групи тварин	
		1	2
1.	Жива маса, кг	105,7±1,5	93,6±1,7
2.	Гемоглобін, г/л	107,2±2,2	109,4±1,8
3.	Гематокритна величина, %	39,1±1,3	40,1 ±1,2
4.	Кількість еритроцитів, 10 ¹² /л	6,20±0,28	6,34±0,26
5.	Глюкоза, ммоль/л	3,78±0,08	3,69±0,07
6.	Ацетат, ммоль/л	2,59±0,07	2,55±0,06
7.	Ацетонові тіла, мг/л	24,86±1,12	21,17±1,16
8.	АсАТ, мкмоль/мл	1,49±0,04	1,50±0,03
9.	АлАТ, мкмоль/мл	1,08±0,03	1,06±0,03
10.	Загальний білок, г/л	65,2±1,4	63,1 ±1,3
	Білкові фракції, %		
11.	Альбуміни	34,47±0,92	34,54±0,86
12.	Альфа ₁ -глобуліни	10,38±0,47	10,12±0,56
13.	Альфа ₂ -глобуліни	14,92±0,55	14,68±0,62
14.	Бета-глобуліни	16,26±0,68	16,04±0,72
15.	Гама-глобуліни	23,97±0,74	24,62±0,78

Висновки. Введення 3-місячним телятам, що були народжені передчасно та відзначалися меншими приростами живої маси екзогенного

інсуліну в дозі 0,5 Од на кг живої маси за схемою 3-кратного його введення з 10-добовим інтервалом забезпечує корекцію метаболічних відхилень у таких тварин що сприяло оптимізації процесів їх росту та розвитку.

Література

1. Галяс В.Л. Вплив інсуліну на загальний вміст ліпідів і співвідношення їх класів у плазмі крові та печінці великої рогатої худоби // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини імені С.З.Гжицького. – Львів, 1998. – Вип.1. – С.11-14.
2. Галяс В.Л., Корнят С.Б. Вплив інсуліну на метаболізм оцтової кислоти у скелетних м'язах корів на різних стадіях лактації в умовах *in vitro* // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини імені С.З.Гжицького. – Львів, 2000. – Т.2 (№2), Ч.2. – С.34-38.
3. Гжицький С.З., Грабовенський І.Й., Кінаш А.С., Балінський Т.А. Вплив інсуліну на концентрацію деяких метаболітів крові та сечі відгодівельних бугайців і їх продуктивність // Вісник с.-г. наук. – Київ, 1972. – №10. – С.81-87.
4. Головач П.І. Фізіологічний статус і продуктивність великої рогатої худоби на різних етапах постнатального онтогенезу за впливу інсуліну // Автореф. дисертації на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук. – Львів, 2004. – 40с.
5. Гунчак В.М., Харів І.І., Коваленко П.П., Кравчук Л.М. Вплив інсуліну на деякі показники крові у тварин // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С.З.Гжицького. – Львів, 1999. – Т.1 (№4). – С. 18-21.
6. Калачнюк Л.Г., Баран М., Грабовенський І.Й. та ін. Біологічна і продуктивна дія інсуліну залежно від частоти ін'єкцій та згодовування сорбенту // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З.Гжицького. – Львів, 2010. – Т.12 №2 (44), Ч.2. – С. 104-109.
7. Покотило О.С., Янович В.Г. Вплив інсуліну на синтез білків у скелетних м'язах корів і телиць в умовах *in vitro* // Зб. статей міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми біології, ветеринарної медицини, зооінженерії та технології продуктів тваринництва». – Львів, 1997. – С.376-378.
8. Федорович В.С., Цимбала В.І. Особливості енергозабезпечення та біосинтезу телят чорно-рябої породи різного фізіологічного розвитку // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З.Гжицького. – Львів, 2010. – Т.12, №2 (44), Ч.2. – С. 353-356.
9. Фикташ И.С., Калачнюк Т.И. Изменение концентрации сахаров в крови телят под действием экзогенного инсулина при скормливании карбамида // Бюлл. УНИИФБ с.-х. животных. – Вип.2/5. – 1980. – С.46-47.

Summary

Fedorovych V.S., candidate of biological sciences, docent

Tsybala V.I., candidate of biological sciences, docent

**METABOLIC AND PRODUCTIVE EFFECT OF INSULIN INJECTION USE
IN CALVES OF DIFFERENT PHYSIOLOGICAL DEVELOPMENT**

It had been done the investigations of character and direction of energetic and synthetic processes in calves at the age of 3 monthes of Black-Spotted breed, born with the different term of their interuterine development, and also the influence of exogene insulin in doses 0,5 unit/kg of the living mass by the scheme of 3-times repeated of its insertion with 10-days interval on the calves physiological processes, which are differed by low level of growth and development.

Стаття надійшла до редакції 1.09.2010

УДК: 636.22/28.082.232:619:616-092

Черненко О.М., кандидат с.-г. наук, доцент**Пришедько В.М.**, аспірант[©]*Дніпропетровський державний аграрний університет*

ГІСТОЛОГІЧНА БУДОВА СІМ'ЯНИКІВ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ЇХ СТРЕСОСТІЙКОСТІ

Вивчено гістологічну будову сім'яників бугаїв-плідників різної стресостійкості. Встановлено, що високостресостійкі бугаї переважають низькостресостійких за величиною діаметра сім'яних каналців та їх відносною площею і мають більш інтенсивний рівень сперматогенезу.

Ключові слова: бугаї-плідники, стресостійкість, сім'яники.

Постановка проблеми. Функціональна активність статевої залози регулюється гормоном тестостероном через рецептори, які знаходяться у клітинах сім'яних каналців, придатках сім'яників, сім'яних пухирцях і гіпоталамусі. Під час стресу підвищується секреція гормону кортизолу, який зберігаючи енергію для подолання стресового навантаження, стримує дію тестостерону й процеси біохімічного синтезу в тканинах [2].

Оскільки функціональний стан статевої залози бугаїв тісно пов'язаний з її морфологічними особливостями, а спермоутворювальна функція сім'яників залежить від структурних змін, які в них відбуваються, важливими і актуальними є дослідження гістологічної будови сім'яників бугаїв різного рівня стресостійкості.

Матеріал і методи. Дослідження проведені на базі Дніпропетровського облплемпідприємства на 11 повновікових бугаях-плідниках голштинської породи. Рівень стресостійкості тварин визначали за методикою Черненка О.М. [4], яка полягає у дослідженні динаміки показників крові до технологічного стресового навантаження та через 1 годину після нього. Стресовим навантаженням була жорстка фіксація тварин, зміна режиму годівлі, присутність ветеринарного лікаря та сторонніх людей (допоміжний персонал для взяття крові).

Матеріал для досліджень відбирали на м'ясокомбінаті ТОВ "Алан" Дніпропетровської області через 20-30 хв. після забою бугаїв. Для гістологічних досліджень із сім'яників вирізали шматочки тканини розміром 1x1 см, які фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну протягом 1 доби, а потім в 5 % розчині протягом 10 діб.

Гістологічні препарати готували і досліджували у лабораторії гістології, імуноцитохімії та патоморфології Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпропетровського державного аграрного університету.

Для дослідження функціонального стану статевої залози використовували методику В.І. Ругаль [3], яка полягає у класифікації сім'яних каналців з різним ступенем порушення сперматогенезу.

Результати досліджень. Нами встановлено, що гістологічна картина відповідала характерній будові сім'яників повновікових бугаїв-плідників і в цілому не відрізнялась від описаних у літературі [1].

Результати наших досліджень свідчать, що зовні сім'яники вкриті загальною серозною піхвою оболонкою, яка тісно зростається із сполучнотканинною білковою оболонкою. Від білкової оболонки в середину сім'яника відходять сполучнотканинні перетинки (септи), що поділяють сім'яник на частки. У кожній із часток знаходяться 2-4 звивисті сім'яні каналці.

На гістозрізах звивисті каналці правильної округлої або округло-овальної форми (рис. 1, 2). Стінка сім'яного каналця складається з власної оболонки, до якої прилягає епітеліосперматогенний шар (рис. 3, 4). До складу сперматогенного епітелію входять підтримуючі клітини (клітини Сертолі), або суспенцити та сперматогенні клітини різних стадій розвитку. На базальній мембрані лежать суспенцити. По периферії каналців біля базальної мембрани розташовані сперматогонії, потім сперматоцити і в центрі каналця сперматиди і сформовані спермії, які виходять у просвіт сім'яного каналця.

У результаті морфометричного аналізу тканин сім'яників виявлено відмінності їх гістологічної будови, які характеризують функціональні властивості статевої залози і впливають на рівень сперматогенезу бугаїв.

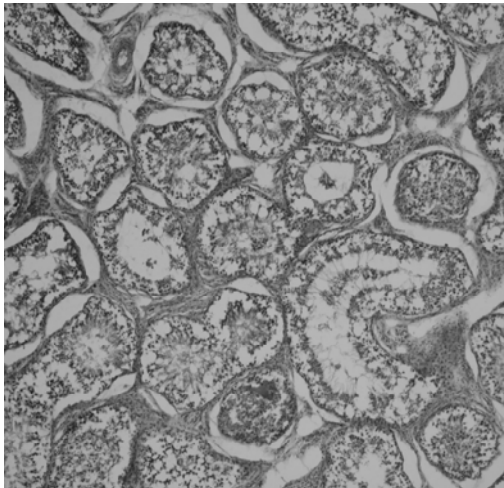


Рис. 1.

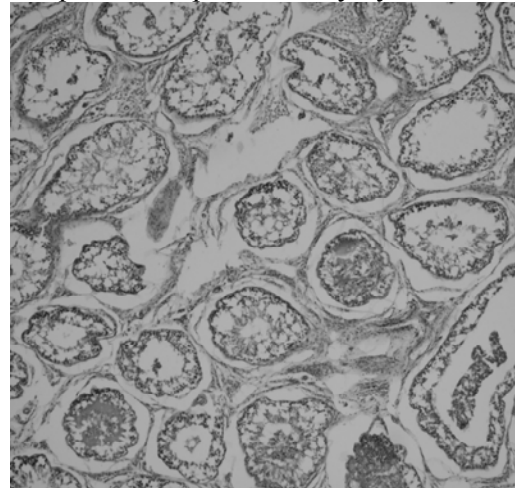


Рис. 2.

Гістологічна будова сім'яників високостресостійких (рис. 1) та низькостресостійких (рис. 2) бугаїв-плідників голштинської породи, при збільшенні в 100 разів

Установлено, що в високостресостійких плідників сім'яні каналці є більшими за діаметром, у них значно краще розвинений сперматогенний епітелій (табл. 1).

Діаметр звивистих каналців у високостресостійких бугаїв-плідників становить $254,30 \pm 4,439$ мкм, що на 44,60 мкм (21,3 %; $P > 0,999$) більше, ніж у низькостресостійких. А діаметр їх просвіту складає $26,3 \pm 1,269$ мкм, що на 12,75 мкм (48 %; $P > 0,99$) менше у порівнянні з низькостресостійкими ровесниками. Співвідношення діаметру сім'яних каналців до їх просвіту у високостресостійких бугаїв становить 9,77 проти 5,53 – у низькостресостійких

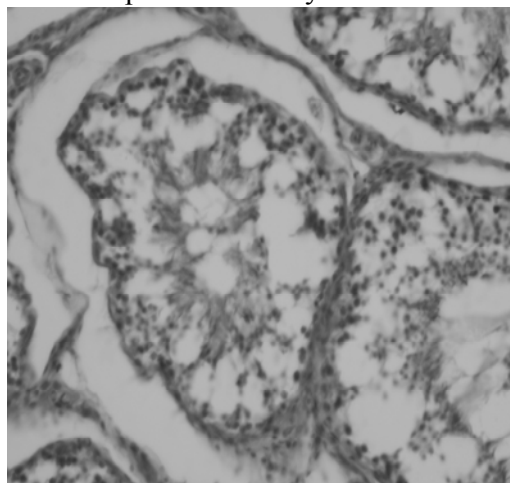


Рис. 3.

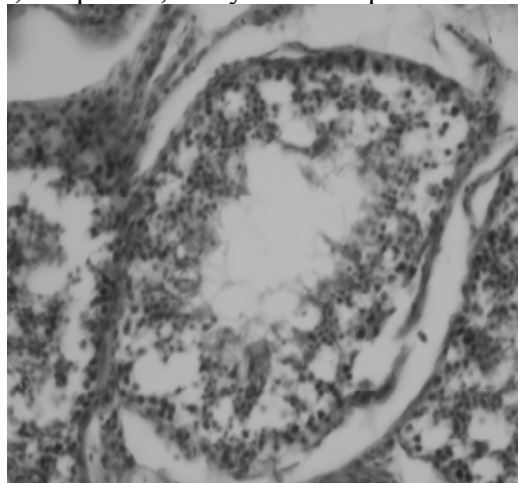


Рис. 4.

Гістологічна будова сім'яників високостресостійких (рис. 3) та низькостресостійких (рис. 4) бугаїв-плідників голштинської породи, при збільшенні в 400 разі

Таблиця 1

Морфометричні показники сім'яних каналців повновікових бугаїв-плідників, $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$

Рівень стресостійкості бугаїв	n	Діаметр сім'яних каналців, мкм	Діаметр просвіту сім'яних каналців, мкм	Співвідношення діаметру сім'яних каналців до їх просвіту
Високий	6	$254,30 \pm 4,439$	$26,33 \pm 1,269$	$9,77 \pm 0,506$
Низький	5	$209,70 \pm 2,974$	$39,08 \pm 3,573$	$5,53 \pm 0,446$
Різниця		44,60	12,75	4,24
t_d		8,35	3,36	6,29
P		$P > 0,999$	$P > 0,99$	$P > 0,999$

Високостресостійкі плідники, у порівнянні з низькостресостійкими мають більшу відносну площу сім'яних каналців, яка складає 75,45 проти

58,98 %, відповідно меншу відносну площу інтерстиціальної тканини: 24,55 % проти 41,1 % та ширше співвідношення відносної площі сім'яних каналців до відносної площі інтерстицію: 3,39 проти 1,45 (табл. 2).

У сім'яниках високостресостійких бугаїв (рис. 1) каналці щільніше прилягають один до одного, ніж у низькостресостійких (рис. 2), тому їх площа

Таблиця 2

Морфометричні показники сім'яних каналців повновікових бугаїв-плідників, $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$

Рівень стресостійкості бугаїв	n	Відносна площа сім'яних каналців, %	Відносна площа інтерстицію, %	Співвідношення площі сім'яних каналців до площі інтерстицію
Високий	6	75,45±2,574	24,55±2,907	3,39±0,579
Низький	5	48,98±1,821	51,02±1,415	0,97±0,065
Різниця		26,47	26,47	2,43
t _d		8,24	8,24	4,16
P		P>0,999	P>0,999	P>0,999

виявилася більшою, а площа інтерстицію – меншою. Переважна більшість каналців сім'яників високостресостійких плідників має потовщену стінку, до якої входять чисельні клітини, що знаходяться на різних стадіях диференціювання (рис. 1 і 3). Просвіт каналців майже повністю заповнений сформованими сперміями. Це свідчить про те, що сперматогенез у сім'яниках тварин високостресостійкої групи відбувався без порушень.

Значна частина сім'яних каналців низькостресостійких бугаїв відрізняється збільшеним просвітом, в якому наявна невелика кількість сперміїв, що знаходяться на кінцевих стадіях сперматогенезу, а в деяких каналцях є порожнини (рис. 2 і 4). Місцями зафіксовано каналці зі звуженим, розрихленим та збіднілим клітинними елементами, сперматогенним епітелієм.

Отже, результати наших досліджень показали, що високостресостійкі бугаї мали відмінності гістологічної будови сім'яників, які характеризують кращий розвиток статевої залози, її більш активний функціональний стан і вищий рівень сперматогенезу, ніж у тварин протилежного типу нервової системи.

У попередніх наших дослідженнях вивчено вплив стресостійкості на кількісні і якісні показники сперми бугаїв. Установлено, що високостресостійкі плідники переважали низькостресостійких за активністю сперміїв, їх концентрацією та об'ємом еякуляту. Частка впливу стресостійкості на ці показники становила в межах 48,97-59,25 % з високим ступенем достовірності (P>0,999) [6].

Проведеним нами кореляційним аналізом виявлений високодостовірний тісний кореляційний зв'язок стресостійкості бугаїв-плідників з морфометричними показниками їхніх сім'яників (табл. 3).

Таблиця 3

Взаємозв'язок морфометричних показників сім'яників бугаїв-плідників з їх стресостійкістю

Показники	r	m _r	t _r	P
Рівень стресостійкості x діаметр сім'яних каналців	+0,786	0,116	6,786	P>0,999
Рівень стресостійкості x діаметр просвіту сім'яних каналців	-0,770	0,123	6,242	P>0,999
Рівень стресостійкості x відносна площа сім'яних каналців	+0,850	0,084	10,108	P>0,999
Рівень стресостійкості x відносна площа інтерстицію	-0,850	0,084	10,108	P>0,999

Установлений тісний позитивний зв'язок стресостійкості плідників з величиною діаметра звивистих сім'яних каналців та відносною їх площею, відповідно: $r=+0,786$ та $r=+0,850$ ($P>0,999$).

Також виявлено від'ємний зв'язок стресостійкості бугаїв з діаметром просвіту сім'яних каналців та відносною площею інтерстицію, відповідно: $r=-0,770$ та $r=-0,850$ ($P>0,999$).

Тобто, з підвищенням рівня стресостійкості бугаїв-плідників збільшується діаметр їхніх сім'яних каналців та їх відносна площа і зменшується просвіт сім'яних каналців та відносна площа інтерстицію, що пов'язано з кращим функціональним станом статевої залози й, відповідно вищим рівнем спермопродуктивності у високостресостійких бугаїв.

Проведеним нами дисперсійним аналізом виявлено значний і високодостовірний вплив рівня стресостійкості бугаїв-плідників на морфометричні показники їхніх сім'яників (табл. 4).

Таблиця 4

Однофакторний дисперсійний аналіз

Показники	Частка впливу стресостійкості бугаїв-плідників, %	F	P
Діаметр сім'яних каналців	67,70	14,51	P>0,99
Діаметр просвіту сім'яних каналців	59,30	13,14	P>0,99
Відносна площа сім'яних каналців	72,30	23,51	P>0,999
Відносна площа інтерстицію	72,30	23,51	P>0,999

Частка впливу стресостійкості на діаметр сім'яних каналців бугаїв становить 67,70 % ($P>0,99$), на діаметр просвіту сім'яних каналців – 59,30 % ($P>0,99$), на відносну площу сім'яних каналців та відносну площу інтерстицію – 72,30 % ($P>0,999$).

Висновки. 1. Високостресостійкі плідники у порівнянні з низькостресостійкими ровесниками мають більші за діаметром сім'яні каналці

на 21,3 % ($P>0,99$), менший діаметр їх просвіту на 48 % ($P>0,99$), що виявилось у кращому співвідношенні між цими ознаками: 9,77 проти 5,53. Вони також мають більшу відносну площу сім'яних канальців: 75,45 проти 58,98 %, меншу відносну площу інтерстицію: 24,55 проти 41,1 %, а також ширше співвідношення між цими показниками: 3,39 проти 1,45.

2. Установлений значний високостовірний зв'язок рівня стресостійкості бугаїв з величиною діаметра сім'яних канальців ($r=+0,786$), з відносною площею сім'яних канальців ($r=+0,850$), з діаметром просвіту сім'яних канальців ($r=-0,770$) та з відносною площею інтерстицію ($r=-0,850$). Частка впливу стресостійкості на ці ознаки становить у межах 59,30-72,30 %.

Таким чином, підвищення рівня стресостійкості бугаїв-плідників шляхом відбору за типом нервової системи сприятиме покращенню функціональної діяльності їх статевої залози. У зв'язку з цим, актуальними є подальші дослідження гормонального статусу бугаїв різного рівня стресостійкості.

Література

1. Федорович В. В. Формування відтворювальної здатності бугаїв-плідників чорно-рябої худоби України / В.В. Федорович, Й.З. Сірацький. – К. : ЛЮКСАР, 2007. – 155 с. - 1
2. Алиев А.А. Обмен веществ у жвачных животных / Алиев А.А. – М.: НИЦ "Инженер", 1997. – 419 с. -3
3. Ругаль В.И. Морфология мужских половых желез при стрессе: автореф. дис. на соиск. уч. ст. канд. мед. наук / В.И. Ругаль. – Л., 1977. – 23 с.- 5
4. Рекомендації з оцінки типу нервової системи у ремонтних бугайців та бугаїв-плідників / О.М. Черненко. – Дніпропетровськ: Поліграфічне видання ВК "Орбіта-Сервіс", 2010. – 53 с. -10

Summary

Chernenko O.M., Candidate of Science, Assistant Professor

Pryshed'ko V.M., Postgraduate Student

OXEN INSEMINATORS' TESTICLES HISTOLOGIC TEXTURE IN ACCORDANCE WITH THEIR STRESS RESISTANCE

The histologic texture of oxen inseminators' testicles of different types of stress resistance was examined. It was found out that oxen inseminators with high level of stress resistance exceed oxen inseminators with low level of stress resistance in diameter size of seminiferous tubules and their surface area and they also have more intensive spermatogenesis level.

Key words: *oxen inseminators, stress resistance, testicles.*

Стаття надійшла до редакції 3.09.2010

УДК 575.42:636.082.11

Чокан Т. В., кандидат сільськогосподарських наук**Шаран М. М.**, доктор сільськогосподарських наук, mm_sharan@yahoo.com

Інститут біології тварин НААН України, м. Львів

Муравські М., доктор наук[©]

Краківський аграрний університет ім. Х. Коллонтая, Польща

СТИМУЛЯЦІЯ РАННІХ ОКОТІВ У ВІВЦЕМАТОК УКРАЇНСЬКОЇ ГІРСЬКОКАРПАТСЬКОЇ ПОРОДИ З ВИКОРИСТАННЯМ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ВІДТВОРЕННЯ

Наведено дані про застосування вагінальних губок з прогестероном та контакту з баранами-плідниками на прояви статевої охоти та заплідненість вівцематок української гірськокарпатської породи. Встановлено, що використання губок з прогестероном та присутність баранів-плідників забезпечують прояви еструсу у вівцематок в анестральний період та підвищують заплідненість на 10,0–13,5 %.

Ключові слова: вівці, стимуляція, статеві охота, заплідненість, вагінальні губки, окоти

Вступ. Непроста ситуація, яка склалася у тваринництві нашої держави, і, зокрема, у вівчарстві, спонукає до пошуку та впровадження нових, нестандартних підходів і методів ведення галузі. Розробка принципово нових підходів в селекційно-племінній роботі, зокрема, з використанням останніх досягнень молекулярної генетики та біотехнології дасть можливість удосконалити існуючі породи тварин, підвищуючи їх продуктивність і пристосованість до промислових технологій [1, 2].

Відомо, що вівцематки української гірськокарпатської породи (УГК) проявляють сезонну статеву активність і парувальний період проходить у них у серпні – вересні, хоча ряд господарств продовжує доїти овець до жовтня, оскільки одержання молока і виробництва сиру-бринзи є одним з основних джерел прибутку [3]. Це призводить до того, що ягнята народжуються у кінці січня–впродовж лютого, що, у свою чергу, не дає можливості отримувати ягнятину у період найбільшого попиту на неї — навесні (так звані «пасхальні ягнята»).

Одержання ранніх окотів можливе за умов регуляції статевого циклу, а саме: викликання множинної овуляції для одержання двійнят; стимуляція статевої охоти у вівцематок в анестральний період для збільшення кількості окотів; використання біологічно активних речовин (БАР) при штучному осіменінні вівцематок для підвищення запліднення [4].

Класична схема стимуляції статевої охоти в анестральний період передбачає використання вагінальних губок та гонадотропіну сироватки жеребних кобил (ГСЖК) [5, 6]. Застосування препаратів ГСЖК оправдовує

себе при проведенні штучного осіменіння вівцематок візо-цервікальним та лапароскопічним методами, оскільки дозволяє синхронізувати статеву охоту в межах доби. При природному паруванні бажано мати обмежену кількість вівцематок в охоті, що дасть можливість оптимізувати навантаження на баранів-плідників і забезпечить високий рівень запліднення. Крім того, висока вартість препаратів ГСЖК та відсутність на ринку не дозволяють широко застосовувати їх у вівчарстві.

Виходячи з вищевказаного, метою досліджень було дослідити вплив стимуляції статевої охоти у УГК овець в анестральний період з використанням вагінальних губок та зоотехнічних прийомів на отримання ранніх окотів.

Матеріал і методи. Дослідження проводили на вівцематках української гірськокарпатської породи овець 3–4-річного віку, живою масою 40–45 кг у СФГ "Салдобош" Хустського р-ну, Закарпатської обл. Було сформовано три групи тварин: контрольна та дві дослідні (табл. 1).

Таблиця 1

Схема проведення досліджень

Дата проведення	Проведення процедур по групах		
	1 дослідна, n=50	2 дослідна, n=65	контрольна, n=150
1.07.09 р.	Вітамінізація «Інсолвіт» — 2 мл/гол.		
8.07.09 р.	Вставлення вагінальних губок, ізоляція баранів		
17.07.09 р.		Виймання вагінальних губок, введення трьох баранів-плідників у стадо	
20.07.09 р.	Виймання вагінальних губок, введення трьох баранів-плідників у стадо		
10.09.09 р.			Введення сімох баранів-плідників у стадо

Вівцематки контрольної групи (n=150) приходили в охоту та покривались баранами у парувальний сезон. Тваринам дослідних груп для швидшого парування стимулювали статеву охоту за допомогою вагінальних губок з прогестероном «Нроногест» (Голандія). У групу вівцематок 2 дослідної групи вводили баранів-плідників за три дні до виймання вагінальних губок. До вівцематок 1 дослідної групи баранів-плідників вводили в день виймання губок. Після виймання вагінальних губок проводили спостереження за проявами статевої охоти та паруванням вівцематок обох дослідних груп.

Після народження ягнят визначали кількість та якісні характеристики молодняку. Крім того, проводили зважування ягнят при народженні, в одно- і тримісячному віці.

Результати дослідження. Аналізуючи результати стимуляції статевої охоти, слід відзначити, що застосування вагінальних губок з прогестероном забезпечило прояви еструсу у всіх вівцематок обох дослідних груп впродовж

трьох тижнів (табл. 2). Проте, різний час введення баранів у стада дослідних тварин призвів до неоднакової кількості вівцематок у стані еструсу. Так, при введенні баранів-плідників у день виймання губок з прогестероном вівцематки приходили в охоту у наступній послідовності: у перший тиждень — 34,0 %, на другий — 46,0 % і на третій — 20,0 %. У той ж час, введення баранів-плідників за три дні до виймання вагінальних губок забезпечило найбільшу естрогенну активність у перший тиждень — 47,7 %.

Таблиця 2

Синхронність проявів статевої охоти вівцематок

Час приходу вівцематок в охоту	Кількість овець по групах, n – %	
	1 дослідна n = 50	2 дослідна n = 65
1-ий тиждень	17 – 34,0	31 – 47,7
2-ий тиждень	23 – 46,0	22 – 33,8
3-ій тиждень	10 – 20,0	12 – 18,5

У наступні два тижні після виймання губок спостерігалось зменшення кількості вівцематок з проявами статевої охоти — відповідно 33,8 % і 18,5 %. Очевидно, це пов'язано із тим, що безпосередній контакт баранів-плідників з вівцематками під час прогестеронового блоку у останніх за допомогою феромонів активізує статеву активність самок.

Отже, застосування вагінальних губок з прогестероном та присутність баранів-плідників дозволяють стимулювати статеву охоту УГК овець в анестральний період.

Аналіз окотів та якості приплоду показав, що застосування біотехнологічного методу стимуляції статевої функції та зоотехнічний прийом чинять суттєвий вплив не тільки прояви еструсу у вівцематок, але і на заплідненість. Зокрема, після використання вагінальних губок та контакту з баранами-плідниками заплідненість вівцематок значно підвищується (табл. 3).

Таблиця 3

Заплідненість та плідність овець

	Групи овець		
	1 дослідна, n=50	2 дослідна, n=65	контрольна, n=150
Одинаки, n	41	51	148
Двійні, n	9	14	7
Заплідненість, %	118,0	121,5	108,0

Якщо у контрольній групі овець заплідненість становила 108,0 %, то у 1 дослідної — 118,0 %, 2 дослідної — 121,5 %, що, відповідно, на 10,0 % та 13,5 % більше, порівняно з контролем.

Отже, застосування досліджувальних способів стимуляції статевої охоти УГК овець забезпечує задовільні результати проявів еструсу в анестральний період та значно підвищує заплідненість вівцематок.

Таким чином, стимуляція статевої охоти в УГК овець в анестральний період застосуванням вагінальних губок з прогестероном та введенням баранів-плідників у стадо вівцематок забезпечують ранні окоти (грудень). Це

дозволяє виростити молодих ягнят живою масою понад 15 кг до кінця березня і, таким чином, забезпечити попит на молоду баранину у весняний період.

Висновки

1. Застосування вагінальних губок з прогестероном та контакт з баранами-плідниками забезпечує прояви еструзу у анестральний період.
2. Введення губок з прогестероном і присутність баранів-плідників підвищують заплідненість вівцематок на 10,0 – 13,5 %.

Література

1. Топіха І. Н. Основні проблеми розвитку галузі вівчарства та шляхи їхнього розв'язання / І. Н. Топіха // Пропозиція. — 2000. — № 1. — С. 116–121.
2. Задорожня О. М. Порівняльна характеристика м'ясних якостей овець різних генотипів / О. М. Задорожня, В. І. Похил // Вісник аграрної науки. — 2005. — № 5. — С.38–39.
3. Іовенко В.М. Вівчарство України / В.М. Іовенко, П.І. Польська, О.Г. Антоненко та ін.; За ред. В.П. Бурката. — К.: Аграрна наука, — 2007. — С. 253.
4. Терпай В. На шляху відродження галузі / В. Терпай // Тваринництво України. — 2005. — № 6. — С.2–3.;
5. Шаран М. М. Підвищення багатоплідності овець на основі біологічно активних речовин / М. М. Шаран, М. Д. Пасіцький, З. С. Топурко, М. Муравські // Вісник аграрної науки. — 2007 — № 6 — С. 45–48.
6. Bielanski A. Biotechnologia rozrodu zwierząt gospodarskich / A. Bielanski, M. Tischner // Krakow: «Universitas», 1993. — P. 214–216.

Summary

T. Chokan, M. Sharan, M. Murawski

THE STIMULATION OF EARLY LAMBING IN EWES OF UKRAINIAN MOUNTAIN CARPATHIAN BREED BY USING OF BIOTECHNOLOGICAL METHODS OF REPRODUCTION

The data about the using of progesterone vaginal sponges and contact with rams on the expression of estrus and fertility of ewes of Ukrainian Mountain Carpathian breed were presented. It was established that the using of progesterone sponges and the ram's presence stimulates estrus manifestations in ewes in oestrus period and increases of fertilization on 10,0-13,5%.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК 638.121.2:591.146

Шамро Л.П., старший науковий співробітник. ©**Шамро М.О.**, кандидат сільськогосподарських наук, зав. відділу
*chamro_09@ukr.net**Національний науковий центр «Інститут бджільництва
ім. П.І. Прокоповича» НААНУ, м. Київ*

РОЗМІЩЕННЯ ВОСКОВИХ МИСОЧОК НА ПРИЩЕПЛЮВАЛЬНІЙ РАМЦІ ПРИ ВИРОБНИЦТВІ МАТОЧНИКІВ З МАТОЧНИМ МОЛОЧКОМ І МАТОЧНОЮ ЛИЧИНКОЮ

Досліджено розміщення воскових мисочок на прищеплювальній рамці при виробництві маточників з маточним молочком і маточною личинкою. Встановлено, що при виробництві маточників з маточним молочком і маточною личинкою можливе розміщення воскових мисочок як на двох, так і на трьох планках прищеплювальної рамки, але відступаючи від бокових її планок до 5 см.

Ключові слова: *продукти бджільництва, маточники, маточне молочко, маточна личинка.*

Вступ. Виробництво продуктів бджільництва є актуальним нині, оскільки вони, маючи багатий вміст корисних компонентів природного походження, можуть використовуватися з великою користю для людини. В даний час вони знаходять все ширше застосування в одному з напрямлень медицини – апітерапії, для виробництва цінних лікувальних препаратів та парфумерно-косметичних засобів.

Серед продуктів бджільництва дуже цінується маточне молочко – сильний природний біостимулятор. В літературних джерелах знаходимо численні публікації про корисну дію маточного молочка на організм людини, які свідчать про те, що воно, як натуральний біологічно активний продукт, значно сприяє оздоровленню людей, особливо в сучасних несприятливих екологічних умовах. Не дарма ж воно привернуло увагу людини ще в часи існування інків, вже тоді його використовували для підтримки здорового та зміцнення хворого організму [1-4].

В ННЦ «Інститут бджільництва ім. П.І. Прокоповича» НААНУ запропоноване і досліджується виробництво маточного молочка в маточниках, що дає можливість одержувати цінний продукт бджіл в природно дозованому вигляді, в натуральній восковій тарі, без впливу на його якість різних чинників, які можливі при класичному відборі.

Цінність маточників з маточним молочком подвійна через те, що разом з молочком в них присутні маточні личинки, які за давніми та сучасними відомостями також мають позитивний вплив на людський організм. Ще китайські лікарі близько 2 тисяч років назад встановили, що одна-дві личинки

майбутньої матки, розтерті у вині і прийняті протягом дня, діють на організм людини стимулююче. Сучасні дієтологи також рекомендують вживати в їжу розтерті в сухому вині маточні личинки, так як вони містять дуже цінні речовини, що одержуються в процесі розвитку організму майбутньої матки [2].

Матеріал і методи. З метою одержання кондиційних за розміром та вмістом маточників з маточним молочком і маточною личинкою визначали оптимальне розміщення воскових мисочок на прищеплювальній рамці.

Дослідження проведені у виробничих умовах на базі племінної пасіки з розведення бджіл української степової породи ННЦ «Інститут бджільництва ім. П.І. Прокоповича» НААНУ (м. Гадяч, Полтавська обл.).

Підбирали дослідну і контрольну групи бджолиних сімей-аналогів за силою, кількістю запечатаного розплоду, корму, походженням і віком маток для формування сімей-вихователюк. Їх формували силою не менше 10 вуличок методом неповного осиротіння, застосовуючи триденний цикл прищеплення личинок. При цьому враховували рекомендації дослідників щодо періодів виведення маток, використання при слабкому прийомі личинок для прищеплень переважно середньої і верхньої планок, зважаючи на особливості прийому личинок та те, що при сприятливих умовах різниця прийому личинок на виховання на різних планках прищеплювальної рамки зменшується або вирівнюється [5-8].

В сім'ї-виховательки контрольної групи прищеплювали личинки, розміщуючи їх на трьох (верхня, середня, нижня) планках прищеплювальної рамки, а дослідної – на двох (верхня, середня) з відступом від бокових планок рамки до 5 см. В сім'ї обох груп щоразу прищеплювали 70 личинок на двох прищеплювальних рамках.

Визначали кількість і відсоток прийому личинок на виховання (%). В одержаних маточниках визначали масу молочка (г), масу личинок (г), їх розміри (діаметр, висота, см).

Результати дослідження Протягом періоду проведення досліду (з 24.06 по 14.07.2009 р.) сім'ям-вихователькам було дано на виховання прищеплені личинки шестикратною із зростанням добового приносу нектару сім'ями (від 0 до 2,9 кг) спостерігали збільшення відсотка прийому на виховання прищеплених личинок (рис. 1).

В середньому за шість проведених прищеплених не відмічено значної різниці у вирощуванні даних на виховання личинок сім'ями-виховательками контрольної і дослідної груп (табл. 1).

Поряд з тим необхідно відмітити, що сім'ї-виховательки контрольної групи завжди приймали дані на виховання личинки як в цілому, так і окремо на кожній планці прищеплювальної рамки дещо в більшій кількості.

Щодо вирощування прищеплених личинок сім'ями-виховательками на різних планках прищеплювальної рамки також не виявлено значної різниці між групами (табл. 2).

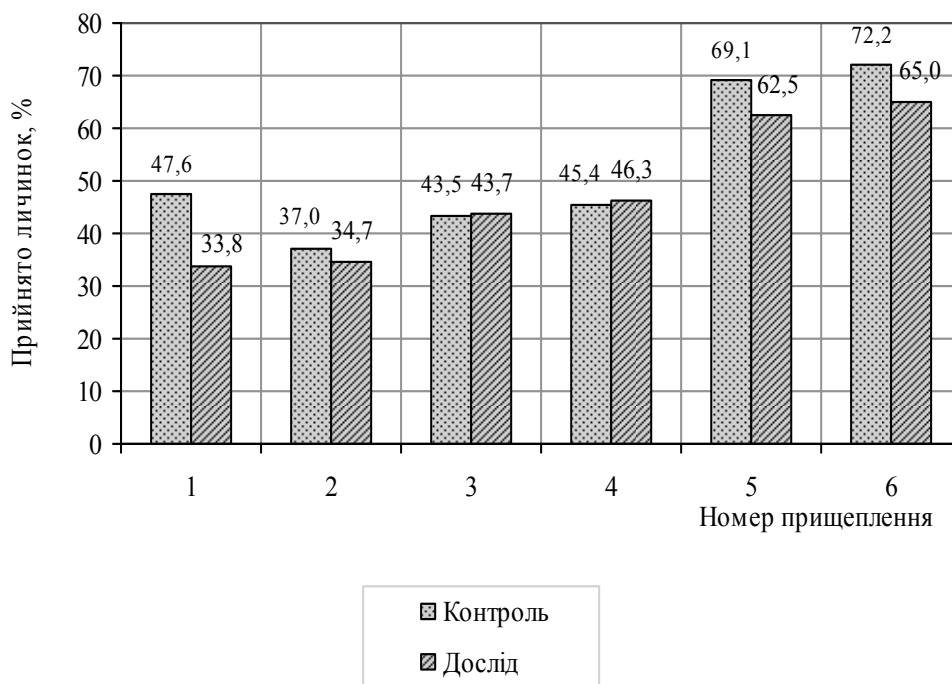


Рис. 1. Прийом личинок на виховання протягом періоду прищеплень (24.06-14.07.09)

Таблиця 1

Вирощування личинок сім'ями-виховательками

Група	Прийнято на виховання, %		
	M±m	lim	td
К	52,51±4,97	37,0-72,20	-
Д	47,58±10,62	33,80-65,00	0,42

Таблиця 2

Вирощування личинок на різних планках прищеплювальної рамки

Група	Прийнято личинок на виховання на планках прищеплювальної рамки, %					
	верхня		середня		нижня	
	M±m	td	M±m	td	M±m	td
К	50,6±4,86	-	51,6±6,50	-	52,3±4,88	-
Д	47,4±11,92	0,25	51,0±9,90	0,05	-	-

Одержані маточники з маточним молочком і маточною личинкою від сімей контрольної і дослідної груп незначно відрізнялися за розмірами (довжина, діаметр), масою молочка і личинок у них (табл. 3).

Таблиця 3

Характеристика одержаних маточників

Показники	Контрольна група		Дослідна група	
	M±m	td	M±m	td
Розміри маточників:				
- довжина, см	1,81±0,04	-	1,83±0,05	0,33
- діаметр, см	1,05±0,02	-	1,05±0,01	0
Маса молочка в маточнику, г	0,325±0,030	-	0,368±0,040	0,86
Маса личинки в маточнику, г	0,044±0,007	-	0,047±0,005	0,33
Вихід кондиційних маточників, %	73,37±7,70	-	85,98±4,32	1,42

Але завжди розмір відбудованих маточників в дослідних сім'ях, маса молочка і личинок в них мали більші значення.

Компактне розміщення воскових мисочок на двох планках з відступом від бокових планок прищеплювальної рамки до 5 см дало можливість отримати до 86% кондиційних за розміром і вмістом маточників, що на 12,6% більше ніж в контролі.

Таким чином, результати досліджень свідчать, що при розміщенні воскових мисочок на трьох (верхній, середній та нижній) планках прищеплювальної рамки та на двох (верхній, середній) з відступом від бокових планок рамки до 5 см не виявлено достовірної різниці в прийомі сім'ями-вихователками прищеплених в них личинок як в цілому по сім'ї, так і окремо по планках. Але при прищепленні личинок у варіанті дослідної групи бджоли відбудовують кондиційних за розмірами і вмістом маточників більше на 12,6%.

Висновки. При виробництві маточників з маточним молочком і маточною личинкою можливе розміщення воскових мисочок як на двох, так і на трьох планках прищеплювальної рамки, але відступаючи від бокових її планок до 5 см.

Література

1. Лавренов В.К. Лечение маточным молочком / В.К. Лавренов, Ю.В. Лавренов. – Донецк, 2004.
2. Иойриш Н.П. Еще раз о маточном молочке / Н.П. Иойриш // Пчеловодство. – 1969. - №11. – С. 18-20.
3. Крылов В.Н. Маточное молочко пчел. Свойства, получение, применение /В.Н. Крылов, С.С. Сокольский – Краснодар: «Агропромполиграфист», 2000. – 216 с.
4. Николае В. Илиешу. Производство и сбор маточного молочка / Николае В. Илиешу, Флорин Хангану // Пчеловодство. – 1973. - №3. – С. 42-45.
5. Крахотин Н.Ф. Вывод маток весной и осенью // Пчеловодство. – 1974. - №8. – С. 17-18.
6. Бородачев А.В. На прививочной рамке / А.В. Бородачев, В.В. Малков // Пчеловодство. – 1988. - №6. – С. 12-13.
7. Султанов Р.Л. Особенности приема личинок пчелами // Пчеловодство. – 1978. - №7. – С. 9-10.

8. Давиденко І.К. Племінна робота у бджільництві / І.К. Давиденко, Г.Д. Микитенко, С.О. Челак. – К.: Урожай, 1992. – 120 с.

Summary

L.P. Shamro, M.O. Shamro

**PLACING WAX ARTIFICIALLY QUEEN-CELL ON GRAFTED TO A
FRAMEWORK BY MANUFACTURE QUEENS BEE WITH QUEEN BEE
LARVAL AND QUEENS BEE A LARVA**

Placing wax artificially queen-cell on grafted to a framework is investigated by manufacture queen's bee with queen bee larval and queen's bee a larva. It is defined, that by manufacture queens bee with queen bee larval and queens bee a larva probably placing wax artificially queen-cell both on two, and on three laths grafted frameworks, but receding from its lateral laths to 5 sm.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

УДК 632.2.082.591.15.16

Шаран М. М., доктор сільськогосподарських наук, mm_sharan@yahoo.com

Інститут біології тварин НААН України, м. Львів

Шаловило С. Г., доктор сільськогосподарських наук, професор**Грибак Х. М.** ©*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*

ЖИТТЕЗДАТНІСТЬ ЕМБРІОНІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ЯКОСТІ ТА СТАДІЇ ЇХ РОЗВИТКУ ПРИ НАДШВИДКОМУ ЗАМОРОЖУВАННІ

Наведено дані про вплив якості та стадії розвитку ембріонів на їх життєздатність після розморожування і приживлюваність після трансплантації телицям-реципієнтам. Встановлено, що використання компактних морул та ранніх бластоцист відмінної і доброї якості забезпечує найвищі показники життєздатності (85,7–89,5 %) та приживлення у телиць-реципієнтів (55,5–80,0 %).

Ключові слова: *кріоконсервування, ембріон, лінолеат, олеат, стеарату холестеролу, надшвидке заморожування, вітрифікаційне середовище*

Вступ. Для успішного кріоконсервування ембріонів та пересадки їх реципієнтам вирішальне значення має правильна оцінка якості і біологічної повноцінності зародків. Враховуючи особливості розвитку ембріона і затрачений час на його формування, можна судити про придатність ембріона до заморожування чи пересадки, а також встановити прискорений розвиток чи відставання у ньому. На 6–7 день після овуляції і запліднення ембріони потрапляють у верхню третину рогів матки, розвиваючись до стадії морули чи бластоцисти. При цьому спостерігається диференціація клітин ембріона на клітини трофобласту і ендодерми, триває поділ клітин ембріона, який перебуває у прозорій оболонці.

Життєздатність ембріонів, вимитих на 7–8 день після штучного осіменіння від корів з індукованою поліовуляцією не перевищує 60 % [1]. Однак, серед ембріонів, визнаних життєздатними, спостерігаються значні якісні відмінності, які, очевидно, мають важливе значення у виживанні ембріонів після глибокого заморожування та деконсервування.

Тому метою досліджень було визначення впливу якості та стадії розвитку ембріонів на їх життєздатність після розморожування і приживлюваність після трансплантації телицям-реципієнтам.

Матеріал і методи. На першому етапі експерименту ми провели ретельний відбір ембріонів на різних стадіях розвитку перед заморожуванням. При селекції ембріони поділяли на «відмінні», «добрі», «задовільні» і «незадовільні». Біологічно якісними вважали ембріони, які мали правильну кулясту форму, гомогенну світлу цитоплазму, непошкоджену прозору

оболонку, однакового розміру бластомери з щільним міжклітинним сполученням.

Не заморожували ембріони, які мали деформовану прозору оболонку, значні відхилення у структурі бластомерів, неоднорідний колір (некроз) і просвітлення клітинної маси, порушення зв'язків між більшістю бластомерів, ущільнення та зморщення бластомерів, а також такі, у яких спостерігався вихід клітин у перивітеліновий простір.

Для кріоконсервування використали 104 ембріони, з яких 22 ранні морули (шостий день статевого циклу), 21 компактна морула (сьомий день циклу), 19 ранніх бластоцист (сьомий день циклу), 24 зрілих бластоцисти (сьомий день циклу) і 18 експандованих бластоцист (восьмий день циклу).

Результати дослідження. Після деконсервування 21 ембріон мав ознаки дегенеративних змін, що становить 20,2 % від кількості заморожених. Решта 83 ембріонів (79,8 %) зберегли нормальну морфологічну структуру, або мали незначні відхилення від норми (табл. 1).

Таблиця 1

Морфологічна якість і приживлення деконсервованих ембріонів залежно від стадії розвитку перед кріоконсервацією

Показники	Всього	з них на стадіях розвитку				
		морула		бластоциста		
		рання	компактна	рання	зріла	експандована
Розморожено ембріонів, n	104	22	21	19	24	18
Життєздатних ембріонів, n	83	17	18	17	20	11
% морфологічно якісних	79,8± 8,92	77,3± 10,26	85,7± 7,40	89,5± 9,15	83,3± 6,80	61,1± 6,65
Пересаджено ембріонів, n	83	17	18	17	20	11
Тільних реципієнтів, n	41	7	10	10	11	3
Рівень приживлення, %	49,4± 7,32	41,2± 5,24	55,5± 5,81	58,8± 6,13	55,0± 8,35	27,3± 5,72

Високу життєздатність після розморожування зберегли ембріони практично на всіх стадіях розвитку за винятком експандованих бластоцист (61,1±6,65 %). У ранніх морул спостерігалось незначне зниження життєздатності (77,3±10,26 %), порівняно з компактними морулами (85,7±7,40 %), а також ранніми і зрілими бластоцистами (89,5±9,15 і 83,3±6,80 %).

Спостерігається тенденція до підвищення життєздатності ранніх бластоцист (89,5±9,15 %), порівняно з іншими стадіями розвитку ембріонів. Очевидно, це пов'язано з неоднаковою дегідратацією клітин ембріонів у процесі заморожування та відтавання, або з іншими субоптимальними умовами, які можуть викликати осмотичний шок чи міжклітинні утворення льоду [2, 3].

Дані морфологічної оцінки якості ембріонів підтвердилися результатами їх трансплантації. Зокрема, відзначається невелике зниження приживлюваності ранніх морул ($41,2 \pm 5,24$ %). Це, очевидно, пов'язано з тим, що ранні морули із своїм клітинним комплексом менш придатні до кріоконсервування, ніж ембріони на пізніших стадіях розвитку. Причиною цього є підвищена чутливість клітин трофобласту, розміщених по периферії ембріона, до процесу глибокого охолодження.

Найнижчі результати приживлюваності одержали при трансплантації деконсервованих експандованих бластоцист ($27,3 \pm 5,72$ %).

Отже, стадія розвитку ембріона відіграє важливу роль в збереженні життєдіяльності під час заморожування і деконсервації. Ембріони на стадії експандованої бластоцисти дуже чутливі до охолодження, після розморожування у них різко знижується виживання і здатність до розвитку при трансплантації реципієнтам. Це, очевидно, обумовлено морфологічними змінами, які непомітні при мікроскопічній оцінці, або збільшеними розмірами бластоцелі, яка може впливати на осмотичні умови і утворення льоду всередині ембріона.

Нашими дослідженнями встановлено, що найбільш допустимим віком ембріонів для заморожування надшвидким методом є морули, ранні та зрілі бластоцисти. До аналогічних висновків прийшли у своїх дослідженнях P. Liehman et al. (1990), L. Ferry et al. (1994), M. A. Shehab-El-Deen et al. (2009), J. J. Stachecki et al. (2008) [4–7].

У наших дослідженнях спостерігалась відмінність у життєздатності ембріонів після розморожування, які при морфологічній оцінці перед кріоконсервуванням були «відмінної», «доброї», та «задовільної» якості (рис. 3. Для дослідження розморожені ембріони поміщали в культуральне середовище при кімнатній температурі. Використовуючи різні збільшення мікроскопа ($\times 80$ – 120), обертали ембріони у різні сторони за допомогою мікрокапіляра, особливу увагу звертаючи на прозору оболонку та перивітеліновий простір.

Відбирали окремо всі ембріони, які мали ознаки нормальних та дегенерованих. Відібрані «сумнівні» ембріони переносили в окремі чашки Петрі і культивували при температурі 37°C у термостаті протягом чотирьох годин. Після цього поновлювали спостереження за морфологічними змінами в ембріонах. Всього використано 127 ембріонів, з них 58 морул і 69 бластоцист.

У результаті проведеної морфологічної оцінки культивованих ембріонів визначали їх придатність до пересадки. Так, із 16 морул відмінної якості після розморожування не виявлено незадовільних ембріонів. Ембріони з пошкодженою прозорою оболонкою, порушенням зв'язку між бластомерами класифікували як задовільні. Від загальної кількості розморожених морул цей показник становив 25,0 %. Аналогічну кількість (25,0 %) становили відмінні морули, а найбільше було добрих морул — 50,0 % (табл. 2).

Морули з оцінкою “добрі” до кріоконсервування, після розморожування були оцінені таким чином: доброї якості — 41,6 %, задовільної — 45,8 % і незадовільної — 12,5 %. Найбільшу кількість незадовільних морул

— 33,3 % було отримано при заморожуванні задовільних ембріонів відповідної стадії.

Таблиця 2

Вплив якості ембріонів до заморожування на їх життєздатність після розморожування

Стадія розвитку та якість ембріонів до заморожування	n	Якість ембріонів після розморожування			
		відмінні	добрі	задовільні	незадовільні
Морули, всього	58				
з них: відмінні, n-%	16	4–41,7	8–50,0	4–25,0	
добрі, n-%	24	–	10–41,6	11–45,8	3–12,5
задовільні, n-%	18	–	–	12–66,7	6–33,3
Бластоцисти, всього	69				
з них: відмінні, n-%	22	6–27,2	12–54,5	4–18,1	–
добрі, n-%	27	–	12–44,4	12–44,4	3–11,1
задовільні, n-%	20	–	–	13–65,0	7–35,0

Аналогічні результати отримані при кріоконсервуванні бластоцист різної якості. Після розморожування 22 відмінних бластоцист 6 із них (27,2 %), були оцінені як ембріони відмінної якості, 54,5 % були доброї якості і 18,1 % задовільних. Бластоцисти з морфологічною оцінкою “добрі” також успішно перенесли процес кріоконсервування і після розморожування зберегли досить високий рівень життєздатності (рис. 1).

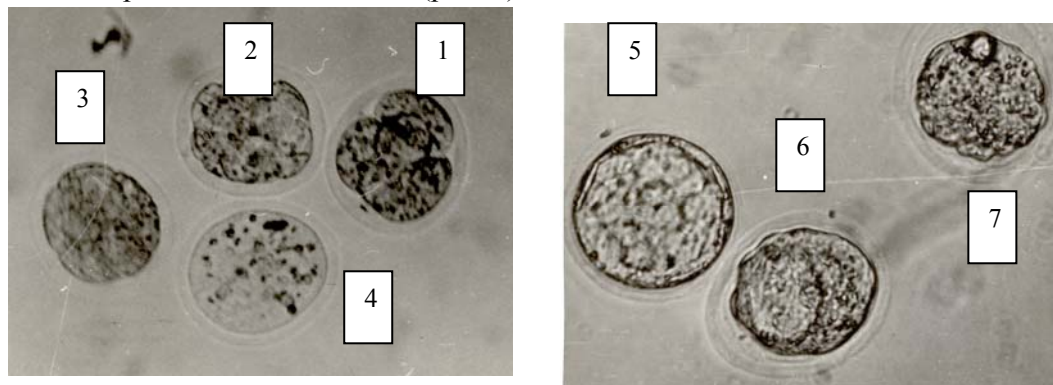


Рис 1. Морули і бластоцисти після деконсервування (x 96)

1 – рання морула; 2 – компактна морула; 3 – пізня морула; 4 – дегенерована морула (спостерігається лізис клітин); 5 – рання бластоциста; 6 – зріла бластоциста; 7 – дегенерована бластоциста (некроз окремих бластомерів).

Майже половина таких ембріонів (44,4 %) були доброї якості, така ж кількість задовільних і лише 11,1 % оцінені як незадовільні, мали значні дефекти прозорої оболонки, рихле з’єднання між бластомерами.

Після розморожування задовільних бластоцист було виявлено 65,0 % ембріонів задовільної якості, а 35,0 % були з ознаками некрозу та значних

пошкоджень, які після культивування не розвивалися. Отримані результати свідчать про недоцільність заморожування ембріонів задовільної якості.

Ретельна морфологічна оцінка ембріонів перед заморожуванням має суттєвий вплив на їх життєздатність після розморожування. У ембріонів високої якості після розморожування відмічався вищий їх рівень приживлення.

Так, у морул відмінної якості одержано 75,0 % тільності реципієнтів, доброї — 55,5 % і задовільної — лише 29,6 % (табл. 3.30).

Таблиця 3

Приживлюваність деконсервованих ембріонів залежно від якості ембріонів до заморожування

Стадія розвитку та якість ембріонів до заморожування	n	Якість ембріонів після розморожування		
		відмінні	добрі	задовільні
Трансплантовано морул, n	49	4	18	27
Тільних реципієнтів, n	21	3	10	8
Приживлення ембріонів, %	42,8	75,0	55,5	29,6
Трансплантовано бластоцист, шт.	59	6	24	29
Тільних реципієнтів, n	27	5	14	8
Приживлення ембріонів, %	45,7	83,3	58,3	27,5
Всього трансплантовано ембріонів, n	108	10	42	57
Тільних реципієнтів, n	48	8	24	17
Приживлення ембріонів, %	44,4	80,0	57,1	29,8

Дещо вищі результати отримані при трансплантації бластоцист різної якості. Встановлена тільність реципієнтів 83,3 % від пересадки відмінних і, відповідно, 58,3 % і 27,5 % при використанні добрих і задовільних бластоцист.

Одержані результати свідчать про раціональність використання відмінних та добрих ембріонів для кріоконсервування та підтверджують необхідність у ретельній селекції ембріонів перед їх глибоким заморожуванням, що узгоджується з дослідженнями ряду авторів [8, 9]. Ембріони з морфологічною оцінкою “задовільні” недоцільно кріоконсервувати, оскільки після розморожування більша половина з них виявляються непридатними для пересадки. Такі ембріони економічно вигідно відразу після вимивання пересаджувати реципієнтам.

Висновки.

1. Ретельна селекція ембріонів перед надшвидким заморожуванням раціоналізує ефективність їх трансплантації, що підтверджується високими показниками життєздатності та приживлення ембріонів.

2. Найвищу життєздатність після розморожування проявили пізні (компактні) морули — 85,7 % та ранні бластоцисти — 89,5 %. Приживлення ембріонів у цих групах теж було найвищим — відповідно, 55,5 % і 58,8 %.

3. Трансплантація ембріонів відмінної і доброї якості забезпечила їх високий рівень приживлення — відповідно, 80,0 % і 57,1 %.

Література

1. Сергеев Н. И. Руководство по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / Н. И. Сергеев, Н. М. Решетникова, А. И. Абилов и др. // Дубровицы, 2008. — 115 с.
2. [Ishimori H.](#) Factors affecting survival of mouse blastocysts vitrified by a mixture of ethylene glycol and dimethyl sulfoxide / Н. [Ishimori](#), Y. [Takahashi](#), Н. [Kanagawa](#) // [Theriogenology](#). — 1992. — V. 38(6). — P. 1175–1185.
3. Осташко Ф. И. Биотехнология воспроизведения крупного рогатого скота / Ф. И. Осташко // К.: Аграрна наука, 1995. — 180 с.
4. [Liehman P.](#) Vitrification of mouse 8-cell embryos with glycerol as a cryoprotectant / P. [Liehman](#), O. [Teplá](#), J. [Fulka](#) // [Folia Biol. — Praha](#), 1990. — V. 36(5). — P. 240–251.
5. Ferry L. Bovine embryos cultured in serum-poor oviduct-conditioned medium need cooperation to reach the blastocyst stage / L. Ferry, P. Mermillod, A. Massip, F. Dessy // [Theriogenology](#). — 1994. — V. 42(3). — P. 445–453.
6. Shehab-El-Deen M.A. Cryotolerance of bovine blastocysts is affected by oocyte maturation in media containing palmitic or stearic acid / M. A. Shehab-El-Deen, J. L. Leroy, D. Maes, A. Van Soom // [Reprod. Domest. Anim.](#) — 2009. № 44(1). — P. 140–142.
7. Stachecki J. J. A new safe, simple and successful vitrification method for bovine and human blastocysts / J. J. Stachecki, J. Garrisi, S. Sabino, J. P. Caetano, K. E. Wiemer, J. Cohen // [Reprod. Biomed. Online](#). — 2008. — N 17(3). — P. 360–367.
8. Yokota Y. Birth of a healthy baby following vitrification of human blastocysts / Y. Yokota, S. Sato, M. Yokota, H. Yokota, Y. Araki // [Fertil Steril](#). — 2001. — V. 75(5). — P. 1027–1029.
9. Петрушко М. П. Использование криоконсервированных эмбрионов человека во вспомогательных репродуктивных технологиях / М. П. Петрушко // Проблемы криобиологии. — 2000. — № 1. — С. 71–75.

Summary

M. Sharan, S. Shalowylo, H. Grymak

EMBRYO VIABILITY DEPENDING ON THE QUALITY AND STAGE OF THEIR DEVELOPMENT AT THE SUPERFAST TO FREEZING

The data on the impact of quality and stage of embryos on their viability after thawing and implantation after transplantation heifer-recipients. Established that the use of compact morula and early blastocyst of excellent and good quality ensures the highest rates of viability (85,7-89,5%) and implantation in heifers-recipients (55,5-80,0%).

Стаття надійшла до редакції 17.09.2010

УДК 577.1:619:615.3

Шемедюк Н.П., аспірант, **Буцяк В.І.,** проф. д. с.-г. н[©]

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З.Гжицького

**ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ЕКСПРЕС-АНАЛІЗУ ХАРАКТЕРУ
БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ РОСЛИННОГО ПРЕПАРАТУ З *SOPHORA JAPONICA***

Механізми, що забезпечують інгібування проліферації клітин, мало доступні для вивчення *in vivo*. Тому, за звичай, у таких дослідженнях використовують культивування клітин за дії досліджуваної речовини. Створено тест-систему для експрес-аналізу характеру біологічної дії рослинного препарату з *Sophora japonica*. Отримано порівняльні результати впливу біологічно активного комплексу рослинного походження щодо ліній клітин з різним рівнем експресії трансформованого фенотипу.

Ключові слова: клітинні культури, *Sophora japonica*, біологічно активні речовини, проліферація.

Дослідження інгібування проліферації пухлинних клітин – одне з важливих завдань нашої роботи. Актуальність проблеми зростає з розповсюдженням захворювань, спричинених неконтрольованим поділом клітин (пухлини). Оцінка проліферативної активності необхідна не тільки для біологічної характеристики пухлин, але і для прогнозування перебігу хвороби. Часто прогностичні фактори є вирішальними для кінцевого результату захворювання і важливішими за терапевтичний ефект [1].

Метою роботи є розробка ефективної та доступної у застосуванні біотехнологічної моделі для з'ясування порівняльної оцінки впливу екстракту *Sophora japonica* щодо ліній клітин з різним рівнем експресії трансформованого фенотипу.

Клітинна лінія *BALB 3T3* отримана при тривалій експлантації клітин ембріонів мишей, ріст фібробластоподібного типу, псевдонормальна. У дослідженнях використовується як аналог нормальної клітини [2]. Грінбергом в 1978 році була доведена можливість екстраполяції даних, отриманих *in vitro* на культивованих фіброблестах, на умови *in vivo*. Яскравою відмінністю неопластичних клітин є «асоціальний» тип поведінки, зв'язаний у першу чергу з порушенням нормальних морфогенетичних реакцій – втрата контактного гальмування, поява здатності до проліферації незалежно від прикріплення до субстрату, зміна адгезійних взаємодій, форми, рухливості клітин [3]. *MDA-MB-231* – клітини аденокарциноми молочної залози людини, отримані у 1973 р. лікарем Р. Calleau від 51 річної жінки. Клітини веретеноподібної форми, епітеліоцити. *4T1* - клітини пухлини молочної залози миші. Клітинна лінія

отримана Б. Пуласкі із пухлини молочної залози (аденокарциноми) миші, епітеліального походження [4].

Лікарські властивості софори японської (*Sophora japonica*): бактерицидні – зумовлені наявністю фітонцидів, сесквітерпенів, тощо [5]; протипухлинні – алкалоїдом софокаргин, лектинами насіння [6]. У квітках софори виявлено 17,5% рутину. За А.А. Гроссгеймом у плодах софори у період їх дозрівання міститься 8 флавоноїдів: рутин, кемпферол-3-софорозид, кверцетин-3-рутинозид, геністеїн-2-софоробіозид, тощо [7].

Матеріали і методи

Для досягнення поставленої мети вирішували завдання: оцінити цитотоксичну/цитостатичну дію етанольного екстракту. Для приготування екстракту софори японської (*Sophora japonica*), використано етиловий спирт. Використовували екстракт у дозах 10 мкл/мл, 1 мкл/мл та 0,1 мкл/мл середовища через 24 год. після висіву клітин. Контролем слугувала інтактна культура клітин. Також до уваги брались контролю з внесенням спирту (70%) 10 мкл/мл, 1 мкл/мл та 0,1 мкл/мл середовища, контроль з внесенням фізіологічного розчину – 10 мкл/мл середовища.

Клітини ліній *MDA-MB-231* та *4T1* були отримані з Клітинного банку ліній клітин Вроцлавського природничого університету (Польща). Клітини лінії *BALB 3T3* отримані з *Клітинного банку ліній тканин людини і тварин* Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України (Київ).

Клітини культивували у флаконах (20 см²) у середовищі Дульбекко в модифікації Ігла (DMEM, Sigma Chem. Co., США) з додаванням 10% сироватки крові плодів великої рогатої худоби (BPX, Sigma Chem. Co., США) та 500 одиниць/мл гентаміцину (Sigma, США) при 37°C в атмосфері 5% CO₂ при 100% вологості. Пересів клітин здійснювали у співвідношенні 1 : 3 – 1 : 5 через кожні 2 – 3 дні. Для дослідів клітини висівали у (96- лункові) планшети (Sarstedt, США) в кількості 5x10⁵ клітин на лунку. Результати впливу екстрактів на культуру клітин оцінювали на 24, 48, 72 годину та на 14 день культивування. Для оцінки життєздатності клітин проводили забарвлення трипановим синім (ТС). За цих умов живі клітини відрізнялися від мертвих (некротичних) тим, що непоглинали барвник.

Одне з завдань – дослідити вплив екстрактів з *Sophora japonica* на прояв апоптозу. Апоптичні клітини виявляли за характерною фрагментацією ДНК, яку виділяли і розділяли методом електрофорезу в 1% агарозному гелі (Кудрявцев и др., 1996).

Проводилось дослідження вмісту біологічно активних речовин у екстракті з *Sophora japonica* методом мас-спектрометрії.

Дослід проводився у трьох паралелях. Результати опрацьовано за критерієм t-Стюдента.

Результати та обговорення

За умов мацерації етиловим спиртом у отриманий екстракт переходять глікозиди, флавоноїди, сапоніни, частково алкалоїди.

За даними літератури [5, 6, 7] лікарська рослина, яку використано для одержання екстракту містить значну кількість біологічно активних речовин, яким властива антиоксидантна дія. Згідно з сучасними уявленнями, вільнорадикальні процеси і регуляція їх рівня відіграють суттєву роль за умов канцерогенезу і злоякісного росту.

За даними мас-спектрометрії в екстракті софори японської ідентифіковано піки найближчих за структурою до перелічених у табл.1 речовин.

Таблиця 1.

Біологічно активні речовини ідентифіковані у екстракті з *Sophora japonica*

Ідентифікована речовина	Час ідентифікації (хв)	Площа піку (%)	Ймовірність ідентифікації (%)
2-фуранметанол	2,735	0,803	74
сорбітол	11,719	1,33	64
гліцерол	4,019	2,439	78
манітол	11,719	1,33	86
ксилітол	11,672	0,81	59
гептанова кислота	9,596	0,485	50
2-гідрокси-2-циклопентен-1-он	3,579	0,957	80
пропілвалерат	8,128	0,78	32
етилформіат	8,336	0,3	38
2,3-дигідроксипропаналь	7,296	1,02	32
дигідроксиацетон	3,199	12,981	78
β-метил-D-рибопіранозид	10,548	4,84	43
α-метил-D-глюкопіранозид	10,150	1,4	45
α-метил-L-галактопіранозид	10,150	1,4	72
D-манногептулоза	9,596	0,485	43
α-D-глюкопіраноза	10,822	1,07	80
D-гліцери-D-галактогептоза	10,822	1,07	80
D-ксилулоза	10,738	2,00	27
вернін	9,091	0,60	64
тіофен	11,041	22,25	50
цитозин	9,091	0,60	53
карваніл	6,565	0,267	42
тіазол	6,873	0,89	74
гама-амінобутиролактан	6,873	0,89	64
лактон G	8,841	1,005	64
D-рибонолактон	6,873	0,89	56
2,3-дигідро-3,5-дигідрокси-6-метил-4H-піран-4-он	6,135	13,364	70

Присутність сесквітерпенових лактонів, похідних пірролідину, речовин, що входять до складу ефірних олій може підтверджувати протипухлинну здатність екстракту софори японської. У екстракті софори японської ідентифіковані речовини антиоксиданти, антисептики, вазодилатори, осмотичні діуретики, карваніл розслаблює гладкі м'язи серця. Крім того, альдегіди володіють протизапальними, заспокійливими, седативними і антивірусними

властивостями, спирти – антисептичними і противірусними властивостями, феноли, терпени – бактерицидними. Кетони – це клас хімічних сполук, які володіють ранозагоювальними властивостями і полегшують виділення слизу. Сесквітерпени володіють протизапальними, седативними і противірусними властивостями, а також проявляють бактериостатичний і імуностимулюючий ефект. Ефірам властива протигрибкова дія. Лактони - це група складних ефірів, що мають додаткове вуглецеве кільце. Вони належать до наймогутніших протизапальних сполук.

Створюється певний комплекс сполук, у якому існують антагоністичні та синергістичні взаємодії. Внаслідок втрати одного з компонентів, діючі речовини можуть набути відмінних, можливо, небажаних властивостей.

Проведені дослідження *in vitro* свідчать про цитостатичну дію екстракту софори японської щодо пухлинних клітин. Негативна дія екстракту софори японської характеризується значним зменшенням кількості клітин *MDA-MB-231*, *4T1* відносно контрольних зразків за дії дози 10 мкл/мл середовища. Так, на 24 год. кількість клітин *MDA-MB-231* за дії препарату софори японської 3333 ± 833 (всі трипаннегативні) на 1 мл середовища. Приріст кількості клітин *MDA-MB-231*, *4T1* за дії препарату софори японської є невисоким і залишається майже незмінним упродовж 72 год. (рис. 1, 2, 3). Некротичні процеси не спостерігаються. Істотне інгібування проліферативної активності *BALB 3T3* за дії препарату софори японської, на 24 год. кількість трипаннегативних клітин *BALB 3T3* – 2500 ± 1040 на 1 мл середовища відповідно, на 72 добу - 5000 ± 1443 на 1 мл середовища, що у 3,3 рази менше кількості клітин у контролі (рис. 1, 2, 3).

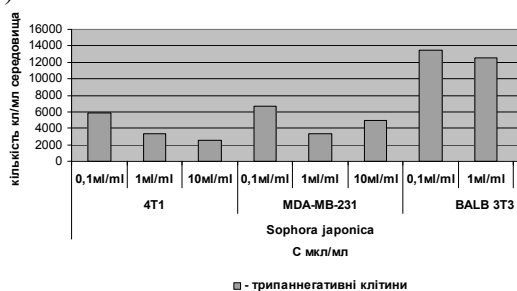


Рис. 1. Кількість клітин у середовищі на 72 год. культивування за дії на досліджувані популяції екстракту *Sophora japonica*

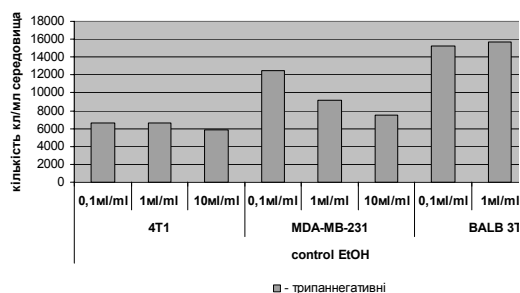


Рис. 2. Кількість клітин у середовищі на 72 год. культивування за дії на досліджувані популяції етилового спирту (70%)

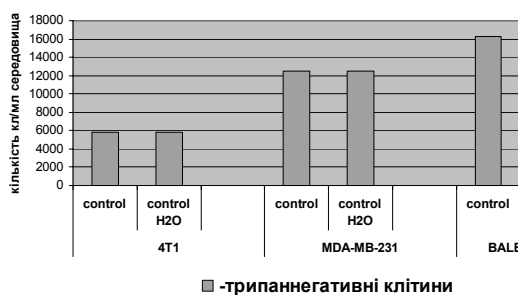
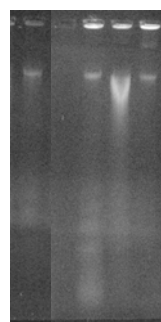


Рис. 3. Кількість клітин інтактних культур на 72 год. культивування



1 2 3 4

Рис. 4. Розділення фрагментів ядерної ДНК клітин лінії 4T1.
1 – *Sophora japonica* 2 – proapoptotik control
3 – pronecrotik control 4 – alive control
Розділення проводили у 1%- му агарозному гелі з додаванням броміду етидію.

Екстракт софори японської, за дози 1 мкл/мл середовища характеризується антипроліферативним впливом (кількість клітин 3333 ± 833 на 1 мл середовища на 72 год.) щодо *MDA-MB-231*, деструктивні зміни клітин відсутні, до 14 доби небагаточисельна популяція за дії софори японської гине. Істотно зменшує проліферативну здатність клітин 4T1 препарат софори японської: на 48 год. кількість клітин 5833 ± 833 на 1 мл середовища, що відповідає такому у контрольних зразках, та з 72 год. клітинна лінія 4T1 за дії даної дози екстракту софори японської поступово відмирає, на 168 год. культивування кількість клітин у 12,0 разів менша порівняно з такою у контролі (рис. 1, 2, 3), трипанпозитивних клітин не виявлено. Проліферативна активність та життєздатність клітин *BALB 3T3* за дії дози препарату софори японської 1 мкл/мл середовища подібна до такої у контролях.

За дії дози 0,1 мкл/мл середовища екстракту софори японської спостерігаємо низький приріст кількості клітин у культурі *MDA-MB-231* порівняно з контролем. На 72 год. культивування у цих зразках налічуємо на 67% клітин менше порівняно з кількістю клітин у контролі. Деструктивних змін клітин не спостерігаємо. За дії екстракту у дозі 0,1 мкл/мл середовища негативного впливу щодо клітин 4T1, *BALB 3T3* не досліджено.

Таким чином, в умовах *in vitro* показано здатність екстракту софори японської гальмувати проліферативну активність пухлинних клітин. Вплив препарату з софори японської є цитостатичного характеру за даних умов. Найбільш чутливою до дії досліджуваного препарату є лінія клітин *MDA-MB-231*, менш чутливою – *BALB 3T3*. Це розкриває нові можливості щодо застосування софори японської як антиоксидантного, протипухлинного засобу з вибірковою дією.

Апоптичні клітини за дії досліджуваних біологічно АКТИВНИХ речовин виявляли за характерною фрагментацією ДНК, яку виділяли і розділяли методом електрофорезу в 1% агарозному гелі (рис. 4).

Результати електрофореграми свідчать про виявлення фрагментації ДНК, а отже, загибель за механізмом апоптозу клітин лінії 4T1, що культивувались у присутності *Sophora japonica*. При цьому значна частина ДНК знаходиться у низькомолекулярній формі. У контролі (культивування без екстрактів) ДНК нефрагментована.

Механізми протипухлинної дії флавоноїдів включають модуляцію сигнальних шляхів, залучених до регуляції проліферації пухлинних клітин, індукцію апоптозу або диференціювання клітин, а також інгібування ангиогенезу та подолання лікарської резистентності. За рахунок існування семіхінонних, хінонних форм, поліфенольні сполуки (флавоноїди) здатні нейтралізувати вільні радикали, переривати ланцюг реакцій їх утворення у пухлинній клітині, тим самим пригнічуючи процеси росту і розмноження. Також вони блокують тканинні дихальні ферменти (особливо тих, які містять тіолові групи), вступаючи у відносно міцний зв'язок з центрами ферментів. Алкалоїди діють як нуклеофільний та електрофільний агент одночасно, здатні порушувати синтез АТФ у мітохондріях завдяки нейтралізуванню негативних зарядів зовнішньої сторони мембран мітохондрій, що виникають при їх енергізації, модифікувати тіолові групи органічних сполук завдяки реакції нуклеофільного заміщення при взаємодії тіолових груп органічних речовин з імінною групою. Алкалоїди – особлива група комплексоутворюючих сполук – мітозні отрути. Вони призупиняють поділ клітин шляхом руйнування мітотичного веретена. За механізмом електрофільних взаємодій діють сесквітерпенові лактони, сапоніни [8, 9, 10, 11].

Висновок

1. Екстракт з *Sophora japonica* спричиняє інгібування росту пухлинних клітин, але не виявляє пошкоджуючої дії на ріст і життєздатність даморталізованих фібробластів *BALB 3T3* за дози 0,1-1 мкл/мл середовища, які відібрано для дослідження як прототип нормальних клітин. Таким чином, створений тандем (пухлинні клітини – клітини з низьким рівнем експресії трансформованого фенотипу) дає можливість дослідити, виявити вибірковість дії біологічно активних речовин щодо клітин з різним рівнем експресії трансформованого фенотипу.

2. Досліджуваний екстракт володіє цитостатичною, проапоптичною активністю *in vitro* щодо ліній клітин *MDA-MB-231*, 4T1. Результат обумовлений властивостями екстракту софори японської, роллю біологічно активних речовин, що входять до складу препарату, яку вони здійснюють у метаболізмі клітин.

Література

1. Пожарисский К.М., Леенман Е.Е. // Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний // Арх. пат. – 2000, – № 5, – С. 3-11.

2. Earle W.R. Cell L 929 // J. Nat. Cancer Inst. – 1943. – Vol.4. – P.165
3. Васильев Ю.М. Социальное поведение нормальных клеток и антисоциальное поведение опухолевых клеток. 1. Сигнальные молекулы, вызывающие размножение и гибель клеток. // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – №4. – С. 17 - 22.
4. Pulaski BA, et al. Cooperativity of Staphylococcal aureus enterotoxin B superantigen, major histocompatibility complex class II, and CD80 for immunotherapy of advanced spontaneous metastases in a clinically relevant postoperative mouse breast cancer model // Cancer Res. – 2000. – Vol.60. – P.2710-2715.
5. Саїлова Д.Д. Дослідження і комплексне використання софори японської: Автореф. Дис....канд. технічних н. 15.00.01- технологія ліків. Харків – 1996.
6. Антонюк В.О. Лектини та їх сировинні джерела. – Львів: ПП. «Кварт», – 2005. – 554с.
7. Лікарські рослини / під. ред. Гродзинського А.М. [Енциклопедичний довідник] – Київ: в-тво «Українська енциклопедія» ім. М.П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп» – 1992. – 543с.
8. Рибалко К.С. Природные сесквитерпеновые лактоны. – М.: «Медицина», 1978. – 320с.
9. Горяев М.И. Растения, обладающие противоопухолевой активностью/ Горяев М.И., Шарикова Ф.С. – Алма-Ата: Наука, 1983. – 174с.
10. Балицкий К.П. Растительные растения и рак. / Балицкий К.П., Воронцова А.Л. – Киев: Наукова думка, 1982. – 376с.
11. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека / Вилен Абрамович Барабой. – М.: Наука, 1984. – 160с.

Summary

p.-g. st. N.Shemediuk, prof. V.I. Butsyak

TEST SYSTEM FOR EXPRESS-ANALYSIS OF THE BIOLOGICAL EFFECT HERBAL MEDICINES WITH *SOPHORA JAPONICA*

Mechanisms to ensure inhibition of cell proliferation, was available for study in vivo. So, usually, in these studies using cell cultivation for the actions of the studied compounds. A test system for express-analysis of biological nature of plant medicine from Sophora japonica. Try the comparative results of the influence of biologically active herbal complex on the cell lines with different levels of expression of a transformed phenotype.

Key words: cell cultures, *Sophora japonica*, biologically active substances, proliferation.

Стаття надійшла до редакції 3.09.2010

УДК С19:611-018.65:636.597

Ших Ю.С., кандидат біологічних наук, професор ©**Чолач Я.Б.**, аспірантка**Мисів О.В.**, кандидат ветеринарних наук, доцент**Федик Ю.Я.**, кандидат ветеринарних наук, доцент¹ **Щебентовська О.М.**, кандидат ветеринарних наук, науковий співробітник*Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С.З. Гжицького*¹*Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних
препаратів та кормових добавок*

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН У ДЕЯКИХ ОРГАНАХ ІМУННОЇ СИСТЕМИ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП ГУСЕЙ ЗА ВПЛИВУ ДОВГОТРИВАЛОЇ ДІЇ МАЛИХ ДОЗ РАДІАЦІЇ

Аварія на ЧАЕС породила низку фундаментальних і прикладних радіобіологічних проблем. Серед них найактуальніша і найменш вивчена — проблема тривалої дії радіації у діапазоні так званих “малих доз”. У статті представлені морфологічні зміни та морфометрична оцінка тимуса і фабрицієвої бурси гусей, які утримувались у зонах постійного радіоактивного забруднення. Визначені основні показники крові різних вікових груп. Встановлено, що опромінення малими дозами іонізуючого випромінювання спричиняє істотні структурні ушкодження клітин імунної систем та значні зміни у клітинному складі крові.

Ключові слова: *тимус, фабрицієва Bursa, гуси, малі дози радіації.*

Вступ. Вплив іонізуючої радіації на живі організми вивчений, безперечно, досить добре. Серед детермінованих наслідків опромінення ссавців достатньо дослідженою є променева хвороба, яка виникає здебільшого внаслідок комплексного радіаційного ураження організму великими дозами. Водночас далеко не всі можливі наслідки опромінення вивчені настільки ретельно, щоб стати класичними. Особливо це стосується тривалої дії радіації у діапазоні так званих “малих доз”, межі яких досі чітко не окреслені і не мають загальноприйнятого науково обґрунтованого визначення. Виходячи з реалій, що склалися на радіаційно забруднених населених територіях, найбільш недослідженим є діапазон доз, який умовно називатимемо діапазоном малих доз.

На сьогоднішній день, в експериментах на лабораторних тваринах, детально вивчено вплив різних методів опромінення. Результати таких досліджень, як правило, часто приводили до отримання неоднозначних результатів. Поряд з тим, проводились дослідження впливу малих доз радіації на організм тварин у природних умовах. Великий арсенал досліджень, присвячений впливу малих доз радіації на організм сільськогосподарських

тварин провели такі вчені, як В.А. Бара бой, И.Б. Токин, В.А. Борисова, Т.Е. Ивановская, М.І. Жила, Ю.С. Стронський та інші. Отримані результати доказали, що критичними (радіочутливими) органами по відношенню до дії іонізуючого випромінювання є органи імунної системи.

Радіогенна реакція імунної системи виявляється як у ранні, так і віддалені терміни після опромінення, має характерну динаміку і залежить від величини дозового навантаження. Найбільш радіочутливою є лімфоїдна тканина. Передусім зміни відбуваються у супресорній та хелперній ланках Т імунної регуляції. Більш резистентна — гуморальна ланка імунітету. Вплив малих доз радіації, що формуються сукупністю радіонуклідів чорнобильського викиду, питання віддалених наслідків опромінення ссавців залишаються дискусивними. Саме тому ключовим завданням наших досліджень було визначення особливостей реакції імунної системи (у тимусі та фабрицієвій бурсі) за умов різних дозових навантажень, з'ясування динаміки імунологічних показників у гусей.

Матеріал і методи. Досліди проводили на 24-добових ембріонах, 1-10 денних та 1 місячних гусях, що вирощувались у господарствах Дубровицького району Рівненської області (районна інкубаторна станція с. Берестя, с.Залужжя), де рівень радіації становив 20-25 мкР/год. (II група) та дослідному господарстві НДІ сільськогосподарської радіології “Поліське” – тридцяти кілометрова Чорнобильська зона, де рівень радіації сягав 70-75 мкР/год (III група). Контрольні гуси (I група) вирощувались в умовно чистій зоні (Мостиська інкубаторна станція, Львівська обл., с. Оброшино), в якій рівень радіації складав 7-8 мкР/год. Для гістологічного дослідження відбирали тимус, фабрицієву бурсу (ФБ), які фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну, заливали у парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином за загальноприйнятою методикою. З гематологічних досліджень проводили визначення кількості еритроцитів і лейкоцитів шляхом підрахунку у камері сітки Горєва. Мазки фарбували за методом Май-Грюнвальда. Світлову мікроскопію та мікрофотографування гістопрепаратів здійснювали за допомогою мікроскопа OLYMPUS CX 41 та фотокамери OLYMPUS C – 5050. Морфометрію фабрицієвої бурси на тканинному рівні проводили з використанням морфометричної програми DP-SOFT для мікроскопа OLYMPUS CX 41.

Результати дослідження. Перед тим як проводити морфологічні та морфометричні дослідження органів імунної системи гусей різних вікових груп, визначали основні показники крові як дослідних, так і контрольних груп.

У 24 добових ембріонів гусей, які знаходились в умовах підвищеного радіаційного фону, спостерігали вірогідне підвищення загальної кількості лейкоцитів на 83,8 % ($p < 0,001$), переважно за рахунок сегментоядерних еозинофілів, кількість яких зросла в 1,8 раз. Відзначали також зниження кількості моноцитів, відповідно на 42,8 % ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем. Аналізуючи морфологічний склад крові 1-10 денних гусей найбільш суттєві зміни спостерігали у кількісному складі різних видів лейкоцитарного ряду, а

саме – вірогідне збільшення сегментоядерних псевдоеозинофілів у 9,5 разів, зменшення кількості лімфоцитів, відповідно на 47,2 % ($p < 0,01$) відносно контролю (табл. 1). Найбільш виражені морфологічні зміни відмічали у гусей 1 місячного віку, які проявлялись вірогідним збільшенням кількості базофілів у 2,9 разів, еозинофілів у 1,8 разів, сегментоядерних псевдоеозинофілів у 1,7 разів. На фоні незначного збільшення кількості лейкоцитів спостерігали вірогідне зменшення загальної кількості лімфоцитів, відповідно на 71,2 % у порівнянні з контрольною групою (табл. 1). Отже, найчутливішими до дії постійного іонізуючого випромінювання в системі імунітету виявились лімфоцити. Кількість лімфоцитів – одна із суттєвих діагностичних ознак опромінення організму, тому можна висловити припущення, що явище лімфопенії є наслідком несприятливого впливу радіації, відповідно чим вища доза радіації, тим швидше знижується кількість лімфоцитів, що мало місце у досліджуваних нами тваринах. Збільшення радіаційного навантаження на організм призводить до зростання швидкості виникнення імунологічних порушень та динаміки їхнього розвитку. При цьому визначальним фактором стає не тільки величина дози, а тривалість експозиції.

Таблиця 1

Гематологічні показники крові гусей різних вікових груп за впливу низьких доз радіаційного опромінення, $M \pm m$, $n=5$

Показники	24 добовий ембріон		1-10 денні гуси		1 місячні гуси	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Еритроцити, Т/л	2,0±0,8	2,4±0,2	1,84±0,2	1,7±0,05	3,0±0,1	2,64±0,1
Лейкоцити, Г/л	18,6±0,8	34,2±2,0***	18,38±2,6	20,76±0,6	26,6±2,8	29,0±1,8
Базофіли, %	0,4±0,4	0	0,2±0,02	0,2±0,02	1,10±0,5	3,2±0,6*
Еозинофіли, %	3,2±0,7	2,0±0,8	2,0±0,4	1,4±0,6	3,0±1,3	5,4±1,5*
Паличкоядерні псевдоеозинофіли, %	2,6±1,9	0,6±0,2	1,4±0,4	2,4±1,2	0	0,2±0,02
Сегментоядерні псевдоеозинофіли, %	23,0±10,6	42,4±5,4**	4,8±1,6	45,8±4,09** *	25,4±2,4	43,5±3,5 **
Лімфоцити, %	66,6±12,2	53,6±5,6	88,4±2,9	46,6±4,2**	65,6±4,1	44,8±2,8*
Моноцити, %	4,2±1,15	2,4±0,6*	3,2±0,9	4,0±0,8	4,8±1,1	2,8±0,6*

Для опромінених тварин типовою є еозинофілія, яку ми відзначали вже у 1 місячних гусей. Слід зазначити, що збільшення числа гранулоцитів, які диференціюються за еозинофільним типом, очевидно, свідчить про аутоімунний характер інтоксикації.

За дії іонізуючого випромінювання в малих дозах спостерігається чітка тенденція в зміні стану імунної системи, що проявляється у зменшенні чисельності й зниженні функції зрілих Т-лімфоцитів, ослабленні фагоцитарної функції відповідних клітин та пригніченні гормонотворної функції тимуса.

Гістологічно тимус контрольних гусей 24 добового ембріонального віку морфологічно сформований орган з чіткою диференціацією часточки на кіркову і мозкову речовини. Кіркова речовина густо заселена Т-лімфоцитами. Мозкова речовина світліша – характеризується помірною кількістю лімфоцитів у порівнянні з кірковою речовиною та наявністю невеликої кількості тимічних тілець – тілець Гассаля.

Тимус гусей-аналогів, які вирощувались в умовах підвищеного радіаційного опромінення дещо змінюється. Так, у гусей II групи часточки тимуса починали втрачати полігональність, кіркова речовина дещо витончувалась, у мозковій – збільшувалась кількість макрофагів та тимічних тілець Гассаля (рис. 1). У гусей 10 денного віку, вирощених в умовах III-ї радіаційної зони радіоактивного забруднення у кірковій речовині тимуса виявляли вогнещево спустошені ділянки як кіркової, так і мозкової речовин, розпад та фагоцитоз лімфоцитів, що нагадувало картину “зірчастого неба”. Поява надмірної кількості макрофагів у кірковій речовині пов’язана із збільшенням апоптозу Т-лімфоцитів, що є характерним для третьої фази акцидентальної інволюції.

Мікроскопічно у тимусі гусей 1 місячного віку як II, так і III дослідних груп кіркова речовина витончується, при цьому виникає “інверсія” картини дольок, проходить виділення лімфоцитів із мозкової речовини. Границі між кірковою і мозковою зонами стають непомітними (рис. 2). Кіркова речовина часточок тимуса виглядає атрофованою. В окремих випадках в часточках тимуса утворюються фолікулярні (залозисті) структури, заповнені колоїдною масою. Саме в цей період відзначаємо і набухання епітеліальних елементів строми тимуса (рис. 3), гіпертрофію їх ядер і ядерць, набухання ендотелію капілярів.

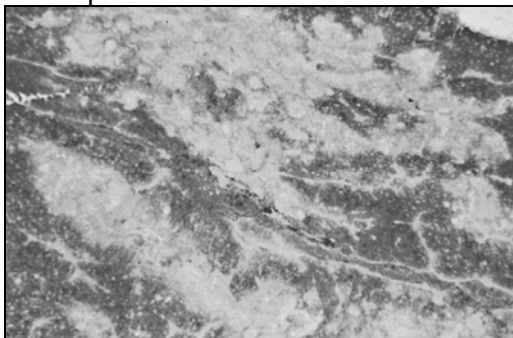


Рис. 1. Тимус гусенят 24 добового ембріона. II група. Звуження кіркової речовини, збільшення кількості макрофагів та тимічних тілець Гассаля у мозковій речовині. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 5

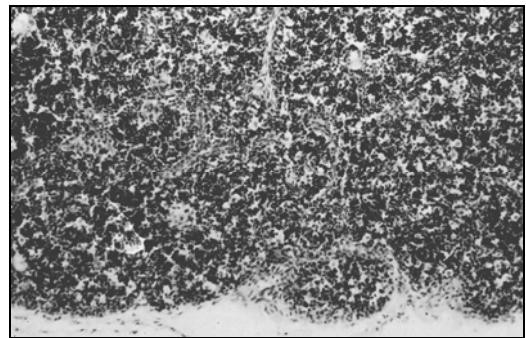


Рис. 2. Тимус гусенят 1місячного віку. III група. Інверсія шарів тимуса. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

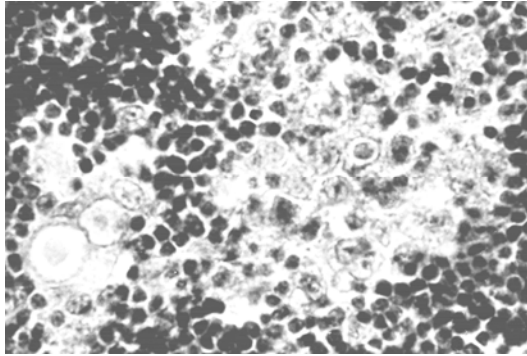


Рис. 3. Тимус гусенят 1 місячного віку.

Набухання епітеліоретикулоцитів, збільшення їх розмірів. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

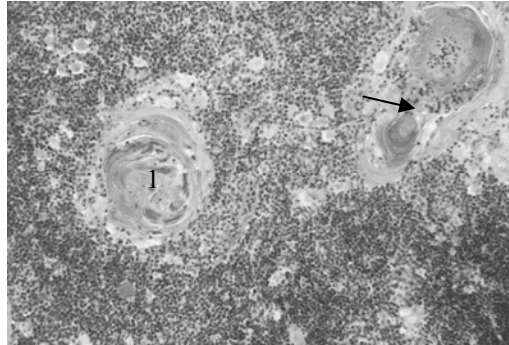


Рис. 4. Тимус гусенят 1 місячного віку. III група. Некроз центральної частина тільця Гассаля (1). Утворення місточків між крупними та дрібними утвореннями тимічних тілець. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 100

У тимусі гусей III групи спостерігали значне збільшення кількості тимічних тілець Гассаля заокругленої форми, з нечітко вираженими контурами та різним ступенем змін деструктивного характеру, які зливались у великі утворення. При цьому відбувалось нашаровування на них світлих епітеліальних клітин. Центральна частина тимічного тільця некротизується. По мірі утворення тимічні тілця зливаються між собою, одне крупне утворення включає в себе декілька дрібних, і між ними утворюються так звані місточки (рис. 4).

Таким чином, збільшення радіаційного навантаження на організм гусей спричиняє негативні зміни в імунній системі, які зумовлені порушенням диференціації клітин лімфоїдного ряду. Чутливими до малих доз радіації виявились Т-лімфоцити, хелперна функція яких, ймовірно, значно ослаблюється.

При гістологічному дослідженні фабрицієвої бурси 24 добових ембріонів гусей контрольної групи відзначали округлої форми, сформовані лімфоепітеліальні фолікули, які прилягали одні до одних. Кіркова речовина щільно заселена зрілими базофільними клітинами лімфоїдного ряду, мозкова - сформована епітеліальною тканиною. При проведенні морфометричних підрахунків встановлено, що кіркова речовина займала 42,6 %, мозкова 52,6 % об'єму лімфофолікула (рис. 5). На строму припадало 4,8 %. Діаметр фолікулів фабрицієвої бурси у середньому становив 95,4 мкм.

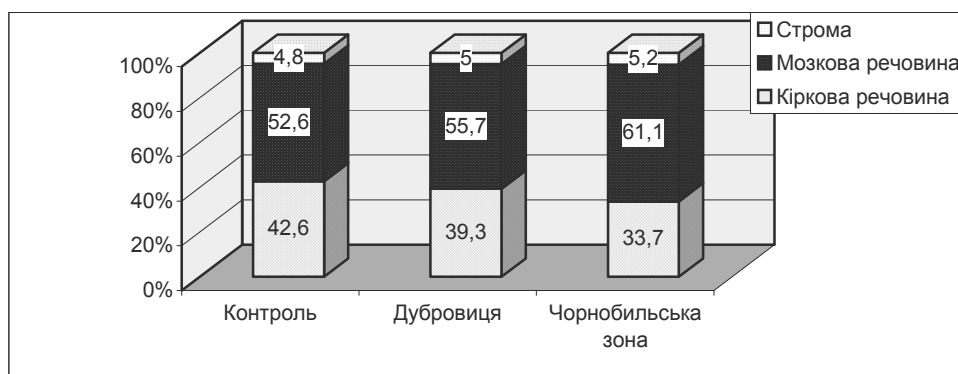


Рис. 5. Співвідношення основних гістоstruktur фабрицієвої бурси 24 добових ембріонів гусей за постійного впливу низьких доз радіаційного випромінювання (у %)

Морфологічно фабрицієва бурса 24 добових ембріонів гусей II і III груп дещо деформована, лімфоепітеліальні фолікули зменшені в об'ємі, ретикулярна тканина кіркової та мозкової речовин набухла. Міжфолікулярні прошарки дещо розширені. У гусей II та III групи кіркова речовина зменшувалась, в порівнянні з контролем, і займала, відповідно, 39,3 та 33,7 %, мозкова – 55,7 і 61,1 %, сполучнотканинна строма – 5 і 5,2 % (рис. 5).

Фабрицієва бурса контрольних гусей 1-10 добового віку побудована із сформованих фолікулів у яких клітинні елементи як кіркової, так і мозкової речовин розташовані компактно (рис. 6). Площа, яку займає кіркова речовина становить 45,3 %, мозкова – 50,4 %, сполучнотканинна строма – 4,3 % (рис. 7). На границі між кірковою та мозковою речовинами чітко проглядаються епітеліоцити кортико-медулярного бар'єру.

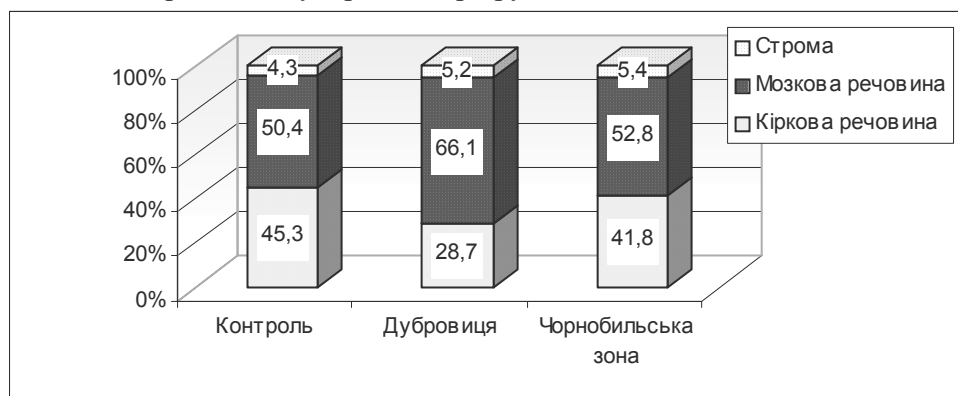


Рис. 7. Співвідношення основних гістоstruktur фабрицієвої бурси 1-10 денних гусей за постійного впливу низьких доз радіаційного випромінювання

У фабрицієвій бурсі гусей II групи відзначали незначне скупчення лімфоцитів у епітеліальній тканині мозкової речовини між яким проглядались ділянки з пустотами. Межі між кірковою та мозковою речовинами погано проглядаються (рис. 8). Кіркова речовина витончувалась. При проведенні морфометричних розрахунків встановлено, що середній діаметр лімфофолікулів зменшувався і становив 90,33 мкм, кіркова речовина займала 28,7 %, мозкова – 66,1 %, строма – 5,5 % у загальному об'ємі (рис. 7).

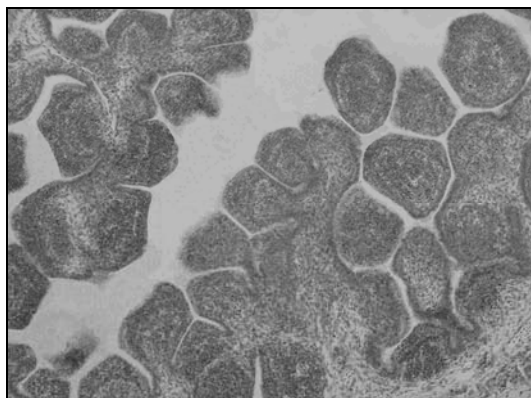


Рис. 6. Фабрицієва bursa 1-10 добових гусенят. Контрольна група. Лімфоепітеліальні фолікули із зрілими клітинами лімфоїдного ряду. Гематоксилін та еозин. Ок.10, об. 20

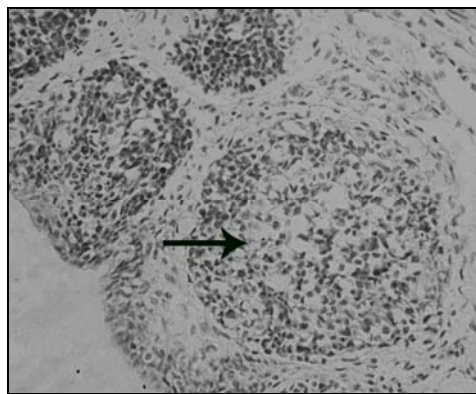


Рис. 8. Фабрицієва bursa 1-10 добових гусенят. II група. Ділянки спустошення фолікула. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

Морфометрично лімфофолікули фабрицієвої бурси гусей 1-10 денного віку, які утримувались в 30 км Чорнобильській зоні (III група) збільшувались в об'ємі у порівнянні з такими в контролі та становили 140 мкм, проте відбувалось повне спустошення мозкової речовини, яка представлена у вигляді ажурної сітки з ретикулярних клітин. Місцями проглядались поодинокі лімфоцити. Це свідчить про інтенсивний вихід В-лімфоцитів з мозкової зони. Кіркова речовина займала 41,8 %, мозкова 52,8 %, строма – 5,4 % від загальної площі лімфоепітеліальних фолікулів (рис. 7).

При гістологічному дослідженні фабрицієвої бурси гусей 1 місячного віку контрольної групи відзначали сформовані лімфоепітеліальні фолікули, полігональної форми з щільно заселеною лімфоцитами кірковою речовиною, вираженою кортико-медулярною зоною та малі лімфоцити, які розташовуються у мозковій речовині. У процесі розвитку та росту гусей діаметр лімфофолікулів збільшувався і становив 396,8 мкм. Кіркова речовина займала 32,2 %, мозкова – 64,5 %, сполучнотканинна строма – 3,3 % (рис. 9). Фабрицієва bursa гусей-аналогів, які вирощувались в умовах господарств з підвищеною радіацією, зазнавала помітних морфологічних змін. У гусей II групи лімфоепітеліальні фолікули деформувались, дещо видовжувались, в епітелії проглядались ділянки з дрібноміхурцевими утвореннями (рис. 10). Кіркова речовина займала 27,2 %

від загальної площі лімфоепітеліального фолікула. Густота заселення лімфоцитів кіркової речовини зменшувалась. Мозкова речовина широка, заселена малими і середніми лімфоцитами і займала 69,6 % (рис. 9). У гусей III групи, які вирощувались у тридцяти кілометровій Чорнобильській зоні, мікроскопічно спостерігали сильне розширення (77,8 %) у порівнянні з контролем і майже повне оголення епітеліальної тканини мозкової речовини, де проходять складні процеси диференціювання лімфоцитів. Виявляли ділянки з утворенням кист (рис. 11). Різне звуження кіркової речовини (18,8 %) свідчить про порушення утворення нових клітин, що призводить до виснаження органу.

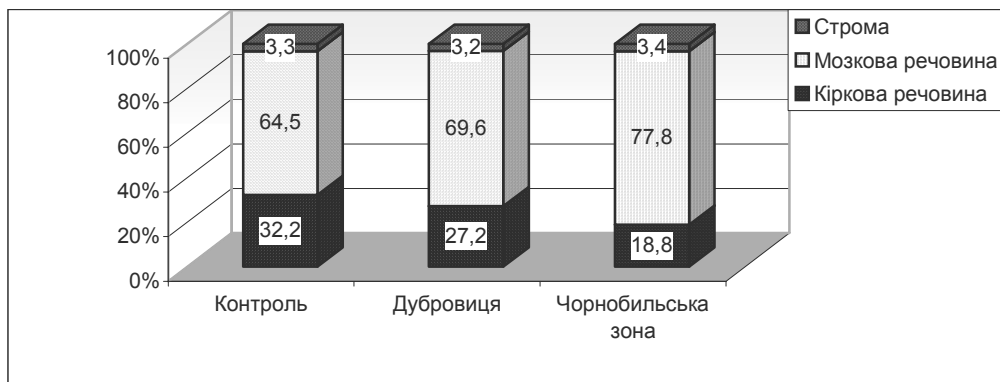


Рис. 9. Співвідношення основних гістоструктур Фабрицієвої бурси 1 місячних гусей за постійного впливу низьких доз радіаційного випромінювання

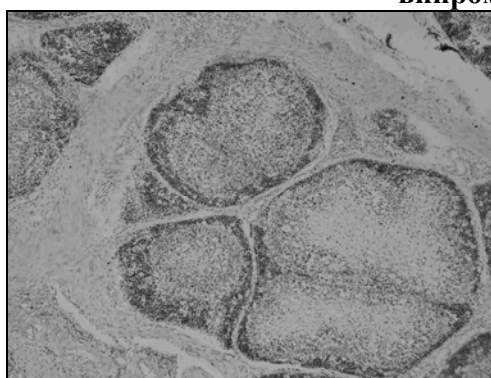


Рис. 10. Фабрицієва бурса гусенят 1 місячного віку. II група. Спустошення мозкової речовини. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

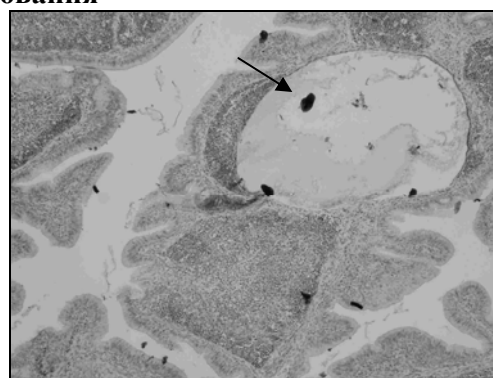


Рис. 11. Фабрицієва бурса гусенят 1 місячного віку. III група. Кистозні утворення у лімфоепітеліальних фолікулах. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

Відзначимо, що для остаточних висновків стосовно ступеня радіаційного забруднення довкілля в Україні після Чорнобильської катастрофи пройшов ще недостатній проміжок часу. З кожним роком фахівці-радіоекологи відкривають щоразу нові, ще страшніші екологічні наслідки іонізуючого випромінювання.

Як виявилось, людство безсиле перед екологічними катастрофами такого масштабу, і це стало жорстоким уроком для нього.

Висновки. Аналіз результатів наших досліджень вказує на те, що у гусенят які тривалий час зазнавали внутрішнього опромінення малими дозами зміни мали здебільшого неспецифічний характер. Зі збільшенням дози опромінення відзначали гіпопластичні процеси в органах імуногенезу, збільшення кількості клітин із патологічними ознаками. В досліджуваних нами гусей виявлена дестабілізація імунної системи, причому зі збільшенням дози зростають ризики незбалансованого порушення імунітету, що вказувало на розвиток імунodefіцитного стану.

У тимусі гусей різних вікових груп за впливу низьких доз постійного радіаційного випромінювання відмічали глибокі морфологічні зміни, які характеризувались масовим виділенням лімфоцитів, зниженням мітотичної активності, що призводило до значного спустошення органів імунної системи. Як свідчать результати досліджень постійна дія низьких рівнів радіації приводить до виникнення деструктивних змін у клітинних елементах фабрицієвої бурси, що проявлялась зменшенням лімфатичних вузликів у діаметрі, згладжуванням меж між кірковою та мозковою речовинами, утворенням стільникоподібних пустот та кист, що вказує на морфофункціональну перебудову органів імунної системи.

Література

1. Барабой В. А. Способность лимфоцитов периферической крови к репарации ДНК и выживаемость крыс / В.А. Барабой, Н.А. Никифорова, И.П. Москаленко // Радиобиология. — 1990. — № 3. — С. 305–307.
2. Бебешко В.Г. Медичні наслідки чорнобильської катастрофи / В.Г. Бебешко, Д.А. Базика, О.М. Коваленко // Радіаційна безпека в Україні (Бюлетень НКРЗУ). — 2001. — № 1–4. — С. 20–25.
3. Борисова В.А. Влияние радиации на состояние внутренних органов. — М., Медицина, 1989. — 127 с.
3. Гродзинський Д. М. Радіобіологія / Д. М. Гродзинський. — Київ: Либідь, 2009. — 448 с.
4. Ивановская Т. Е. Патология тимуса у детей / Т. Е. Ивановская, О. В. Зайратьянц, Л. В. Леонова. — Санкт-Петербург, Сотис, 1996. — 267 с.
5. Клименко В. И. Состояние кроветворной системы у лиц, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения, в динамике (1986–1993 гг.) / В. И. Клименко, И. С. Дягиль, Л. Н. Юхимчук [и др.] // Лікарська справа. — 1996. — № 7. — С. 41–46.
6. Кончаловский М. В. Дозные кривые нейтрофилов и лимфоцитов при общем относительно равномерном γ -облучении человека / М. В. Кончаловский, А. Е. Баранов, В. Ю. Соловьев // Радиационная медицина. — М.: Москва. — 1991. — № 1., Т. 36. — С. 29–33.
7. Медицинские последствия Чернобыльской аварии. Научный отчет Международной программы по медицинским последствиям Чернобыльской аварии (АЙФЕКА). — Всемирная Организация Здравоохранения. — Женева, 1995. — 196 с.
8. Москалев Ю. И. Отдаленные последствия ионизирующих излучений. — М.: Медицина, 1991. — 464 с.

9. Орадовская И.В. Анализ состояния здоровья и иммунного статуса лиц, принимавших участие в ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС / И.В. Орадовская, И.А. Лейко, М.А. Оприщенко // Международный журнал радиационной медицины. – 2001. – № 3–4. – С. 257.

10. Руднев М.И. Влияние низких доз радиации и других факторов окружающей среды на организм / М.И. Руднев, В.В. Варецкий, Н.Н. Береговская. — К.: Наукова думка, 1994. — 216 с.

11. Савцова З.Д. Зміни в імунній системі експериментальних тварин внаслідок постійного опромінення кількох поколінь в зоні відчуження ЧАЕС/ З.Д. Савцова, І.М. Восійкова, В.М. Індик // УРЖ. — 2000. — 8, №1. — С. 71—76.

12. Сепиашвили Р.И. Апоптоз в иммунологических процессах / Р.И. Сепиашвили, М.Г. Шубич, Н.В. Колесникова // Аллергология и иммунология. — 2000. — Т.1. — № 1. — С. 15–22.

13. Севанькаев А. В. Актуальные проблемы современной радиобиологии в свете оценки и прогнозирования последствий аварии на Чернобыльской АЭС / А. В. Севанькаев, А. Н. Деденков // Радиобиология. — Москва: “Наука”, 1990. — Т. 30, Вып. 5. — С. 579–581.

14. Стронський Ю.С. Морфологічні показники кісткового мозку та крові великої рогатої худоби, вирощеної на радіоактивно забрудненій території /Ю.С. Стронський // Наук. Вісн. Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. — 2001. — Т.3 (№2). — С. 163–167.

15. Токин И. Б. Проблемы радиационной цитологии / И. Б. Токин. — Ленинград: “Медицина”, 1974. — 318 с.

16. Урбанович П. П. Морфологічна характеристика органів імунної системи молодняка великої рогатої худоби, вирощеного на радіоактивно забрудненій території / П. П. Урбанович, М. І. Жила, Ю. С. Стронський // Вет. Мед. України. — 2002. — № 1. — С. 20-22.

17. Chumak A. Immune cells in Chernobyl radiation workers exposed to low-dose irradiation / A. Chumak, D. Bazyka, N. Byelyaeva et al. // Int J of Low Radiation. – 2003. – Vol.1. – №1. – P. 19-23.

18. Kovalev E.E. Estimation of Radiation Risk Based on Concept of Individual Variability of Radiosensitivity. Betesda: Armed Forces Radiobiol Res Institute. – 1996. – 201 p.

Summary

**Shikh Y.S., Cholach Ya.B., O. V. Mysiv, Yu.Ya. Fedyk, Shchebentovska O.M.
MORPHOGENESIS OF CHANGES OF SEPARATE ORGANS OF GEESE
IMMUNE SYSTEM OF DIFFERENT AGE GROUPS UNDER THE
CONDITIONS OF LONG-TERM RADIATION OF SMALL DOSES**

The article presents data about peculiarities of structural functional state thymus and cloacal bag of geese kept in zones of radioactive pollution. Histological researches established that low doses of radiation substantially influenced cells of the immune system, in contempt of their ripening and differentiation that, as a rule, results in braking functions of both central and peripheral organs of immune genesis.

Стаття надійшла до редакції 1.09.2010

УДК 577.1:599.322

Шкумбатюк О.Й., к.вет.н., ст.викладач,
Шкумбатюк Р.С., к.х.н., ст.викладач,*
Лозовицька Т.М., к.с.-г.н., ст.викладач,
Зубик С.В., к.т.н., ст.викладач. ©

Львівський національний аграрний університет
*Ужгородський національний університет**

ЕКТОТОКСИЧНИЙ ТРИВАЛИЙ ВПЛИВ КАДМІЮ НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ЩУРІВ

В роботі подані результати досліджень тривалого впливу іонів кадмію на гематологічні показники у щурів. Встановлено, що іони кадмію в дозі 1/20 DL₅₀ знижують прирости живої маси тварин, зумовлюють посилену еритроцитопенію, лейкопенію при збільшеному вмісті гемоглобіну в еритроцитах. Отримані результати розкривають механізми екотоксичного впливу кадмію на живі організми.

Ключові слова: щурі, кров, еритроцити, лейкоцити, гемоглобін, кадмій, токсикоз.

Вступ. Серед пріоритетних забруднювачів біосфери, що потребують постійного контролю у довкіллі, програмою глобального моніторингу ООН визнаний кадмій. У біогеохімічні цикли щорічно надходить 2×10^3 т кадмію. Україна у 3,0-6,5 рази переважає США та розвинуті країни Європи за техногенним хімічним навантаженням. Основним джерелом поступлення металу в організм є харчові продукти та питна вода. Рівні надходження кадмію цими шляхами складають 10-30 мкг/добу [4].

Метою наших досліджень було з'ясувати особливості функціонування захисних механізмів організму тварин за умов довготривалого кадмієвого токсикозу.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили на 12 щурах-самцях лінії Вістар, масою 200 – 220 г, з яких було сформовано дві групи тварин: 1 — контрольна група (вводили питну воду через металевий зонд в об'ємі, який еквівалентний об'єму водного розчину хлориду кадмію); 2 — дослідна група (вводили 0,029 % водний розчин хлориду кадмію в дозі 4,4 мг/кг). Тварин утримували на стандартному раціоні віварію. Щурів декапітували на 30 – тий день під легким ефірним наркозом відбирали кров для подальших досліджень.

Підрахунок кількості еритроцитів та лейкоцитів проводили у камері Горєва. Концентрацію гемоглобіну в крові визначали гемоглобін-ціанідним методом, концентрацію загального білка в сироватці крові визначали біуретовою реакцією [1]. Середній об'єм еритроцитів розраховували шляхом

© Шкумбатюк О.Й., Шкумбатюк Р.С., Лозовицька Т.М., Зубик С.В., 2010

ділення гематокритної величини на загальну кількість еритроцитів у крові [2]. Статистичну обробку результатів проводили за методикою, описаною Ойвіним І.А. [3]. Вірогідність розходжень між показниками оцінювали за критеріями Стьюдента.

Результати досліджень. За даними різних авторів, у тварин хронічний токсикоз діагностувати важко. Одним із ранніх симптомів отруєння важкими металами є відмова тварин від корму, пригнічення та зниження маси тіла.

У результаті проведених досліджень у групах тварин, яким внутрішлунково вводили розчин хлориду кадмію, відмічали тенденцію до зниження приростів маси тіла щурів (рис. 1).

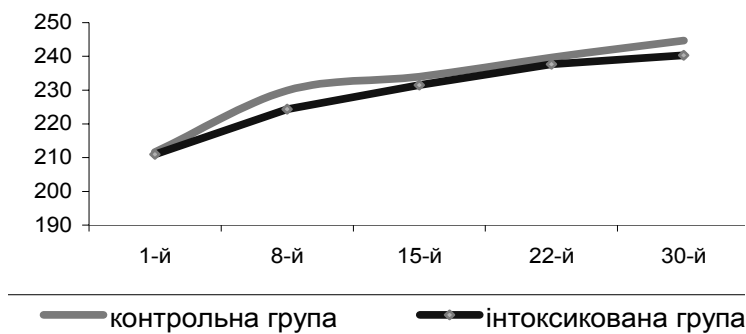


Рис. 1. Прирости маси тіла у щурів при тридцятидобовому кадмієвому токсикозі; 1 – контрольна група; 2 – група уражена кадмієм.

Зменшення приростів живої маси у щурів при дії іонів кадмію, супроводжувалися гіпо- та гіпертрофією внутрішніх органів, які характеризуються різною інтенсивністю метаболізму (табл. 1).

Таблиця 1

Коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів на 30-ту добу після внутрішлункового введення хлориду кадмію ($M \pm m, n = 6$)

Внутрішні органи	Група тварин	
	I	II
Серце	3,442±0,137	3,125±0,124
Легені	7,632±0,697	7,817±0,939
Нирки обидві	6,483±0,072	6,347±0,337
Селезінка	4,108±0,352	4,035±0,086
Печінка	29,024±1,973	30,267±0,873
Головний мозок	5,895±0,584	6,984±0,428

При введенні солей кадмію спостерігали збільшення вагового коефіцієнту легенів (на 2,4 %), селезінки (на 2,9 %), печінки (на 4,3 %), головного мозку (на 18,0 %) та зменшення маси таких органів як нирки та серце відносно контролю.

Важкі метали володіють тропністю до еритроцитів та спорідненістю до гемоглобіну. При потраплянні в організм до 90 % іонів кадмію локалізується в еритроцитах, а потім перерозподіляється у інших біологічних тканинах.

У групі ураженій кадмієм спостерігали достовірне зменшення кількості еритроцитів – на 25,7 % ($p < 0,001$) в порівнянні із контрольною групою (рис. 2).

Компенсаторна реакція організму на посилену еритроцитопенію сприяла збільшенню гемоглобіну в крові дослідних груп щурів на 5 %, проте статистично-достовірних змін в порівнянні із контрольною групою не було відмічено (рис. 3).

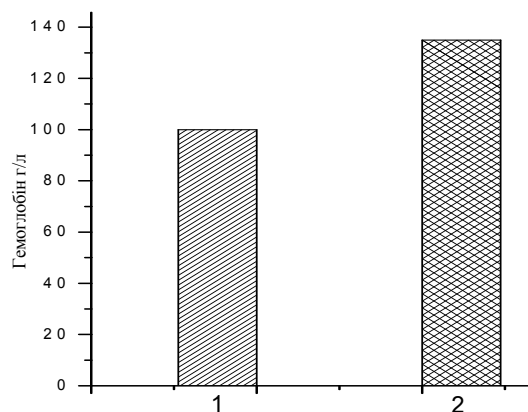
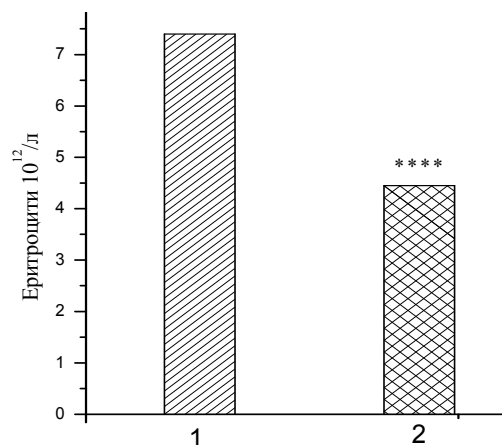


Рис. 2. Концентрація еритроцитів в крові тварин за хронічного кадмієвого токсикозу

Рис. 3. Концентрація гемоглобіну в крові тварин за хронічного кадмієвого токсикозу

Примітка. В цьому та наступних рисунках - 1 – контрольна група, 2 – інтоксикована кадмієм; * $p < 0,05$, ** $p < 0,025$, *** $p < 0,01$, **** $p < 0,001$.

Як бачимо з (рис. 4) гематокрит у тварин токсикованих іонами кадмію незначно змінювався, спостерігалась тенденція до зростання. Проте, достовірних змін не було відмічено.

Незначні зміни гематокриту при достовірному зменшенні кількості еритроцитів у крові уражених тварин кадмієм зумовлені збільшенням середнього об'єму еритроцитів та вмісту гемоглобіну в еритроциті.

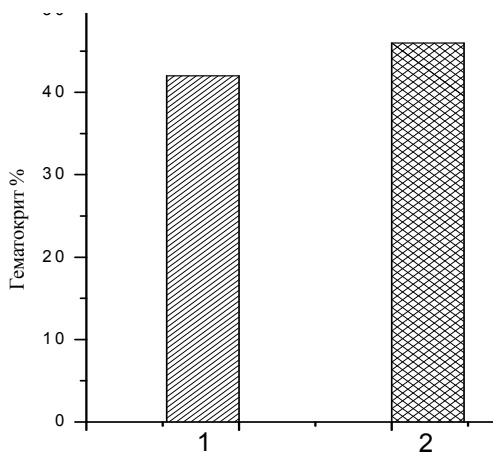


Рис. 4. Показники гематокриту у тварин на тридцять добу кадмієвого токсикозу

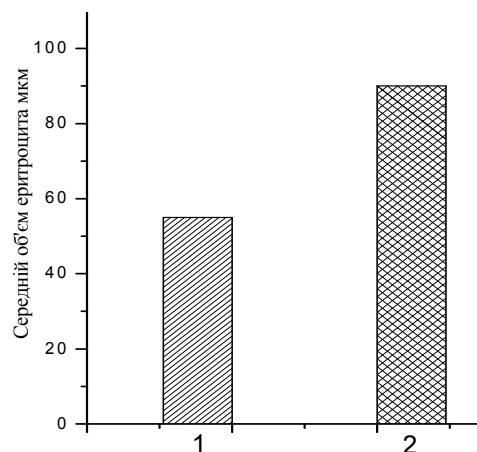


Рис. 5 Середній об'єм еритроцитів в крові тварин за хронічного кадмієвого токсикозу

Так середній об'єм еритроцита зріс на 38 %, а середній вміст гемоглобіну в еритроциті на 26 % (рис. 5-6).

Іони кадмію зумовлюють також зменшення кількості лейкоцитів у крові на 29,4 % (рис. 7), що свідчить про здатність іонів кадмію впливати на кровотворні органи.

Іони кадмію зумовлюють також зменшення кількості лейкоцитів у крові на 29,4 % (рис. 7), що свідчить про здатність іонів кадмію впливати на кровотворні органи.

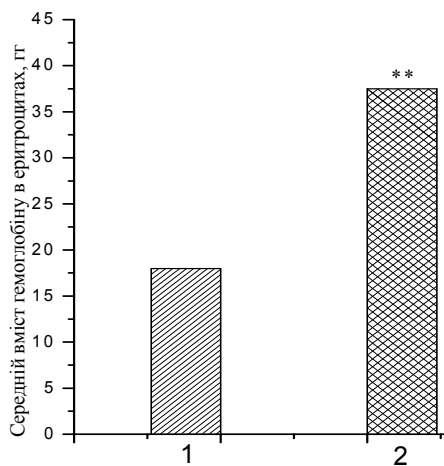


Рис. 6. Середній вміст гемоглобіну в еритроцитах тварин за хронічного кадмієвого токсикозу

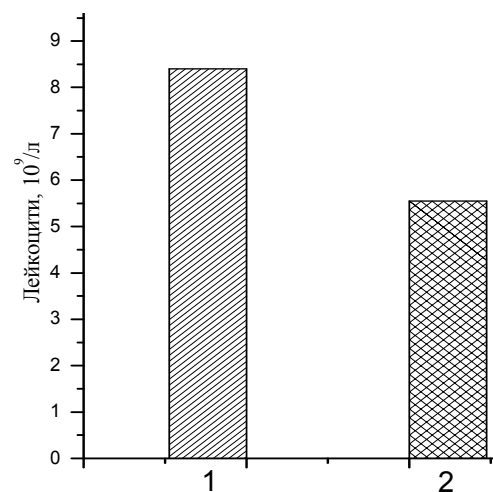


Рис. 7. Концентрація лейкоцитів в крові тварин за хронічного кадмієвого токсикозу

Висновки. 1. Тридцятидобовий кадмієвий токсикоз у щурів зменшує прирости маси тіла порівняно з інтактними тваринами.

2. Кадмієва інтоксикація тварин супроводжується збільшенням вагового коефіцієнту легенів (на 2,4 %), селезінки (на 2,9 %), печінки (на 4,3 %), головного мозку (на 18,0 %) та зменшення маси таких органів як нирки та серце відносно контролю.

3. У крові уражених кадмієм тварин спостерігали достовірне зменшення кількості еритроцитів – на 25,7 % ($p < 0,001$) та лейкоцитів на 29,4 % ($p < 0,025$) в порівнянні з контрольною групою.

4. Незначні зміни гематокриту при зменшенні кількості еритроцитів у крові уражених тварин кадмієм зумовлені збільшенням середнього об'єму еритроцитів на 38 % ($p < 0,001$) та вмісту гемоглобіну в еритроциті на 26 % ($p < 0,025$).

Література

1. Кондрахин И.П., Курилов Н.В., Малахов А.Г., и др. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии. - М.: Агропромиздат, 1985. -287 с.
2. Мельников В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. – М: Медицина, 1987. -365 с.
3. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патологическая физиология и экспериментальные исследования. Терапия. – 1960. - №4. – С. 76-79.
4. Шевчук Ю.Д., Шевчук С.М., Свідерко Б.Д. До питання екологічної ситуації при техногенному навантаженні в умовах Львівської області // Вісник аграрної науки. – 2001. - № 7. – С. 112-114. (4)
5. Mekail Ali, Chrascina Malgorzata. Effects of cervital on cadmium and lead indreced changes in the activity of eritrocyte superoxide dismutase, haemoglobin, value and metal oncentration in the blood // Veterinary Record.– 1998.– 112(13).– P. 343-349.

Summary

O.J. Shkumbatuk, R.S. Shkumbatuk*, T.M. Lozovytska, S. V. Zubyk

*Lviv National Agrarian University, *Uzhgorod National University*

HEMATOLOGICAL PARAMETERS AT ECOTOXICAL CHRONIC CADMIUM INFLUENCE AT RATS

This paper presents the results of studying of the effect of Cd^{2+} ions on hematological parameters at rats. It was established that ions cadmium in dose 1/20 DL_{50} decrease animal mass, enhance an erythrocytopenia and a leukopenia while haemoglobin content is enlarged in erythrocytes. Obtained results revealed mechanisms of ecotoxical cadmium influence on animals.

Key words: rats, a blood, erythrocytes, leucocytes, a haemoglobin, cadmium, a toxicosis.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

Agnieszka Kurosad, Paweł Jonkisz®

Department of Internal Disease with Clinic for Horses, Dogs and Cats, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Science, Poland

ESTIMATION OF INFLUENCE THE SHORT-TIME FEEDING OF THE PROTEIN HYDROLYSATE ON MORPHOLOGY AND CHOSEN BIOCHEMICAL PARAMETERS IN TWO YOUNG GERMAN SHEPHERD DOGS

Abstrakt. *Protein hydrolysates become more popular in human and animals nutrition. The article presents the six-weeks lasting experiment conducted on two young German Shepherd Dog which were fed protein hydrolysates. Morphology and chosen biochemical parameters and body weigh were monitored during that experiment.*

Key words: *protein hydrolysates, dogs, nutrition*

Introduction

Protein hydrolysates are produced by heating purifying protein in acids or proteolytic enzymes presence. Each of hydrolysates are the mixture of various peptides of various length- chains and free amino-acids. Hydrolysates are usually used in human industry for food production and also in animals nutrition, especially in feeding of ill animals. Hydrolysis improve the digestibility and absorption of protein from gastrointestinal tract and improve the usage of food protein by organism. Steinhardt et all shown that giving the protein hydrolysates to the patients with pancreas insufficiency eliminate the necessity of giving high-protein diets. It is known that di- and tri-peptides are absorbed better from alimentary tract than non-hydrolysed protein. In human patients that obtained hydrolysed casein the amino-acid content was higher than in patients that were fed non-hydrolysed casein. In human nutrition protein hydrolysates are used in patients with digestion and absorption disorders, allergies, pancreatitis, ect. Protein hydrolysates are used as the main element of the mixture for force feeding. And they are also used in sportsmen to improve the protein usage and increase the amino-acids level in blood serum.

In animals feeding protein hydrolysates are used as a source of protein in hypo-allergenic diets. They are also used in diet - therapy of gastrointestinal disorders coming with chronic vomiting and diarrhoea and in animals with hypoalbuminaemia. That hydrolysate was used in one cat with hypoalbuminaemia, increase the level of albumin and improve the life quality of that animal. Hydrolysates may be used in dogs with pancreas insufficiency because of theirs simply structure and high digestibility. Nowadays in pancreas insufficiency we recommend high digestibility diets with reduced amount of fat and moderate level of protein. And because German Shepherd Dog are predisposed to gastrointestinal disorders, pancreas insufficiency we chose two young German Shepherd Dogs for our short-time experiment.

© Agnieszka Kurosad, Paweł Jonkisz, 2010

The aim of the experiment

The aim of the experiment was the estimation of influence of the protein hydrolysates on morphology and chosen biochemical parameters of growing German Shepherd Dogs that are in the risk group of gastrointestinal tract diseases and pancreas insufficiency.

Material and methods

Two young healthy German Shepherd Dog was taken into short-time experiment. For six weeks, two six-months old dogs were fed by standard commercial dry food for young dogs supplemented by protein hydrolysate – Vetfood BB & Recovery Balance and every week blood samples were taken. Additionally body weighs were weakly monitored. Morphological (WBC, RBC, HGB, HCT, PLT, LYM, MON, GRA) and chosen parameters of biochemical analysis (protein, albumin, creatinine) was done. Activity of liver enzymes (ALAT and ASPAT) in blood serum were measured twice: on the first and end - day of experiment. Analysis was done on apparatus: Kone Lab Prime i30.

Standard commercial food for young dogs contains: 30% of protein, 18% of fat, 8% of ash, 2% of fibre, 377kcal ME/100g of food. Vetfood BB & Recovery Balance for dogs contains: 50% of protein, 37% of fat, 11% of ash, 1% of fibre. The amino-acids content in 1 kg of powder is: arginine: 10g, glutamine: 10g, glycine: 10g, leucine: 10g, iso-leucine: 5g, valine: 5g, creatine: 10g, taurine: 10g. The full content of Vetfood BB & Recovery for dogs was shown in tab.1. Dogs were given 40g of Vetfood BB & Recovery Balance every day for six weeks. Every week the body weight and blood sample were taken for analysis.

Results and discussion

Dogs obtained daily 168 and 180g of protein from standard commercial pet-food, respectively and additionally: 24,8g of protein from hydrolysate: Vetfood BB & Recovery Balance. All the result of blood and body weight analysis were given in tables below (tab. No: 2, 3, 4). All morphological and chosen biochemical results were within reference range.

There were no significant difference in morphological parameters and chosen biochemical dates: protein, albumin and creatinine level in serum and ALAT and ASPAT activity during Vetfood BB & Recovery Balance feeding. Probably it comes out of proper amino-acid balance in those two young dogs. But it requires further and more details examinations.

Amino-acids are absorbed from alimentary tract. The part of them are used directly for regeneration of mucosal membrane of intestines and most of them are coming to the liver. Liver is the main organ that take part in synthesis of endogenous amino-acids (glycine, serine, alanine, ect). Also the degeneration process of amino-acids that are in excess in blood are took place in liver. So the liver is the main organ that regulates protein metabolism. Kidneys are the second important organs that protect against loss of free amino-acids from organism. They are tickered in renal glomeruli and turned back into the circulation. So the level of free amino-acids are very low in urine. And it increases when exceed the renal threshold which is various for various amino-acids. Proteins are not accumulated in organism, but the muscles

could be a transient reservoir of amino-acids. In young animals the protein is mainly used for lean body mass building.

The conclusion of that experiment is: in those two young and healthy German Shepherd Dogs there is a very good functioning mechanisms of homoeostasis and the protein is mainly used for growth (lean body mass building), so significant differences in morphological and chosen biochemical parameters may not be observed. But that theme requires more specific and precise research.

Tables

Tab 1. Content of given protein hydrolysate, named: Vetfood BB & Recovery Balance

No	Nutrient	Content of nutrient (g) in 1000g of BB & Recovery Balance
1	arginine	10
2	glutamine	10
3	glycine	10
4	leucine	10
5	isoleucine	5
6	valine	5
7	creatine	10
8	taurine	10
9	L-carnitine	10
10	D-rybose	10
11	lecithin	10
12	MCT	10
13	Chicken fat	235
14	HMB	10
15	beta-alanine	10
16	beta-glucan	1
17	Alfa-liponic acid	3.8
18	Hypoallergenic chicken protein hydrolysate	550
19	glucosamine	10
20	chondroitin	5
21	Hyaluronic acid	0.5
22	Vitamin Complex	
23	Mineral Complex	
24	EnzymeShot	

Tab. 2. Morphological parameters in two German Shepherd Dogs (“a” - dog no 1; “b” - dog no 2)

Date of blood checkup	Id of animal and no of blood checkup	WBCN (10 ⁹ /l)	RBC (10 ¹² /l)	HGB mmol/l	HCT (l/l)	PLT (10 ⁷ /l)	LYM (%)	MON (%)	GRA (%)
20/05/10	1a	10.3	6.46	8.6	0.42	298	22	5.8	72.2
27/05/10	2a	9.4	6.64	9.1	0.43	373	23.3	6.7	70
03/06/10	3a	10.8	6.67	9.2	0.43	319	24.2	5.1	70.7
10/06/10	4a	11.1	6.23	8.5	0.4	304	17.6	4.3	78.1
17/06/10	5a	11.3	6.18	8	0.4	293	17.2	4.7	78.1
24/06/10	6a	9.4	5.79	7.8	0.37	330	20.7	5.1	74.2
20/05/10	1b	13.6	6.27	8.4	0.41	269	28.9	6.5	64.6
27/05/10	2b	12.4	6.07	8.3	0.39	356	24.3	5.7	70
03/06/10	3b	14.2	6.3	8.7	0.41	308	24.7	5	70.3
10/06/10	4b	12.8	6.13	8.4	0.4	247	21.8	4.9	73.3
17/06/10	5b	16.4	6.45	8.4	0.42	297	15	4.3	80.4
24/06/10	6b	12.9	5.87	7.7	0.38	260	16.9	4.5	78.6

Tab. 3. Chosen biochemical parameters in two German Shepherd Dogs (“a” - dog no 1; “b” - dog no 2)

Date of blood checkup	Id of animal and no of blood checkup	ALAT (U/l)	ASPAT (U/l)	Protein (g/l)	Albumin (g/l)	Creatinine (μmol/l)
20/05/10	1a	46	24	51	28	71
27/05/10	2a	-	-	50	28	59
03/06/10	3a	-	-	45	29	63
10/06/10	4a	-	-	50	28	62
17/06/10	5a	-	-	45	26	59
24/06/10	6a	47	25	47	27	60
20/05/10	1b	46	25	53	29	69
27/05/10	2b	-	-	51	29	65
03/06/10	3b	-	-	48	28	64
10/06/10	4b	-	-	50	28	67
17/06/10	5b	-	-	50	27	63
24/06/10	6b	46	26	50	27	65

Tab.4. Weekly measured body weight of German Shepherd Dogs ("a" - dog no 1; "b" - dog no 2)

Lp.	Date	Body weight of dog „a” (kg)	Body weight of dog „b” (kg)
1	20/05/10	20.8	21.6
2	27/05/10	21.1	22.1
3	03/06/10	20.3	22.4
4	10/06/10	21.2	22.7
5	17/06/10	21.2	24.3
6	24/06/10	23.2	24.3

References:

1.Folador J.F. et al.: Fish meals, fish components and fish protein hydrolysates as potential ingredients in pet foods. J. Am. Sci. 2006,84, 2752-2765

2.Guilford W.G. et al.: Food sensitivity in cats with chronic idiopathic gastrointestinal problems. J. Vet. Inter. Med. 2001,15 (1), 7-13

3.Jank M.: Hydrolizaty białka w żywieniu małych zwierząt. Magazyn wet. 2010,160(19), 974-976

4.Kungl K. et al.: Niepożądane reakcje na niektóre składniki pokarmowe, występujące w żywieniu dla psów i kotów. Medycyna Wet. 2007,63 (1), 37-40

5.Ludow C.L. et al.: Hydrolyzed protein: what, when and why. The North American Veterinary Conference, 8-12.01,2005., Orlando, USA

6.Steinhardt H.J et al.: Nitrogen absorption in pancreatectomized patient : protein versus protein hydrolysate as substrate. J. Lab. Clin. Med. 1989,113 (2), 167-24

Summary

Agnieszka Kurosad A., Paweł Jonkisz P.

Department of Internal Disease with Clinic for Horses, Dogs and Cats, Faculty of Veterinary Medicine, Wrocław University of Environmental and Life Science, Poland

ESTIMATION OF INFLUENCE THE SHORT-TIME FEEDING OF THE PROTEIN HYDROLYSATE ON MORPHOLOGY AND CHOSEN BIOCHEMICAL PARAMETERS IN TWO YOUNG GERMAN SHEPHERD DOGS

The article presents the six-weeks lasting experiment conducted on two young German Shepherd Dog which were fed protein hydrolysates. Morphological and chosen biochemical parameters were estimated weekly, but no significant changes were observed during the protein hydrolysate feeding.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2010

Motyl T.1, S. Kostuik²V. Stojanowski³, U.Gachak³©

¹Warszaw Agricultural University

²Research Institute of Animals and Birds Physiology and Ekoimmunology of LNUWM and BT after name S.Gzyckij

³Lwiw Nationality University Veterinary Medicine and Biotechnolog after name S.Gzyckij

HYDROLYTIC AND OXIDATIVE CHANGES IN THE LIPIDS OF CHICKEN BREAST AND THIGH MUSCLES DURING

Abstract: *The changes in free fatty acid (FFA) amount and in Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were simultaneously determined in chicken breast and thigh muscles at intervals between 1 and 14 d of storage at 4 °C (1,3,7,10,14). The rates of lipid hydrolysis were fast in the first 3 d and then slowed until day 14 ; phospholipids showed the same pattern but hydrolysis of triacylglycerols was linear at least in thigh muscles. Oxidation increased linearly during storage. Thigh muscles contained 3 times more FFAs than breast muscles and 2 to 4 times less TBARS suggesting that lipolysis did not favor lipid oxidation although both increased concomitantly.*

Key words: *lipolysis, free fatty acids, oxidation, muscles, refrigerated storage.*

Introduction.

Poultry meat is very sensitive to the development of oxi active rancidity because of its higher content in polyunsaturated fatty acids (PUFAs) (Wilson and others 1976; Igene and others 1980; Melton 1983). Numerous studies have been devoted

to oxidative changes in poultry meat showing an increase in the amount of Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

PUFAs. during refrigerated storage and cooking (Sharma and others 1982; Lin and others 1989). On the contrary, few studies have been done on lipolysis. Even so, lipolysis is suspected to promote in lipid oxidation because free fatty acids (FFAs) are often regarded were significant, but they accounted for less than 2% for most of as more sensitive to oxidation than esterified ones (Labuza and others 1969; Nawar, 1996), particularly free long-chain PUFAs which arise from phospholipid hydrolysis (Moerck and Ball 1974; Gandemer 1990). However, in muscle, the impact of lipolysis on lipid oxidation remains a controversial topic. Thus, in fish muscles, several studies showed a positive correlation between FFA production and lipid oxidation (Shewfelt 1981), while others indicated a negative one (Shewfelt and others 1981; Shewfelt and Hultin 1983). In chicken muscles, FFA amount and oxidation level increased simultaneously and both were higher in thigh muscles than in breast muscles suggesting that lipolysis could promote lipid oxidation (Sklan and others 1983). However, their study was performed during 60 d on sterile meat, and the first examination was after 14 d of storage. So up to now, no data are available on lipolysis

© Motyl T.1, S. Kostuik V. Stojanowski, U.Gachak, 2010

during the first days of refrigerated storage accounted for covering the delay during which carcasses are cold-stored in the supermarket (less than 11 d). Our study deals with the simultaneous changes in FFA amount and composition and edin TBARS amount during refrigerated storage of both breast and thigh muscles to establish a possible relationship between lipolysis and oxidation.

Results

As expected, total lipids, triacylglycerol, and phospholipid contents were strongly related to muscle. Breast muscle contained less total lipids, triacylglycerols, and phospholipids than thigh muscles (Table 1). Phospholipids of breast muscle contained more monounsaturated fatty acids (19.0% to 20.7% vs 14.2% to 16.2%) and more long-chain PUFA (30.9% to 29.4% vs 29.0% to 27.9%) than those of thigh muscles but less saturated and 18:2 n-6 (33.9% to 33.8% vs 35.7% and 16.1% vs 21% to 21.0%, respectively). In contrast, fatty acid composition of triacylglycerols was similar in both muscles. Triacylglycerols of breast and thigh muscles contained 32% to 35% saturated fatty acids, 36% to 40% monounsaturated fatty acids and 28% to 29% PUFAs.

Total lipid, triacylglycerol, and phospholipid contents and fatty acid composition of triacylglycerols did not change significantly in both muscles during 14 d of storage at +4 °C (Table 1). Differences in fatty acid composition of phospholipids between days 1 and 14 were significant, but they accounted for less than 2% for most of the fatty acids, including long-chain PUFAs. More than a storage effect, these differences could be related to the animals analyzed at days 1 and 14. Indeed, if the differences in PUFA proportions in phospholipids between days 1 and 14 were related to lipid oxidation during storage, they should be more pronounced in long-chain PUFAs that are very sensitive to oxidation (Moerck and Ball 1974). That was not observed in our study.

Lipolysis and oxidation as related to muscles

Thigh muscles contained significantly 3 to 5 times more FFA amounts than breast muscles at all times of refrigerated storage (Fig. 1). At day 1, FFA amounts were 11.7 mg/100 g muscle in thigh muscles and 3.2 mg/100 g muscle in breast muscles and at day 14, they represented 51.0 and 15.5 mg/100 g muscle in thigh and breast muscles, respectively (Table 3). However, the rate of lipid hydrolysis was similar in both muscles: FFAs accounted for 0.4% of total lipids at day 1 and 1.9% to 2.0% at day 14 in thigh and breast muscles. FFA composition depended on muscle. The proportions of monounsaturated FFAs and free 18:2 n-6 were higher in thigh than in breast muscles whilst those of free long-chain PUFAs were lower in thigh than in breast muscles (Table 2).

Lipid oxidation depended on muscles. Whereas lipids were oxidized to a similar level in both muscles at day 1, thigh contained 2 to 4 times less TBARS than breast at all other times of refrigerated storage (Fig. 2).

Table 1 – Lipid contents of breast and thigh muscel in chickens after 1 and 14 d of storage at 4 C

Muscles	Breast		Thigh		Stutistical effects			
	1	14	1	14	M	T	M+T	SEE
Time (days)								
Number of chickens	6	6	6	6				
Total lipids (g/100 g muscles)	0.87 ^a		2.60 ^b	2.73	***	n.s.	n.s.	0.250
	0.74 ^a		1.84 ^b	1.99	***	n.s.	n.s.	0.250
Tryacylglycerol (g/100 g muscles)	0.35 ^a		0.76 ^b	0.74	***	n.s.	n.s.	0.066
			5.6 ^b	5.4	***	n.s.	n.s.	0.746
			0.74 ^b	0.75	***	n.s.	n.s.	0.156
			31.8 ^a	34.9	n.s.	n.s.	***	1.48
			38.8 ^{ab}	37.1	n.s.	n.s.	**	2.34
^b Phospholipids (g/100 g muscles)	0.52 ^a	0.50 ^a	29.2	28.0	n.s.	n.s.	n.s.	2.10
Vitami E (mg/kg muscel)	2.2 ^a	2.2 ^a						
Vitami E/Phospholipids	0.42 ^a	0.44 ^a	35.7 ^c	34.8	***	*	n.s.	0.59
Fatty acids composition (%)			14.2 ^a	16.2	***	***	n.s.	1.01
Tryacylglycerol			50.1 ^a	49.0	***	**	n.s.	1.98
Saturated	35.2 ^b	31.9 ^a	21.1 ^c	21.0	***	n.s.	n.s.	0.49
Monaunsaturated	36.4 ^a	40.3 ^b	29.0 ^b	27.9	***	*	n.s.	1.17
Polyunsaturated	28.4	27.8						
Phospholipids								
Saturated	33.9 ^a	33.8 ^a						
Monaunsaturated	19.0 ^c	20.7 ^d						
Polyunsaturated (PUFA)	47.1 ^b	45.5 ^a						
18:2 n-6	16.1 ^a	16.1 ^a						
Long-chain (FUFA)	30.9 ^b	29.4 ^{ab}						

On the same line, means superscripted by different letters significantly different n.s= not significant (p>0.05); p<0.05; p<0.01; p<0.001; M-muscle; T-time; SEE-stand error of estimation.

Long-chian FUFA=20:2 n-6+20: 3n-6+20: 4n-6+22: 4n-6+22: 5n-6+20: 5n-3+22: 6n-3

Time course of lipolysis and oxidation

Lipolysis. Refrigerated storage significantly affected FFA amounts in both muscles (Fig. 1). Between days 1 and 14, FFA amounts were multiplied by 4 to 5 in both muscles. The time of course of FFA formation during refrigerated storage not linear (Fig, 1). The rate of lipid hydrolysis was fast in the first 3 d of refrigerated storage and then it decreased slowly until day 14. The rate of phospholipid hydrolysis showed a similar pattern (Fig. 3).

Phospholipid hydrolysis provided between 2.4 and 11.7 mg/100 g muscle in breast and between 5.7 and 30.5 mg/100 g muscle in thigh muscles (Table 3). During the first days of storage, hydrolysis of phospholipids was faster than hydrolysis of

triacylglycerols (Fig. 3). Consequently, most of the FFAs arose from phospholipid hydrolysis, which provided 53% to 78% of total FFAs in breast muscle and 50% to 70% of total FFAs in thigh muscles, according to the time of storage (Table 3). In thigh muscles, the rate of triacylglycerol hydrolysis was linear throughout storage, and after 14 d of refrigerated storage, triacylglycerols provided an equal amount of FFAs as compared to phospholipids (Table 3). In breast muscle, the hydrolysis rate of triacylglycerols showed a pattern similar to that of phospholipids (Fig. 3).

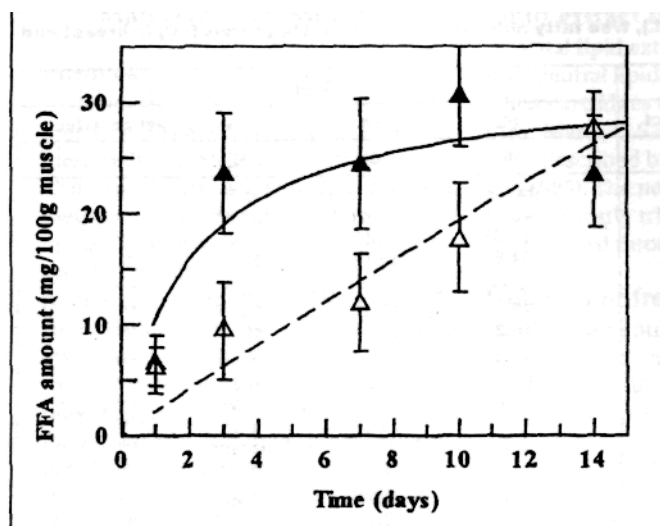
Changes in FFA composition were consistent with the changes in the time course of hydrolysis of phospholipids and triacylglycerols in both muscles (Table 2). So in the first stage of storage (1 to 7 d), when the hydrolysis of phospholipids was faster than that of triacylglycerols, the proportion of PUFAs increased from 31.9% to 40.0% in breast and from 37.0% to 39.4% in thigh), while the proportion of saturated fatty acids decreased (from 54.0% to 41.5% in breast and from 39.6% to 34.0% in thigh). In the second stage of storage, when the rate of phospholipids hydrolysis slowed down, the proportion of saturated fatty acids increased (from 41.5% to 44.4% in breast and from 34.0% to 45.0% in thigh) at the expense of the PUFA proportion (from 40.0% to 36.5% and from 39.4% to 34.9% in breast and thigh muscles, respectively). Hence, after 14 d of refrigerated storage, FFA composition was closer to the fatty acid composition of phospholipids than to that of triacylglycerols (Table 4). For example, in thigh muscles, the proportion of monounsaturated fatty acids was 20.1% in FFAs, 16.2% in phospholipids, and 40.4% in that of 20:4 n-6 was 13.4% in FFAs, 17.1% in phospholipids, and 1.1% in triacylglycerols.

Table 2 – Changes in FFA composition in chicken thigh and breast muscels during 14 d of storage at 4 °C

Muscles	Breast					Thigh					Statistical effects			
	1	3	7	10	14	1	3	7	10	14	M	T	M=T	SEE
Numb. of chick.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	M	T	M=T	SEE
Saturated	54.0 ^f	48.1 ^e	41.5 ^{ed}	40.8 ^{od}	44.4 ^{de}	39.6 ^{bc}	36.3 ^{ad}	34.0 ^a	43.2 ^{od}	45.0 ^{de}	***	***	***	3.75
Monounsaturated	14.1 ^a	17.3 ^b	18.4 ^{bc}	17.5 ^b	19.1 ^{bc}	23.4 ^d	22.7 ^d	26.6 ^e	20.0 ^c	20.1 ^c	***	***	***	1.86
Polyunsaturated (PUFA)	31.9 ^{bc}	34.6 ^{ab}	40.0 ^c	41.7 ^{od}	36.5 ^{abc}	37.0 ^{bxc}	41.0 ^c	39.4 ^c	36.8 ^{bc}		n.s.	***	***	3.83
18:2 n-6	9.0 ^a	12.2 ^b	14.2 ^{bc}	16.3 ^{od}	15.0 ^{bc}	34.9 ^{ab}					***	***	***	1.98
Long-chain PUFA ¹	22.6 ^{cde}	22.2 ^{cd}	25.5 ^e	25.5 ^e	21.6 ^{bcd}	17.9 ^{de}	20.8 ^f	20.3 ^f	18.7 ^{ef}	17.9 ^{de}	***	n.s.	n.s.	2.91
						18.6 ^{ab}	19.7 ^{abc}	19.0 ^{ab}	17.8 ^a	16.8 ^a				

On the same line, means superscripted by different letters are significantly different n.s.=not significant (P>0.05); *** = (P>0.05). M=muscle: T=time: SEE= standard error of estimation/

¹long-chain PUFA = 20:2n-6 + 20:3n-6+22:4n-6+22:5n-3+22:5n-3+22:6n-3



Oxidation. The amount of TEARS increased linearly during refrigerated storage ($y = 0.02x + 0.02$ and $R^2 = 0.94$ in breast muscles ; $y = 0.004x + 0.02$ and $R^2 = 0.92$ in thigh muscles) (Fig. 2). The initial level of lipid oxidation was low in both muscles (0.03 mg eq. MDA/kg muscle at day 1). The level of lipid oxidation reached 0.10 and 0.30 mgeq. MDA/kg muscle at day 14 in breast and thigh muscles, respectively.

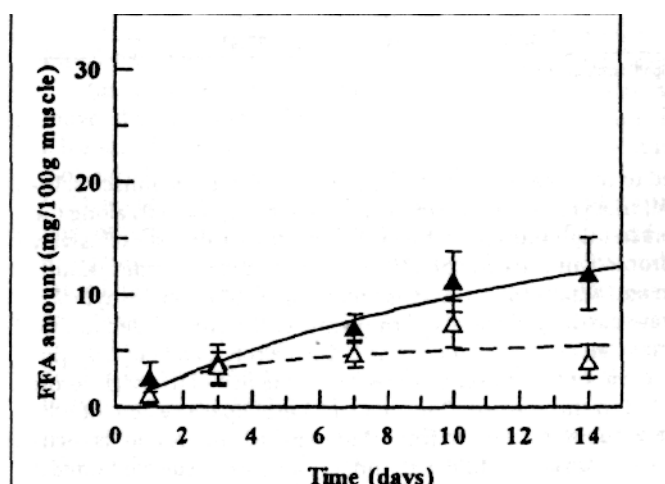


Figure 1—Changes in the amounts of FFAs arising from phospholipid hydrolysis (A) and from triacylglycerol hydrolysis (A) in chicken thigh muscles (upper) and breast muscle (lower) during 14 d of storage at 4 °C. Each point is the mean of 6 analysis. Error bars represent standard deviations.

Discussion

Lipolytic and oxidative changes as related to muscles

Thigh muscles contained more FFAs than breast muscles at all times of refrigerated storage (Fig. 1). These results confirmed those obtained in chicken (Currie and Wolfe 1977) and in turkey (Sklan and others 1983; Sklan and Tenne 1984) and are in good agreement with those obtained in rabbit muscles, indicating that FFA amounts were higher in oxidative muscles than in glycolytic muscles (Alasnier and others 2000).

Lipids oxidized faster in breast than in thigh muscles as indicated by the slope of the curve (0.02 vs 0.004), although the initial level of lipid oxidation was similar in breast and thigh muscles). This result could be explained by the lower ratios of vitamin E to phospholipids and vitamin E to long-chain PUFAs in breast than in thigh muscles ($0.42 \cdot 10^{-3}$ vs $0.74 \cdot 10^{-3}$ and $1.9 \cdot 10^{-3}$ vs $2.7 \cdot 10^{-3}$, respectively) (see Table 1). Indeed, vitamin E, which is a potent antioxidant in muscle food, is mainly stored in membrane and prevents oxidation of long-chain PUFAs of phospholipids (Machlin and Bendich 1987; Gray and others 1996). These results suggested that, during the first stage of storage, the antioxidant status of thigh muscles represented by vitamin E and the antioxidant system (such as glutathione, antioxidant enzymes) remained efficient to slow down the rate of lipid oxidation, despite the fact that thigh muscles contained more prooxidant agents, such as iron and potential substrate, for lipid oxidation than breast muscles (Lin and others 1989; Pikul and Kummerow 1989; Mercier and others 1998). This hypothesis is strongly supported by the fact that we did find that vitamin E was not degraded during refrigerated storage (Table 1).

Time course of lipolysis

The time course of FFA formation during refrigerated storage was curvilinear in breast and thigh muscles. It was mainly related to the time course of phospholipid hydrolysis, which was faster in the first 3 d of storage than thereafter (Fig. 1). Phospholipid hydrolysis is catalyzed by phospholipases and lysophospholipases. Up to now, very little is known about the activities of these enzymes in skeletal muscles and about the regulation of their activity postmortem. Recently, we have established that rabbit muscles contain both phospholipases A and lysophospholipases (Alasnier and Gandemer 2000). Even if the postmortem regulation of the phospholipases is not known, it changed during storage. The fast rate of phospholipid hydrolysis during the first days should have several explanations. The first could be related to the Postmortem formation of membrane vesicles that occurred with the onset of death and increased the contact surface between membrane phospholipids and phospholipases (Stanley 1991). The second was the release of acid phospholipases located in lysosomes whose membrane was disrupted in the few hours following death (Stanley 1991). The third was the possible activation of phospholipases related to the postmortem release of calcium from sarcoplasmic reticulum and/or to the phosphorylation of the phospholipases by ATP. Indeed, calcium as low as 100 nM enhanced myocardial phospholipase A₂ activity (Wolf 100 nM enhanced myocardial phospholipase A₂ by phosphorylation (Hazen and Gross 1991). The second stage of phospholipid hydrolysis was slower the first. The cause of this slowing-down

remained to be established. This could be related to the quick depletion of some cofactors essential for the activation of phospholipases, such as ATP which is required for phosphorylation and whose concentration decreases very fast with death (Renou and others 1986). In thigh muscles, the rate of triacylglycerol hydrolysis was linear during all the storage periods whereas in breast muscles it was curvilinear like the rate of phospholipid hydrolysis (Fig. 1).

This result suggests that the triacylglycerol lipases in thigh muscles should not be affected by physicochemical changes occurring in skeletal muscle cells after death while the triacylglycerol lipases in breast muscle should be. This difference could be related to the location of triacylglycerols in these two muscles. Indeed, triacylglycerols are mainly stored in adipose cells along the fibers in thigh muscles, while they are located almost exclusively and Gross 1996) and ATP activated intracellular phospholipases in droplets in the cytosol of the fibers in breast muscles (Kauffman and Safani 1967; Cassens and Cooper 1971). So the hydrolysis rate of triacylglycerols in thigh muscles corresponded to that of triacylglycerols in fat cells and the hydrolysis rate of triacylglycerols in breast muscles corresponded to that of triacylglycerols located in the cytosol. The triacylglycerol lipase system of adipose tissue was different from that in muscle fibers and its regulation could also be different. Indeed, adipose tissue contained 2 main triacylglycerol lipases: a lipoprotein lipase (LPL) and a hormone-sensitive lipase (HSL) (Osca'i and others 1990) and muscles contained an acid lysosomal lipase in addition of the 2 lipases cited above (Motilva and others 1992). Postmortem, in fat cells, HSL should prevail as its potential activity was higher than that of LPL (Motilva and others 1993). In muscles, the acid lysosomal lipase may be the most prominent as its optimum pH was close to the ultimate pH of muscles. Hence, the regulation of the rate of triacylglycerol hydrolysis was different in thigh and breast muscles because the prevailing triacylglycerol lipases remaining postmortem in these muscles were different.

This higher contribution of phospholipids to FFA formation in chicken muscles is consistent with the increase in long-chain PU-FAs amounts in FFAs. These results are in good agreement with those previously published which indicated that phospholipids were the main source of FFAs in the muscles of turkey and chicken (Currie and Wolfe 1977; Sklan and others 1983; Sklan and Tenne, 1984) and in dry-cured hams (Buscailhon and others

Lack of relationship between lipolysis and oxidation

The increase in TEARS amount during storage at 4 °C is in good agreement with results previously published on TEARS values in chicken muscles, even if the values varied largely from one laboratory to another, according to the alternative methods used for TBARS measurement (Sharma and others 1982; Lin and others 1989; Pikul and Kummerow, 1989).

Although lipolysis (enzymatic) and oxidation (chemical) increased concomitantly during refrigerated storage at +4 °C

(Fig1), our results strongly suggest that lipolysis did not promote lipid oxidation in raw chicken muscel. Hence, compared to breast muscles, the rate of lipid oxidation was 5 times lower in thigh muscles, despite the fact that amounts of FFAs and free long-chain PUFAs were higher in thigh than in breast muscles. The fact that long-chain PUFAs arising from phospholipid hydrolysis did not promote lipid oxidation in raw meat could be explained by the fact that FFAs would remain in the membrane and be protected against oxidation by vitamin E included in the bilayers of the membranes. Indeed, FFAs remain in the membrane when their amounts did not exceed a few percent of total membrane lipids (Zeng and others 1998).

Conclusion

Lipid hydrolysis and phospholipid hydrolysis proceeded rapidly in the first 3d and then slowed down until day 14, suggesting changes in the regulation of phospholipases and lyso phospholipases during storage. Triacylglycerol hydrolysis was linear in thigh and curvilinear in breast muscles, suggesting that the regulation of triacylglycerol lipases was different in fat cells along the fibers and in the cytosol in the fibers. Oxidation increased linearly during storage. Lipolysis did not promote lipid oxidation.

Materials and Methods

Animals

Thirty male chickens of a commercial breed (GA557) were fed 3 successive commercial diets (0 to 21 d: starter diet; 22 to diet) containing between 3.9% and 4.6% lipids and between 25 and 34 ppm vitamin E. The birds were slaughtered in a private slaughterhouse (SOPARVOL, Ancenis, France) at 82 d of age having an average carcass weight of 1.5 kg. The carcasses were immediately packed in polypropylene tubs surrounded by a food-grade plastic film permeable to oxygen. The carcasses were stored at +4 °C in the dark for 14 d. Breast and thigh muscles were cut from 6 carcasses after 1,3,7,10, and 14 d of refrigerated storage.

Lipid extraction

Muscles were carefully trimmed to remove adipose tissue and were minced in a blender. Lipids were extracted from 10 g of muscle with chloroform/methanol (2:1), according to the method of Folch and others (1957). The extracts were dried under vacuum on a rotary evaporator. Lipids were weighed and lipid content was expressed in g/100 g muscle. The phospholipid content was calculated ($P \times 25$) after phosphorus was determined in the total lipid extract by the method of Bartlett (1959). The neutral lipid content was estimated to be the dif-

ference between total lipid and phospholipid contents. Phospholipid and neutral lipid contents were also expressed in g/100 g muscle.

Lipid extract fractionation

Total lipid extracts were fractionated into neutral lipids and phospholipids on silica cartridges (Sep-Pack, Waters, Milford, Mass., U.S.A.) following the procedure described by Juaneda and Rocquelin (1985). The neutral lipid fraction contained mostly triacylglycerols, and this term is used throughout the text.

Isolation of free fatty acids (FFAs)

FFAs were purified from the neutral lipids using an anionic exchange resin (Amberlyst A26), according to the method of Gandermer and others (1991). An aliquor of 40 to 50 mg of neutral lipids was dissolved in 20 mL of a mixture of acetone/methanol 2:1 (v:v). After addition of 100 to 200 mg of resin and heptadecanoic acid as internal standard for 30 min.

Nonresinbound lipids were removed by washing the resin with acetone/methanol 2:1 (v:v). Resin was then transferred into a dry tube for FFA methylation.

Fatty acid Fatty acid composition

The fatty acid composition of triacylglycerols, FFA, and phospholipids was determined by gas chromatography. Triacylglycerol, phospholipids, and free fatty acid methyl esters were prepared following the method of Morrison and Smith (1964). The gas chromatograph (Hewlett-Packard 5890) was equipped with a split injector and an on-column injector and a flame ionization detector. The derivatives were separated on a capillary column (DB 225, J&W, 30 m long, 0.32 mm internal diameter, 0.25 μm film thickness, coated with a polar stationary phase (cyanopropylphenyl-methylpolysiloxane). Triacylglycerol methyl esters were injected in split mode. The split flow rate was set at 30 mL/min. The oven temperature was held at 150 °C for 4 min, increased 200 °C to at 10 °C/min, and then maintained at 200 °C. Methyl esters of phospholipids and FFA were injected in on-column mode. The oven was first held at 50 °C for 3 min and then increased from 180 to 210 °C at 20 °C/min and then maintained 210 °C for 10 min. The detector temperature was set at 250 °C. In both cases, the flow rate of the carrier gas (H₂) was set at 2 mL/min and kept constant. Data were collected with an Apex workstation including an acquisition interface, software, and a computer (Apex, Milford, Mass., U.S.A.). The individual fatty acid esters were identified by mass spectrometer (Hewlett-Packard MSD 5971A). Fatty acid compositions were expressed as percent of total fatty acid methyl esters.

Determination of the origin of FFAs

The relative contribution of phospholipids and triacylglycerols to lipolysis was calculated as previously reported (Alasnier and others 2000). Considering that long-chain PUFAs are almost exclusively found esterified in phospholipids and, consequently, that those found in FFA fractions arose from phospholipids hydrolysis, we can estimate the proportion of phospholipids hydrolyzed (Table 3 (3)) for each period of refrigerated storage by the ratio of the amount of long-chain PUFA in FFAs to that in phospholipids. This ratio (3) was used to calculate the total amount of FFAs arising from phospholipid hydrolysis. (Table 3 (4)) by

Multiplying (3) by the total amount of fatty acids esterified in phospholipids, which accounted for 70% of the amount of phospholipids in muscle. The amount of FFAs provided by triacylglycerol hydrolysis (Table 3 (6)) were estimated to be the difference between the amount of total FFAs measured in muscles (5) and (4). The proportion of triacylglycerol hydrolyzed for each period (7) was calculated by the

ratio of (6) total fatty acids esterified in triacylglycerols, which accounted for 99.5% of

Vitamin E content

Vitamin E contents of diet and muscles (№40). were determined according to the method of Butriss and Diplock (1984). Briefly, after saponification of samples and extraction of vitamin E with hexane, the extracts analyzed by normal-phase high-performance liquid chromatography (HPLC) (Lichrospher Si 60,5 m, Merck) fitted with a fluorimeter detector (excitation wavelength: 292 nm; emission wavelength: 330 nm). Vitamin E was quantified using alfa-tocopherol as an external standard. The result were expressed as mg vitamin E/kg diet or muscle

Oxidation measurement

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were evaluated using a method adapted from that of Salin and others (1987) and Botsoglou and others (1994) by Genot and others (1998). Two g of ground muscle were mixed with butyl hydroxyl toluene (BHT) in ethanlol (10 g BHT. Of lipids) and 18 mL of trichloroacetic acid (TCA 5%). Samples were homogenized for 20 s at 20,000 rpm and then filtered through Whatman filter (№ 40). Two tightly closed tubes were heated at 70 °C for 30 min. The absorbance was read against water at 508,532,, and 600 nm with a double beam spectrophotometer (lambda 12, Perkin Elmer). The absorbance measured at the maximum (532 nm) was corrected for the baseline drift as follows:

$$A_{532 \text{ corrected}} = A_{532} - ((A_{532} - A_{600}) + (600 - 532) / (600 - 508)) \cdot A_{600}$$

Results were expressed as mg eq. MDA/kg of muscle using the molar extinction coefficient of MDA – TBA adduct at 532 nm ($1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) (Buedge and Aust 1978).

Statistical analysis

Data on lipid composition and on FFA and TBARS amounts in breast and thigh muscles were subjected to a two-way variance analysis, according to the General Linear Model procedure, The model used, with fixed effects, included time storage (5 level) and muscles (2 level) and the interaction time storage = muscle. Data on FFA composition were subjected to a one –way variance analysis. The model included time storage (5 levels). The calculations were performed with Statgraphics software.

References

1. Alasnier C, David-Briand E. and Gandemer G. 2000. Lipolipolysis in muscles during refrigerated storage of the metabolic Type of the rabbit. *Meat Sci.*, 54: 127-134.
2. Alasnier C and Gandemer C. 2000. Activities of phospholipase A and lipophospholipases in glycolytic and oxidative muscles in The rabbit/ *J. Sci. Food Agric.* In press
3. Bartlett GR. 1959. Phosphorus assay in column chromatography *J. Biol. Chem.* 234: 466-468
4. Botsoglou NA, Fletouris DJ, Papageorgiou GE, Vassilopoulos VN, Mantis AI, and Trakaiellis AC. 1994. Rapid, sensitive and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. *J. Agrical. Chem.* 42:1931-1937.

5. Buedge J.A. and Aust S.D. 1978 Microsomal lipids peroxidation. In: Fleischer SF and Packer L, edition Biomembranes (Part C Biological oxidation), Methods in Enzymology, vol. 52. London: Academic Press. P. 302-309.
6. Buscaillon S, Gandemer G, and Monin G. 1994. Time-related changes in intramuscular lipids of French dry-cured ham. Meat Sci. 37:245-255.
7. Butriss J.L. and Diplock A.T. 1984. High-performance liquid chromatography methods for vitamin E in tissues. Methods in Enzymology 105:131-138.
8. Cassens R.G. and Cooper C.C. 1971. Red and white muscel. Adv. Food Res. 19:1-74.
9. Coutron C., Gandemer G., and Casabianche F. 1995. Evolution des lipids intramusculaires au-cours de la fabrication du jambon Sec course: influence du mode de salage. J. Recherche Porcine France 27:315-322.
10. Currie R.W. and Wolfe F.Y\H. 1977. Evidence for differences in postmortem intramusculire phospholipase activity in several Muscel types. Mear Sci. 1:185-193.
11. Folch J., Lees M., and Sloane-Stanley G.H. 1957. A simple method for the insulation and purification of total lipids method Animal tissues. J. Biol. Chem. 226:497-509.
12. Candemer, G. 1990. Les phospholipides du muscle: composition et alteration au cours des traitements technologies. Rev. Fr. Corps Gras 37:75-81.
13. Condemer G., Morvan-Mahi B., Meynier A. and Lepercq M. 1991. Quantitative and qualitative analysis of free fatty acids in Meat products using ion exchange resin. Proceeeding of 37th Interneteional Congress of Meet Science and Technology August 2-7: Kulmbach, Germany. P. 1139-1142.
14. Genot C., , Viau mM., MetrO B., and Gandermer G. 1998. Dietary fat and Vitamin E supplementation affect lipid oxidation in cooked turkey meat. Proceeding of 44th Interneteional Congress of Meat Science and Technology. Vol. 2. August 30, September 4: Barcelona, p. 638-639.
14. Gray J.L., Gomaa E.A., and Buckley D.L. 1996. Oxidation quality and shell life of meats. Meat Sci. 43: 5111-5123.
15. Hazen S.L. and Gross R.W. ATP-dependent regulation of rabbit myocardial cytosol calcium-independent pphspholipase A2. J. boil, Chem. 266: 14526-1434.
16. Igene J. and non phosphorus lipids from rat heat., Pearson A.M., Dugan L.R., and Price. 1980. Role of triglyceride and phospholipids on development of rancidity in model in model meat systems during frozen storage. Food VChem. 5: 263-276.
17. Juaneda P and Rocquelin G. 1985. Rapid and convenient separation of phospholipids from ratheatusingsilica cartridge. Lipids 20:40-41.
18. Kauffman R.G, Safarni A..h. 1067. Influence of porcine muscel structure on its lipids accumulation during growth, G. Food Sci. 32:2 83-289.
19. Labuzation on lipid composition and stability of broiler meat. M. and Flegal C.J. 1989. Effects of gietery oils and al,fa-tocopherol supplementation on lipid composition and stability of broiler meat. G, Food Sci. 54: 1457-1464.
20. Lin C., Gray JI., Ashgar A., Buckley D.J., Booren A,M. and Flegal C.J. 1989. Effect of dietary oils and alfa-tocopherol supplenent composition and stability of broiler meat. ,J. Fod Sci. 54: 1457-1464.

21. Machlin L.J. and Bendich A. 1987. Free radical tissue damage: protective role of antioxydation nutrients, FASEB G. 1:441-445
22. Melton S.L. 1983. Methodolojy for following lipids oxidation in muscel foods Fod Technol. July: 105 -111; 116.
23. Merck K.E. and Ball H.R. 1974. Lipid autoxidation in mechanically debone chicken meat. J. Food Sci. 39: 876-879.
24. Morriison W.R. and Smith L.M.1964. Preparation of fatty acid methyl esters and demethylac Subcutaneauus adipose tissue lipolysis in the processing of drycured ham G. Food Biochem. 16: 323-335. etat from lipids with boron fluoride-methanol. J. Lipid Res. 5: 600-608.
25. Motilva M.J., Toldra F. and Flores J. 1992. Assay oflipases and esterases activities in fresh pork meat and dry-cured ham. Z. Lebensum Uniter. Forsch. 195: 446-450.
26. Motilva M.J., Toldra F., Aristoy M.C. and Flores J. 1993. Subcutaneous adipose tissue lipolysis in the processing of drycured ham J. Fod Biochem. 16: 323-335.
27. Nawar W.W. 1996. Lipis, In: Fennema OR, editor. Food Chemistry, 3 ed New York: Maarcel Dekker p. 225-335.
28. Oscail L.B., Essig D.A. and Palmer W.K. 1990. Lipase regulation of muscel triglyceride hydrolysis. J Appl. Physiol, 69:1571-1577.
29. Pikul and Kummerow F.A. 1989. Effect of total lipids, triacylglycerol and phospholipids on malonaldehyde content in different types of chicken muscles and the corresponding skin J. Fod Biochem. 13: 409-427.
30. Renou J,P,, Canioni P., Valin C., and CVozzone P.J. 1986. Phosporus-31 nuclear magnetic resonance study of postmortem catabolism and intracellurar pH in intact excised rabbit muscel. Biochimie 68: 543-554.
31. Salin a.m., Smith D.M., Price J.F. and Dawson L.E. 1987. Modified extraction 2-thiobarbiturinc acid method for measuring lipid oxidation in poultry Poulrry Sci. 66: 1483-1488.
32. Shewfelt r.l.1981. Fish muscel lipolysis. A review. J Food Boichem. 5: 79-100.e
33. Sklan D., Tenne Z. 1984. Changes in the lipid fractions and bacteriological couts in chilled broiler meat. Poultry Sci. 63: 76-81.
34. Stanley D.W. Biologycal membrane determination and associated quality losses in food tissues Crit. Rev. Food Sci. Nut. 30: 487-553.
35. olf M.J., Gross R.W. 1996. The calcium-dependent association and functional coupling of calmodulin with myocardial phospholipase A2. J. Biol. Chem. 271: 2089-2092.

Стаття надійшла до редакції 17.09.2010

ЗМІСТ

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ, БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ СПОСОБИ ПІДВИЩЕННЯ ПРОДУКТИВНОСТІ ТВАРИН

PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL AND BIOTECHNOLOGICAL WAYS OF ANIMAL PRODUCTIVITY INCREASING

1. **Антоняк Г.Л., Жиліщич Ю.В., Панас Н.Є.**
ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ
СИСТЕМИ В ЕРИТРОЦИТАХ ТВАРИН ЗА УМОВ
ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ХЛОРИДУ КАДМІЮ 3
2. **Білаш Ю.П., Дідович А.П., Вудмаска І.В.**
ВПЛИВ КІЛЬКОСТІ СЕЛЕНУ І ВІТАМІНУ Е У РАЦІОНІ
КОРІВ НА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД МОЛОКА 8
3. **Бугай А.О., Цвіліховський М.І.**
ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД БАЗОЛАТЕРАЛЬНИХ
МЕМБРАН АБСОРБЦІЙНИХ ЕНТЕРОЦИТІВ ПОРОЖНЬОЇ
КИШКИ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ ЗА ДІЇ ЛІКОПЕНУ 14
4. **Галанець В.В.**
ВПЛИВ ТРИПТОФАНУ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ ТА
ПІДВИЩЕННЯ ЯКОСТІ М'ЯСА БРОЙЛЕРІВ ПРИ ВНЕСЕННІ
1,0% ТРИПТОФАНУ ДО МАСИ КОМБІКОРМУ 25
5. **Головач П.І., Змія М.М.**
ОБМІН БІЛКІВ У БУГАЙЦІВ НА ВІДГОДІВЛІ ЗА ВПЛИВУ
ВІТАМІНІВ ГРУПИ В (В₁, В₂, В₅, В₆, В₁₀, В₁₂) 28
6. **Гордійчук Л.М., Рівіс Й.Ф.**
БРОДИЛЬНІ ПРОЦЕСИ У ТРАВНОМУ КАНАЛІ КОРІВ ЗА
ЗГОДОВУВАННЯ СІЧКИ СІНА В ЛІТНІЙ ПЕРІОД 33
7. **Грабовський С. С.**
РИТМИ СИНТЕЗУ БІЛКІВ ПІД ВПЛИВОМ ПОЛІАМІНІВ 41
8. **Гунчак А.В.**
ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОСТІ ГІДРОЛІТИЧНИХ
ФЕРМЕНТІВ ТРАВНОГО ТРАКТУ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ 51
9. **Демус Н.В.**
МОРФОМЕТРІЯ СУДИН ШКІРИ ВУХА ТЕЛИЧОК
ЗАЛЕЖНО ВІД ТИПУ АВТОНОМНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ
СЕРЦЕВОГО РИТМУ 57

10. **Демус Н.В.**
ГІСТОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА МІОКАРДУ ТЕЛИЧОК
ЗАЛЕЖНО ВІД ТИПУ АВТОНОМНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ
СЕРЦЕВОГО РИТМУ 63
11. **Жила М. І., Бассараб В. П., Лісова Н. Е., Максимович О. А.,
Михалюк О. В.**
ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ ГЕПАТОНІК НА ІМУНОЛОГІЧНІ ТА
ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ОРГАНІЗМУ ПОРОСЯТ 70
12. **Кава С.Й., Дмитрів О.Я., Кудла І.М., Остапів Д.Д., Яремчук
І.М.**
ЗАПЛІДНЮВАЛЬНА ЗДАТНІСТЬ СПЕРМІЇВ БУГАЇВ ПРИ
ДОДАВАННІ У РОЗРІДЖУВАЧ ЕЯКУЛЯТІВ
АНТИОКСИДАНТІВ 75
13. **Ковалів Л.М.**
ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА
ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНИЙ ГОМЕОСТАЗ
РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ ТЕЛИЦЬ 79
14. **Колтун Є.М.**
БІЛКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ХУДОБИ НА ТЛІ
МІНЕРАЛЬНОГО ПРЕМІКСУ В ОНТОГЕНЕЗІ 85
15. **Кропивка С.Й.**
АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ У КРОВІ ТЕЛИЦЬ ЗА
ЗГОДОВУВАННЯ СОЛЕЙ СЕЛЕНУ, ЦИНКУ І КАДМІЮ 89
16. **Кузьміна Н.В., Остапів Д.Д., Яремчук І.М.**
ІЗОФОРМИ АСПАРТАТАМІНОТРАНСФЕРАЗИ В
ЕЯКУЛЯТАХ БУГАЇВ 93
17. **Куртяк Б.М., Ненич Н.П.**
МЕТАБОЛІЧНИЙ ПРОФІЛЬ КРОВІ КУРЧАТ – БРОЙЛЕРІВ
ЗА РІЗНОГО РІВНЯ ХРОМУ В РАЦІОНІ 98
18. **Маслянюк Р.П., Левківський Д.М.**
ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ
ІНТЕРФЕРОНУ У НЕОНАТАЛЬНИХ ТВАРИН 102
19. **Маслянюк Р.П., Падовський А.І., Флюнт Р.Б., Шекель В.Ф.**
СИСТЕМА ІНТЕРФЕРОНУ І ЇЇ РОЛЬ У ЗАХИСНИХ
ФУНКЦІЯХ ОРГАНІЗМУ 108
20. **Мельниченко О.П.**
АНТИОКСИДАНТІ ВЛАСТИВОСТІ КАРОТИНОЇДІВ ТА
АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ В ЕМБРІОГЕНЕЗІ ПТИЦІ 115
21. **Пелень Р.А., Семанюк В.І., Турко І.Б., Огура О.В.,**
ВПЛИВ ЗГОДОВУВАННЯ КОРОВАМ МІКОРМУ, ЗА
РІЗНОГО СПОСОБУ ЇХ УТРИМАННЯ, НА ХІМІЧНИЙ
СКЛАД МОЛОКА 121

22. **Пилипець А. З., Грабовська О. С., Сачко Р. Г., Мартин Ю. В., Вороняк В. В., Венгрин А. В.**
ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ЯЄЧНИКАХ ТА МАТЦІ КОРІВ ЗА РІЗНОГО ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ СТАТЕВОЇ ЗАЛОЗИ 129
23. **Рапа О.І., Маслянюк Р.П.**
ПОКАЗНИКИ ІМУНІТЕТУ У ВАГІТНИХ КОРІВ І ЇХ ТЕЛЯТ ЗА КОРЕКЦІЇ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОГО СТАНУ 134
24. **Сидір-Басараб І.М., Калачнюк Л.Г., Мельничук Д.О., Мельничук С.Д., Калачнюк Г.І.**
ВМІСТ ВІЛЬНИХ АРОМАТИЧНИХ АМІНОКИСЛОТ У КРОВІ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ГЕПАТОСТЕАТОЗУ ТА ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ ЧИННИКІВ 139
25. **Степченко Л.М., Єфімов В.Г., Ракитянський В.М., Костюшкевич К.Л., Лосєва Є.О.**
ВПЛИВ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ З ТОРФУ НА ФІЗІОЛОГІЧНИЙ СТАН ПОРОСЯТ В ПІДСИСНИЙ ПЕРІОД 144
26. **Тибінка А.М.**
ЗВ'ЯЗОК КІЛЬКОСТІ ЯДЕРНИХ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ В СТОВПЧАСТИХ ЕПІТЕЛІОЦИТАХ КИШЕЧНИКА КУРЕЙ З РІЗНИМ ТИПОМ АВТОНОМНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ 148
27. **Ткач І. М., Вудмаска І. В., Дроник Г. В.**
ВПЛИВ ДОДАВАННЯ ДО РАЦІОНУ КОРІВ БІКАРБОНАТУ НАТРІЮ І КАРБОНАТІВ МАГНІЮ ТА КАЛЬЦІЮ НА ОБМІН ЛЖК І ЛІПІДІВ У ВМІСТІ РУБЦЯ 153
28. **Федорович В.С., Цимбала В.І.**
МЕТАБОЛІЧНИЙ ТА ПРОДУКТИВНИЙ ЕФЕКТ ВИКОРИСТАННЯ ІН'ЄКЦІЙ ІНСУЛІНУ У ТЕЛЯТ РІЗНОГО ФІЗІОЛОГІЧНОГО РОЗВИТКУ 158
29. **Черненко О.М., Пришедько В.М.**
ГІСТОЛОГІЧНА БУДОВА СІМ'ЯНИКІВ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ЇХ СТРЕСОСТІЙКОСТІ 163
30. **Чокан Т. В., Шаран М. М., Муравські М.**
СТИМУЛЯЦІЯ РАННІХ ОКОТІВ У ВІВЦЕМАТОК УКРАЇНСЬКОЇ ГІРСЬКОКАРПАТСЬКОЇ ПОРОДИ З ВИКОРИСТАННЯМ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ВІДТВОРЕННЯ 169
31. **Шамро Л.П., Шамро М.О.**
РОЗМІЩЕННЯ ВОСКОВИХ МИСОЧОК НА ПРИЩЕПЛЮВАЛЬНІЙ РАМЦІ ПРИ ВИРОБНИЦТВІ МАТОЧНИКІВ З МАТОЧНИМ МОЛОЧКОМ І МАТОЧНОЮ ЛИЧИНКОЮ 173

32. **Шаран М. М., Шаловило С. Г., Гримак Х. М.**
ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ЕМБРІОНІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ЯКОСТІ ТА
СТАДІЇ ЇХ РОЗВИТКУ ПРИ НАДШВИДКОМУ
ЗАМОРОЖУВАННІ 178
33. **Шемедюк Н.П., Буцяк В.І.**
ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ЕКСПРЕС-АНАЛІЗУ ХАРАКТЕРУ
БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ РОСЛИННОГО ПРЕПАРАТУ З *SOPHORA*
JAPONICA 184
34. **Ших Ю.С., Чолач Я.Б., Мисів О.В., Федик Ю.Я., Щербентовська
О.М.**
ОСОБЛИВОСТІ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН У
ДЕЯКИХ ОРГАНАХ ІМУННОЇ СИСТЕМИ РІЗНИХ ВІКОВИХ
ГРУП ГУСЕЙ ЗА ВПЛИВУ ДОВГОТРИВАЛОЇ ДІЇ МАЛИХ
ДОЗ РАДІАЦІЇ 191
35. **Шкумбатюк О.Й., Шкумбатюк Р.С., Лозовицька Т.М., Зубик С.В.**
ЕКОТОКСИЧНИЙ ТРИВАЛИЙ ВПЛИВ КАДМІЮ НА
ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ЩУРІВ 201
36. **Agnieszka Kurosad, Pawel Jonkisz**
ESTIMATION OF INFLUENCE THE SHORT-TIME FEEDING
OF THE PROTEIN HYDROLYSATE ON MORPHOLOGY AND
CHOSEN BIOCHEMICAL PARAMETERS IN TWO YOUNG
GERMAN SHEPHERD DOGS 206
37. **Motyl T.1, S. Kostuik, V. Stojanowskij, U.Gachak**
HYDROLYTIC AND OXIDATIVE CHANGES IN THE LIPIDS
OF CHICKEN BREAST AND THIGH MUSCLES DURING 211