

УДК 636.4:087.7:612.015.3

**ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ Й АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА
ОРГАНІЗМУ СВИНЕЙ ЗА ДІЇ ГУМІНОВОЇ ДОБАВКИ**

О. Бучко^{1*}, Л. Степченко²

¹Інститут біології тварин НААН

вул. В. Стуса, 38, Львів 34, Україна

²Дніпропетровський державний аграрний університет

вул. Ворошилова, 25, Дніпропетровськ 49600, Україна

e-mail: buchko_oksana@ukr.net

У статті розкривається питання щодо підвищення адаптаційної здатності організму високопродуктивних тварин під час поросності та лактації. При додаванні гумінової добавки до раціону свиноматок протягом двох тижнів до і одного тижня після опоросу (23 доби) у крові тварин знижується концентрація ТБК-активних продуктів і карбонільних груп протеїнів, зростає активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та рівень відновленого глутатіону порівняно з контрольною групою тварин. Отримані дані свідчать про позитивний вплив кормової добавки на систему антиоксидантного захисту і нормалізацію вільнорадикальних процесів у крові свиноматок, а також кращу адаптаційну здатність їх організму. Тому біологічно активну кормову добавку «Гумілід» можна застосовувати як адаптаген і стрес-коректор у найкритичніші періоди розвитку, враховуючи пролонгованість її дії на організм тварин.

Ключові слова: антиоксидантна система, «Гумілід», адаптація, вільнорадикальні процеси, свині, гумінові речовини.

Дослідження українських і закордонних науковців останніх років у галузі фізіології, біохімії та фармакології свідчать про те, що одним із важливих методів оздоровлення людини і тварин є використання в раціонах харчових і кормових добавок антиоксидантної дії на основі природних складників. Особливо актуальні розробки та використання в медичній і ветеринарній практиці антиоксидантних препаратів, здатних ефективно протидіяти негативним змінам в організмі, що виникають при стресах. Значний інтерес у даному випадку викликають препарати, отримані на основі природних складників – торфу і рослинних відходів, багаті на біологічно активні речовини, які містять сполуки антиоксидантної й антистресової дії [3, 7, 12].

Гумінові речовини – це сукупність біотермодинамічностійких сполук, які утворюються у процесі розкладу та трансформації рослинних і тваринних залишків під дією мікроорганізмів або кисню повітря. До функціональних властивостей гумінових речовин належать нестехіометричність складу, нерегулярність будови, гетерогенність структурних елементів, полідисперсність, висока молекулярна маса (від $5 \cdot 10^2$ до 10^6 Да). Ці речовини містять великий набір функціональних груп, як позитивно (азогрупи, аміни, іміни, пептидні), так і негативно заряджених (спиртові, фенольні, альдегідні, кетонні, карбоксильні, метоксильні й ін.), що визначає широкий спектр хімічної активності гумінових речовин за рахунок їхньої здатності до абсорбційної, іон-іонної та донорно-акцепторної взаємодії. Не будучи індивідуальною сполукою, ці речовини здатні іммобілізувати сполуки як неорганічної, так

і органічної природи, проявляючи властивості хелатних лігандів і вступаючи у процеси комплексоутворення. Будучи біологічно активними сполуками, гумінові речовини, при специфічній у кожному конкретному випадку обробці, можуть бути джерелом нових різноманітних біологічно активних речовин, що використовується науковцями для виготовлення на їхній основі препаратів різноманітного спектра дії [4, 11]. Однією з найунікальніших, на думку науковців, властивостей гумінових речовин є їх відносна індиферентність до процесів, що відбуваються в нормі, й ефективна корегуюча дія при будь-яких відхиленнях в організмі. Вони забезпечують сталість гомеостазу біосистеми на тканинному, клітинному та субклітинному рівнях, сприяючи відновленню фізіологічних функцій при патологічних станах і в екстремальних ситуаціях [3, 8, 12].

Виходячи з усього сказаного, метою наших досліджень було вивчити вплив біологічно активної кормової добавки (БАКД) «Гумілід» на показники оксидативного стресу та системи антиоксидантного захисту (АОЗ) в організмі свиноматок під час поросності й лактації.

Матеріали та методи

Досліди проводили у приватному ФГ «Спадщина» смт Батятичі Кам'яно-Бузького р-ну Львівської області на свиноматках великої білої породи. За принципом аналогів було сформовано дві групи тварин – контрольна і дослідна, по 3 порослих свиноматки у кожній. Годівлю тварин проводили стандартним раціоном, збалансованим за основними показниками живлення, з вільним доступом до кормів і води. Весь період досліджень становив 49 діб. Свиноматок контрольної (К) групи утримували на стандартному раціоні, а тваринам дослідної групи (Д) за 14 діб до і 9 діб після опоросу до раціону додавали 1% розчин БАКД «Гумілід» (ТУ У 15.7-00493675-004:2009) із розрахунку 0,5 мл/кг маси тіла (період згодовування добавки – 23 доби).

Матеріалом для дослідження слугувала кров свиноматок, яку відбирали з очної вени за 14 діб до та на 10 і 25 доби після опоросу. Стан антиоксидантної системи в загальних гемолізатах еритроцитів крові тварин визначали загальноприйнятими методами за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази (ГР) та за рівнем відновленого глутатіону (ВГ) [2]. Вміст показників оксидативного стресу в плазмі крові свиноматок визначали загальноприйнятими методами за концентрацією ТБК-активних продуктів, карбонільних груп протеїнів (КГП) і гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [2]. Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL із використанням t-критерію Стьюдента.

Результати і їхнє обговорення

Відомо, що високопродуктивні тварини і, особливо, свині дуже вразливі до умов утримання, годівлі, негативних факторів зовнішнього і внутрішнього середовища, мають підвищену чутливість до стресів, характеризуються зниженою адаптаційною здатністю, схильністю до порушення обміну речовин. Максимальне депонування енергії в одних органах чи тканинах (м'язи, матка) призводить до зниження субстратного забезпечення серцево-судинної системи, напруження механізмів теплопродукції, зниження ефективності клітинного імунітету, переважання процесів катаболізму над анаболізмом і, в кінцевому результаті, до виникнення стресової ситуації [1, 6].

Дані літератури свідчать про те, що другий період поросності (з 85 до 114 доби) у свиноматок характеризується підвищеним обміном речовин і збільшенням потреби в енергії у декілька разів [5]. Ці зміни пояснюють тим, що значно більше енергії та поживних речовин свиноматка витрачає на формування плоду. Для цього періоду характерні великі

витрати, пов'язані з використанням субстратних і енергетичних речовин, а дефіцит у раціоні необхідної кількості енергії призводить до метаболічних порушень в організмі свиноматки й активізації руйнівної дії вільнорадикальних процесів у клітинах. Як наслідок виникає оксидативний стрес, який у кінцевому результаті може викликати зниження плодючості та збільшення кількості нежиттєздатного приплоду [9].

Під час досліджень було встановлено, що поросність свиноматок супроводжується високою інтенсивністю оксидативних процесів у їхній крові. Так, за 14 діб до опоросу в плазмі крові контрольної та дослідної груп тварин встановлена висока концентрація як ТБК-активних продуктів – метаболітів ПОЛ, так і продуктів вільнорадикального пошкодження протеїнових молекул – КГП. Вміст ТБК-активних продуктів вірогідно знижувався у плазмі крові свиноматок обох груп стосовно вихідного рівня на 25 добу після опоросу в 1,4 разу, а КГП – в 1,5 разу (контрольна група) та 2 рази (дослідна група) відповідно. Однак про повну нормалізацію процесів пероксидації в організмі свиноматок на 25 добу після опоросу не можна говорити, оскільки було встановлено вірогідне підвищення концентрації ГПЛ щодо їх рівня до опоросу в 1,5 разу (контрольна група) та 1,6 разу (дослідна група) (табл. 1).

Щоб запобігти виснаженню свиноматок від опоросу до опоросу, безпліддю, зниженню маси тіла та забезпечити покращення їх запліднення, а також підвищення маси порослят при народженні та їх резистентність, молочність маток, пом'якшення дії стресових чинників на організм поросних і лактуючих свиноматок, у їхній годівлі застосовують БАР [5, 6, 9]. За цих умов зростає біологічне значення гумінових сполук як речовин профілактичної, адаптогенної, імуностимулюючої й антиоксидантної дії [4, 8, 11, 12].

У результаті досліджень було встановлено, що додавання Гуміліду до корму тварин викликало вірогідне зниження вмісту показників оксидативного стресу. У плазмі крові свиноматок дослідної групи на 10 та 25 доби після опоросу концентрація ТБК-активних продуктів знижувалась порівняно з контрольною на 11 і 16%, а КГП – на 60 і 27% відповідно у ці ж досліджувані періоди (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст показників оксидативного стресу в плазмі крові свиноматок ($M \pm m$, $n=3$)

Показники	Група тварин	Доби		
		14 до опоросу	10 після опоросу	25 після опоросу
ГПЛ, ОЕ/мл	К	0,44±0,02	0,49±0,09	0,64±0,08 [■]
	Д	0,40±0,05	0,41±0,06	0,65±0,05 [■]
КГП, нмоль/мг протеїну	К	41,78±2,14	40,02±3,43	27,31±2,98 [■]
	Д	41,22±1,98	16,11±2,04 ^{■*}	19,85±0,87 ^{■*}
ТБК-активні продукти, нМоль/мл	К	4,81±0,19	3,59±0,12 [■]	3,53±0,12 [■]
	Д	4,27±0,05	3,20±0,13 ^{■*}	2,95±0,13 ^{■*}

Примітки. У табл. 1 і 2 статистично вірогідні різниці порівняно з контрольною групою тварин * $P \leq 0,05$; статистично вірогідні різниці в межах кожної групи порівняно з початком досліджень [■] $P \leq 0,05$.

Отже, наші дослідження підтвердили дані інших авторів про те, що макромолекули гумінових кислот, маючи у своєму складі фенольні групи, здатні безпосередньо діяти як антиоксиданти, а саме бути донорами електронів для вільних радикалів і перетворювати останні на молекулярні речовини, обриваючи ланцюг вільнорадикальних реакцій та знижуючи в організмі тварин кількість продуктів ПОЛ і окисної модифікації протеїнів [3, 4, 7].

Система АОЗ контролює і підтримує стаціонарний рівень вільнорадикальних процесів в організмі та встановлює оксидантно-антиоксидантну рівновагу. Ланка антиоксидантних реакцій у механізмі захисних процесів є провідною і найбільш потужною, оскільки вони запобігають не тільки розвиткові вільнорадикальних реакцій, накопиченню

супероксиданіонів і пероксидів, але і підтримують високу активність окисно-відновних процесів, забезпечують елімінацію кінцевих кисневих метаболітів із залученням їх до енергетичного обміну й активації процесів синтезу [1, 10]. Дані про особливості функціонування системи АОЗ залежно від віку та фізіологічного стану слід враховувати при забезпеченні збереження й захисту здоров'я тварин. Співвідношення показників стану антиоксидантної системи й інтенсивності процесів пероксидації є об'єктивним критерієм оцінки антиоксидантного статусу та рекомендується для своєчасного виявлення оксидативного стресу в організмі тварин [5, 6].

Система АОЗ на рівні цілого організму представлена ензимами СОД і КАТ як початкового ланцюга захисту від супероксиданіонрадикалів і пероксиду водню, а також кінцевою глутатионовою ланкою – ГП і ГР як захисту і від того ж пероксиду водню, і від органічних гідрпероксидів. ГР забезпечує регенерацію глутатіону з окисненої форми у відновлену, при цьому глутатіон, будучи акцептором активних форм кисню (АФК), здатний інгібувати вільнорадикальне окиснення [1, 10].

Наші дослідження підтвердили, що зниження у крові свиноматок на 10 добу після опоросу концентрації ТБК-активних продуктів і КГП відбувається за рахунок вірогідного підвищення активності СОД і КАТ у межах кожної групи. Так, активність першого ензиму зростала в еритроцитах тварин цього періоду на 11 (контрольна група) і 13% (дослідна група), а другого – на 9 (К) і 11% (дослідна група) відносно періоду до опоросу. Однак на 25 добу після опоросу спостерігалось зниження активності СОД до вихідного рівня (контрольна група) і активності КАТ – на 14 (контрольна група) і 16% (дослідна група) щодо періоду перед опоросом (табл. 2). Отримані дані можуть свідчити про перенапруження та часткове виснаження антиоксидантної системи організму свиноматок під час опоросу, результатом чого є оксидативний стрес.

Таблиця 2

Показники системи антиоксидантного захисту в еритроцитах свиноматок ($M \pm m$; $n=3$)

Показники	Група тварин	Доби		
		14 до опоросу	10 після опоросу	25 після опоросу
СОД, ум.од./мг	К	17,82±0,68	20,01±0,52 [■]	17,22±1,51
протеїну	Д	16,83±0,53	19,30±1,23 [■]	19,45±1,18 [■]
КАТ, ммоль/хв·мг	К	2,18±0,03	2,39±0,04 [■]	1,87±0,02 [■]
протеїну	Д	2,41±0,06*	2,66±0,06 ^{■*}	2,02±0,05 ^{■*}
ГП, нмоль/хв·мг	К	12,91±1,36	7,84±0,84 [■]	8,60±0,43 [■]
протеїну	Д	14,91±1,36	11,75±1,49*	16,76±0,23*
ГР, мкмоль/хв·мг	К	2,28±0,05	1,46±0,06 [■]	1,03±0,04 [■]
протеїну	Д	3,07±0,12	1,56±0,04 [■]	3,19±0,06 ^{■*}
ВГ, мкмоль/л	К	0,063±0,001	0,043±0,001 [■]	0,083±0,001 [■]
	Д	0,067±0,005	0,045±0,005 [■]	0,152±0,002 ^{■*}

Закономірним буде припустити, що, знижуючи в організмі вміст показників вільнорадикальних процесів, БАКД «Гумілід» має підвищувати антиоксидантну активність організму свиноматок. У наших дослідженнях ми не встановили вірогідних змін активності СОД між К і Д групами свиноматок, однак у тварин Д активність ензиму, яка зросла на 10 добу після опоросу щодо вихідного рівня, в подальшому не знижувалась. Гумінова добавка позитивно впливала на активність КАТ, вірогідно підвищуючи її щодо контролю у свиноматок на 10 (на 10%) та 25 (на 8%) доби після опоросу (табл. 2).

Ще одним підтвердженням виникнення оксидативного стресу в організмі свиноматок після опоросу є вірогідне зниження у їхній крові всіх досліджуваних показників

глутатіонової ланки САЗ (ГП, ГР та ВГ) на 10 добу після опоросу стосовно початку дослідю. Так, активність ключового ензиму цієї системи – ГП, як і активність ГР, знижувалася в еритроцитах тварин контрольної групи у цей період в 1,6 разу, а вміст ключового метаболіту глутатіонового редокс-циклу – ВГ спадав у 1,5 разу щодо періоду перед опоросом. На 25 добу після опоросу в еритроцитах контрольних свиноматок встановлено зростання вмісту ВГ в 1,3 разу порівняно з періодом перед опоросом, можливо, за рахунок компенсаторного підвищення його синтезу, але не за рахунок відновлення в ГР-азній реакції, активність якої знизилася у 2,2 разу порівняно з початком дослідю. Зростаючу концентрацію ГПЛ упродовж усього періоду досліджень в еритроцитах свиноматок контрольної групи можна пояснити низькою активністю ГП у їхній крові (табл. 2).

Встановлений нами спад ензиматичної активності системи АОЗ і зростання концентрації ГПЛ у крові свиноматок на 25 добу після опоросу може також бути наслідком переорієнтації обміну речовин у їхньому організмі, яка збігається з початком різкого зниження процесів молокоутворення, починаючи з 21 доби після опоросу [5, 9].

Стосовно свиноматок дослідної групи, то згодовування Гуміліду викликало інтенсифікацію глутатіонової ланки АОЗ у їхній крові. Ми встановили вірогідне підвищення щодо контролю активності ГП на 10 (в 1,5 разу) та 25 (в 1,9 разу) доби після опоросу, ГР – на 25 добу після опоросу – в 3,1 разу, а вміст ВГ зростав у крові дослідних тварин у цей же період – в 1,8 разу. Необхідно зауважити, що у групі дослідних свиноматок активність ензимів глутатіонової ланки, на відміну від контрольних тварин, на 25 добу після опоросу була вищою від вихідного показника (табл. 2).

Отже, дослідження на свиноматках показали, що в кінці поросності та під час лактації в їхньому організмі відбувається активація вільнорадикальних процесів і протягом перших 25 днів після опоросу система АОЗ не встигає повністю відновитися та подолати оксидативний стрес, який виникає. У тварин дослідної групи спостерігається нормалізація вільнорадикальних процесів і активування антиоксидантного захисту, можливо, за рахунок властивості гумінових речовин утворювати хелатні сполуки з металами, зокрема з мікроелементами, та вітамінами. Це дає можливість підвищувати засвоєння тваринами згаданих речовин і є більш ефективним, ніж згодовування кожного компонента корму окремо. Їх використання, з одного боку, може компенсувати дефіцит поживних речовин, а з іншого – стимулювати обмінні процеси в організмі тварин, у тому числі й систему АОЗ організму [3, 7, 11, 12].

У результаті проведених досліджень можна зробити висновок, що активність системи АОЗ тварин дослідної групи була вищою, ніж у тварин, яких утримували на стандартному раціоні. Ці дані можуть бути підтвердженням того, що БАКД «Гумілід» можна розглядати як адаптоген, який, знижуючи рівень вільнорадикальних процесів у крові тварин, зменшує вплив стресових чинників у найбільш критичні періоди життя, а саме поросності й лактації у свиноматок. Слід зауважити, що описані позитивні зміни в організмі свиноматок дослідної групи (зниження концентрації КГП і ТБК-активних продуктів на тлі зростання активності СОД, ГП, ГР і вмісту ВГ), підтримувалися на вищому рівні до 25 доби після опоросу щодо контрольних тварин, а це може бути свідченням пролонгованості її дії на організм (припинення згодовування гумінової кормової добавки – 10 доба після опоросу).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Барабой В. А.* Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы. К.: Фитосоцицентр, 2006. 424 с.

2. Влізко В. В., Федорук Р. С., Ратич І. Б. та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: СПОЛІОМ, 2012. С. 355–369.
3. Степченко Л. М. Регуляторні механізми дії біологічно активних речовин гумінової природи на організм продуктивної птиці // Фізіологічний журнал. 2010. Т. 56. № 2. С. 306.
4. Томсон А. Э., Наумова Г. В., Шурхай С. Ф. и др. Антиоксидантная активность препаратов из торфа и растительного сырья // Природопользование. 2011. № 19. С. 165–169.
5. Чумаченко В. В. Біохімічні та імунологічні основи системи профілактики стресу в свиней: автор. дис. ... д-ра вет. наук. К., 2007. 24 с.
6. Ярован Н. И. Биохимические аспекты оценки, диагностики и профилактики технологического стресса у сельскохозяйственных животных: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2008. 41 с.
7. Kocabağlı N., Alp M., Acar N., Kahraman R. The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield // Poult. Sci. 2002. N 81. P. 27–230.
8. Nurmi J. T., Tratnyek P. G. Design of Quinonoid-Enriched Humic Materials with Enhanced Redox Properties // Environ. Sci. Technol. 2002. Vol. 36. P. 617–622.
9. Pejsak Z. Choroby świń. Poznań: Pol. Wyd. Rol., 2002. 353 p.
10. Sahin E., Gumuslu S. Immobilization stress in rat tissues: Alterations in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system // Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol. 2007. Vol. 144. N 4. P. 342–347.
11. Steinberg C. E. W. Ecology of humic substances in freshwaters // Springer. 2003. P. 332.
12. Ziechmann W. Humic substances and their medical effectiveness // Study of Huminat on the Human RH Line Cells: 12th International Peat Congress. Finland, 2004. T. 2. P. 1205–1208.

Стаття: надійшла до редакції 30.04.13

доопрацьована 11.10.13

прийнята до друку 01.11.13

FREE RADICAL PROCESSES AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN THE PIGS ORGANISM UNDER THE HUMIC SUPPLEMENTS

O. Buchko¹, L. Stepchenko²

¹*Institute of Animal Biology, NAAS of Ukraine
38, V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine*

²*Dnipropetrovsk State Agrarian University
25, Voroshylov St., Dnipropetrovsk 49600, Ukraine
e-mail: buchko_oksana@ukr.net*

The paper deals with data about increasing of high performance animal's adaptive capacity under the intensive technologies of growth during farrowing and lactation. Application of dietary food additive "Humilid" to the diet of sows during the two weeks before and the week after farrowing (23 days) accompanied by reducing of TBA-active products concentration and protein carbonyl groups, increasing of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase activity and content of reduced glutathione in the blood of animals compared to control group. These data suggest about the positive effect of this feed supplement on antioxidant defense system and normalization of free radical processes in the blood of animals, and a better adaptive ability of their organism. Therefore,

biologically active additive “Humilid” can be used as a stress corrector in the most critical periods of development, including prolongation of their action on the animal organism.

Keywords: antioxidant system, “Humilid”, adaptation, weaning free radical processes, pigs, humic addition.

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА ОРГАНИЗМА СВИНЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГУМИНОВОЙ ДОБАВКИ

О. Бучко¹, Л. Степченко²

*¹Институт биологии животных НААН Украины
ул. В. Стуса, 38, Львов 34, Украина*

*²Днепропетровский государственный аграрный университет
ул. Ворошилова, 25, Днепропетровск 49600, Украина
e-mail: buchko_oksana@ukr.net*

В статье раскрывается вопрос повышения адаптационной возможности организма высокопродуктивных животных во время супоросности и лактации. При добавлении гуминовой добавки к рациону свиноматок на протяжении двух недель до и одной недели после опороса (23 сутки) в крови животных снижается концентрация ТБК-активных продуктов и карбонильных групп протеинов, возрастает активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и уровень восстановленного глутатиона относительно контрольной группы животных. Полученные данные свидетельствуют о позитивном влиянии кормовой добавки на систему антиоксидантной защиты и нормализацию свободнорадикальных процессов в крови животных, а также о лучшей адаптационной возможности их организма. Поэтому биологически активную кормовую добавку «Гумилид» можно использовать в качестве адаптагена и стресс-корректора в самые критические периоды развития, учитывая пролонгированность ее действия на организм животных.

Ключевые слова: антиоксидантная система, «Гумилид», адаптация, свободнорадикальные процессы, свиньи, гуминовые вещества.