

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ФОРМЕНІХ ЕЛЕМЕНТАХ КРОВІ ПОРОСЯТ ЗА УМОВ ЇХ КОРЕКЦІЇ

Камбур Марія Дмитрівна

доктор ветеринарних наук, професор
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна
ORCID: 0000-0002-4864-5292
kaf.anatomia@ukr.net

Замазій Андрій Анатолійович

доктор ветеринарних наук, професор,
Полтавський державний аграрний університет, м. Полтава, Україна
ORCID: 0000-0003-3138-0424
kaf.anatomia@ukr.net

За умов проведення корекції стану антиоксидантного захисту організму новонароджених поросят впродовж 7 діб після народження, значно знизилась активність процесів перекисного окислення ліпідів та підвищилась активність системи антиоксидантного захисту. Активність каталази у еритроцитах найменшою виявилась у тварин першої групи після народження, а на 7 добу після корекції вона знизилась в 1,31, 1,33 та 1,31. Пероксидаза після корекції знизилась активність, як і каталаза. Активність ферментів антиоксидантного захисту новонароджених поросят у лейкоцитах на 7 добу після корекції були значними у порівнянні з цими показниками у еритроцитах. Активність каталази у лейкоцитах найменшою виявилась у тварин першої групи після народження і була в 1,12 – 1,15 рази менше, ніж у поросят наступних груп ($p < 0,01$). Активність загальної пероксидази була в 1,12 – 1,03 рази менше в лейкоцитах крові тварин першої групи. Активність СОД у тварин четвертої групи виявилась більше в 1,13 рази ($p < 0,05$). Активність ферментів антиоксидантного захисту новонароджених поросят у тромбоцитах, на сьому добу після корекції змінились наступним чином. Активність каталази становила $0,094 \pm 0,0008$ ммоль/л після корекції і $0,107 \pm 0,0017$ на сьому добу без корекції та становила $0,144 \pm 0,0012$ ммоль/л на першу добу після народження. У поросят 4 групи даний показник також виявся вірогідно більше після корекції, ніж у поросят першої групи (в 1,53 рази, $p < 0,01$). Значно знизилась активність ПО за умов впливу корекції у тромбоцитах крові поросят другої групи до $0,016 \pm 0,0008$ ммоль/л, хоча до корекції вона становила $0,028 \pm 0,0012$ ммоль/л, на третю добу і $0,032 \pm 0,001$ ммоль/л на першу добу. Її активність становила $0,022 \pm 0,0011$ ммоль/л після корекції. Активність ГП у тромбоцитах крові поросят четвертої групи була вірогідно більше, ніж у поросят першої групи, в 1,68 рази, ($p < 0,01$). Корекція позитивно вплинула на процеси антиоксидантного захисту в організмі поросят.

Ключові слова: поросят, захист, каталаза, супероксиддисмутаза, глутатіон.

DOI <https://doi.org/10.32782/bsnau.vet.2023.4.8>

Вступ. Стрес – це природний фізіологічний стан живих істот. Він необхідний для нормальної життєдіяльності біологічних організмів. Виникає в процесі реалізації впливу умов середовища існування. Канадський вчений Ганс Сельє встановив стереотипність відповіді організму на стресові стимули. При цьому реакція не залежить від їхньої природи. Головна роль відводиться нейро-гуморальній системі організму. Основних стрес-реалізуючих систем дві. До них відноситься симпатoadрено медулярна система. Інша система – гіпоталамо-гіпофізо-кортико-адреналова (ГГКАС). Перша є системою аварійної відповіді. Основною ознакою її є викид у кров адреналіну. Цю речовину синтезують наднирники. Одразу після цього активується ГГКАС, що посилює секрецію кортизолу, який здійснює головну захисну функцію, підвищує неспецифічну резистентність організму (Diskinson, & Forman, 2012 ; Danielle, 2012). Інтерес являє вільно радикальне окислення ненасичених жирних кислот. Вони входять до складу біологічних мембран. Перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) викликає необхідність інтенсивного пошуку способів захисту. В першу чергу, це захист

клітинних і субклітинних мембран, оскільки процеси ПОЛ ушкоджуючі діють на ці структури клітин, особливо формених елементів крові (Nabig, 2017; Jenbasev, et al., 2017; Kojima, & Nakayama, 2004).

Низькі концентрації продуктів окислення – необхідні для метаболізму. Прискорення або гальмування процесів ПОЛ призводять до патології і хвороб. Основні причини активації ПОЛ в тканинах живого організму – це нестача в раціоні біоантиоксидантів – токоферолів, селену, аскорбінової кислоти. Антиоксидантна система (АОС) – це потужний механізм захисту (Kotelevtsev, et al., 2013; Lindsey, et al., 2016; Langel, 2015; Mavri, et al., 2014). Він запобігає розвитку лавиноподібних вільнорадикальних та перекисних реакцій в організмі. Ця система включає ферменти. Основним завданням АОС організму є зменшення кількості вільних радикалів до мінімально можливого рівня (Polumbryk, et al., 2013; Romeo & McEwen, 2006; Rogers, et al., 2020). Таким чином, рівень активності системи антиоксидантного захисту в організмі тварин під впливом чинників ендогенного та екзогенного характеру може виступати важливим фактором адап-

тації до змін навколишнього середовища. Підвищена стійкість плода та новонароджених тварин до гіпоксії в значній мірі обумовлено морфофункціональними нейрогуморальними метаболічними змінами, які відбуваються в організмі матері в останню третину вагітності (Uchida, 2000; Spickett, 2013). В цей період в організмі матері активізується гіпофізарно-тиреоїдна система. В крові матері та плода підвищується вміст гормонів кори наднирників, естрогенів, підвищується резистентність еритроцитів до кисневого гемолізу. Вважають, що дані реакції направлені на збереження життєздатності функціональної системи мати-плід в гіпоксичних умовах (Zhu, et al., 2006; Zamazii, 2018). В умовах недостатнього забезпечення тканин киснем для задоволення потреб метаболізму в організмі виникає ланцюг біохімічних і фізіологічних змін. Ці зміни необхідні для забезпечення оптимальних функцій життєво важливих органів в умовах гіпоксії. Відносно висока стійкість плода до гіпоксії в значній мірі обумовлена безперервним його зв'язком з організмом матері. При цьому перехід різноманітних речовин від матері до плода залежить від концентрації їх в крові матері, рівня гемоциркуляції, проникливості клітинних мембран. Важлива роль в даному процесі належить навколоплідним водам. Завдяки їх наявності здійснюється постійний і швидкий обмін речовин між організмом матері і плода.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили в умовах ТОВ НВЦ «Злата» та ветеринарної клініки у м. Київ, з використанням новонароджених поросят.

Були сформовані 4 групи поросят, отриманих від свиноматок у кількості п'яти голів, включаючи в першу групу поросят за номером народження: 1–3 порося, 4–6 порося, 7–9 порося та 10–12 порося.

З метою корекції системи антиоксидантного захисту новонароджених поросят, корекцію проводили впродовж 7 днів після народження тварин, з відбором проб крові на сьому добу корекції.

Корекцію провели з використанням наступної схеми: з 1 по 7 добу впродовж 7 діб внутрішньо вводили поросяткам усіх груп по 1 мл екстракту елеутерококу та корня солодки за допомогою піпетки. Призначали ультрафіолетове опромінення через добу, 4 разово, за допомогою ртутно-кварцової лампи ДРТ-400, з висотою підвіски 2 м від полу, впродовж 25 хв, доза – 300–320 нм.

У формених елементах зразків крові дослідили показники системи антиоксидантного захисту новонароджених поросят, яка стосується в першу чергу активності ферментів антиоксидантного захисту та глутатіонного ланцюга захисту організму.

Визначали активність наступних ферментів у формених елементах крові та використовували реагенти фірми "LACHEMA" Чехія та загальноприйняті методики за І. П. Кондрахіна (1985), Влізлю В.В. (2004), Малахова А.Г. та ін. (1984) та В.І. Левченко (2005).

Визначення активності каталази проводили за методом М.А. Корольок, Л.І. Іванової, І.Г. Майорової, В.Є. Токарева (1988 р.). Принцип методу заснований на здатності пероксид гідрогену (H_2O_2) утворювати з натрію молібда-

том перекисні сполуки жовтого забарвлення, інтенсивність якого залежить від активності каталази в пробі.

Активність каталази у формених елементах крові визначали за формулою: каталаза = $E_k - E_d : E_k \times 100$, де E_k і E_d – оптична щільність контрольної і дослідної проб.

Активність пероксидази визначали за формулою: А ум.од. оптич. густ. $1^*л/с = (E_d - E_k) * 16,08 * 10^6 : 60$. Метод оснований на визначенні швидкості реакції окиснення бензидину пероксидом гідрогену за участі ферменту з утворенням забарвленого комплексу, який має максимум поглинання за 520 нм. Активність супероксиддисмутази визначали за рівнем інгібування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію за наявності NAD H і феназинметасульфату.

Розрахунок СОД проводили за формулою: $(\%) \times 100 = E_k - E_d : E_k \times 100$; де E_k і E_d – оптична густина контрольної і дослідної проб.

Активність глутатіонпероксидази проводили за формулою: А, мкмоль = $(E_k - E_d) * 10,55 * 10^6 * 166,4 : 13100$, де E_d – оптична щільність дослідної пробі; E_k – оптична щільність контрольної пробі. Принцип методу. Глутатіонпероксидаза, відновлюючи гідропероксиди, окиснює відновлений глутатіон, за зменшенням якого в середовищі інкубації визначається активність ферменту.

Під час проведення експериментальних досліджень дотримувалися міжнародних вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.) та відповідного Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447–IV від 21.06.2006 р.

Отриманий цифровий матеріал оброблений статистично за допомогою комп'ютерної програми з визначенням середньої арифметичної (M), статистичної помилки середньої арифметичної (m), вірогідності різниці (p) між середніми арифметичними двох варіаційних рядів за критерієм вірогідності (t) Стьюдента. Різницю між двома величинами вважали вірогідною за $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$.

Результати досліджень та обговорення. За умов проведення корекції стану антиоксидантного захисту організму новонароджених поросят впродовж 7 діб після народження, значно знизилась активність процесів перекисного окислення ліпідів та підвищилась активність системи антиоксидантного захисту. Найбільш значними були ці зниження у формених елементах крові поросят першої групи, це поросята, які народжуються першими. Поросята наступних груп менш чутливі до умов корекції. Можливо, це пов'язано з тим, що на поросят другої – четвертої групи в більшому ступені впливає родовий процес і організм відчуває нестачу кисню. Так, активність каталази у еритроцитах найменшою (табл. 1) виявилась у тварин першої групи і становила $1,004 \pm 0,302$ ммоль/л. У тварин наступних трьох груп вона становила $1,538 \pm 0,404$, $1,608 \pm 0,306$, $1,707 \pm 0,401$ ммоль/л на 7 добу після корекції. До корекції активність даного ферменту була в 1,31, 1,33 та 1,31 рази більше ($p < 0,05$). Подібна активність вияв-

Активність ферментів антиоксидантного захисту новонароджених поросят за умов корекції в еритроцитах, 7 доба (M ± m)

Показники	Групи поросят			
	1–3	4–6	7–9	10–12
К, ммоль/л	1,004±0,302	1,538±0,404	1,608±0,306	1,707±0,401
ПО, ммоль/л	0,099±0,013	0,136±0,018	0,142±0,024	0,154±0,036
СОД, мкмоль/л	101,236±3,324	106,472±3,246	104,568±3,332	106,674±6,026
ГП, ммоль/л	0,086±0,0018	0,094±0,057	0,099±0,023	1,087±0,0017

Примітка: у порівнянні між групами * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001

лена щодо загальної пероксидази. Вона після корекції знизилась активність, як і каталаза. Знизилась вірогідно активність супероксиддисмутази (p < 0,05) у поросят усіх груп.

Активність ферментів антиоксидантного захисту новонароджених поросят у лейкоцитах, на 7 добу після корекції були значними у порівнянні з цими показниками еритроцитів (табл. 2). Активність каталази найменшою виявилась у тварин першої групи – 0,086±0,017 ммоль/л і становила 0,1224±0,054 ммоль/л на першу добу. Вона виявилась в 1,12 – 1,15 рази менше, ніж у поросят наступних груп (p < 0,01). Активність загальної пероксидази була в 1,12 – 1,03 рази менше, в лейкоцитах крові тварин першої групи. Активність СОД була у тварин четвертої групи більше в 1,13 рази. Необхідно відмітити, що ці показники були вірогідними (в 1,13 рази, p < 0,05). Поряд з цим результати досліджень свідчать про значний рівень активності ГП у тварин другої – четвертої групи.

Активність ферментів антиоксидантного захисту новонароджених поросят у тромбоцитах, на сьому добу після корекції змінились наступним чином (табл. 3). Активність каталази становила 0,094±0,0008 ммоль/л

після корекції, 0,107±0,0017 на сьому добу без корекції та 0,144±0,0012 ммоль/л на першу добу після народження. Активність каталази становила 0,106±0,001 та 0,108±0,0016 ммоль/л у тварин 2 та 3 групи. У поросят 4 групи даний показник також виявся вірогідно більше – 0,144±0,0014 ммоль/л після корекції, ніж у поросят першої групи (в 1,53 рази, p < 0,01).

Значно знизилась активність ПО за умов впливу корекції. У поросят першої групи вона (ПО) становила 0,011±0,0001 ммоль/л після корекції, 0,021±0,0011 на 5 добу та 0,026±0,002 ммоль/л на початку досліджу. Значно знизилась активність ПО у тромбоцитах у поросят другої групи до 0,016±0,0008 ммоль/л, хоча до корекції вона становила 0,028±0,0012 ммоль/л на третю добу і 0,032±0,001 ммоль/л на першу добу. А після корекції становила 0,022±0,0011 ммоль/л. Активність ГП у тромбоцитах крові поросят четвертої групи була вірогідно більше, ніж у поросят першої групи, в 1,68 рази (p < 0,01).

Активність компонентів глутатіонного ланцюга антиоксидантної системи захисту новонароджених поросят у еритроцитах, на 7 добу після корекції була наступною. Вміст загального глутатіону в еритроцитах крові поро-

Таблиця 2

Активність ферментів антиоксидантного захисту новонароджених поросят у лейкоцитах за умов корекції, 7 доба (M ± m)

Показники	Групи поросят			
	1–3	4–6	7–9	10–12
К, ммоль/л	0,086±0,017	0,106±0,018	0,094±0,022	0,099±0,027
ПО, ммоль/л	0,008±0,0001	0,009±0,0003	0,0011±0,0001	0,0024±0,0003
СОД, мкмоль/л	20,376±1,732	21,786±1,876	22,794±1,474	23,003±1,303
ГП, ммоль/л	0,0011±0,0001	0,0041±0,0001	0,0044±0,0002	0,0039±0,007

Примітка: у порівнянні між групами * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001

Таблиця 3

Активність ферментів антиоксидантного захисту новонароджених поросят у тромбоцитах за умов їх корекції, 7 доба (M ± m)

Показники	Групи поросят			
	1–3	4–6	7–9	10–12
К, ммоль/л	0,094±0,0008	0,106±0,0011	0,108±0,0016*	0,144±0,0014**
ПО, ммоль/л	0,011±0,0001	0,016±0,0008	0,022±0,0011**	0,024±0,0012**
СОД, мкмоль/л	24,171±1,391	24,593±1,597	24,787±1,737	25,009±1,103
ГП, ммоль/л	0,0032±0,001	0,0036±0,0002	0,0041±0,0003*	0,0054±0,0005*

Примітка: у порівнянні між групами * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001

сят першої групи становила $2,098 \pm 0,436$ мкмоль/100 мл при $2,318 \pm 0,412$ мкмоль/100 мл на 5 добу і був практично на рівні даного показника тварин наступних груп. Необхідно відмітити, що в процесі життєдіяльності поросят, після корекції вміст загального глутатіону у еритроцитах порівняно з першою добою знизилась значно. Продуктів обміну компонентів глутатіонового ланцюгу антиоксидантної системи та їх співвідношення поросят усіх груп у еритроцитах було менше.

Висновки. Корекція стану антиоксидантного захисту організму новонароджених поросят впродовж 7 днів після народження знизила активність процесів перекисного окислення ліпідів та підвищила активність системи антиоксидантного захисту у формених елементах крові.

Активність каталази у еритроцитах на 7 добу після корекції знизилась в 1,31, 1,33 та 1,31. Активність каталази у лейкоцитах найменшою виявилась у тварин першої групи після народження і була в 1,12 – 1,15 рази менше, ніж у поросят наступних груп ($p < 0,01$). Активність загальної пероксидази була в 1,12 – 1,03 рази менше, в лейкоцитах крові тварин першої групи. Активність ферментів антиоксидантного захисту новонароджених поросят у тромбоцитах, на сьому добу після корекції вірогідно знизилась, особливо у поросят 4 групи – в 1,53 рази, $p < 0,01$. Активність ГП у тромбоцитах крові поросят четвертої групи була вірогідно більше, ніж у поросят першої групи, в 1,68 рази ($p < 0,01$). Корекція позитивно вплинула на процеси антиоксидантного захисту в організмі поросят.

Бібліографічні посилання:

1. Diskinson, D. A., & Forman, H. J. (2012). Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem. Pharmacol.* – Vol. 64. – P. 1019–1026.
2. Danielle, K., Pelkonen, O., & Ahokas, T. (2012). Hepatocytes: the powerhouse of biotransformation. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – Vol. 44. – P. 257–265.
3. Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (2017). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chemistry.* – Vol. 249, № 22. – P. 7130–7139.
4. Jenbacev, O., Zhou, V. I., & Ludlow, S. (2017). Fisher Regulation of human placental development by oxygen tensions. *Science.* – Vol. 277. – P. 1669–1672.
5. Kojima, S. K., & Nakayama, H. (2004). Low dose gamma-rays activate immune functions via induction of glutathione and delay tumor growth. *J. Radiat. Res.* – Vol. 45, №1. – P. 33–39.
6. Kotelevtsev, S. V., Orlov, S. N., & Matorin, D. N. (2013). Some priorities and fundamental concepts in contemporary issues of ecological and molecular toxicology, biogeochemistry and ecological geochemistry: ecotoxicants including membranotropic xenobiotics and metals. *Ecological studies, hazards, solutions.* Vol. 19. – P. 122–124.
7. Lindsey, E., Hulbert, S., & Moisés, J. (2016). Stress, immunity, and the management of calves. *Journal of Dairy Science.* Volume 99, Issue 4, P. 3199–3216.
8. Langel, S. N., Wark, W. A., Garst, S. N., James, R.E., McGilliard, M. L., & Petersson-Wolfe, C. S. (2015). Effect of feeding whole compared with cell-free colostrum on calf immune status: the neonatal period. *J. Dairy Sci.* 98:3729–40.
9. Mavri, A., Alessi, M. C., & Juhan-Vague, I. (2014). Hypofibrinolysis in the insulin resistance syndrome: implication in cardiovascular diseases. *J. Intern. Med.* – Vol. 255 (4). – P. 448–456.
10. Polumbryk, M., Ivanov, S., & Polumbryk, O. (2013). Antioxidants in food systems. Mechanism of action. *Ukr. J. Food Sci.* – V. 1. – P. 15 – 40.
11. Romeo, R. D., & McEwen, B.C. (2006). Stress and the adolescent brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – Vol. 1094. – P. 226–234.
12. Rogers, S., Witz, G., & Anwar, M. (2020). Antioxidant capacity and oxygen radicals diseases in the preterm newborn. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* – Vol. 154. – P. 544–548.
13. Spycher, S., Tabataba-Vakili, S., & O'Donnell, V. B. (2007). 4-hydroxy-2,3-trans-nonenal induces transcription and expression of aldehyde reductase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – Vol. 226, № 2. – P. 512–516.
14. Uchida, K. (2000). Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. *Free Radical. Biol. Med.* – Vol. 28, № 12. – P. 1685–1696.
15. Spickett, C. M. (2013). The lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal : advances in chemistry and analysis. *Redox Biol.* – Vol. 1, Iss. 1. – P. 145–152.
16. Zhu, H., Zhang, L., & Xi, X. (2006). 4-Hydroxy-2-nonenal upregulates endogenous antioxidants and phase 2 enzymes in rat H9c2 myocardial cells: protection against overt oxidative and electrophilic injury. *Free Radic. Res.* – Vol. 40, № 8. – P. 875–884.
17. Zamazii, A. A. (2018). Dynamika trombocytarnoho hemostazu tilnykh koriv. [Dynamics of platelet hemostasis of beef cows] *Scientific horizons.* Tom 71, Vyp. 9 – 10, S. 23–29. [in Ukrainian].

Kambur M. D., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Zamazii A. A., Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Poltava State Agrarian University, Poltava, Ukraine

Activity of antioxidant protection enzymes in blood formal elements of piglets under the conditions of their correction

Under the conditions of correcting the state of antioxidant protection of newborn piglets within 7 days after birth, the activity of lipid peroxidation processes significantly decreased and the activity of the antioxidant protection system increased. Catalase activity in erythrocytes was the lowest in animals of the first group after birth, and on the 7th day after correction it decreased to 1.31, 1.33 and 1.31. Peroxidase activity decreased after correction, as did catalase. The activity of enzymes of antioxidant protection of newborn piglets in leukocytes, on the 7th day after correction, were significant in comparison with these indicators in erythrocytes.

Catalase activity in leukocytes was the lowest in animals of the first group after birth and was 1.12-1.15 times less than in piglets of the following groups ($p < 0.01$). The activity of total peroxidase was 1.12-1.03 times lower in blood leukocytes of animals of the first group. The activity of SOD was 1.13 times higher in animals of the fourth group ($p < 0.05$). The activity of antioxidant protection enzymes in platelets of newborn piglets changed as follows on the seventh day after correction. Catalase activity was 0.094 ± 0.0008 mmol/l after correction 0.107 ± 0.0017 on the seventh day without correction and at 0.144 ± 0.0012 mmol/l on the first day after birth. In piglets of the 4th group, this indicator was also more likely after correction than in the piglets of the first group (by 1.53 times, $p < 0.01$). PO activity significantly decreased under the conditions of correction in blood platelets of piglets of the second group to 0.016 ± 0.0008 mmol/l, although before correction it was 0.028 ± 0.0012 mmol/l on the third day and 0.032 ± 0.001 mmol/l on the first a day Its activity was 0.022 ± 0.0011 mmol/l after correction. HP activity in blood platelets of piglets of the fourth group was probably 1.68 times higher than that of piglets of the first group ($p < 0.01$). The correction had a positive effect on the processes of antioxidant protection in the piglets' body.

Key words: piglet, protection, catalase, superoxide dismutase, glutathione.