



Дезінтоксикаційні процеси в організмі корів за умов згодовування нікелю цитрату в останній період тільності та в перші місяці лактації

О. І. Колещук¹, І. І. Ковальчук², М. М. Цап², М. М. Хомин²
okolechuk@ukr.net

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

²Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса 38, м. Львів, 79034, Україна

Наведено експериментальні дані щодо впливу нікелю цитрату, отриманого з використанням нанотехнології, на біохімічні показники крові корів. Тварин було розподілено на три групи. I група — контрольна. Тварини II дослідної групи отримували до основного раціону щоденно на 9-му місяці тільності та в перші два місяці після отелення цитрат нікелю в кількості 0,1 мг /кг сухої речовини (с. р.) корму, а III дослідної групи — цитрат нікелю в кількості 0,3 мг /кг с. р. корму. Встановлено, що додавання до раціону корів на 9-му місяці тільності та в перші два місяці після отелення нікелю цитрату в кількості 0,1 мг/кг с. р. корму (II група) і 0,3 мг /кг с. р. корму (III група) сприяло позитивним змінам деяких біохімічних показників. Зокрема, виявлено зниження вмісту ГПЛ, ТБК-активних продуктів, а також фенольних сполук. Варто відзначити, що згодовування коровам у перший місяць після отелення цитрату Ni призвело до вірогідного зростання у III дослідній групі вмісту гідроперекисів ліпідів на 15,1% ($P<0,01$) на тлі вірогідного зниження на 14,8% ($P<0,05$) рівня ТБК-активних продуктів порівняно з контрольною групою. Згодовування коровам протягом місяця цитрату нікелю у кількості 0,1 мг/кг с. р. корму сприяло підвищенню зв'язування вільних фенолів в організмі зі збільшенням у крові тварин II дослідної групи концентрації їх кон'югованих сполук, зокрема фенолглюкуронідів, на 20,2% ($P<0,05$). Натомість застосування цитрату нікелю у кількості 0,3 мг/кг с. р. корму сприяло більш вираженій активації дезінтоксикаційної функції організму корів з підвищенням концентрації у крові тварин III дослідної групи як фенолсульфатів, так і фенолглюкуронідів, відповідно, на 23,1 і 21,2 % ($P<0,05$) на 1-му місяці порівняно з аналогічними показниками тварин контрольної групи.

Ключові слова: корови, нікелю цитрат, пероксидне окиснення ліпідів, гідроперекиси ліпідів, феноли

Важливою умовою високої продуктивності великої рогатої худоби (ВРХ) є повноцінна збалансована годівля корів у сухостійний період, що забезпечує надалі відмінний фізіологічний стан матері і розвиток плоду та гарантує заплановану продуктивність у період майбутньої лактації.

Відомо, що під час вагітності плацента виділяє високий рівень прогестерону, концентрація якого в крові у цей період зростає [1]. У реакціях синтезу кортикостероїдів з холестеролу використовуються відновні еквіваленти, тому за інтенсифікації продукції естрогенів в організмі корів посилюються пероксидні процеси і нагромаджуються вільні радикали, збільшується кількість продуктів пероксидного окиснення у тканинах і в крові, знижується активність ферментів антиоксидантної системи. Це призводить до порушень у різних ланках метаболізму, що

може негативно впливати на розвиток вагітності, плід і народжених телят [3, 4, 9, 13, 15].

Наноаквахелати з антиоксидантною властивістю можуть бути використані у тваринництві, у харчовій промисловості, медицині, для збагачення кормових, харчових і біологічно активних добавок [8, 9, 12]. Застосування у годівлі тварин карбоксилатів, зокрема цитратів мікроелементів, забезпечує високу біологічну і технологічну ефективність та екологічну безпечність цих сполук [9].

В організмі людини і тварин Нікель входить до складу низки ферментів. Нестача Нікелю призводить до інгібування печінкових ферментів: глюкозо-6-фосфату, лактату, ізоцитрату, малату, глутаматдегідрогенази, дезорганізації функціонування ендоплазматичного ретикулулу гепатоцитів, дихальних процесів в мітохондріях. Нікель також бере участь у регуляції ме-

таболізму гему в печінці й нирках, індукуючи активність гемоксигенази [5–7, 10, 13]. Нікель причетний до структурної організації і функціонування основних клітинних компонентів — ДНК, РНК і білка. Висловлюють припущення про участь Нікелю в гормональній регуляції організму, зокрема в обміні пролактину. Нікель зараховують до біологічних каталізаторів, які активують ряд пептидаз, що діють на азотовмісні сполуки [2, 12].

У зв'язку з цим, метою досліджень було вивчити вплив цитрату нікелю, отриманого методом нанотехнології, на дезінтоксикаційні процеси в організмі корів на 9-му місяці тільності і 2-му місяці після отелення.

Матеріали і методи

Дослідження було проведено в ДП ДГ «Пасічна» Хмельницької обл. на трьох групах корів української чорно-рябої молочної породи по 8 тварин у кожній, 3–4-ї лактації, аналогів за масою тіла, фізіологічним станом, продуктивністю (5,5–6 тис. кг молока за лактацію). Утримання корів було прив'язним у стійловий та пасовищним — у весняно-літній період з нормованою годівлею за живою масою та рівнем продуктивності. Корів контрольної і дослідної груп утримували на прив'язі у типових корівниках з випасанням у літній період на прифермських пасовищах в загальному стаді. Корови I групи (контрольної) отримували основний раціон (ОР), нормований відповідно до фізіологічного стану, продуктивності й маси тіла з урахуванням способу утримання. Тварини II дослідної групи отримували до ОР щоденно на 9-му місяці тільності і в перші два місяці після отелення цитрат нікелю в кількості 0,1 мг Ni/kg с. р. корму, а III дослідної групи — цитрат нікелю в кількості 0,3 мг Ni/kg с. р. корму. Цитрат нікелю отриманий методом нанотехнології від ТОВ «Нанотехнології та наноматеріали» (м. Київ). Водні розчини цитрату нікелю наносили на добу даванку комбікорму щоденно кожній тварині окремо.

Для лабораторних досліджень використовували кров, яку брали з яремної вени один раз у підготовчий період за 30 діб до отелення, на 30- і 60-ту доби лактації. У зразках крові визначали вміст гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) за методом Мирончика В. В. (1984), ТБК-активних продуктів за методом Корабейникової С. Н. (1989) і фенолів за методом Палфія Ф. Ю. (1974), які описані у довіднику [14].

Одержані результати опрацьовували методом статистичного аналізу з використанням комп'ютерної програми *Microsoft Office Excel* і визначенням середніх величин (M), їх відхилень ($\pm m$) та ступеня вірогідності ($P < 0,05$) з використанням коефіцієнта Стьюдента (P).

Результати й обговорення

Як відомо, пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) є процесом безпосереднього перенесення кисню на субстрат з утворенням перекисів, кетонів, альдегідів та інших сполук. Субстратом ПОЛ є поліненасичені жирні кислоти. Проміжними продуктами пероксидації є гідропероксиди ліпідів, які характеризуються високою реакційною активністю і спричиняють пошкоджувальну дію на біомолекули. Пероксиди ліпідів є досить нестійкими і легко підлягають розпаду з утворенням більш стійких вторинних (проміжних) продуктів ПОЛ — спиртів, альдегідів, діальдегідів, ацетону. Кінцевим продуктом пероксидації є ТБК-активні продукти [11]. Зменшення кількості кінцевих продуктів ПОЛ, а саме ГПЛ та ТБК-активних продуктів, свідчить про активацію антиоксидантної системи організму, що сприяє зниженню гідроперексидів, які мають найбільший вплив на структурно-функціональні властивості клітинних мембран ендометрію.

Необхідно відзначити, що згодовування коровам у перший місяць після отелення нікелю цитрату призвело до вірогідного зростання у тварин III дослідної групи вмісту ГПЛ на 15,1% ($P < 0,01$) на тлі вірогідного зниження на 14,8% ($P < 0,05$) рівня ТБК-активних продуктів порівняно з контрольною групою (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові корів ($M \pm m$, $n=3$)

Table 1. The lipid peroxidation products content in the cows' blood ($M \pm m$, $n=3$)

Показник Index	Група Group	Період дослідження / Investigation period		
		Підготовчий Preparatory	Дослідний, місяць згодовування добавки Experimental, months of feeding	
			1	2
Гідропероксиди ліпідів, од.Е/мл Lipid hydroperoxides, U/ml	I	4,59 \pm 0,18	4,64 \pm 0,90	4,54 \pm 0,012
	II	4,69 \pm 0,25	5,59 \pm 0,39	4,35 \pm 0,017**
	III	4,86 \pm 0,35	5,34 \pm 0,13*	4,43 \pm 0,021*
ТБК-активні продукти, нмоль/мл TBARS, nmol/ml	I	3,22 \pm 0,13	4,40 \pm 0,29	2,78 \pm 0,18
	II	3,08 \pm 0,17	4,25 \pm 0,15	2,33 \pm 0,28
	III	3,22 \pm 0,10	3,60 \pm 0,16*	2,32 \pm 0,26

Примітка: тут і далі вірогідність до контролю: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$.

Note: here and further the significance compared to control is: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$.

Згодовування коровам цитрату нікелю протягом двох місяців після отелення сприяло вірогідному зменшенню ГПЛ у крові корів II групи на 4,2% ($P<0,01$), а корів III — на 2,4% ($P<0,05$).

Спостерігали тенденцію до зменшення вмісту у крові ТБК-активних продуктів, які є кінцевим метаболітом ПОЛ, на другому місяці згодовування добавки, що може вказувати на позитивний вплив досліджуваної кількості цитрату нікелю у кількості 0,3 мг/кг с. р. корму на стан антиоксидантної системи за умов його згодовування коровам. Регуляція інтенсивності перекисного окиснення ліпідів здійснюється багатокомпонентною антиоксидантною системою, яка забезпечує зв'язування та модифікацію вільних радикалів, запобігає утворенню і руйнуванню пероксидів. Співвідношення інтенсивності вільнорадикального окиснення та антиокиснювальної активності визначає антиоксидантний статус клітини, тканини та організму загалом. Антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз в організмі у період вагітності може порушуватись, тому що для цього періоду характерне напруження окисно-відновних процесів, зумовлених інтенсивним ростом плода. Тому застосування цитрату нікелю, який стимулює процес кровотворення та підтримує нормальну структуру клітинних мембран, має за мету активувати систему антиоксидантного захисту та відновити баланс АОС-ПОЛ.

Мінеральна добавка у вищенаведених кількостях позитивно впливала на дезінтоксикаційні процеси в організмі тварин як II, так і III дослідних груп, особливо на першому місяці її застосування (табл. 2).

Згодовування протягом місяця цитрату нікелю у кількості 0,1 мг/кг с. р. корму сприяло підвищенню зв'язування вільних фенолів в організмі корів II і III дослідних груп порівняно з контролем. Дослідження концентрації фенолсульфатів і фенолглюкуронідів у крові тварин II дослідної групи свідчить про зростання концентрації їхніх кон'югованих сполук на 1,7% і 20,2% ($P<0,05$) відповідно. Натомість застосування цитрату нікелю у кількості 0,3 мг/кг с. р. корму

сприяло вираженішій активації дезінтоксикаційної функції організму. Зокрема, у крові тварин III дослідної групи вміст як фенолсульфатів, так і фенолглюкуронідів був вищим, відповідно, на 23,1 та 21,2 % ($P<0,05$) на першому місяці порівняно з аналогічними показниками тварин контрольної групи. Підвищення концентрації фенолсульфатів у крові корів II дослідної групи, особливо фенолглюкуронідів у III групі, на фоні незначних коливань величини значень вільних фенолів вказує на посилення дезінтоксикаційних процесів в організмі тварин дослідних груп на тлі застосованої кількості цитрату нікелю.

Впродовж другого місяця згодовування відзначено підвищення концентрації фенолглюкуронідів в II і III дослідних групах на 24% та 27% ($P<0,05$) відповідно. Встановлені міжгрупові різниці можуть свідчити про позитивний вплив нікелю на дезінтоксикаційні процеси в організмі корів після отелення. Очевидно, це може бути зумовлене дією на обмін фенольних сполук відновних процесів в організмі корів у після-отельний період, інтенсивність яких може корегувати цитрат нікелю. Завдяки детоксикаційним механізмам організм тварини здатний нівелювати накопичення надлишкового фенолу утворенням з ним парних сполук, які виводяться з організму з сечею. Підвищення концентрації фенолглюкуронідів у крові дослідних тварин вказує на активування процесу дезінтоксикації. Варто зазначити, що цей процес спрямований більшою мірою до утворення парної сполуки фенолу з глюкуроною кислотою. Незначне підвищення концентрації вільних фенолів у крові тварин дослідних груп не впливає на ці процеси, хоча можна припустити, що згодовування тваринам більшої кількості цитрату нікелю може провокувати додаткове навантаження на детоксикаційну систему організму.

Отже, введення до складу раціону корів на 9-му місяці тільності та в перші два місяці після отелення цитрату нікелю сприяло зниженню вмісту ГПЛ, ТБК-активних продуктів, а також фенольних сполук, що вказує на активізацію дезінтоксикаційних та фізіологічних процесів в організмі тварин.

Таблиця 2. Вміст фенолів у крові корів, ($M\pm m$, $n=3$)
Table 2. The phenols content in the cows' blood ($M\pm m$, $n=3$)

Показник Index	Група Group	Періоди дослідження / Investigation periods		
		Підготовчий Preparatory	Дослідний, місяць згодовування добавки Experimental, months of feeding	
			1	2
Вільні феноли, мкмоль/л Free phenols, $\mu\text{mol/L}$	I	13,57 \pm 0,88	13,24 \pm 0,63	14,65 \pm 0,14
	II	13,40 \pm 2,98	14,56 \pm 1,23	16,22 \pm 2,23
	III	16,22 \pm 1,03	13,90 \pm 0,90	15,72 \pm 2,18
Фенолсульфати, мкмоль/л Phenolsulphates, $\mu\text{mol/L}$	I	19,58 \pm 0,56	21,82 \pm 0,56	24,80 \pm 3,42
	II	18,83 \pm 0,90	22,19 \pm 1,40	22,19 \pm 2,34
	III	17,53 \pm 3,09	26,85 \pm 1,78*	22,94 \pm 3,37
Фенолглюкуроніди, мкмоль/л Phenolglucuronides, $\mu\text{mol/L}$	I	58,08 \pm 2,34	53,57 \pm 3,32	63,48 \pm 3,99
	II	51,32 \pm 2,03	64,38 \pm 1,70*	78,79 \pm 9,75*
	III	59,88 \pm 4,13	64,91 \pm 2,16*	80,59 \pm 5,66*

Висновки

1. Згодовування коровам цитрату нікелю впродовж двох місяців після отелення сприяло вірогідному зменшенню ГПЛ у крові корів II групи на 4,2% ($P < 0,001$), а в корів III групи — на 2,4% ($P < 0,01$).

2. Застосування цитрату нікелю у кількості 0,1 мг/кг с. р. корму зумовлювало зростання вмісту фенолглюкуронідів на 20,2% ($P < 0,05$). Застосування цитрату нікелю у кількості 0,3 мг/кг с. р. корму сприяло підвищенню концентрації у крові тварин III дослідної групи як фенолсульфатів, так і фенолглюкуронідів — відповідно, на 23,1 та 21,2% ($P < 0,05$).

Перспективи подальших досліджень

Вивчення дезінтоксикаційних процесів та перекисного окиснення ліпідів у крові корів для розроблення препарату на основі цитрату нікелю з метою підвищення дезінтоксикаційної здатності та антиоксидантного статусу організму тварин.

1. Bartosz G. Reactive oxygen species: destroyers or messengers? *Biochemical Pharmacology*, 2009; 77 (8): 1303–1315. DOI: 10.1016/j.bcp.2008.11.009.
2. Brucka-Jastrzębska E, Protasowicki M. Elimination dynamics of nickel, administered by a single intraperitoneal injection, in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Acta Ichthyol. Piscat.* 2004; 34 (2): 181–192. DOI: 10.3750/AIP2004.34.2.06.
3. Djordjević VB. Free radicals in cell biology. *International Review of Cytology*. 2004; 237: 57–89. DOI: 10.1016/S0074-7696(04)37002-6.
4. Fedoruk RS, Kravtsiv RY. Physiological mechanisms of adaptation of animals to environmental conditions. *Animal biology*. 2003; 1 (1–2): 75–82. (in Ukrainian)
5. Forgács Z, Némethy Z, Révész C, Lázár P. Specific aminoacids moderate the effects on Ni^{2+} on the testosterone production of mouse Leydig cells *in vitro*. *Toxicol. Environ. Health A*. 2001; 62 (5): 349–358. DOI: 10.1080/152873901300018075.

6. Hostynek JJ. Sensitization to Nickel: etiology, epidemiology, immune reactions, prevention, and therapy. *Rev. Environ. Health*. 2006; 21 (4): 253–280. DOI: 10.1515/REVEH.2006.21.4.253.
7. Jadhav SH, Sarkar SN, Ram GC, Tripathi HC. Immunosuppressive effect of subchronic exposure to a mixture of eight heavy metals, found as ground water contaminants in different areas of India, through drinking water in male rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2007; 53 (3): 450–458. DOI: 10.1007/s00244-006-0177-1.
8. Kaplunenko VG, Kosinov NV, Polyakova DV. Getting new nutrients and biocidal nanomaterials using erosion-explosive dispersion of metals. Proceedings of the Materials Research and practical conference with international participation "Nanotechnology and nanomaterials in biology and medicine". *SibUPK, Novosibirsk*. 2007: 134–137. (in Russian)
9. Khomyn MM, Fedoruk RS, Kropyvka SY. Biochemical processes in the cows and biological value of milk under the influence of citrate chromium, selenium, cobalt and zink. *Biol. Tvarin*. 2015; 17 (1): 155–162. Available at: <http://aminbiol.com.ua/index.php/archive/129-archive/bt-17-1-2015/1414> (in Ukrainian)
10. Murlooney SB, Hausinger RP. Nickel uptake and utilization by microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*. 2003; 27 (2–3): 239–261. DOI: 10.1016/S0168-6445(03)00042-1.
11. Ponkalo LI. Intensity of peroxidation of lipids and activeness of glutathion system of antioxidant protection in calves and their calves under the influence of new immunotropic medication in the form of liposomal emulsion. *Biol. Tvarin*. 2012; 14 (1): 551–556. Available at: <http://aminbiol.com.ua/index.php/archive?catid=1:2013-02-15-09-09-13&id=175:2013-03-08-08-43-55> (in Ukrainian)
12. Sitar OV, Novitsky NV, Taran NY. Nanotechnology in modern agriculture. *Physics of Living*. 2010; 18: 113–116. (in Ukrainian)
13. Valko M, Morris H, Cronin MTD. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem*. 2005; 12 (10): 1161–1208. DOI: 10.2174/0929867053764635.
14. Vlizlo VV, Fedoruk RS, Ratych IB. *Laboratory methods of investigation in biology, stock-breeding and veterinary medicine: a reference book*. Lviv, Spolom, 2012: 764 p. (in Ukrainian)
15. Vlizlo VV, Kurtyak BM, Vudmaska IV, Vishchur OI, Petruk AP. *Fat-soluble vitamins in veterinary medicine and animal husbandry*. Lviv, Spolom. 2015: 436 p. (in Ukrainian)

Detoxification processes in the cows fed nickel citrate supplement at late pregnancy and first months of lactation

O. I. Koleschuk¹, I. I. Kovalchuk², M. M. Tsap², M. M. Khomyn²
okolechuk@ukr.net

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, 50 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

²Institute of Animal Biology NAAS, 38 V. Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

The article presents experimental data on the effect of nickel citrate obtained using nanotechnology on the biochemical parameters of cows' blood. The animals were divided into 3 groups. Group I was the control one. The animals of the II and III experimental groups received a feed additive of nickel citrate in the amount of 0.1 and 0.3 mg/kg of dry matter of the diet daily during the ninth month of lactation and the first two months after calving. It was found that the addition of both doses of nickel citrate to the transition cows diet contributed to positive changes in some biochemical parameters. A decrease in the content of lipid hydroperoxides, TBA-active products, as well as phenolic compounds was revealed. It should be noted that supplementation cows with nickel citrate in the first month after calving led to a significant increase in the content of lipid hydroperoxides by 15.1% in the third experimental group ($P < 0.01$) against decrease in the level of TBARS by 14.8% compared with the control group ($P < 0.05$). Feeding cows of nickel citrate in the amount of 0.1 mg/kg of dry matter stimulated the binding of free phenols and increased the concentration of their conjugated compounds, particularly phenolglucuronides, in the blood of animals of experimental group II by 20.2% ($P < 0.05$). Instead, the use of nickel citrate in the amount of 0.3 mg/kg of dry matter contributed to a more pronounced activation of detoxification function with increasing concentrations of phenolsulfates and phenolglucuronides in the blood of animals of experimental group III compared with animals of control group by 23.1 and 21.2% ($P < 0.05$).

Key words: cows, nickel citrate, lipid peroxidation, lipid hydroperoxides, phenols