

УДК [574.64+579.64]+597.551.2:577.125

Т.В. МІЩЕНКО¹, А.О. ЖИДЕНКО¹, В.О. АГЕЄВ², Л.В. БОЖОК²¹Чернігівський державний педагогічний університет ім. Т.Г. Шевченка,
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів, 14000²Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН
вул. Шевченка, 97, Чернігів, 14027

РОЛЬ ПРОБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ БПС-44 У КОРИГУВАННІ ПОРУШЕНЬ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ КОРОПА, СПРИЧИНЕНИХ ТОКСИЧНОЮ ДІЄЮ ГЕРБІЦИДУ РАУНДАП

Ключові слова: гербіцид, раундап, пробіотичний препарат, БПС-44, *Bacillus subtilis* 44-р, ліпідний обмін, загальні ліпіди, ліпаза, β -ліпопротеїни

Україна завжди була країною з розвинутим сільським господарством, що передбачало централізоване постачання значних об'ємів добрив та пестицидів у її аграрний сектор. Заборонені пестициди разом з непридатними до використання у великій кількості нагромаджувалися. Тому проблема полягає не лише у сучасному безконтрольному застосуванні засобів хімізації, серед яких відомо близько 370 найменувань пестицидів, а й в утилізації накопичених у минулі десятиліття кількостей. Циркуляція у метаболічних ланцюгах наземних та водних біоценозів сприяла перетворенню пестицидів на екологічно небезпечний фактор середовища, вагомий для людини.

Дослідження їх впливу на гідробіонтів, зокрема рибу, набуває суттєвого значення, в тому числі при оцінюванні можливості використання риби в якості продукту харчування людини. Разом з тим виникає зацікавленість щодо можливості знешкодження та запобігання токсичного впливу пестицидів на організм риби. Відомо, що ефективним засобом компенсації несприятливих зовнішніх впливів на рибу при її штучному розведенні може бути застосування пробіотиків – живих мікроорганізмів, що підвищують імунітет, беруть активну участь у процесах травлення, сприяють покращенню нормофлори [5, 7]. Пробіотичні мікроорганізми належать до різних груп, здавна успішно використовуються в медицині та ветеринарії і знаходять своє застосування в рибництві: спороутворюючі бактерії, азотобактерії, лактобактерії, біфідобактерії та ін. [5]. Така практика дозволила набагато скоротити або взагалі відмовитись від застосування антибіотиків і хіміопрепаратів, покращити імунофізіологічний статус риби і отримувати екологічно чисту продукцію [7]. Пробіотичний препарат БПС-44 застосовується у практиці ветеринарної медицини і тваринництва з метою профілактики та лікування захворювань шлунково-кишкового тракту сільськогосподарських тварин, а також для збільшення приростів молодняку свиней та ВРХ на відгодівлі [1]. Останнім часом отримані дані щодо позитивного впливу препарату на клітинну ланку імунітету та антиоксидантну систему молодняку ВРХ [4].

Мета наших досліджень – встановити можливість компенсації впливу 2 ГДК раундапу ($0,04 \text{ мг/дм}^3$) на ліпідний обмін в організмі коропа за допомогою пробіотичного препарату БПС-44.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом дослідження слугували цьогорітки коропа лускатого *Cyprinus carpio* L., вирощені ВАТ «Чернігіврибгосп». Риба була розміщена у 200 л акваріумах з відстояною водопровідною водою (з розрахунку 1 екземпляр на 20 літрів води), у трьох варіантах: контроль, дія 2 ГДК гербіциду та сумісний вплив гербіциду і пробіотичного препарату (у воду, крім вказаного гербіциду, за 2 доби до його внесення, додавали суспензію препарату БПС-44). У роботі використано: гербіцид раундап (N-Фосфонометилгліцин, гліфосат), концентрацію 2 ГДК ($0,04 \text{ мг/дм}^3$), яку створювали шляхом внесення розрахованих кількостей 3% розчину раундапу, підтримували протягом 14 діб; препарат бацилярний субтіліс БПС-44 (із розрахунку 125 млн. клітин/л води), що є концентратом сінної палички, виготовлений Інститутом

сільськогосподарської мікробіології УААН на основі штаму *Bacillus subtilis 44-p*.

Вміст сумарних ліпідів визначали у печінці, мозку та білих м'язах за методом [3], в основі якого – здатність продуктів розщеплення ненасичених ліпідів утворювати з фосфованіліновим реактивом сполуку, інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмісту загальних ліпідів. Рівень катаболізму ліпідів визначали за активністю у тканинах ліпази – основного ферменту розщеплення запасних ліпідів для енергетичних потреб. Активність ліпази визначали мікрометодом, за яким в якості субстрату використовували суспензію вершків і створювали оптимальні умови для дії ферменту [3]. Вміст β -ліпопротеїнів визначали осадженням їх в сироватці крові за допомогою гепаринового реактиву. Утворену мутність фотометрували, калібрування проводили шляхом визначення вмісту холестеролу в осаді β -ліпопротеїнів згідно інструкції до лабораторного набору «Bio-lachema-test».

Результати досліджень та їх обговорення

В результаті проведеного експерименту було встановлено, що ліпідний обмін коропа зазнає змін порівняно з контролем як за впливу раундапу, так і за комплексного впливу раундапу та пробіотику. Так, дія раундапу призводить до накопичення ліпідів у тканинах коропа і особливо в печінці: на 7-му добу експерименту вміст ліпідів у м'язах збільшується в 1,4 рази щодо контролю, на 14-ту – збільшення не було виявлено; в печінці кількість ліпідів зростає в 1,8 рази на 7-му добу і в 2 рази – на 14-ту (рис. 1).

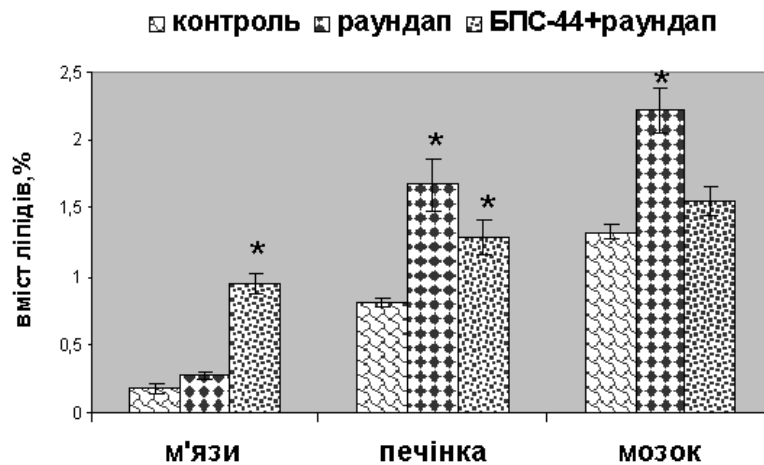


Рис. 1. Зміни вмісту загальних ліпідів у тканинах цьогорічок коропа унаслідок впливу раундапу та сумісного впливу пробіотику і раундапу (* – дані достовірно відрізняються від контролю, $M \pm m$, $n=5$, $P < 0,05$)

Оскільки відомо, що в печінці у нормі може знаходитися лише обмежена кількість жирів, а основна їх частина переноситься до жирових депо й інших тканин, такі зміни в печінці можна вважати патологічними. Більше того, риба перебувала на ендогенному живленні і жиронакопичення не є характерним для такого стану, а тому воно відбувалося в результаті змін ліпідного обміну, спричинених дією раундапу. Жирове накопичення в печінці виникає як наслідок порушення балансу синтезу і розпаду жирів, а також виводу їх із паренхіматозних клітин печінки. При токсичному ураженні цього причиною може бути прискорення мобілізації резервних жирів, внаслідок чого відбувається затримка жиру в печінці, а також зниження здатності пошкоджених гепатоцитів розщеплювати жирні кислоти. Гепатоцити відіграють провідну роль в обміні жирних кислот і жирів [2]. Крім того, блокування активності ліпази (К.Ф.3.1.1.3; фермент каталізує гідроліз ефірів гліцерину) також може бути однією з причин жиронакопичення, тому її активність нами також була досліджена. Встановлено, що активність ліпази в даному випадку закономірно знижується: на 7-му добу в 1,3 рази, на 14-ту – в 2,8 рази порівняно з контролем у м'язах, в печінці – в 3 рази на 7-му добу, на 14-ту – наближається до контрольних значень (рис. 2).

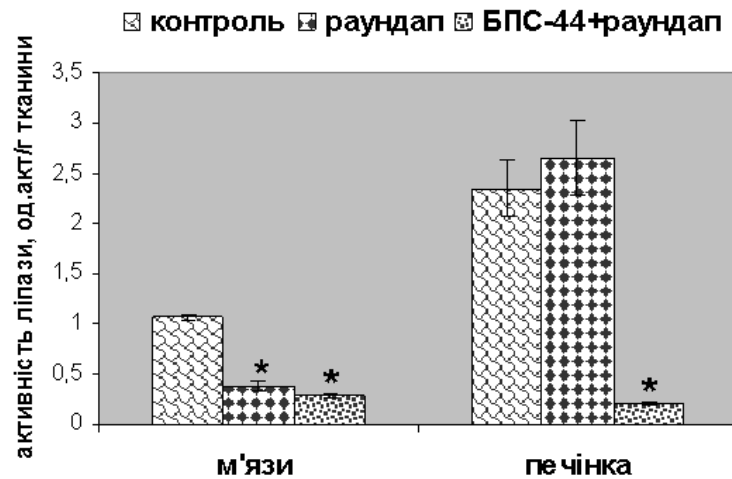


Рис. 2. Зміни активності ліпази у тканинах цьогорічок коропа унаслідок впливу раундапу та сумісного впливу пробіотику і раундапу

В мозку при дії раундапу також спостерігається збільшення концентрації загальних ліпідів (7-ма доба – в 2,6 рази, 14-та – в 1,7 рази) (рис. 1), що, можливо, пояснюється зростанням рівня поліненасиченості вищих жирних кислот в складі фосфоліпідів мозку або збільшенням концентрації фосфоліпідів в цілому, що є також характерною ознакою впливу патогенних чинників на організм [6].

Результати комплексного впливу раундапу і пробіотику свідчать про те, що бациллярний препарат значною мірою протидіє розбалансуванню ліпідного обміну і, відповідно, може бути протектором патології. Щодо загальних ліпідів, то їх кількість у мозку наближена до контролю (рис. 1), в інших органах спостерігається збільшення вмісту жирів, але позитивним порівняно з жиронакопиченням при дії раундапу окремо є те, що у печінці зростання їх кількості значно менше (в 1,6 рази), тобто є виведення надлишкового жиру до жирових депо, про що свідчить суттєве зростання кількості резервних ліпідів у м'язах порівняно з контролем (рис. 1). Головною причиною появи запасного енергетичного матеріалу, насамперед, може бути утилізація пробіотичного препарату рибою. Відомо, що велика рогата худоба засвоює січну паличку, яка є для неї джерелом білку.



Рис. 3. Зміни вмісту β -ліпопротеїнів у сироватці крові цьогорічок коропа унаслідок впливу раундапу та сумісного впливу пробіотику і раундапу

Ферментні системи печінки здатні здійснювати регуляцію ліпідного обміну цілого організму. Тісно поєднані процеси обміну жирів у печінці та жирових депо [2]. Дія пробіотичного препарату відновлює цю здатність. Результати по встановленню активності ліпази в умовах сумісної дії БПС-44 і раундапу засвідчили її зниження у м'язах в 3,7 рази, у

печінці – в 11,8 рази порівняно з контролем (рис. 2). Такі зміни можна вважати закономірними, зважаючи на той факт, що за цих умов відбувається синтез резервних жирів у м'язах внаслідок споживання рибою пробіотичного препарату, на відміну від контрольних риб, які голодували.

Надлишок жиру з печінки виводиться у складі ліпопротеїнів дуже низької густини (ЛДНГ), які утворюються в ендоплазматичному ретикулумі печінки і разом з кров'ю надходять до капілярів позапечінкових тканин, де під дією ліпопротеїнліпази жири гідролізуються, і жирні кислоти переносяться в клітини [2]. Порушення виведення жирів із печінки у складі ліпопротеїнів – ще одна причина її жирового переродження, тому визначення цього показнику ми також вважали за доцільне. Після віддачі жиру тканинам ЛДНГ перетворюються у плазмі в ЛНГ (ліпопротеїни низької густини), які містять до 50% ефірів холестеролу. ЛНГ захоплюються клітинами різних тканин, де холестерол включається до складу мембран або використовується для утворення стероїдних гормонів чи вітаміну Д. Надлишок холестеролу переноситься від позапечінкових тканин до печінки у складі ЛВГ (ліпопротеїнів високої густини) [2]. Нами визначено вміст ЛНГ у сироватці крові коропа в усіх варіантах досліду. Відмічено, що в результаті нормалізації обміну ліпідів в організмі коропа (суттєво знижується жиронакопичення у печінці), зростає виведення жиру у складі ліпопротеїнів, оскільки концентрація ЛНГ в сироватці зростає в 4,3 рази порівняно з контролем (рис. 3). Тим більше, синтез жирів у печінці стимулюється надходженням в організм риби поживних речовин. Протилежна тенденція спостерігається у випадку з чистим гербіцидом – зниження концентрації ЛНГ в 1,2 рази відносно контрольної групи риб (рис. 3), що може бути пов'язано з порушенням виведення ліпопротеїнів з печінки та зробити свій внесок у процес аномального жиронакопичення.

Висновки

Пробіотичний препарат БПС-44 значною мірою нівелює токсичний вплив гербіциду раундап на рівні ліпідного обміну у цьогорічок коропа лускатого: спостерігається суттєва нормалізація обміну жирів, його збалансування (особливе значення має зниження жиронакопичення у печінці), що зумовлює можливість використання даного пробіотику як протектора. Подальші дослідження у даному напрямі стосуватимуться можливості використання БПС-44 з метою коригування порушень метаболічних процесів коропа внаслідок шкідливого впливу гербіцидів.

1. Агеев В. О. Антиоксидантний та імунний статус молодяку ВРХ за дії пробіотичних препаратів БПС-44 та БПС-Л / [Агеев В. О., Дерев'яно С. В., Дяченко Г. М. та ін.] // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. – 2008. – Т. 10, № 3. – Ч. 1. – С. 10–17.
2. Гонський Я. І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укр.академкнига, 1999. – 750 с.
3. Давыдов О.Н. Патология крови рыб / О.Н. Давыдов, Ю.Д. Темниханов, Л.Я. Куровская. – К, 2005. – 210 с.
4. Дерев'яно С. В. Застосування пробіотичного препарату БПС-44 у тваринництві / [С. В. Дерев'яно, Г. М. Дяченко, А. О. Бокун та ін.] // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького. – 2003. – Т. 5, № 3. – Ч. 2. – С. 17-23.
5. Лукьянова Н.А. Пробиотические препараты и микроорганизмы, обладающие пробиотическими свойствами, применяемые в рыбоводстве // Рациональное использование пресноводных экосистем – перспективное направление реализации национального проекта «Развитие АПК» (2007, Москва). / Межд. Науч.-практ. конф., 17-19 декабря 2007 г.: мат-лы и докл. / ГНУ ВНИИР Россельхозакадемии. – М.: Изд-во Россельхозакадемии, 2007. – С. 177-180.
6. Маргітич В.М., Гула Н.М. Природа компенсаторних змін ліпідому за патологічних станів у людини // Матеріали ІХ Українського біохім. з'їзду: Тез. доп., Харків, 24-27 жовтня 2006 р. – К., 2006. – Т. 2. – С. 13.
7. Юхименко Л.Н. Антибиотики и пробиотики в аквакультуре // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси: [Сб. науч. тр.] / Л.Н. Юхименко, Л.И. Бычкова, А.В. Пименов. – Минск: РУП «Институт рыбного хозяйства», 2008. – С.504-506.

T.V. Mishchenko, A.O. Zhydenko, V.O. Ageev, L.V. Bozhok
Chernigov State Pedagogical University, Ukraine
Institute of Agricultural Microbiology of AAS of Ukraine, Chernigiv

THE ROLE OF PROBIOTIC BPS-44 IN CORRECTING CARP LIPID EXCHANGE FAILURES AS RESULT OF TOXIC HERBICIDE ROUNDUP ACTION

Probiotic BPS-44 greatly prevents toxic herbicide roundup influence on lipid exchange level of carp 0+. Can be seen large lipid exchange normalization, its balancing (separate meaning has lipid depositing decreasing in hepar), which leads to opportunity this probiotic using as protector.

Keywords: herbicide, roundup, probiotic, BPS-44, Bacillus subtilis 44-p, lipid exchange, total lipids, lipase, β -lipoproteins

Рекомендує до друку
В.В. Грубінко

Надійшла 2.02.2009

УДК [615.224-06:616.36-008.6]+616.37-002-036.11

К.А. ПОСОХОВА, О.З. ЯРЕМЧУК

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського
майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001

**ВПЛИВ L-АРГІНІНУ ТА АМІНОГУАНІДИНУ НА ПОКАЗНИКИ
ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ
ПРИ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ**

Ключові слова: гострий експериментальний панкреатит, печінка, оксид азоту, L-аргінін, аміногуанідин

На сьогодні гострий панкреатит (ГП) поряд з гострим апендицитом і гострим холециститом займає одне з перших місць серед гострих запальних захворювань органів черевної порожнини [12, 13]. Міжнародні дослідження з проблем ГП свідчать, що у містах найчастішою причиною виникнення захворювання (у 35-60 % спостережень) є зловживання алкоголем, у сільській місцевості переважає панкреатит зумовлений жовчокам'яною хворобою [12]. Смертність при ГП складає 12-15 %, а при деструктивних його формах досягає 75 % [8,13].

Розвиток цього захворювання рідко обмежується ізольованим пошкодженням підшлункової залози (ПЗ). Активні панкреатичні ферменти виходять за межі паренхіми ПЗ: в порожнину очеревини, печінку — через воротну вену, в циркулюючу кров — через лімфатичну систему [8, 22, 23]. Саме ранні ускладнення, які супроводжуються порушенням функцій серцево-судинної системи, легень, печінки і нирок становить найбільшу загрозу і є причиною високої смертності [10, 22]. Важкість стану хворих визначається синдромом ендогенної інтоксикації, який призводить до поліорганної недостатності [10]. Печінкова недостатність зустрічається у кожного четвертого хворого з панкреонекрозом, що є причиною смерті при ГП у 40 % випадків [8, 20]. Уражена печінка не в змозі повноцінно виконувати антитоксичну функцію, в зв'язку з чим створюються умови для циркулювання в організмі токсичних метаболітів. Агресія ендотоксинів викликає зміни гістоструктури гепатоцитів, інтенсивності синтезу ДНК в гепатоцитах і їх проліферації вже на ранніх стадія розвитку ГП [20].

Важлива роль у пусковому механізмі розвитку ГП відводиться оксиду азоту [6, 22]. Відомо, що в організмі NO синтезується клітинами з амінокислоти L-аргініну під впливом фермента NO-синтази (NOS). Відомо три ізоформи, названі відповідно до типу клітин в яких вони були вперше виявлені, кожна з них кодується власним геном: нейрональна (nNOS), індукцйбельна (iNOS) і ендотеліальна (eNOS). Конститутивна NOS (cNOS), яка включає дві