

продукта. Поэтому был использован способ получения хитозана, при котором процесс дезацетилирования хитина осуществляется при комнатной температуре не ниже 20-22°C с использованием емкостей из обычной пищевой нержавеющей стали или полимерных материалов, концентрация раствора гидроксида натрия снижена до 35-40% (ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», патент № 21167733). Мягкие условия обеспечивают высокие уровни вязкостных характеристик полимера и степени дезацетилирования, при этом максимальные значения вязкости приходятся на 15–20-е сутки, а СДА – на 15–25-е сутки выдержки хитина в растворе гидроксида натрия (табл. 1).

Таблица 1-Характеристика хитозана из куколок дубового шелкопряда

Цвет	Влага, %	Зола, %	Степень дезацетилирования, %
Светло-коричневый	8-10	1-2	80-85

В работе использованы методики определения адсорбционной активности по метиленовому синему (ТУ- 6- 09- 29- 76) и альбумину в вари-антах, адаптированных к анализу энтеросорбентов (Решетников, 2003). Аналитическая детекция концентраций МС и альбумина проводилась с помощью спектрофотометрии (СФ-2000) (табл. 2).

Согласно данным таблицы 2, адсорбционная способность хитозана после обесцвечивания как по метиленовому синему, так и по альбумину самая высокая по сравнению с хитином и необесцвеченным хитозаном, что свидетельствует о его перспективности в качестве адсорбента.

Известна низкая токсичность хитина и хитозана (Щелкунов, 2001). Изучение биологических свойств хитина и его производных показало эффективность его применения при лечении гастрита и язвенной болезни желудка. Также зафиксировано антикоагулянтное, противоопухолевое и ранозаживляющее действие препарата.

Таблица 2-Адсорбционная активность хитина и хитозана из куколок и экзувиев дубового шелкопряда

Объект	Адсорбционная способность, мг/г		
	По метиленовому синему	По альбумину	
		относительно раствора сравнения	относительно водного извлечения
Хитин из экзувия	37,8±2,1	7,3±0,5	10,1±0,3
Хитин из куколок	16,3±3,8	16,7±1,5	14,6±1,6
Хитозан	19,6±2,2	20,6±1,6	18,8±1,2
Хитозан, после обесцвечивания	22,8±5,3	30,8±3,0	27,4±3,3

Уровень исследований токсико-гигиенических и функционально-технологических свойств хитозана на данном этапе недостаточен для обоснования рекомендаций его использования как лечебно-профилактической (энтеросорбент, иммуномодулятор, радиопротектор, антисклеротический и антиартрозный фактор, регулятор кислотности желудочного сока) добавки к пище человека и полезных животных.

Учитывая ценность хитозана и его производных и предлагаемый нами источник получения хитозана из культуры китайского дубового шелкопряда для использования в качестве энтеросорбента весьма перспективен.

Литература. 1. Денисова С.И. Теоретические основы разведения китайского дубового шелкопряда в Беларуси. – Мн.: УП «Технопринт», 2002. – 234 с. 2. Литвинков А.А. Биологическое обоснование разведения китайского дубового шелкопряда на иве в условиях Беларуси: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Витебск: ВГПИ, 1984. – 20 с. 3. Решетников В.И. Оценка адсорбционной способности энтеросорбентов и их лекарственных форм. //Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – №5. – С. 28-32. 4. Соболев З.Н. Дубовый шелкопряд в Белоруссии: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Витебск: ВГПИ, 1988. – 20 с. 5. Щелкунов Л.Ф. Механизм сорбции экологически вредных веществ растительными клеточными стенками. // Экология докпілля та безпека життєдіяльності. – 2001. – №4. – С. 83-86.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЕ СООТНОШЕНИЯ В КРОВИ ГУСЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА

Радченко С.Л., Германович Н.Ю., Никандров В.Н., Бирман Б.Я.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»

РНИУП «ИЗВ им. С.Н. Вышелесского НАН Б», г. Минск, Республика Беларусь

До настоящего времени недостаточно изученной является роль окислительных процессов и антиоксидантной системы в формировании иммунного ответа на различные виды вакцин, www.vsavm.by

применяемых в животноводстве и птицеводстве. Применение, как живых, так и инактивированных вакцин вызывает напряжение иммунитета у вакцинированных животных и птиц. Известно, что функционирование иммунной системы тесно связано с протеканием окислительных процессов: образование активных форм кислорода (АФК) в организме происходит в условиях нормальной активности клеток – фагоцитов, моноцитов, эозинофилов крови и тканевых макрофагов [1]. В ответ на воздействие бактерий и ряда химических веществ на рецепторы клеточных фагоцитов происходит резкое возрастание скорости образования супероксидных радикалов этими клетками с одновременным повышением потребления ими O_2 иногда более чем в 20 раз [2,3]; образующийся в лимфоцитах ОН⁻ является одним из активаторов запуска клеточной пролиферации и дифференциации. Поэтому его удаление из клетки с помощью «перехватчиков» приводит к ингибированию митогенеза [4,5].

Однако, хотя ПОЛ (перекисное окисление липидов) на стационарном уровне является нормальным физиологическим процессом, а пероксиды - продуктами обмена метаболизирующих клеток [6], пусковые и защитные системы, не допускающие нарушения стационарного процесса, должны функционировать на любой стадии окисления [7]. При повышении концентрации активных форм кислорода и продуктов ПОЛ выше физиологически необходимой, возможно нарушение метаболических процессов (продукты ПОЛ ингибируют лактатдегидрогеназу, сукцинатдегидрогеназу, цитохромоксидазу, трипсин, папаин, РНК-азу и др. и возникновение патологических состояний [8]. При иммунном ответе усиливаются пролиферативные процессы, в частности, синтез иРНК, а одной из основных «мишеней» свободных радикалов служат нуклеиновые кислоты и белки [8]. Избыточная активация свободнорадикальных процессов в результате повышенного образования в биофазе активных форм кислорода сопровождается нарушением рецепторных взаимодействий и деструктивными изменениями в системе как клеточного, так и гуморального иммунитета. Кроме того, не только свободные радикалы, но и продукты ПОЛ, такие как малоновый диальдегид (МДА), *in vivo* реагируют с нуклеиновыми кислотами, белками, фосфолипидами. Реакции МДА с нуклеиновыми кислотами идут преимущественно по N-атому гуанина или цитозина с образованием циклических производных [9]. Реакции с белками и аминокислотами идут главным образом по свободной аминогруппе с образованием 1:2 аддуктов [9]. Аналогично 1:1 и 1:2 аддукты образуются в реакциях с фосфатидилсеринем и фосфатидилэтаноламином. Показано также, что эндогенный МДА, реагируя с фосфатидилсеринем и фосфатидилэтаноламином эритроцитарной мембраны, способствует миграции этих фосфолипидов с внутренней стороны бислоя к наружной, увеличивает мембранную проницаемость [9]. Поскольку формирование иммунитета тесно связано с окислительными процессами, интерес представляет изучение концентраций продуктов ПОЛ и активности некоторых антиоксидантных ферментов при вакцинации гусят инактивированной эмульсион-вакциной против пастереллеза и сочетанного применения этой вакцины с иммуномодуляторами – тималином и калия оротатом.

Материалы и методы. Исследования проведены на 60 гусятах-аналогах 13-37-дневного возраста, разделенных на 4 группы, по 15 птиц в каждой. Интактная птица 1-ой группы служила контролем. Гусят 2-ой группы иммунизировали эмульсион-вакциной против пастереллеза согласно временному наставлению по ее применению, в 16-дневном возрасте, 1-кратно, подкожно, в дозе 0,5 мл в область нижней трети шеи. Гусят 3-ой группы иммунизировали совместно с иммуностимулятором тималином в дозе 1 мг/кг массы тела птицы. Предварительно 10 мг тималина растворяли в 10 мл вакцины. Гусьям 4-й группы вакцину вводили совместно с иммуностимулятором калия оротатом. Его задавали перорально в течение семи дней (за 3 дня до иммунизации и 4 дня после иммунизации) в дозе 15 мг/кг массы один раз в сутки.

На 7-ой, 14-й и 21-й дни после вакцинации по 5 гусят из каждой группы убивали.

Получение крови осуществляли с соблюдением правил асептики и антисептики в стерильные пробирки [10]. Кровь стабилизировали гепарином (2,0–2,5 Ед / мл). Эритроцитарную массу после отделения плазмы ресуспендировали в охлажденном изотоническом растворе натрия хлорида и повторно центрифугировали. Процедуру повторяли трижды для полного удаления плазмы. Полученные отмытые эритроциты хранили в холодильнике при температуре +4°C не более 48 часов [11]. Гемолизаты готовили непосредственно перед определением активности ферментов и содержания субстратов добавлением к эритроцитарной массе бидистиллированной воды.

Определение активности каталазы проводили по методу Королюк М.А. с соавт. [12]. Принцип метода основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

Активность глутатионпероксидазы с перекисью водорода в качестве субстрата определяли методом Nafeman D.D. et al [13]. Активность СОД определяли по методу Костюк В.А. с соавт. - спектрофотометрический метод определения активности СОД, основанный на определении степени торможения реакции окисления кверцетина [14]. За 1 условную единицу активности фермента принимали 50% ингибирования. Об интенсивности ПОЛ судили по количеству ТБК-активных продуктов, определяемых по методу Ohkawa [15].

Статистическую обработку проводили общепринятыми методами с использованием пакета программ «Excel».

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что на 7-ой день после вакцинации гусят инaktivированной эмульсии-вакциной против пастереллеза концентрация диеновых конъюгатов (первичных продуктов перекисного окисления) статистически достоверно не изменялась, а малонового диальдегида, выявляемого по реакции с тиобарбитуровой кислотой, увеличивалась в 1,4 раза по сравнению с контрольной группой и составила $312,2 \pm 28,23$ нмоль/г плазмы крови. В последующие сроки наблюдалось повышение показателя в 1,47, 1,52 раза по сравнению с контролем соответственно на 14 и 21 сутки после вакцинации. Увеличение количества вторичных продуктов перекисного окисления липидов при практически неизменной концентрации первичных продуктов ПОЛ может свидетельствовать о том, что запуск свободнорадикальных реакций после вакцинации происходит на более ранние сроки. Вторичные продукты ПОЛ, в отличие от первичных, более стабильные и поэтому можно регистрировать повышение их уровня и в более поздние сроки. Полученные данные согласуются с литературными данными, характеризующими биохимические изменения при других бактериальных инфекциях: усиление ПОЛ происходит в легочной ткани и плазме при развитии экспериментального туберкулеза легких, при развитии лептоспироза происходит усиление ПОЛ в плазме [16]. Считается, что основная роль в усилении ПОЛ принадлежит эндотоксину, который помимо активации нейтрофилов может непосредственно повреждать эндотелиальные клетки и вызывать нейтрофил-зависимый окислительный стресс [3,16]. Подтверждением усиления перекисного окисления липидов при вакцинации является положительное влияние на иммунную и антиоксидантную системы препаратов с антиокислительным действием селекор и лигфол при введении стелльным коровам вакцины против колибактериоза, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита и супоросным свиноматкам вакцины против сальмонеллеза, колибактериоза и энтеротоксемии свиней [16]. Интенсификацию окислительных процессов при вакцинации отмечают также и другие авторы [17, 18]. Например, Слащилин В.А. и Кардашов А.М. отмечали, что вакцинация телят против инфекционного ринотрахеита вызывает в первые дни увеличение концентрации первичных продуктов ПОЛ и МДА до 40% [18].

У гусят 3-ей группы наблюдалось повышение концентрации МДА в 1,2 раза в плазме крови на 7-ые сутки после вакцинации по сравнению со 2-ой группой. Это может свидетельствовать об усилении тимиолом антиоксидантной защиты. Хотя Слащилин В.А. и Кардашов А.М. при применении тимогена в период вакцинации телят против инфекционного ринотрахеита не обнаружили интенсификации окислительных процессов по уровню МДА [18]. Данные различия могут быть обусловлены видовыми особенностями. В последующие сроки статистически достоверных изменений показателей гусят 3-ей по сравнению со 2-ой обнаружено не было. У гусят 4-ой опытной группы (сочетанное применение вакцины с калия оротатом) статистически значимых различий по сравнению с гусятами 2 группы обнаружено не было.

Активность антиоксидантных ферментов изменялась следующим образом: активность СОД в эритроцитах гусят 2-ой группы снижалась на 7-ой день на 37% по сравнению с контролем, к 21 суткам происходила стабилизация показателя и существенных отличий от контроля не было выявлено. Некоторые авторы указывают на стабилизацию антиоксидантных ферментов в онтогенезе к 22-28 суткам [19]. Снижение активности СОД может быть вызвано повышением концентрации пероксида водорода, который ингибирует фермент по принципу отрицательной обратной связи. Косвенным подтверждением повышения концентрации пероксида водорода может служить также повышенная активность каталазы. Так, активность каталазы в плазме у гусят 2-ой группы была выше по сравнению с 1-ой группой на 45%, 36% и 21% на 7, 14 и 21 сутки после вакцинации соответственно. Активность глутатионпероксидазы в плазме гусят 2-ой группы повышалась по сравнению с 1-ой группой на 25%, 17% и 15% соответственно на 7, 14 и 21 сутки после вакцинации. Это может свидетельствовать о том, что в плазме крови ведущая роль по утилизации пероксидов принадлежит каталазе, а не глутатионпероксидазе. У гусят 3-ей и 4-ой группы на 7-е сутки отмечалось повышение активности каталазы по сравнению с гусятами 2-ой группы на 27% и 15% соответственно.

Заключение.

Вакцинация гусят против пастереллеза вызывает повышение концентрации вторичных продуктов ПОЛ в 1,4, 1,47 и 1,52 раза по сравнению с контрольной группой на 7, 14 и 21 сутки после вакцинации соответственно.

Активность СОД после вакцинации на 7-ые сутки снижается, к 21 суткам происходит стабилизация показателя, активность каталазы и глутатионпероксидазы увеличены во все сроки исследования по сравнению с контролем. Причем увеличение активности каталазы выражено сильнее, что может свидетельствовать о ведущей роли каталазы по утилизации пероксидов в плазме крови гусят.

Литература. 1. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. - Новосибирск: Наука, 1983. - 264 с. 2. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и их роль в организме // Успехи биологической химии. - Т. XXXI. - М., 1990. - С.180-209. 3. Neutrophil activation after burn injury: contributions of the classic complement pathway and endotoxin / Davis C.F., Moore F.D., Rodrick M.L., Fearon D.T., Mannick J.A. // Surgery. - 1987. - V. 102. - №3. - P.477-484. 4. Novogrodsky A., Ravid A., Rubin L. A. Et al. Hydroxyl radical scavengers inhibit lymphocyte mitogenesis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. - 1982. - Vol.79. - P.1171-1174. 5. Зайцев В.В. Свободнорадикальные процессы и метаболизм гидроперекисей в гепатоцитах // Гепатиты: функционально-метаболические свойства: Сб. ст. / Под ред. Л.Д. Лукьянова. - М: Наука, 1985. - С. 125-145. 6. Бори-

Ученые записки УО ВГАВМ, том 42, выпуск 2

сюк М.В., Зинчук В.В., Корнейчик В.Н. Кислород и свободные радикалы // Кислород и свободные радикалы. - Гродно, 1996. - С.4-7. 7. Ursini F. The Multilevel System Against Lipid peroxidation in Living Tissues // Oxygen Free Radicals Shock. Int., Workshop, Florence, May 31-June 1, 1985. - Basel, 1986. - P.9-14. 8. Владимиров Ю.А. Роль нарушения свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов // Пат. физиология и эксп. терапия. - 1989. - №4. - С.7-18. 9. Draper H.H., Hadley M. A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde // Xenobiotica: Taylor and Francis, London, N.Y., Philadelphia. - 1990 - V.20. - №9. - P.901-907. 10. Лабораторные методы исследования в клинике /Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. - М.: Медицина, 1987. - 368 с. 11. Мусатова Н.В., Лопатина Н.И. Влияние условий хранения на перекисное окисление липидов в эритроцитах // Лаб. дело. - 1986. - №12. - С.21-21. 12. Метод определения активности каталазы / Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. // Лаб. дело. - 1988. - №1. - С.16-18. 13. Hafeman D.G., Sundler R.A., Hoekstra W.G. Effect of glutathione dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat // J. Nutrition. - 1974. - V.104. - №5. - P.580-587. 14. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. - 1984. - № 4. - С. 88-91. 15. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Analytical biochemistry. - 1979. - V. 95. - № 2. - P.351-358. 16. Шахов А.Г. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных заболеваний // Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных. - Материалы международной научно-практической конференции 21-23 сентября 2004 года г. Воронеж-Воронеж, 2004. - С.3-10. 17. Жаркой Б.Л., Рецкий М.И. Влияние активных форм кислорода на функциональную активность компонентов иммунной системы // Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных. - Материалы международной научно-практической конференции 21-23 сентября 2004 года г. Воронеж-Воронеж, 2004. - С.40-44. 18. Слацилин В.А., Кардашов А.М. Влияние природного иммуномодулятора на перекисное окисление липидов при вакцинации телят против инфекционного ринотрахеита /Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях - Материалы международной научно-практической конференции 23-25 сентября 2002 г - С.546-547. 19. О.О. Данченко, В.В. Калитка. Механизмы формирования системы антиоксидантной защиты в гусей в эмбриогенезе та ранньому постнатальному періоді /Укр. Біохім журнал, 2002, т.74, №4-С 120-124.

ВИКО-ОВСЯНЫЙ ЗЕРНОСИЛОС В КОРМЛЕНИИ ДОЙНЫХ КОРОВ

Разумовский Н.П., Пахомов И.Я., Ганущенко О.Ф., Кузнецова Т.С.
УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

В соответствии с Госпрограммой развития и возрождения села животноводом нашей республики предстоит в значительной степени увеличить производство молочной продукции. Обеспечить рост производства животноводческой продукции возможно лишь на основе организации прочной кормовой базы, наращивания объемов производства высококачественных кормов и решения проблемы растительного белка. В рационах крупного рогатого скота объемистые корма, прежде всего силос и сенаж, занимают ведущее место. Обычно в хозяйствах республики (особенно в северной части) для силосования используется сырье повышенной влажности, что вызывает изменение процессов брожения в сторону увеличения в силосе уксусной и масляной кислот, а суммарные потери питательных веществ при брожении и с вытекающим соком достигают 30-35 %. Силос в таком случае часто бывает переокисленным, а поедаемость его животными и их продуктивность невысокими [3,6].

Одной из мер улучшения силосуемости растительного сырья является увеличение содержания сухого вещества в силосуемой массе, при этом угнетается деятельность питательных микроорганизмов, резко снижается распад питательных веществ в процессе консервирования и существенно повышается качество готового корма [1,2].

В этом плане одним из наиболее перспективных является безобмолотный способ уборки всей надземной вегетативной массы однолетних зернофуражных растений. Этот способ позволяет повысить содержание сухого вещества в силосуемой массе естественным путем и не требует дополнительных технологических операций. При безобмолотном способе уборки зернофуражных культур затраты труда сокращаются по сравнению с разделным способом в 1,2-1,8 раз, удельные капиталовложения – в 1,5-2, а эксплуатационные расходы – в 1,5 раза [4,5,7].

Цель наших исследований – изучить химический состав и питательность вико-овсяного зерносилоса и эффективность его использования в рационах дойных коров. Эффективность заготовки вико-овсяного зерносилоса и использования его в рационах высокопродуктивных коров определена в производственных условиях ЗАО «Возрождение» Витебской области. Объем заготовки вико-овсяного зерносилоса составлял 1000 тонн. Силосуемая масса убиралась в стадии начала восковой спелости зерна овса кормоуборочными комбайнами Е-281. Урожайность зеленой массы составляла 240 ц/га. Химический состав сырья определялся по схеме общего зоотехнического анализа согласно существующим ГОСТам. Анализ результатов свидетельствует, что химический состав силосуемого сырья отличался довольно высоким содержанием протеина (105 г переваримого протеина на 1 к.ед.), что определялось прежде всего содержанием вики (15-20% в составе травосмеси). Содержание клетчатки в сухом веществе силосной массы составляла 18%. В 1 кг силосной массы содержалось 0,23 – 0,24 кормовой единицы.

После открытия траншеи в конце января провели его органолептическую оценку и изучили показатели химического состава. Результаты анализов зерносилоса показали его высокое качество. Зерносилос имел приятный фруктовый запах, хорошо сохранившуюся структуру, сумма