

МЕТАБОЛІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ПОРОСЯТ ЗА УМОВ ЗГОДОВУВАННЯ ЇМ КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ ДРІЖДЖІВ *Saccharomyces cerevisiae*, ЯКА МІСТИТЬ БІОКОМПЛЕКСИ ХРОМУ

Р. Я. Іскра¹
М. В. Гончар^{2,3}
Г. І. Нечай^{1,2}
І. Я. Максимович¹

¹Інститут біології тварин НААН України, Львів
²Інститут біології клітини НАН України, Львів
³Заміський факультет біотехнології,
Жешувський університет, Кольбушова, Польща

E-mail: inenbiol@mail.lviv.ua

У природному середовищі хром є переважно у двох валентних станах: шестивалентному (хромати та біхромати) і тривалентному (сполуки Cr³⁺). Хромати широко використовують у промисловості, у процесах виробництва сталі, сплавів чавуну, обробки деревини та дублення шкіри. Є багато даних про токсичну, мутагенну й канцерогенну дію Cr(VI).

З'ясовано дію біокомплексів Cr(III) з культуральної рідини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* на обмін протеїнів та вуглеводів, а також систему антиоксидантного захисту в крові поросят у період відлучення від свиноматок. Встановлено, що введення до раціону поросят культуральної рідини, яка містить біокомплекси хрому, спричинює зменшення вмісту сечовини та глюкози у плазмі крові, збільшення концентрації загального протеїну, активності ензимів лактатдегідрогенази, каталази і глутатіонпероксидази та вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах крові. Не було виявлено суттєвих відмінностей між показниками тварин, що споживали культуральну рідину дріжджів, яка містила Cr(III) у формі природно-синтезованих біокомплексів, і таку, до складу якої входив хелатований Cr(III).

Ключові слова: поросята, дріжджі, біокомплекси хрому, протеїн, лактатдегідрогеназа, відновлений глутатіон, ензими антиоксидантного захисту.

У природному середовищі хром є переважно у двох валентних станах: шестивалентному (хромати та біхромати) і тривалентному (сполуки Cr³⁺). Хромати широко використовують у промисловості, у процесах виробництва сталі, сплавів чавуну, обробки деревини та дублення шкіри. У літературі є багато даних про токсичну, мутагенну й канцерогенну дію Cr(VI) [1]. Цитотоксичність Cr(VI) вивчено недостатньо, проте велика кількість досліджень показує, що Cr(VI) індукує оксидативний стрес, ушкодження ДНК, апоптоз клітин і модифіковану експресію генів [1, 2]. Через високу токсичність і канцерогенність хромати дуже небезпечні для навколишнього середовища і здоров'я людини [3], тому актуальною проблемою є розроблення ефективних методів детоксикації сполук хрому(VI). На відміну від сполук хрому з вищою валентністю, похідні Cr(III) не є такими токсичними [4], а в малих кількостях вони потрібні вищим організмам. Cr(III) має важливе значення

для активності інсуліну, що в свою чергу позначається на метаболізмі протеїнів, жирів і вуглеводів. Він активує ензими вуглеводного обміну, знижує рівень ліпідів у плазмі крові, стимулює процес включення амінокислот у молекули протеїнів [2, 5].

Відновлення Cr(VI) до Cr(III) може відбуватися за участю мікроорганізмів [6, 7]. Важливими редуцентами хрому (VI) є дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* [7].

Відомо, що аніони хромату транспортуються у мікробні клітини сульфатспецифічними пермеазами і можуть відновлюватись до сполук Cr(III) клітинними редуруючими системами, через ензиматичні й неензиматичні шляхи. Найпотужнішими неензиматичними відновниками хроматів є аскорбінова кислота, глутатіон і цистеїн [7, 8]. Нещодавно показано, що дріжджі відіграють важливу роль у детоксикації хромату позаклітинною редуцією: Cr(VI) → Cr(V) → Cr(III) з утворенням двох типів стабільних Cr(III)-біохелатованих комплексів [9, 10].

Важливою практичною проблемою є збереження позитивної динаміки росту поросят після відлучення їх від свиноматок [11, 12]. У період відлучення поросята зазнають стресу, який зумовлений власне відлученням, перегрупуванням у зв'язку зі зміною типу живлення, послабленням імунітету, що має наслідком відставання їх у рості та розвитку [13].

Одним із чинників, що справляє позитивний вплив на фізіологічний стан поросят під час відлучення, є повноцінне живлення, збалансоване за складом вітамінів та мікроелементів, серед яких важливого значення в останні роки набуває хром. Додавання хрому може здійснюватись у формі погано засвоюваних неорганічних солей або синтетичних комплексів, зокрема трипіколінату хрому, запропонованого для згодовування ягнятам, телятам та свиням [14–16]. Головною фізіологічною функцією хрому є його опосередкований вплив на дію інсуліну [17, 18]. Хром — компонент фактора толерантності глюкози, який позитивно впливає на її засвоєння клітинами, покращуючи зв'язування інсуліну з відповідним рецептором [17]. Тому хром виявляє низку метаболічних ефектів, більшість з яких стосується змін у толерантності глюкози і опосередковується участю елемента в механізмах дії інсуліну. Дефіцит хрому в організмі людей та тварин може призвести до порушень дії інсуліну [18].

З метою поліпшення засвоєння глюкози крові в стресовий період можна використовувати добавки хрому до раціону тварин. Під час стресу в плазмі крові збільшується вміст кортизолу, порушується метаболізм глюкози, посилюється виділення хрому із сечею [19]. Згодовування дослідним телятам комбікорму з додавання хромовмісних дріжджів [20, 21] або комплексних сполук хрому [20] супроводжувалося зменшенням вмісту кортизолу в сироватці крові. Незважаючи на позитивний ефект у разі введення хрому в раціон телят, у поросят не отримано однозначних результатів.

Метою наших досліджень було з'ясувати дію Cr(III) у формі природно-синтезованих біокомплексів, що містяться в культуральній рідині дріжджів *S. cerevisiae*, інкубованих попередньо з хроматом та хромом Cr(III), на деякі метаболічні характеристики клітин крові поросят під час годівлі їх зазначеними джерелами хрому(III).

Матеріали і методи

Методи отримання природно-синтезованих біокомплексів, що містяться в культуральній рідині дріжджів

Для одержання культуральної рідини дріжджів, збагаченої сполуками Cr(III), використовували промисловий штам дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* «Ензим». Дріжджі вирощували на роторному шейкері при 250 об/хв, температурі 29 °С, у колбах Ерленмеєра (0,5 л), в 100 мл середовища Беркгольдера з таким мінеральним складом (г/л): KH_2PO_4 — 1; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 3,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,5; CaCl_2 — 0,1; залізо у вигляді солі Мора в концентрації 0,2 мг/л та 0,1% дріжджового екстракту «Діфко».

Дріжджові клітини в логарифмічній фазі росту (перша доба) збирали центрифугуванням при 3 000 об/хв, стерильно переносили в свіже середовище, до якого додавали у відповідних кількостях сполуки хрому.

1. *Отримання природно-синтезованих біокомплексів Cr(III) відновленням хромату.* Інкубацію клітин дріжджів (1 мг/мл) з 1 мМ хроматом калію проводили до повного зникнення хромату. Вміст залишкового хромату в культуральній рідині під час інкубації визначали колориметрично дифенілкарбазидним методом [10]. Після інкубації культуральну рідину відділяли від клітин центрифугуванням та заморожували. У процесі заморожування природно-синтезовані біокомплекси Cr(III) сконцентровувались у верхній частині «кріоконцентрату», який під час розморожування відбирали й заморожували повторно [10]. Після кожного циклу заморожування-розморожування відбувалось концентрування біокомплексів Cr(III). Вміст Cr(III) у концентратах виявляли після мінералізації їх аліквоти з використанням пергідролу в кислому середовищі. Концентрацію Cr(III) в мінералізованих зразках визначали із застосуванням хромазурулу S [22].

Для отримання препаратів, які згодовували тваринам, концентрати, що містили біокомплекси Cr(III): 9–10 мМ, у перерахунку на Cr(III), ліофілізували.

2. *Одержання біохелатів неорганічного Cr(III).* Інкубацію клітин дріжджів (1 мг/мл) проводили з 1 мМ хлориду хрому. Рівень хелатування визначали за доступністю Cr(III) в реакції з хромазурулом S [22]. За рівня біохелатування 90–95% культуральну рідину відбирали й заморожували. Біохелати неорганічного Cr(III) збирали «кріоконцентруванням», як описано вище, та ліофілізували для виготовлення препаратів, які безпосередньо

вводили тваринам. Аліквоти «кріоконцентратів» біохелатів Cr(III) мінералізували, визначали в них вміст Cr(III) в реакції з хромазуролом S, який становив 5–6 мМ.

Характеристика дослідних груп тварин

Дослідження проводили на свинофермі учбового господарства Львівського національного аграрного університету на поросятах великої білої породи масою 8,0–10,0 кг під час відлучення їх від свиноматок у 30-денному віці.

Було відібрано 3 групи поросят: контрольна і 2 дослідні. Контрольна група поросят отримувала комбікорм, збалансований за всіма необхідними мікроелементами та вітамінами [23]. Дослідним групам згодували комбікорм з препаратами сконцентрованої ліофілізованої культуральної рідини дріжджів. 1-й дослідній групі призначали препарат, який містив Cr(III) у формі природно-синтезованих біокомплексів, у дозі 250 мкг/кг корму, в перерахунку на Cr(III). Характеристику біокомплексів було наведено нами раніше [24]. 2-га дослідна група споживала препарат сконцентрованої ліофілізованої культуральної рідини дріжджів, яка містила хелатований Cr(III). Тваринам згодували біохелати Cr(III) в дозі 250 мкг/кг корму, в перерахунку на Cr(III). Тривалість уведення препаратів становила 40 діб: з 20- до 60-добового віку.

Визначення деяких метаболічних характеристик клітин крові поросят

Матеріалом для дослідження слугували проби крові поросят, відібрані за 5 діб до їх відлучення, та на 3-тю, 10-, 20- та 30-ту добу після відлучення. Визначали вміст хрому в плазмі крові методом атомно-абсорбційної спектрометрії, активність ензимів протеїнового і вуглеводного обміну, антиоксидантної системи в крові поросят. Вміст протеїну, сечовини та глюкози, відновленого глутатіону, активність гексокінази, лактатдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, супероксиддисмутази, каталази, глутатіон-

пероксидази визначали загальноновизнаними методами [25]. Активність амінотрансфераз — на біохімічному аналізаторі «Біотронік-Н2000».

Результати та обговорення

Згодовування дослідним групам поросят комбікорму з препаратом дріжджів, що містив Cr(III) у формі природно-синтезованих біокомплексів, зумовлює підвищення вмісту хрому в крові тварин через додаткове надходження його з кормом. У поросят до відлучення в контрольній та дослідних групах концентрація мікроелемента в плазмі крові істотно не відрізнялась (табл. 1).

На 3-тю добу після відлучення поросят другої дослідної групи спостерігається достовірно більша (на 19%) концентрація хрому у тварин контрольної групи. У поросят 1-ї та 2-ї дослідних груп на 10-ту, 20- і 30-ту добу після відлучення від свиноматок концентрація хрому в плазмі крові достовірно більша порівняно з тваринами контрольної групи на 13–26%. Порівняння результатів досліджень 1-ї та 2-ї дослідних груп не виявило суттєвих міжгрупових різниць.

Як відомо, хром(III) посередньо лімітує синтез протеїнів [5]. У результаті проведених нами досліджень з'ясовано, що загальний вміст протеїну в плазмі крові поросят контрольної групи у період з 20- до 60-добового віку істотно не змінюється.

За 5 діб до відлучення поросят від свиноматок не було встановлено достовірної різниці вмісту загального протеїну плазми крові у поросят контрольної та обох дослідних груп (табл. 2).

Проте після відлучення поросят від свиноматок концентрація загального протеїну плазми крові достовірно відрізняється у тварин дослідних та контрольної груп. Так, концентрація загального протеїну в плазмі крові поросят на 3-тю і 10-ту добу після відлучення 1-ї та 2-ї дослідних груп порівняно з поросятами контрольної групи була достовірно вищою на 12–20%. На 20-ту і 30-ту

Таблиця 1. Вміст хрому в плазмі крові поросят, мкг/л ($M \pm m$, $n = 3$)

Група	За 5 діб до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Контрольна	0,32±0,02	0,21±0,01	0,24±0,01	0,38±0,01	0,37±0,02
1-ша дослідна	0,33±0,03	0,24±0,01	0,28±0,01**	0,44±0,01**	0,42±0,01**
2-га дослідна	0,32±0,02	0,25±0,01**	0,29±0,01**	0,48±0,02***	0,42±0,01**

Примітка. У цій та інших таблицях статистична достовірність різниць між показниками у тварин дослідної групи порівняно з контрольною: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$.

Таблиця 2. Вміст загального протеїну в плазмі крові, г/л ($M \pm m$, $n = 3$)

Група тварин	За 5 діб до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Контрольна	53,7±2,04	51,8±0,73	53,6±0,64	56,2±1,47	56,6±0,72
1-ша дослідна	57,4±1,63	60,4±1,03**	60,3±1,05**	60,3±1,97	57,0±2,18
2-га дослідна	57,0±0,73	62,7±0,33***	63,5±0,86***	62,9±2,40*	59,6±1,03*

добу в другій дослідній групі спостерігалась достовірно більша концентрація загального протеїну плазми крові, відповідно на 11% та 5%, порівняно з поросятами контрольної групи.

У тварин 2-ї дослідної групи концентрація загального протеїну плазми крові на всіх етапах післястресових досліджень була дещо більша, ніж у першій дослідній групі, що можна пояснити впливом біокомплексів Cr(III), утвореними як у процесі відновлення хромату, так і під час хелатування екзогенного неорганічного хрому(III) [26].

Інсулін завдяки поліпшенню зв'язувальної здатності з рецепторами клітин за допомогою хром(III)-вмісного пептиду хромодуліну [27] більш повною мірою виявляє свою біологічну дію — посилення синтезу протеїну в клітинах.

У процесі дослідження активності амінотрансфераз плазми крові досліджуваних поросят не було встановлено достовірних різниць між тваринами контрольної та обох дослідних груп упродовж усього періоду досліджень (табл. 3). Визначення активності амінотрансфераз плазми крові в сучасній медицині є важливим клінічним тестом, який свідчить про функціональний стан печінки, зокрема про руйнацію під впливом токсичних речовин чи патогенних чинників гепатоцитів, які, руйнуючись, викидають в кров різні ензими, серед яких є й амінотрансферази. З отриманих нами результатів можна зробити висновок, що згодовувані поросяттам препарати культуральної рідини

дріжджів, що містять хром, не спричиняють токсичного ефекту на організм дослідних тварин.

Як відомо, недостатнє надходження енергоємних субстратів у організм поросят, спричинене їхнім стресовим станом, призводить до накопичення в організмі продуктів проміжного обміну — сечовини, сечової кислоти, аміаку, кетонових тіл [26].

Досліджуючи концентрацію сечовини в плазмі крові поросят дослідних та контрольної груп, яка характеризує інтенсивність катаболізму амінокислот у печінці (табл. 4), не виявили достовірних різниць за 5 діб до відлучення та на 3-тю добу після відлучення поросят від свиноматок. Слід зауважити, що вміст досліджуваного метаболіту в плазмі крові після відлучення збільшується порівняно з періодом досліджень до відлучення, що свідчить про процеси посиленого катаболізму амінокислот, спричиненого стресовими чинниками.

Концентрація сечовини в плазмі крові поросят після їх відлучення від свиноматок у 1-й та 2-й дослідних групах достовірно менша порівняно з поросятами контрольної групи на 10-ту добу відповідно на 8% та 6%, на 20-ту добу — на 18% та 14%.

Отже, з цього можна зробити висновок, що додавання препаратів культуральної рідини дріжджів, які містять хром, сприяє нормалізації обміну амінокислот в організмі, порушеного під впливом стресового стану.

Таблиця 3. Активність амінотрансфераз у плазмі крові, мкмоль/л на год ($M \pm m$, $n = 3$)

Група тварин	За 5 діб до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Аланінамінотрансфераза					
Контрольна	0,785±0,062	0,647±0,032	0,764±0,024	0,633±0,030	0,630±0,033
1-ша дослідна	0,685±0,036	0,693±0,006	0,810±0,062	0,669±0,060	0,712±0,031
2-га дослідна	0,667±0,014	0,664±0,024	0,815±0,011	0,570±0,017	0,664±0,013
Аспаратамінотрансфераза					
Контрольна	0,505±0,006	0,470±0,023	0,636±0,034	0,447±0,007	0,442±0,011
1-ша дослідна	0,506±0,033	0,512±0,033	0,630±0,018	0,472±0,012	0,420±0,021
2-га дослідна	0,420±0,007	0,490±0,031	0,647±0,028	0,421±0,007	0,427±0,009

Таблиця 4. Вміст сечовини у плазмі крові, ммоль/л ($M \pm m, n = 3$)

Група	За 5 дів до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Контрольна	4,23±0,05	6,11±0,05	6,35±0,03	6,43±0,03	5,93±0,05
1-ша дослідна	4,31±0,07	6,13±0,04	5,87±0,04***	5,27±0,06***	5,74±0,06
2-га дослідна	4,36±0,04	6,04±0,03	5,97±0,04**	5,53±0,10***	5,66±0,09

Вважають, що енергетичні потреби поросят раннього віку на 80% забезпечуються за рахунок вуглеводів. Відомо, що в період післястресової адаптації основним джерелом енергії для поросят є глюкоза та амінокислоти з розгалуженим ланцюгом. Поряд із цим відомо, що за додаткового введення в організм тварин препаратів хрому посилюються процеси вуглеводного обміну [5].

Дослідження концентрації глюкози плазми крові поросят обох дослідних та контрольної груп до відлучення від свиноматок не встановило міжгрупових достовірних різниць (табл. 5).

Проте вже на 3-тю добу після відлучення поросят контрольної групи від свиноматок концентрація глюкози плазми крові збільшується порівняно з її вмістом перед відлученням. Це зумовлено стресовим станом тварин, під час якого в організмі посилюється розклад глікогену.

Поряд із цим концентрація глюкози в плазмі крові поросят 1-ї та 2-ї дослідних груп достовірно менша, ніж у контрольній групі тварин, на 3-тю, 10- і 20-ту добу після відлучення на 10–15%, що свідчить про стресостійкість тварин після відлучення внаслідок дії сполук хрому.

Механізм зменшення концентрації глюкози в плазмі крові поросят обох дослідних груп під впливом хрому зводиться до більш інтенсивного її використання шляхом гліколізу

та синтезу глікогену. Хромомодулін, до складу якого входить хром, активує інсулінові мембранні рецептори, унаслідок чого інсулін краще зв'язується з рецепторами на клітинних мембранах і довше здатен виявляти свій біологічний ефект [5].

Концентрація вільної глюкози в клітині порівняно невелика, проте більша частина глюкози в клітинах організму міститься у фосфорильованій формі. Цей процес каталізується гексокіназою — ензимом, що запускає гліколіз. Активність гексокінази в лізатах еритроцитів крові поросят 2-ї дослідної групи на 3-тю добу після відлучення достовірно більша на 20% за активність ензиму в тварин контрольної групи (табл. 6).

На 10-ту, 20- та 30-ту добу після відлучення поросят обох дослідних груп спостерігали тенденцію до збільшення активності гексокінази в гемолізатах порівняно з активністю ензиму в тварин контрольної групи.

Досліджуючи активність лактатдегідрогенази в лізатах еритроцитів крові тварин до відлучення контрольної та обох дослідних груп, встановили приблизно однаковий її рівень. Однак, вже на 3-тю добу після відлучення поросят від свиноматок відбувається збільшення активності досліджуваного ензиму в крові тварин 2-ї дослідної групи на 23% порівняно з активністю ензиму в тварин контрольної групи (табл. 7).

Таблиця 5. Вміст глюкози у плазмі крові, ммоль/л ($M \pm m, n = 3$)

Група	За 5 дів до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Контрольна	4,88±0,46	7,48±0,24	6,48±0,42	6,09±0,10	5,65±0,07
1-ша дослідна	5,73±0,12	6,32±0,16**	5,48±0,10**	5,34±0,17***	5,43±0,04
2-га дослідна	4,94±0,14	6,42±0,07***	5,47±0,05**	5,46±0,20**	5,43±0,05

Таблиця 6. Активність гексокінази в лізатах еритроцитів крові, нмоль/(хв · мг протеїну) ($M \pm m, n = 3$)

Група	За 5 дів до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Контрольна	1,85±0,06	1,57±0,21	1,33±0,10	1,38±0,09	1,38±0,09
1-ша дослідна	1,84±0,08	1,84±0,07	1,51±0,20	1,56±0,09	1,40±0,19
2-га дослідна	1,54±0,02	1,88±0,12*	1,66±0,18	1,55±0,01	1,55±0,21

Таблиця 7. Активність лактатдегідрогенази в лізатах еритроцитів крові, нмоль/(хв · мг протеїну) ($M \pm m, n = 3$)

Група	За 5 діб до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Контрольна	12,7±1,59	10,6±0,46	8,1±0,03	4,7±0,23	8,6±0,83
1-ша дослідна	11,7±0,40	11,6±0,49	10,2±0,02***	6,5±0,29**	10,5±0,29
2-га дослідна	14,2±0,71	13,2±0,65*	11,6±0,78**	5,9±0,62	10,3±0,52

На 10- і 20-ту добу після відлучення поросят від свиноматок у першій та другій дослідних групах активність лактатдегідрогенази достовірно перевищує на 25–40% відповідні показники в гемолізатах тварин контрольної групи.

Порівняння рівня активності лактатдегідрогенази між 1-ю та 2-ю дослідними групами показує, що активність досліджуваного ензиму дещо більша у тварин 2-ї дослідної групи порівняно з поросятами 1-ї дослідної групи. Особливо яскраво ці зміни виражені на 3-тю та 10-ту добу після відлучення, що можна пояснити дією природно-синтезованих біокомплексів Cr(III).

Збільшення активності гексокінази та лактатдегідрогенази в лізатах еритроцитів під впливом препарату культуральної рідини дріжджів, що містить біокомплекси хрому, свідчить про посилені гліколіз у зв'язку з енергетичними потребами. Механізм посилення активності досліджуваних ензимів вуглеводневого обміну під впливом хрому пояснюється активуванням цієї ланки обміну речовин інсуліном.

Важливу роль в живому організмі відіграє пентозофосфатний шлях розщеплення глюкози, де утворюються NADPH та пентози. Дослідження активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в лізатах еритроцитів

крові поросят не виявило міжгрупових достовірних розбіжностей у тварин обох дослідних та контрольної груп на всіх етапах досліджень (табл. 8).

У період відлучення поросят від свиноматок спостерігається досить високий рівень активності антиоксидантних ензимів у крові. Очевидно, це пов'язано з активацією обмінних процесів, зміною парціального тиску кисню в тканинах поросят і необхідністю запобігання посиленню процесів пероксидного окиснення ліпідів за цих умов.

Ключовим ензимом у ланці ензиматичного антиоксидантного захисту є супероксиддисмутаза, яка каталізує дисмутацію супероксиду в кисень і пероксид водню. Активність ензиму в лізатах еритроцитів крові поросят достовірно не відрізнялась у тварин контрольної та обох дослідних груп упродовж усього періоду досліджень (табл. 9). Це, у свою чергу, можна пояснити відсутністю в дослідних групах тварин надлишкового утворення токсичних радикалів $O_2^{\cdot-}$.

Пероксид водню як побічний продукт окисних реакцій знешкоджується каталазою. Рівень активності ензиму в лізатах еритроцитів крові поросят контрольної та обох дослідних груп за 5 діб до відлучення від свиноматок однаковий, без достовірних змін (табл. 10).

Таблиця 8. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в лізатах еритроцитів крові, нмоль/(хв · мг протеїну) ($M \pm m, n = 3$)

Група	За 5 діб до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Контрольна	6,56±0,099	5,39±0,169	5,37±0,155	4,77±0,226	4,77±0,226
1-ша дослідна	5,92±0,281	5,16±0,572	5,37±0,330	4,43±0,236	4,43±0,236
2-га дослідна	6,26±0,224	6,23±0,282	5,48±0,093	4,32±0,147	4,32±0,147

Таблиця 9. Активність супероксиддисмутази в лізаті еритроцитів крові, ум. од./мг протеїну ($M \pm m, n = 3$)

Група	За 5 діб до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Контрольна	15,5±0,36	8,6±0,34	10,3±0,87	16,9±0,55	14,9±0,08
1-ша дослідна	17,5±0,89	7,9±0,59	12,2±1,75	13,5±2,64	14,9±0,15
2-га дослідна	15,5±0,33	8,9±0,57	13,5±1,46	13,2±1,20	14,8±0,12

Таблиця 10. Активність каталази в лізатах еритроцитів крові, ммоль/(хв · мг протеїну) ($M \pm m, n = 3$)

Група	За 5 діб до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Контрольна	3,55±0,33	3,65±0,23	2,99±0,02	2,82±0,04	2,82±0,03
1-ша дослідна	3,62±0,40	4,53±0,07**	3,52±0,20*	2,81±0,07	2,80±0,02
2-га дослідна	3,57±0,08	4,22±0,04**	3,52±0,02***	2,87±0,19	2,81±0,13

Після відлучення поросят від свиноматок активність каталази достовірно більша на 15–24% в крові тварин 1-ї та 2-ї дослідних груп на 3-тю та 10-ту добу порівняно з активністю в крові тварин контрольної групи.

Важливою ланкою в ензиматичній системі антиоксидантного захисту є глутатіонпероксидаза, яка каталізує реакції усунення токсичних гідропероксидів за допомогою їх редукції глутатіоном. Встановлено, що на 3-тю і 10-ту добу після відлучення поросят активність ензиму в гемолізатах тварин 1-ї та 2-ї дослідних груп достовірно зростає на 14 — 20% відносно аналогічної активності у тварин контрольної групи (табл. 11).

Збільшення активності ензимів антиоксидантного захисту в еритроцитах крові поросят дослідних груп свідчить про поліпшення функціонального стану ензиматичної ланки антиоксидантного захисту за умов згодування біологічно активних форм хрому.

Основним компонентом глутатіонової системи антиоксидантного захисту є відновлений глутатіон. Встановлено, що після відлучення поросят від свиноматок концентрація відновленого глутатіону в лізатах еритроцитів нижча, ніж до відлучення (табл. 12). Проте у поросят 1-ї та 2-ї дослідних груп на 3-тю, 10- і 20-ту добу після відлучення концентрація відновленого глутатіону в гемолізатах є достовірно більшою порівняно

з його концентрацією у поросят контрольної групи. Поряд із цим, зіставляючи міжгрупові різниці показників 1-ї та 2-ї дослідних груп, виявили, що вміст відновленого глутатіону в тварин 1-ї дослідної групи дещо більший, ніж у поросят 2-ї дослідної групи.

Збільшення концентрації відновленого глутатіону, беззаперечно, є позитивним ефектом, що може забезпечити потреби ензиматичної ланки антиоксидантного захисту у вмісті активного антиоксиданту, для знешкодження токсичних інтермедіатів оксидативних процесів, особливо під час стресових станів.

Таким чином, одержані результати досліджень дають підстави вважати можливим використання продуктів життєдіяльності дріжджів, що багаті на біокомплекси з хромом, як джерела цього мікроелемента в раціоні свиней. Встановлено, що введення культуральної рідини, яка містить біокомплекси хрому до раціону поросят, сприяє активації процесів синтезу протеїну, гліколізу та системи антиоксидантного захисту в крові. Водночас не було виявлено різниці в показниках між тваринами обох дослідних груп, що свідчить про можливість використання препаратів культуральної рідини дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, інкубованих попередньо з хроматом Cr(VI) та хромом Cr(III), як компонента кормів у годівлі молодняка сільськогосподарських тварин.

Таблиця 11. Активність глутатіонпероксидази в лізатах еритроцитів крові, мкмоль/(хв · мг протеїну) ($M \pm m, n = 3$)

Група	За 5 діб до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Контрольна	51,1±3,91	45,0±1,76	46,8±2,36	33,7±1,60	33,9±1,32
1-ша дослідна	52,5±1,77	52,6±1,48**	54,5±2,02*	33,0±1,33	33,1±1,15
2-га дослідна	46,6±2,06	54,0±0,89**	53,8±2,15*	32,0±1,02	32,6±0,84

Таблиця 12. Вміст відновленого глутатіону в лізатах еритроцитів крові, ммоль/л ($M \pm m, n = 3$)

Група	За 5 діб до відлучення	Доба після відлучення			
		3-тя	10-та	20-та	30-та
Контрольна	0,88±0,02	0,36±0,006	0,44±0,02	0,35±0,01	0,49±0,02
1-ша дослідна	0,89±0,03	0,56±0,08**	0,52±0,01**	0,47±0,01***	0,53±0,01
2-га дослідна	0,87±0,02	0,42±0,01**	0,54±0,02**	0,44±0,02**	0,52±0,01

ЛІТЕРАТУРА

1. Alcedo J. A., Wetterhahn K. E. Chromium toxicity and carcinogenesis // *Int. Rev. Exp. Pathol.* — 1990. — N 31. — P. 85–108.
2. Anderson R. A. Stress effects on chromium nutrition of human and farm animals // *Biotechnology in the Feed Industry. Proc. Alltech's 10th Annual Symposium.* (T. P. Lyons and K. A. Jacques, eds). — Nottingham University Press, Loughborough, Leics, UK. — 1994. — P. 267–274.
3. De Flora S., Wetterhahn K. E. Mechanisms of chromium metabolism and genotoxicity // *Life Chem. Rep.* — 1989. — N 7. — P. 169–244.
4. Boleman S. L., Boleman S. J., Bidner T. D. et al. Effect of chromium tripicolinate on growth, body composition, and tissue accretion in pigs // *J. Anim. Sci.* — 1995. — N 73. — P. 2033–2042.
5. Сологуб Л. І., Антоняк Г. Л., Бабич Н. О. Хром в організмі людини і тварин. Біохімічні, імунологічні та екологічні аспекти. — Львів: Євровіт, 2007. — 128 с.
6. Cervantes C., Campos-Garcia J., Devars S. et al. Interactions of chromium with microorganisms and plants // *FEMS Microbiol. Rev.* — 2001. — V. 25, N 3. — P. 335–347.
7. Plus R. Chromium. Mineral Levels in Animal Health. — British Columbia, Canada: Sherpa International, 1988. — P. 61–62.
8. Mertz W. Chromium in human nutrition: A review // *J. Nutr.* — 1993. — V. 123. — P. 626–633.
9. Ksheminska H., Fedorovich D., Honchar T. et al. Yeast tolerance to chromium depends on extra-cellular chromate reduction and Cr(III)-chelation // *Food Technol. Biotechnol.* — 2008. — V. 46, N 4. — P. 420–427.
10. Ksheminska H. P., Honchar T. M., Gayda G. Z., Gonchar M. V. Extra-cellular chromate-reducing activity of the yeast cultures // *Cent. Eur. J. Biol.* — 2006. — V. 1, N 1. — P. 137–149.
11. Desmoulin B., Aumaitre A., Peiniau J. Influence du poids a 10 jours et de l'age a la castration des porcelets males sur la croissance et la qualite des carcasses a l'abattage // *Ann. Zootech.* — 1990. — V. 39. — P. 219–227.
12. Hardy B. Diets for young pigs // *Neonatal survival and growth. Occasional Publication no. 15. British Society of Animal production,* UK. — 1992. — P. 99–107.
13. Pluske J. R., Williams I. H., Aherne F. X. Nutrition of the neonatal pig. // *Development and survival.* CAB International, Wallingford, UK. — 1995. — P. 187–235.
14. Kitchalong L., Fernandez J. M., Bunting L. D. et al. Chromium picolinate supplementation in lamb rations: effects on performance, nitrogen balance, endocrine and metabolic parameters // *J. Anim. Sci.* — 1993. — V. 71 (Suppl. 1) — P. 291.
15. Bunting L. D., Fernandez J. M., Thompson Jr. D. L. et al. Influence of chromium picolinate on glucose usage and metabolic criteria in growing Holstein calves // *Ibid.* — 1994. — V. 72 — P. 1591–1599.
16. Amoikon E. K., Fernandez J. M., Southern L. L. et al. Effect of chromium tripicolinate on growth, glucose tolerance, insulin sensitivity, plasma metabolites, and growth hormone in pigs // *Ibid.* — 1995. — V. 73 — P. 1123–1130.
17. Anderson R. A. Chromium. Trace elements in human and animal nutrition // *Academic Press, Inc., New York, NY.* — 1987. — V. 1. — P. 225–244.
18. Mertz W. Chromium in human nutrition: a review // *J. Nutr.* — 1993 — V. 123. — P. 626–633.
19. Mowat D. N., Chang X., Yang W. Z. Chelated chromium for stressed feeder calves // *Can J. Anim. Sci.* — 1993 — V. 73 — P. 49–55.
20. Chang, X., Mowat D. N. Supplemental chromium for stressed and growing feeder calves // *Ibid.* — 1992. — V. 70 — P. 559–565.
21. Moonsie-Shageer S., Mowat D. N. Effect of level of supplemental chromium on performance, serum constituents, and immune status of stressed feeder calves // *Ibid.* — 1993. — V. 71 — P. 232–238.
22. Honchar T. M., Ksheminska H. P., Patsay I. O. et al. Assay of chromium(III) in microbial cultures using Chromazurol S and surfactants // *Біотехнологія.* — 2008. — Т. 1, N 4. — P. 64–67.
23. Калашников А. П., Фисинин В. И., Щеголов В. В. и др. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. Справочник. — М.: Россельхозакадемия, 2003. — 456 с.
24. Fedorovych D. V., Gonchar M. V., Ksheminska H. P. et al. Mechanisms of chromate detoxification in yeasts // *Microbiol. Biotechnol.* — 2009. — N 7. — P. 15–21.
25. Влізло В. В., Федорук Р. С., Макара І. А. та ін. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Довідник. — Львів: ВМС, 2004. — 400 с.
26. Понд У. Д., Хаунт К. А. Биология свиньи: Пер. с англ. — М.: Колос, 1983. — 334 с.
27. Cefalu W. T., Hu F. B. Role of chromium in human health and in diabetes // *Diabetes Care.* — 2004. — V. 27, N 11. — P. 2741–2751.

**МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ
КРОВИ ПОРОСЯТ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ
ИМ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ
ДРОЖЖЕЙ *Saccharomyces cerevisiae*,
СОДЕРЖАЩЕЙ БИОКОМПЛЕКСЫ ХРОМА**

*Р. Я. Искра*¹
М. В. Гончар^{2,3}
Г. И. Нечай^{1,2}
*И. Я. Максимович*¹

¹Институт биологии животных
НААН Украины, Львов

²Институт биологии клетки НАН Украины,
Львов

³Загородный факультет биотехнологии,
Жешувский университет, Кольбушова, Польша

E-mail: inenbiol@mail.lviv.ua

В естественной среде хром находится преимущественно в двух валентных состояниях: шести- (хроматы и бихроматы) и трехвалентном (соединения Cr³⁺). Хроматы широко используют в промышленности, в процессах производства стали, сплавов чугуна, обработки древесины и дубления кожи. В литературе есть много данных о токсичном, мутагенном и канцерогенном действии Cr(VI).

Выяснено действие Cr(III) из культуральной жидкости дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на обмен протеинов и углеводов, а также систему антиоксидантной защиты в крови поросят в период отлучения от свиноматок. Установлено, что введение в рацион поросят культуральной жидкости, которая содержит биокомплексы хрома, способствует уменьшению содержания мочевины и глюкозы в плазме крови, увеличению концентрации общего протеина, активности лактатдегидрогеназы, каталазы и глутатионпероксидазы и содержания восстановленного глутатиона в эритроцитах крови. Не было выявлено существенных различий между показателями у животных, которым скармливали культуральную жидкость дрожжей, содержащую Cr(III) в форме естественно-синтезированных биокомплексов, и жидкость, в состав которой входил хелатированный Cr(III).

Ключевые слова: поросята, дрожжи, биокомплексы хрома, протеин, лактатдегидрогеназа, энзимы антиоксидантной защиты.

**METABOLIC INDICES OF PIGLETS BLOOD
AT FEEDING OF CULTURAL LIQUID
OF THE YEAST *Saccharomyces cerevisiae*
CONTAINING CHROMIUM
BIOCOMPLEXES**

*R. Ya. Iskra*¹
M. V. Gonchar^{2,3}
H. I. Nechay^{1,2}
*I. Ya. Maksymovych*¹

¹Institute of Animal Biology
of the National Academy of Agricultural
Sciences of Ukraine, Lviv

²Institute of Cell Biology of the National
Academy of Sciences of Ukraine, Lviv

³Branch Campus of the Faculty
of Biotechnology, Rzeszow University,
Kolbuszowa, Poland

E-mail: inenbiol@mail.lviv.ua

In natural environment chrome is mainly in two valency states: six- (chromates and bichromates) and trivalent (Cr³⁺ compounds). Chromates are widely used in industry, in the process of steel production, cast-iron alloys, treatment of wood and leather tanning. There is a lot of information about toxic, mutagenic and carcinogenic action of Cr(VI).

The effect of chromium in cultural liquid of the yeast *Sacharomices cerevisiae* on protein and carbohydrate metabolisms as well as a system of antioxidant protection in piglets' blood after weaning was investigated. It was found that culture liquid addition to the piglets diet containing biocomplexes of chromium led to reduction of urea and glucose in blood plasma, increase of total protein, activity of enzymes lactate dehydrogenase, catalase and glutathione peroxidase and reduced glutathione content in erythrocytes of blood.

No significant differences between animal parameters that were fed culture — liquid of the yeast containing Cr(III) in the form of synthesized biocomplexes and one containing chromium as chelant were found.

Key words: piglets, yeast, chromium, protein, lactate dehydrogenase, antioxidant protection enzymes.