



УКРАЇНА

(19) UA (11) 38716 (13) U
(51) МПК (2006)
A01K 67/00
G01N 33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ СТУПЕНЯ НЕГАТИВНОГО ВПЛИВУ НІТРАТІВ НА АКТИВНІСТЬ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ МОЛОДНЯКУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

1

(21) u200807545

(22) 02.06.2008

(24) 12.01.2009

(46) 12.01.2009, Бюл.№ 1, 2009 р.

(72) ГУТИЙ БОГДАН ВОЛОДИМИРОВИЧ, UA, ГУФРІЙ ДМИТРО ФЕДОРОВИЧ, UA, КАНЮКА ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ, UA, ГУНЧАК ВАСИЛЬ МИХАЙЛОВИЧ, UA, ХОМИК РОМАН ІВАНОВИЧ, UA, ХАРІВ ІВАН ІВАНОВИЧ, UA, ВАСІВ РОСТИСЛАВ ОРЕСТОВИЧ, UA, СЛОБОДЯНЮК НАТАЛЯ МИХАЙЛІВНА, UA, ВІНІАРСЬКА АЛЛА ВІКТОРІВНА, UA

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ І БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ С.З. ГЖИЦЬКОГО, UA

(57) Спосіб оцінки ступеня негативного впливу нітратів і нітритів на активність системи антиоксидантного захисту організму молодняку великої рогатої худоби, що базується на аналізі стану глутатионової системи антиоксидантного захисту за активністю ферментів крові, який **відрізняється** тим, що в крові оцінюваних тварин додатково визначають рівень глутатіону і за комплексною картиною судять про ступінь негативного впливу нітратного навантаження, при цьому: тварин, у яких рівень глутатіону знаходиться у межах 27,60-36,90мг %, активність глутатіонпероксидази в ме-

2

жах 34,6-38,4нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - в межах 1,49-1,64нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - в межах 0,705-0,775нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають клінічно здоровими; тварин, у яких рівень глутатіону знаходиться у межах 20,95-22,15мг %, глутатіонпероксидази - в межах 20,5-33,0нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - в межах 0,65-1,46нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - в межах 0,52-0,699нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають частково ураженими впливом нітратів та нітритів, які потребують корекції системи антиоксидантного захисту організму, застосуванням природних або синтетичних антиоксидантів та вітамінів; тварин, у яких рівень глутатіону є меншим 17,30мг %, активність глутатіонпероксидази є меншою 20,0нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - меншою 0,60нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - меншою 0,50нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають ураженими впливом високого рівня нітратів і нітритів у кормах і з явищами незворотного порушення обміну речовин.

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, зокрема ветеринарної токсикології, а саме до способів оцінки ступеня негативного впливу нітратно-нітритного навантаження на активність системи антиоксидантної системи організму молодняку великої рогатої худоби.

Заявлений спосіб може бути використаний у господарствах із різними формами власності, що вирощують молодняк великої рогатої худоби в умовах нітратно-нітритного навантаження, тобто при підвищеному рівні нітратів і нітритів у кормах для своєчасного запобігання негативному впливу нітратів і нітритів на обмін речовин та продуктивність тварин.

Відомий спосіб оцінки негативного впливу нітратів на окремі органи і системи організму тварин, що базується на оцінці змін у функціонуванні процесів травлення і сечовиділення [Гуфрій Д.Ф. Зміни функції шлунково-кишкового тракту у бугайців під впливом нітратів і нітритів // Матер. доп. Міжнарод. конф. присв. 110 роковинам заснування Львівського зоовет. Ін-ту, Львів, 1991. – С.13-14]. Недоліком даного способу є те, що за допомогою його можна діагностувати негативний вплив нітратів на організм тільки при важкому ступені гострого перебігу нітратно-нітритного токсикозу.

Відомі також гематологічні способи виявлення негативного впливу нітратів на тваринний організм

(13) U

(11) 38716

(19) UA

[Клюсова Т., Башкова Л., Левченко О. Влияние на организм нитратов и нитритов при использовании их в пищевой промышленности и применение удобрений. // В кн.: Вопросы гигиены и охраны окружающей среды, М., 1979. - С.45. Дмитров С., Джуров А., Антонов С. Диагностика отравлений животных. - М.: Агропромиздат, 1986. - 282с. Мазуркевич А.И. Обмен нитратов и нитритов в организме животных. // Ветеринария. - 1992. - №1. - С.54-55. Полоз Д.Д., Сидоров Нитраты и их отрицательное действие на организм животных // Тез. докл. науч. конф. «Экологические проблемы фармакологии и токсикологии», Казань, 1990. - С.77-78. Влияние нитратов питьевой воды на содержание метгемоглобина в крови телят. / Н.М. Ливчак, Д.Ф. Гуфрий, Л.Т. Кметь, Л.В. Богославская // Молодые учёные - продовольственной программе (Львов 1985): Тез. докл. науч. произ. конф. Львовского зоовет. ин-та, Львов, 1985. - С.24. Хмельницкий Г.А., Мазуркевич А.И. Проблема нитратов в животноводстве // Эколог, пробл. фармакол. и токсикол. Тез. докл. науч.-конф. - Казань, 1990. - С.113. Гутий Б.В. Вплив нітрату натрію на активність ферментів глутатіонової системи антиоксидантного захисту // Ветеринарна медицина. Міжвідомчий тематичний наук. зб. Харків 2005 №85, Т.1, С. 377-381. Гунчак В.М. Вплив нітратів на дезінтоксикаційну функцію печінки // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. - Львів, 2002. - Т. 4, №1. - С.5-7].

Відомі способи включають оцінку ступеню реактивності організму при нітритно-нітратному навантаженні шляхом визначення деяких гематологічних та імунологічних показників у крові тварин (кількість гемоглобіну, метгемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів, аналіз лейкограм, концентрацію в крові нітратів і нітритів, загальний білок, сечовину, цукор, інсулін, активність ферментів системи антиоксидантного захисту). Ці способи використовують комплексний підхід до оцінки патології різних ступенів важкості, але оскільки нітрити проявляють подвійну дію, а, саме, метгемоглобіноутворюючу дію та утворення вільних радикалів, зазначенні показники гематологічних досліджень не дозволяють оцінити ступінь впливу нітратів і нітритів на організм молодняку великої рогатої худоби.

Найбільш близьким по суті до способу, що застосовується, є спосіб визначення стану антиоксидантної системи при нітратному навантаженні [Деклараційний патент України на корисну модель №7729 Гутий Б.В., Гуфрій Д.Ф. "Спосіб виявлення і оцінки ступеня негативного впливу нітратів і нітритів на організм молодняку великої рогатої худоби"].

Спосіб полягає у визначенні в крові молодняку великої рогатої худоби при нітратно-нітритному навантаженні активності ферментів глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. За рівнем даних ферментів оцінюють стан системи антиоксидантного захисту організму молодняку великої рогатої худоби за нітратно-нітритного токсикозу.

Заявлений спосіб і прототип мають основні спільні ознаки - спосіб базується на аналізі стану

глутатіонової системи антиоксидантного захисту за активністю ферментів крові: глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

Недоліком даного способу є недостатня його точність, оскільки він не повністю враховує механізм дії нітратів на організм тварин, зокрема на антиоксидантну систему тваринного організму, оскільки основним антиоксидантом глутатіонової системи є глутатіон.

Заявлений нами спосіб усуває недоліки прототипу, враховує стан антиоксидантної системи крові тварин і забезпечує об'єктивну оцінку ступеню негативного впливу нітратів і нітритів на активність системи антиоксидантного захисту молодняку великої рогатої худоби.

В основу корисної моделі поставлено завдання розробити точний і об'єктивний спосіб оцінки ступеня негативного впливу нітратів на активність системи антиоксидантного захисту організму молодняку великої рогатої худоби, зручний і доступний у застосуванні, економічно вигідний для господарств, у яких він застосовується.

Технічний результат досягають тим, що в крові оцінюваних тварин додатково визначають рівень глутатіону і за комплексною картиною активності ферментів антиоксидантної системи судять про ступінь негативного впливу нітратного навантаження, при цьому:

- тварин, у яких рівень глутатіону знаходиться у межах 27,60-36,90мг%, активність глутатіонпероксидази в межах 34,6-38,4нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - в межах 1,49-1,64нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - в межах 0,705-0,775нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають клінічно здоровими;

- тварин, у яких рівень глутатіону знаходиться у межах 20,95-22,15мг %, глутатіонпероксидази - в межах 20,5-33,0нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - в межах 0,65-1,46нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - в межах 0,52-0,699нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають частково пораженими впливом нітратів та нітритів, які потребують корекції системи антиоксидантного захисту організму, застосуванням природних або синтетичних антиоксидантів, вітамінів;

- тварин, у яких рівень глутатіону є меншим 17,30мг %, глутатіонпероксидази є меншою 20,0нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - меншою 0,60нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - меншою 0,50нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають пораженими впливом високого рівню нітратів і нітритів у кормах і з явищами незворотного порушення обміну речовин.

Дія нітритів на організм тварин супроводжується утворенням в крові метгемоглобіну, де двовалентне залізо гемоглобіну окиснюється до трьохвалентного. Процес окиснення гемоглобіну реалізується через взаємодію його оксиформи з нітрит-іоном по ланцюговому шляху. При окисненні гемоглобіну утворюється цілий ряд радикальних

метаболітів, які є активними окисниками біологічних субстратів, надають виражену цитотоксичну дію, ініціюють процеси перекисного окиснення ліпідів.

Даному патологічному процесу запобігає багатокomпонентна система антиоксидантного захисту організму. Велику роль відіграє глутатіонова система (глутатіон, глутатіонредуктаза, глутатіонпероксидаза, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа). Глутатіонпероксидаза - каталізує розклад гідроперексидів ліпідів нерадикальним шляхом за допомогою глутатіону відновленого, а саме каталізує розпад перекису водню і окиснює глутатіон. Глутатіонпероксидаза разом з іншими антиоксидантами сприяє видаленню первинних продуктів частково редукованого кисню. Глутатіонредуктаза забезпечує відновлення глутатіону за допомогою $\text{NADPH}\cdot\text{H}$, NADPH , що виступають донорами водню.

Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа - пусковий ензим пентозофосфатного циклу окиснення вуглеводів як джерела відновленої форми NADPH та пентозних основ для синтезу нуклеїнових кислот.

Глутатіон - це низькомолекулярний тіол, який складається з трьох амінокислот: глютамінової, цистеїну та гліцину. Він виступає в організмі як основний донор SH-груп. Глутатіон виконує в організмі багатогранні і дуже важливі функції: захищає від окиснених радикалів; відновлює та ізомеризує дисульфідні зв'язки; впливає на активність ферментів; підтримує функції мембран; виконує коферментні властивості; впливає на синтез нуклеїнових кислот і білка, бере участь у метаболізмі ксенобіотиків; підвищує резистентність клітин до шкідливих дій зовнішнього середовища; регулює проліферацію клітин. Таким чином глутатіон виконує в організмі багатогранні і важливі функції: захищає від активних кисневих сполук; відновлює і ізомеризує дисульфідні зв'язки; виконує коферментні функції; впливає на біосинтез нуклеїнових кислот; бере участь у знешкодженні ксенобіотиків; підвищує резистентність клітин до негативного впливу стресфакторів; впливає на проліферацію клітин та підтримує функціональний стан біологічних мембран. Глутатіон відновлений є основним сірковмісним антиоксидантом в організмі,

Тому для більш точної оцінки токсичної дії нітратів на антиоксидантну систему організму молодняка великої рогатої худоби доцільно додатково досліджувати і вміст відновленого глутатіону, який захищає двовалентне залізо, сульфгідрильні групи глобіну і мембрани еритроцитів від дії окиснювачів і, в такий спосіб, запобігає надмірне метгемоглобіноутворення.

Вивчення в крові тварин глутатіону разом з глутатіонпероксидазою, глутатіонредуктазою, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази при нітратно-нітритному токсикозі дасть можливість краще зрозуміти розвиток даної патології в організмі тварин.

Отже, заявлений нами спосіб забезпечує більш точну оцінку ступеню негативного впливу нітратів на активність системи антиоксидантного захисту організму молодняка великої рогатої худоби, ніж прототип.

При проведенні патентно-інформаційного пошуку авторами і заявником виявлено технічне рішення [деклараційний патент України на корисну модель №7729 Гутий Б.В., Гуфрій Д.Ф. "Спосіб виявлення і оцінки ступеня негативного впливу нітратів і нітритів на організм молодняка великої рогатої худоби"], що містить найбільшу кількість суттєвих ознак, спільних із заявленим способом: спосіб включає аналіз стану системи антиоксидантного захисту за комплексною картиною активності ферментів крові досліджуваних тварин, зокрема каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

Але наявність зазначених, спільних із прототипом, ознак недостатня для одержання технічного результату, який забезпечує заявлений спосіб.

Технічних рішень, які б за сукупністю ознак повністю співпадали із заявленим, не виявлено.

Це дозволяє зробити висновок про відповідність заявленого технічного рішення критерію винаходу "новизна".

В патентній і науково-технічній літературі не знайдено технічних рішень, в яких були б описані відомості про ознаки, що відрізняють заявлений спосіб від прототипу і забезпечують досягнення технічного результату: оцінку ступеню негативного впливу нітратів на організм молодняка великої рогатої худоби здійснюють, додатково визначаючи в крові оцінюваних тварин рівень глутатіону і за комплексною картиною судять про ступінь негативного впливу нітратного навантаження, при цьому:

- тварин, у яких рівень глутатіону знаходиться у межах 27,60-36,90мг %, активність глутатіонпероксидази в межах 34,6-38,4нмоль NADPH /хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - в межах 1,49-1,64нмоль NADPH /хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - в межах 0,705-0,775нмоль NADPH /хв. на 1мг білка, вважають клінічно здоровими;

- тварин, у яких рівень глутатіону знаходиться у межах 20,95-22,15мг %, глутатіонпероксидази - в межах 20,5-33,0нмоль NADPH /хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - в межах 0,65-1,46нмоль NADPH /хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - в межах 0,52-0,699нмоль NADPH /хв. на 1мг білка, вважають частково пораженими впливом нітратів та нітритів, які потребують корекції системи антиоксидантного захисту організму, застосуванням природних або синтетичних антиоксидантів, вітамінів;

- тварин, у яких рівень глутатіону є меншим 17,30мг %, глутатіонпероксидази є меншою 20,0нмоль NADPH /хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - меншою 0,60нмоль NADPH /хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - меншою 0,50нмоль NADPH /хв. на 1мг білка, вважають пораженими впливом високого рівню нітратів і нітритів у кормах і з явищами незворотного порушення обміну речовин.

Отже, заявлене технічне рішення не впливає явним чином з рівня техніки, що дозволяє зробити висновок про його відповідність критерію корисної моделі - "винахідницький рівень".

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, зокрема, ветеринарної токсикології, а саме до способів оцінки ступеню негативного впливу нітратно-нітритного навантаження на активність системи антиоксидантного захисту організму молодняку великої рогатої худоби. Заявлений спосіб може бути використаний у господарствах із різними формами власності, що вирощують молодняк великої рогатої худоби в умовах нітратно-нітритного навантаження, тобто при підвищенні рівня нітратів і нітритів у кормах, а тому заявлений спосіб відповідає критерію корисної моделі "промислово придатність".

Отже, заявлене технічне рішення є новим, має винахідницький рівень, є промислово придатним, тобто відповідає всім умовам патентоспроможності винаходу відповідно до статті 7 розділу II "Закону України про охорону прав на винаходи і корисні моделі" №1771 - III, 2000.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином:

У тваринницьких господарствах, молодняк великої рогатої худоби яких знаходиться в умовах нітратно-нітритного навантаження, одержуючи тривалий час корми з підвищеною кількістю нітратів для виявлення і оцінки ступеню негативного впливу нітратів і нітритів на активність системи антиоксидантного захисту тваринного організму відбирають кров у тварин різних вікових груп. У крові визначають: рівень глутатіону, активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази.

Аналіз одержаних результатів здійснюють наступним чином:

- тварин, у яких рівень глутатіону знаходиться у межах 27,60-36,90мг %, активність глутатіонпероксидази в межах 34,6-38,4нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - в межах 1,49-1,64нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - в межах 0,705-0,775нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають клінічно здоровими;

- тварин, у яких рівень глутатіону знаходиться у межах 20,95-22,15мг %, глутатіонпероксидази - в межах 20,5-33,0нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - в межах 0,65-1,46нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - в межах 0,52-0,699нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають частково пораженими впливом нітратів та нітритів, які потребують корекції системи антиоксидантного захисту організму, застосуванням природних або синтетичних антиоксидантів, вітамінів;

- тварин, у яких рівень глутатіону є меншим 17,30мг %, глутатіонпероксидази є меншою 20,0нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - меншою 0,60нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - меншою 0,50нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають пораженими впливом високого рівню нітратів і нітритів у кормах і з явищами незворотного порушення обміну речовин.

Ефективність заявленого способу та його переваги перед прототипом підтверджені прикладом конкретного виконання.

У господарстві СТЗОВ "Дружба" Буського району, Львівської області було відібрано 30 телят шестимісячного віку. Було створено 6 групи по 5 тварин у кожній. Тварини контрольної групи знаходились на господарському раціоні, згідно норм ВІТА.

Тваринам дослідних груп створювали штучно нітратне навантаження, а саме:

Дослідна 1 - тваринам згодовували з комбікормом нітрат натрію у дозі 0,1г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла один раз на добу протягом місяця;

Дослідна 2 - тваринам згодовували з комбікормом нітрат натрію у дозі 0,2г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла один раз на добу протягом місяця;

Дослідна 3 - тваринам згодовували з комбікормом нітрат натрію у дозі 0,3г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла;

Дослідна 4 - тваринам згодовували з комбікормом нітрат натрію у дозі 0,4г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла;

Дослідна 5 - тваринам згодовували з комбікормом нітрат натрію у дозі 0,5г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла.

Кров для аналізу брали з яремної вени на 1, 3, 6, 9 годину після згодовування нітрату натрію.

В крові оцінюваних тварин визначають активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази, рівень глутатіону (за методом В.В. Лемешко і ін., Н. Siens), глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу (по методу N.Z. Baquezetal).

Основні показники активності ферментів як дослідних так і контрольної груп подані у Таблиці 1.

При цьому за прототипом у тварин всіх груп визначали активність ферментів антиоксидантної системи захисту організму: глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Так у тварин контрольної групи показники активності ферментів знаходилися в межах: глутатіонпероксидази 35,6-38,4нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глутатіонредуктази 1,52-1,64нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази 0,705-0,755нмоль NADPH/хв. на 1мг білка.

Згідно даних таблиці у дослідних тварин, яким згодовували нітрат натрію у різних дозах, показники активності ферментів системи антиоксидантного захисту організму молодняку великої рогатої худоби мали певні відхилення. Так, із збільшенням дози нітрату натрію активність ферментів знижувалась.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,1г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла, показники активності знаходилися у таких межах: глутатіонпероксидази 23,8-46,1нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глутатіонредуктаза 0,69-1,91нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа 0,523-1,14нмоль NADPH/хв. на 1мг білка.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,2г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла, показники активності знаходилися у таких межах: глутатіонпероксидази 19,7-42,1нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глутатіонредуктаза 0,657-1,895нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа 0,603-1,04нмоль NADPH/хв. на 1мг білка.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,3г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла, показники активності знаходилися у таких межах: глутатіонпероксидази 16,1-39,3нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глутатіонредуктаза 0,619-1,86нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа 0,482-0,920нмоль NADPH/хв. на 1мг білка.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,4г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла, показники активності знаходилися у таких межах: глутатіонпероксидази 15,1-36,4нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глутатіонредуктаза 0,55-1,82нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа 0,404-0,86нмоль NADPH/хв. на 1мг білка.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,5г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла, показники активності знаходилися у таких межах: глутатіонпероксидази 12,4-35,9нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глутатіонредуктаза 0,472-1,74нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа 0,347-0,805нмоль NADPH/хв. на 1мг білка.

На підставі даних активності ферментів антиоксидантної системи (глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази) важко робити висновки про ступінь негативного впливу нітратів і нітритів на систему антиоксидантного захисту організму молодняка великої рогатої худоби.

При додатковому визначенні півня відновленого глутатіону ступінь негативного впливу нітратного навантаження на антиоксидантну систему організму молодняка великої рогатої худоби проявляється більш повно.

Так у тварин контрольної групи рівень вільного глутатіону був у межах 27,60-36,90мг %.

Згідно даних таблиці у дослідних тварин, яким згодовували нітрат натрію у різних дозах, рівень вільного глутатіону у крові молодняка великої рогатої худоби мав певні відхилення. Так, із збіль-

шенням дози нітрату натрію рівень досліджуваного показника знижувався.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,1г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла, показник рівня вільного глутатіону знаходився у таких межах 22,15 \pm 0,6 - 39,28 \pm 0,6мг %.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,2г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла, показник рівня вільного глутатіону знаходився у таких межах 20,95 \pm 0,5 - 20,95 \pm 0,5мг %.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,3г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла, показник рівня вільного глутатіону знаходився у таких межах 17,30 \pm 0,4 - 27,14 \pm 0,7мг %.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,4г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла, показник рівня вільного глутатіону знаходився у таких межах 16,45 \pm 0,4 - 24,67 \pm 0,6мг %.

У тварин, яким згодовували нітрат натрію у дозі 0,5г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла, показник рівня вільного глутатіону знаходився у таких межах 14,75 \pm 0,4 - 25,10 \pm 0,6мг %.

Таким чином за рівнем відновленого глутатіону при одночасному врахуванні активності ферментів крові: глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, можна вважати, що тварини, які одержували з кормом нітрат натрію у дозах 0,1-0,2г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$ маси тіла це тварини, у яких рівень вільного глутатіону знаходиться у межах 20,95-22,15мг %, глутатіонпероксидази - в межах 20,5-33,0нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - в межах 0,65-1,46нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - в межах 0,52-0,699нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, вважають частково пораженими впливом нітратів та нітритів і які потребують корекції системи антиоксидантного захисту організму застосуванням природних або синтетичних антиоксидантів, вітамінів.

Таблиця 1

Активність ферментів системи антиоксидантного захисту молодняка великої рогатої худоби за нітратного навантаження, при n=5

Доза г $\text{NO}_3^-/\text{кг}$	Активність ферментів	Після введення препарату через (годин)			
		1	3	6	9
0,1	Глутатіонпероксидаза	24,7 \pm 0,9*	44,5 \pm 1,6**	34,3 \pm 1,3	36,5 \pm 1,4
	Глутатіонредуктаза	0,72 \pm 0,025*	1,87 \pm 0,06**	0,75 \pm 0,027*	0,98 \pm 0,035*
	Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа	1,1 \pm 0,04*	0,68 \pm 0,028	0,55 \pm 0,027*	0,6 \pm 0,02**
	Глутатіон (прототип)	32,35 \pm 0,7	39,28 \pm 0,6	22,15 \pm 0,6*	26,23 \pm 0,7
0,2	Глутатіонпероксидаза	20,5 \pm 0,8*	40,6 \pm 1,5***	29,8 \pm 1,2**	36,3 \pm 1,4
	Глутатіонредуктаза	0,68 \pm 0,023*	1,84 \pm 0,055**	0,71 \pm 0,025*	0,93 \pm 0,035*
	Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа	1,0 \pm 0,04*	0,63 \pm 0,027***	0,53 \pm 0,017*	0,57 \pm 0,025***
	Глутатіон (прототип)	29,59 \pm 0,7	35,56 \pm 0,8	20,95 \pm 0,5*	26,30 \pm 0,9
0,3	Глутатіонпероксидаза	16,8 \pm 0,7*	38,8 \pm 1,5	26,5 \pm 1,1*	36,1 \pm 1,3
	Глутатіонредуктаза	0,64 \pm 0,021*	1,80 \pm 0,06***	0,65 \pm 0,025*	0,88 \pm 0,033*
	Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа	0,89 \pm 0,03**	0,59 \pm 0,025*	0,49 \pm 0,017*	0,54 \pm 0,017*
	Глутатіон (прототип)	24,86 \pm 0,6	27,14 \pm 0,7*	17,30 \pm 0,4**	22,79 \pm 0,5*

Продовження таблиці 1

0,4	Глутатіонпероксидаза	14,6±0,5*	35,2±1,2	21,4±0,9*	35,7±1,2
	Глутатіонредуктаза	0,57±0,020*	1,76±0,06*	0,59±0,020*	0,83±0,031*
	Глюкозо-6-фосфатдегідрогенназа	0,83±0,03**	0,51±0,024*	0,42±0,016*	0,50±0,017*
	Глутатіон (прототип)	20,18±0,5*	24,67±0,6	16,45±0,4**	19,80±0,5*
0,5	Глутатіонпероксидаза	12,9±0,5*	34,7±1,2	19,8±0,6*	35,2±1,2
	Глутатіонредуктаза	0,49±0,018*	1,69±0,05	0,51±0,020*	0,79±0,025*
	Глюкозо-6-фосфатдегідрогенназа	0,78±0,025	0,44±0,02*	0,36±0,013*	0,48±0,014*
	Глутатіон (прототип)	18,21±0,5*	25,10±0,6	14,75±0,4***	18,24±0,5*

А тварини, які одержували з кормом нітрат натрію у дозах 0,3-0,5г NO₃/кг маси тіла, це тварини, у яких рівень вільного глутатіону є меншим 17,30мг %, глутатіонпероксидази є меншою 20,0нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глутатіонредуктази - меншою 0,60нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази - меншою 0,50нмоль NADPH/хв. на 1мг білка, тобто яких можна вважати

пораженими впливом високого рівню нітратів і нітритів у кормах з явищами незворотного порушення обміну речовин.

Отже, заявлений спосіб є точним, повністю відображає дію нітратів на обмін речовин і дозволяє виявити ступінь негативного впливу нітратного навантаження на активність системи антиоксидантного захисту організму молодняку великої рогатої худоби більш об'єктивно ніж у прототипі.