

СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У КОРІВ, ХВОРИХ НА СУБКЛІНІЧНУ ФОРМУ МАСТИТУ, ЗА ДІЇ ЛІПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ

В. А. Чепурна¹, аспірант,
Т. М. Супрович¹, д-р с.-г. наук, професор,
О. І. Віщур², д-р вет. наук, професор,
В. П. Мізик¹, ст. викладач

¹Подільський державний аграрно-технічний університет
вул. Шевченка, 13, м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька обл., Україна

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

У статті наведені результати експериментальних досліджень щодо впливу комплексного ліпосомального препарату, виготовленого на основі звіробію продірявленого (*Hypericum perforatum* L.), на рівень продуктів пероксидного окиснення ліпідів та стан системи антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу. Дослідження показали, що у хворих корів відбувається підвищення інтенсивності процесів ПОЛ. Інтрацистернальне введення хворим коровам тричі ліпосомального препарату призводить до зниження ($P < 0,01$) концентрації у плазмі крові ТБК-активних продуктів та гідроперекисів ліпідів ($7,17 \pm 0,25$ % проти $8,62 \pm 0,16$ %), і відповідно ($1,42 \pm 0,08$ % проти $1,82 \pm 0,05$ %). При цьому зафіксовано зростання у крові корів глутатіонпероксидазної активності та вмісту відновленого глутатіону.

Ключові слова: ВЕЛИКА РОГАТА ХУДОБА, СУБКЛІНІЧНИЙ МАСТИТ, СОМАТИЧНІ КЛІТИНИ, ПРОДУКТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ.

Прибутковість сучасного молочного господарства безпосередньо пов'язана з надоями корів. Світове виробництво молока постійно зростає. За останніх 20 років виробіток молока зріс на 131,6 млн тонн або 26,9 %. Цілеспрямована селекція і кропітка робота зоотехнічних працівників призвели до того, що в більшості країн з високою культурою молочного виробництва середній річний надій на корову складає 8000 – 10000 кг [1]. Позитивна динаміка продуктивності корів спостерігається в усіх країнах, в тому числі і в Україні. При цьому рівень захворюваності маститами в усьому світі, за доступними літературними даними, показує, що ця хвороба спостерігається у 48 корів із кожних 100 голів, з яких у 39 виявляється субклінічний перебіг захворювання, а у 9 тварин – клінічний [2].

Мастити впливають на здоров'я тварин і якість молока, що призводить до величезних фінансових збитків. Втрати на одну корову оцінюються: у США 108–295, у Європейському Союзі 185–375, в Україні – 254,5 долари. Розроблені методи ранньої діагностики, профілактики і лікування цього захворювання шляхом застосування різних антимікробних препаратів не завжди задовільні [3].

За останні роки значно розширились наукові дослідження з використання ліпосомальних препаратів, які у своєму складі не містять антибіотиків, сприяють профілактиці рецидиву захворювання, та максимальному відновленню молочної продуктивності [4, 5].

У хворих на мастит корів, відбуваються певні зрушення метаболічного гомеостазу. У фізіологічних умовах рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) підтримується завдяки

рівновазі системи анти- і прооксидантів. Позитивний вплив процесів ПОЛ на живий організм (відновлення складу і підтримання властивостей біологічних мембран, участь в енергетичних процесах) забезпечується системою антиоксидантного захисту, тобто сукупністю ферментативних та неферментативних чинників, які забезпечують захист клітин від вільних радикалів [6].

Мета наших досліджень полягала у вивченні активності системи антиоксидантного захисту та інтенсивності показників ПОЛ у корів, хворих на субклінічну форму маститу, за дії ліпосомального препарату, виготовленого на основі звіробою продірявленого (*Hypericum perforatum L.*).

Матеріали і методи. Дослідження проведено у ТОВ «Молочні ріки» Бродівського району Львівської області на коровах 2-3 лактації, які, за принципом аналогів, були розділені на дві групи: контрольну (здорові тварини) та дослідну, по 5 тварин у кожній. Дослідну групу сформували з тварин, хворих на субклінічний мастит.

Субклінічні мастити визначали за допомогою реакції секрету з кожної чверті на молочно-контрольній пластинці з 2 % розчином мастидину. Коровам дослідної групи в уражені чверті вимені інтрацистернально тричі з інтервалом 24 год вводили ліпосомальний препарат – перша доба 10 см³, наступні дві доби – по 5 см³. Молоко перед введенням препарату здоювали вручну, дезінфікували дійку. Після введення препарату проводили масаж молочної залози знизу вгору для його рівномірного розподілу. Корови були переведені на ручне доїння. У здорові чверті молочної залози профілактично вводили половину лікувальної дози.

Ліпосомальний препарат, виготовлений на основі рослинної сировини – це антибактеріальний препарат, розроблений у лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН. До складу препарату входить: новоіманін – витяжка із звіробою продірявленого (*Hypericum perforatum L.*), вітаміни А, D₃, Е, лецитин, твін. Препарат активний щодо грампозитивних бактерій, в тому числі до *Streptococcus pyogenes* та *Streptococcus agalactiae*. Протизапальна дія зумовлена наявністю в препараті флавоноїдів. Він має здатність загоювати поверхню рани і стимулює регенерацію тканин [7].

Для проведення біохімічних досліджень від корів кров відбирали з яремної вени до ранкової годівлі на 1-шу добу (до введення препарату) і на 3-тю та 9-ту добу після його застосування.

Визначали вміст гідроперекисів ліпідів (Миرونчик А. К., 1982), ТБК–активні продукти (Коробейникова Е. Н., 1989), глутатіонпероксидазну активність (ГП) за швидкістю окиснення глутатіону в присутності гідроперекису третинного бутилу (Моин В. М., 1986) та вміст відновленого глутатіону в еритроцитах крові (Батлер Э., 1982).

Статистичну обробку даних здійснено з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel.

Результати й обговорення. Антиоксидантна система забезпечує адаптаційну стійкість організму тварин та регулює реакції ПОЛ завдяки функціонуванню системи ферментативних і неферментативних механізмів контролю за вмістом активних форм кисню, вільних радикалів та продуктів пероксидації ліпідів. Одним із негативних наслідків пероксидного окиснення ліпідів є утворення ТБК – активних продуктів, які є кінцевими продуктами ПОЛ.

Проведені дослідження показали, що захворювання корів на субклінічну форму маститу призводить до підвищення у хворих корів вмісту ТБК–активних продуктів, а також гідроперекисів ліпідів – проміжного продукту. Так, на першу добу експерименту (до введення препарату) рівень ТБК–активних продуктів був на 26,57 % ($P < 0,01$), а гідроперекисів ліпідів – на 32,85 % ($P < 0,001$) більший, ніж у тварин контрольної групи (табл. 1).

Після інтрацистернального введення коровам досліджуваного ліпосомального препарату на 9-ту добу спостерігалось достовірне зниження вмісту ТБК–активних продуктів ($7,17 \pm 0,25$ % проти $8,62 \pm 0,16$ %, $P < 0,01$) і гідроперекисів ліпідів ($1,42 \pm 0,08$ % проти $1,82 \pm 0,05$ %, $P < 0,01$), у порівнянні з рівнем, зафіксованим до лікування препаратом.

Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові корів (M±m; n=5)

| Показники | Групи тварин | Періоди досліджень | | |
|---------------------------------|--------------|--------------------|---------------------|---------------------------------|
| | | до лікування | 3-тя доба лікування | 9-та доба від початку лікування |
| ТБК-активні продукти, мкмоль/л | К | 6,83±0,31 | | |
| | Д | 8,62±0,16** | 8,13±0,22* | 7,17±0,25°° |
| Гідроперекиси ліпідів, од. Е/мл | К | 1,37±0,06 | | |
| | Д | 1,82±0,05*** | 1,63±0,09 | 1,42±0,08°° |

Примітка: °° – P<0,01 – вірогідність у тварин даної групи, порівняно з показниками до введення препарату (1-ої доби експерименту); * – P<0,05, ** – P<0,01, *** – P<0,001 – різниця вірогідна порівняно до показників контрольної групи.

Отже, досліджуваний нами препарат проявляє інгібуючий вплив на інтенсивність як проміжних, так і кінцевих продуктів ПОЛ у хворих на субклінічний мастит корів.

Для характеристики співвідношень між прооксидантними та антиоксидантними процесами в клітинах тварин важливе значення має активність ГП. Відомо, що ГП каталізує реакції перетворення гідроген пероксиду та гідропероксидів ліпідів до відповідних окисполук, здійснюючи детоксикаційну функцію в клітинах. Таким чином, цей ензим гальмує процеси вільнорадикального окиснення та захищає плазматичні мембрани, внутрішньоклітинні структурні компоненти та біомолекули від пошкоджень [8].

Встановлено, що ГП-активність у плазмі і вміст відновленого глутатіону в еритроцитах крові корів, хворих на субклінічну форму маститу, були нижчими, ніж у клінічно здорових тварин (табл. 2). Зокрема, ГП-активність була нижчою на 15,15 %, а рівень відновленого глутатіону – на 9,3 % (P<0,05), ніж у тварин контрольної групи.

Таблиця 2

Активність глутатіонпероксидази та вміст відновленого глутатіону у крові корів (M±m; n=5)

| Показники | Групи тварин | Періоди досліджень | | |
|---|--------------|--------------------|---------------------|---------------------------------|
| | | до лікування | 3-тя доба лікування | 9-та доба від початку лікування |
| ГП акт. в еритроцитах, Нм GSH/хв х мг білка | К | 23,30±1,47 | | |
| | Д | 19,77±0,57 | 22,91±0,86 | 23,14±1,03° |
| Відновлений глутатіон в еритроцитах, мкМ/мл | К | 0,43±0,01 | | |
| | Д | 0,39±0,01* | 0,41±0,01 | 0,43±0,01° |

Примітка: ° – P<0,05 — вірогідність у тварин даної групи порівняно з показниками до введення препарату (1-ої доби експерименту); * – P<0,05 — різниця вірогідна порівняно до показників контрольної групи.

Після введення дослідного препарату, у хворих корів, порівняно до контрольної групи тварин зафіксовано вірогідне підвищення ГП-активності та збільшення вмісту відновленого глутатіону. На 9-ту добу лікування у хворих корів вони були на рівні показників у клінічно здорових тварин.

Отже, введення ліпосомального препарату при субклінічному маститі у корів призводить до зниження інтенсивності пероксидної окисації ліпідів і до підвищення окремих показників глутатіонової ланки антиоксидантної системи.

ВИСНОВКИ

1. Захворювання корів на субклінічну форму маститу призводить до достовірного зростання вмісту ТБК-активних продуктів і гідроперексидів ліпідів, та зниження на 15,15 % ГП-активності і на 9,3 % – рівня відновленого глутатіону у крові тварин.

2. Інтрацистернальне введення ліпосомального препарату спонукає зниження вмісту ТБК–активних продуктів і гідроперекисів ліпідів та зростання ГП-активності і вмісту відновленого глутатіону до рівня показників клінічно здорових корів.

Перспективи досліджень. Планується провести комплексне функціональне дослідження імунокомпетентних клітин, за умов використання нового комплексного ліпосомального препарату на основі рослинної сировини.

SYSTEM OF ANTIOXIDANT PROTECTION IN COWS SUFFERING FROM SUB-CLINICAL FORM OF MASTITIS WITH THE USE OF LIPOSOMAL PREPARATION

V. A. Chepurna¹, T. M. Suprovych¹, O. I. Vishchur², V. P. Mizik¹

¹Podilsk State Agrarian-Technical University
13, Shevchenko str., Kamyanets-Podilskyi, Khmelnytsk area, Ukraine

²Institute of Animal Biology of NAAS,
38, Vasyl Stusa, str. Lviv, Ukraine

S U M M A R Y

The article presents the results of experimental research on the impact of liposomal preparation made on the basis of plant material – *Hypericum perforatum L.*, on the level of peroxide oxidation products of lipids and the state of the antioxidant protection system in cows suffering from subclinical mastitis.

The research was conducted at the Molochni Riky LLC of the Brody District, Lviv Region, on cows with lactation number 2 and 3, which, by analogy, were divided into two groups: control and experimental, with 5 animals in each. The control group was composed by clinically healthy animals, the experimental group consisted of cows with signs of subclinical mastitis. To determine the affected area of the mammary gland, a 2 % aqueous solution of mastidine was used. Liposomal preparation was inter-cisternally injected to the animals in the experimental group in the affected fourth quarter of the udder three times a day, at 24 hour intervals, - 10 cm³ the during the first 24 hours, and 5 cm³ on each of the two subsequent days. Animal blood was sampled on the 1st day (prior to the administration of the drug) and on the 3rd and 9th day after its application.

It has been established that in sick cows there is an increase of TBA-active product levels in blood plasma as well as lipid hydroperoxides – an intermediate product. Thus, on the first day of the experiment (prior to the administration of the drug), the level of TBA-active products was 26.57 %

($P < 0.01$), and lipid hydroperoxides level was higher by 32.85 % ($P < 0.001$) than that of control animals. At the same time glutathione peroxidase activity in plasma and the content of restored glutathione in the red blood cells of cows suffering from subclinical form of mastitis were lower than in clinically healthy animals. In particular, GP activity was lower by 15.15 %, and the level of restored glutathione was reduced by 9.3 % ($P < 0.05$) compared to control animals.

After intercisternal administration of liposomal to dairy cows, there was a decrease in the content of TBA-active products (7.17 ± 0.25 % vs. 8.62 ± 0.16 %, $P < 0.01$) and lipid hydroperoxides (1.42 ± 0.08 % against 1.82 ± 0.05 %, $P < 0.01$) compared with the level observed prior to treatment. Also there is a significant increase in glutathione peroxidase activity and an increase in the content of restored glutathione.

Thus, the use of a liposomal preparation in cows suffering from subclinical form of mastitis leads to a decrease in the intensity of peroxide oxidation of lipids in cows and leads to an increase in certain parameters of the glutathione link of the antioxidant system.

Keywords: CATTLE, SUBCLINICAL MASTITIS, SOMATIC CELLS, PRODUCTS OF PEROXIDE OF LIPIDS, SYSTEM OF ANTIOXIDANT DEFENCE.

СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У КОРОВ, БОЛЬНЫХ СУБКЛИНИЧЕСКИМ МАСТИТОМ, ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА

В. А. Чепурная¹, Т. М. Супрович¹, О. И. Вищур², В. П. Мизык¹

¹Подольский государственный аграрно-технический университет
ул. Шевченко, 13, Каменец-Подольский, Хмельницкая область, Украина

²Институт биологии животных НААН,
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье приведены результаты экспериментальных исследований относительно влияния нового комплексного липосомального препарата, изготовленного на основе зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum L.*), на уровень продуктов перексидного окисления липидов и состояние системы антиоксидантной защиты у коров, больных субклинической формой мастита. Исследования показали, что у больных коров происходит увеличение интенсивности процессов ПОЛ. Интрацистернальное введение больным коровам липосомального препарата способствует снижению ($P < 0,01$) концентрации в плазме крови ТБК-активных продуктов и гидропероксидов липидов ($7,17 \pm 0,25$ % против $8,62 \pm 0,16$ %) и соответственно ($1,42 \pm 0,08$ % против $1,82 \pm 0,05$ %). При этом зафиксировано увеличение глутатионпероксидазной активности и содержания восстановленного глутатиона в крови коров при введении исследуемого препарата.

Ключевые слова: КРУПНЫЙ РОГАТЫЙ СКОТ, СУБКЛИНИЧЕСКИЙ МАСТИТ, СОМАТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ, ПРОДУКТЫ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Кравченко О. М.* Місце України в світовому виробництві молока [Текст] / О. М. Кравченко // Зб. наук. пр. Таврійського державного агротехнологічного університету (економічні науки). – Мелітополь. – 2012. – Вип. 2 (18). – С. 255–261.
2. *Паневник В. В.* Етіологічні чинники маститів корів української чорно-рябої молочної породи [Текст] / В. В. Паневник, Т. М. Супрович // Науковий вісник Львівського НУВМБТ імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки. – Львів. – 2016. – Вип. 18, № 3. – С. 191 – 195.
3. *Супрович Т. М.* Розподіл алелів гена VOLA-DRB3. 2 у корів української червоно-рябої молочної породи при маститах [Текст] / Т. М. Супрович // Тваринництво України. – 2015. – Вип. 11. – С. 15–19.
4. *Барсуков Л. И.* Липосомы [Текст] / Л. И. Барсуков // Сорос. образов. журн. – 1998. – № 10. – С. 12–19.
5. *Чепурна В. А.* Лейкоцитарний та біохімічний профіль крові корів, хворих на клінічний мастит, за дії ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату [Текст] / В. А. Чепурна, Т. М. Супрович, О. І. Вищур, В. Л. Коваленко. – ДНКІБШМ, Ветеринарна біотехнологія. – Київ. – 2018. – Вип. 32(1) – С. 307–311.

6. *Собко Г. В.* Вплив препарату «Антимаст» на стан системи антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу [Текст] / Г. В. Собко, Н. А. Брода, О. І. Віщур, Б. М. Куртяк // Науковий вісник Львівського НУВМБТ імені С. З. Гжицького. – Львів. – 2016. – Т. 18. – № 1 (65). – Ч. 1. – С. 154–159.

7. *Чепурна В. А.* Стан неспецифічної резистентності у хворих на мастит корів за дії ліпосомального препарату [Текст] / В. А. Чепурна, Т. М. Супрович, О. І. Віщур, Д. І. Мудрак – Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин – Львів. – 2018. – Вип.19, – №2. – С. 42 – 46.

8. *Дубинина Е. Е.* Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состоянии окислительного стресса / Е. Е. Дубинина. // Вопросы мед. хим. – 2001. – 76, – № 6. – С. 136–141.

Рецензент – О. І. Чайковська, к. б. н., с. н. с., ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.