

ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ТІЛЬНИХ КОРІВ ТА ЇХ ТЕЛЯТ ЗА ДІЇ НОВИХ ІМУНОТРОПНИХ ЗАСОБІВ У ВИГЛЯДІ ЛІПОСОМАЛЬНОЇ ЕМУЛЬСІЇ

Л. І. Понкало *

Інститут біології тварин НААН

У статті наведено дані про вплив парентерального введення коровам в останній місяць тільності вітамінів А, D₃, Е, лізину, метіоніну окремо з оцтовокислим цинком або селенітом натрію у формі ліпосомальної емульсії на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) й активність глутатіонової системи антиоксидантного захисту (САЗ) в їхньому організмі та народжених від них телят. Встановлено стимулювальний вплив вказаних чинників у складі ліпосомальної емульсії на активність глутатіонової САЗ, та інгібуючий на інтенсивність продуктів ПОЛ в організмі корів до і після родів та одержаних від них телят. Про що свідчать вірогідне зниження в крові корів та їх телят концентрації ТБК-активних продуктів і гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) та підвищення глутатіонпероксидазної активності (ГП) і вмісту відновленого глутатіону (ВГ). Вказані зміни, що відбувались у крові тварин дослідних груп можна пояснити комплексною адитивною дією складників препарату, що нормалізують метаболічні та вільнорадикальні процеси в організмі корів та у народжених від них телят. Введення у склад ліпосомальної емульсії селеніту натрію спричиняє більший вплив на активність глутатіонової САЗ та інтенсивність ПОЛ у крові корів та їх телят, ніж оцтовокислому цинку.

Ключові слова: АНТИОКСИДАНТИ, ГІДРОПЕРОКСИДИ ЛІПІДІВ, ТБК-АКТИВНІ ПРОДУКТИ, ВІТАМІНИ А, D₃, Е, СЕЛЕН, ЦИНК, КОРОВИ, ТЕЛЯТА

Відомо, що останній місяць тільності у корів є критичним фізіологічним періодом, який характеризується посиленням обміну речовин, вільнорадикальних процесів та зниженням імунобіологічної реактивності в їхньому організмі [12]. Це зумовлено інтенсивним ростом плода, внаслідок чого підвищується транспорт пластичних, енергетичних і біологічно-активних компонентів (амінокислот, глюкози, жирних кислот, вітамінів, мінеральних речовин) з крові матері до плода, що вимагає значних витрат енергії і призводить до зменшення субстратного забезпечення основних фізіологічних функцій у корів [10, 11]. У кінці тільності в крові корів зменшується концентрація вільних амінокислот, глюкози, жиророзчинних вітамінів, макро- і мікроелементів [6, 9] та підвищується концентрація продуктів пероксидного окиснення ліпідів [3]. Особливо виражені ці зміни в останні роки в господарствах України, що зумовлено недостатньою і неповноцінною годівлею, що призводить до зниження активності антиоксидантної та імунної систем у корів і одержаних від них телят. Тому актуальним у науковому і практичному плані є розробка ефективних комплексних препаратів пролонгованої дії, які будуть володіти антиоксидантними та імуномодулюючими властивостями.

Метою роботи було з'ясувати вплив нових імунотропних засобів, в склад яких входять вітаміни А, D₃, Е, лізин, метіонін окремо з оцтовокислим цинком або селенітом натрію у формі ліпосомальної емульсії, на інтенсивність процесів ПОЛ і активність глутатіонової САЗ в організмі корів та їх телят.

*Науковий керівник — доктор ветеринарних наук Віщур О. І.

Біологія тварин, 2012, т. 14, № 1–2

Матеріали і методи

Дослідження проводили в одному із фермерських господарств Жидачівського району Львівської області на трьох групах корів чорно-рябої молочної породи останнього місяця тільності, розділених за принципом аналогів по п'ять тварин у кожній. Коровам I групи (контрольної), за місяць до передбачуваних родів, внутрішньом'язово вводили ізотонічний розчин натрію хлориду, тваринам II групи (дослідної) відповідно вітаміни А, D₃, Е, лізин, метіонін і цинк оцтовокислий, тваринам III групи (дослідної) — комплекс вказаних вітамінів, лізин, метіонін і селеніт натрію. Досліджувані чинники у формі ліпосомальної емульсії вводили коровам в останній місяць тільності парентерально двічі з інтервалом 10 днів у дозі 0,02 мл/кг маси тіла. Матеріалом для досліджень слугувала кров, яку брали з яремної вени корів за 30, 25 та 20 діб до передбачуваних родів та на першу і третю добу після отелення. У телят, одержаних від корів контрольної і дослідних груп, кров брали з яремної вени на третю добу після народження.

У плазмі крові визначали вміст гідропероксидів ліпідів [7] та ТБК-активних продуктів [4]. В еритроцитах і плазмі крові визначали глутатіонпероксидазну активність за швидкістю окиснення глутатіону в присутності гідроперекису третинного бутилу [8] і вміст відновленого глутатіону [1].

Результати й обговорення

Пероксидне окиснення ліпідів є нормальним фізіологічним процесом, що постійно проходить в організмі тварин, і є процесом безпосереднього перенесення кисню на субстрат з утворенням перекисів, кетонів, альдегідів та інших сполук. Субстратом ПОЛ є поліненасичені жирні кислоти. Проміжними продуктами пероксидації є гідропероксиди ліпідів, для яких характерна висока реакційна активність, тому вони спричиняють пошкоджувальну дію на біомолекули. Проте, пероксиди ліпідів є досить нестійкими і легко піддаються розпаду з утворенням більш стійких, вторинних (проміжних) продуктів ПОЛ (спирти, альдегіди, діальдегіди, ацетон). Кінцевим продуктом пероксидації є ТБК-активні продукти [2].

З наведених у таблиці 1 результатів досліджень бачимо, що концентрація досліджуваних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові корів обох дослідних груп, а також в одержаних від них телят була менша, ніж у контрольній, проте ступінь цих різниць значно коливається залежно від рівня продукту ПОЛ, з одного боку, і від складу препарату — з іншого. Так, введення коровам II і III груп в останній місяць тільності комплексу вітамінів А, D₃, Е, лізину, метіоніну окремо з оцтовокислим цинком або селенітом натрію у формі ліпосомальної емульсії більшою мірою впливало на кінцеві продукти ПОЛ, ніж на проміжні, про що свідчать вірогідні різниці у вмісті ТБК-активних продуктів у плазмі крові корів обох дослідних груп порівняно до контрольної за 20 діб до отелу.

Проведені дослідження показали (табл. 1), що концентрація проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у плазмі крові корів обох дослідних груп після отелу була менша, ніж у контрольній. Про що свідчать вірогідні різниці у вмісті гідро пероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів у плазмі крові обох дослідних груп порівняно до контролю на першу і третю добу після отелу. При цьому, різниці у вмісті ТБК-активних продуктів були виражені більшою мірою у плазмі крові корів третьої групи, яким вводили препарат, що містив селеніт натрію, ніж у тварин другої групи, що вказує про більший інгібуючий вплив на кінцеву стадію пероксидного окиснення ліпідів Селену ніж Цинку.

У телят, одержаних від корів другої і третьої груп, вміст проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ був також вірогідно менший, ніж у контролі.

Вміст гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів у плазмі крові корів та їх телят ($M \pm m$, $n=4-5$)

Показник	Групи	Періоди досліджень					Телята трьохдобового віку
		за 30 діб до отелу	за 25 діб до отелу	за 20 діб до отелу	1-ша доба після отелу	3-тя доба після отелу	
ТБК-активні продукти, нмоль/мл	I	7,75±0,27	7,91±0,15	8,00±0,17	7,38±0,35	7,94±0,18	4,07±0,17
	II	7,23±0,22	7,65±0,09	7,31±0,12*	6,59±0,20	5,70±0,13***	2,42±0,11***
	III	7,54±0,34	7,46±0,13	6,71±0,23***	5,77±0,25**	5,22±0,13***	2,23±0,11***
ГПЛ, одЕ/мл	I	1,66±0,09	1,69±0,09	1,68±0,16	1,65±0,08	1,62±0,08	0,38±0,01
	II	1,65±0,08	1,58±0,05	1,39±0,06	1,33±0,07*	1,32±0,08*	0,33±0,01*
	III	1,63±0,14	1,50±0,14	1,16±0,20	1,10±0,13**	1,08±0,05***	0,29±0,02**

Примітка: У цій і наступній таблиці різниці статистично вірогідні відносно тварин контрольної групи: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

З цих даних випливає, що введення коровам в останній місяць тільності досліджуваних препаратів призводить до зниження вмісту проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у плазмі крові корів, а також у народжених від них телят.

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 [5]. Ефективність ферментативної ланки має вирішальне значення у підтримці прооксидантно-антиоксидантного балансу в організмі. Вітаміни А і Е, а також мікроелементи Селен та Цинк є ефективними природними антиоксидантами, які здатні підтримувати рівновагу окисно-відновних реакцій в організмі тварин [6].

Як показали результати проведених досліджень (табл. 2), глутатіонпероксидазна активність в еритроцитах крові у корів контрольної і дослідних груп була вища, ніж у плазмі. Парентеральне введення коровам за місяць до отелення досліджуваних препаратів, стимулювало активність глутатіонової САЗ у тільних корів, а також одержаних від них телят. Про що свідчить вища глутатіонпероксидазна активність, ключового ферменту системи антиоксидантного захисту у плазмі і в еритроцитах крові корів обох дослідних груп, порівняно до контрольної у всі періоди досліджень після введення препаратів. Проте різниці порівняно до тварин контрольної групи виявились вірогідними в еритроцитах крові корів другої групи за 20 діб до отелу та на третю добу після отелу ($p < 0,05$). У корів третьої групи, яким у склад досліджуваного ліпосомального препарату вводили селеніт натрію, глутатіонпероксидазна активність в еритроцитах крові на всіх стадіях дослідження після введення препарату була вища ($p < 0,01-0,001$), ніж в контролі. При цьому у телят, одержаних від корів третьої групи, глутатіонпероксидазна активність еритроцитах крові була вищою ($p < 0,001$), ніж в контрольних. Ці дані свідчать про стимулювальний вплив Селену, який входив до складу досліджуваного ліпосомального препарату, на синтез селензалежної глутатіонпероксидази в еритроцитах і плазмі корів та їх телят. Глутатіонпероксидаза є найважливішим антиоксидантним ферментом, який каталізує розщеплення H_2O_2 і гідроперексидів жирних кислот [5]. У цьому процесі приймає участь відновлений глутатіон, до якого фермент проявляє високу спорідненість.

З наведених у таблиці 2 даних бачимо, що в еритроцитах крові корів II і III груп, у всі періоди досліджень після введення препаратів концентрація відновленого глутатіону була більша, ніж у контрольній.

Глутатіонпероксидазна активність та вміст відновленого глутатіону в крові корів та їх телят (M±m, n=4-5)

Показник	Групи	Періоди досліджень					Телята 3-добового віку
		за 30 діб до отелу	за 25 діб до отелу	за 20 діб до отелу	1-а доба після отелу	3-тя доба після отелу	
ГП, нмоль GSH/хв·мг білка, (еритроцити)	I	19,96±1,35	20,92±2,67	21,04±0,94	18,73±0,44	19,40±0,44	38,37±1,06
	II	20,10±0,95	24,76±0,69	24,16±0,71*	20,36±1,03	21,71±0,59*	40,80±1,64
	III	20,52±0,58	26,09±1,08	27,16±0,75**	24,62±0,98***	24,91±0,49***	47,79±1,05***
ГП, нмоль GSH/хв·мг білка, (плазма)	I	0,503±0,01	0,516±0,02	0,494±0,02	0,447±0,01	0,465±0,013	0,412±0,01
	II	0,510±0,02	0,525±0,012	0,544±0,007*	0,536±0,02**	0,540±0,02*	0,422±1,52
	III	0,511±0,02	0,582±0,015*	0,597±0,011**	0,568±0,02***	0,577±0,01***	0,462±1,66
ВГ, мкмоль/мл, (еритроцити)	I	0,37±0,05	0,38±0,02	0,39±0,04	0,37±0,03	0,37±0,04	0,78±0,05
	II	0,38±0,06	0,42±0,04	0,42±0,03	0,40±0,02	0,41±0,05	0,86±0,05
	III	0,39±0,08	0,46±0,08	0,48±0,05	0,43±0,03	0,47±0,04	1,02±0,07*

Проте різниці виявилися вірогідними лише в еритроцитах крові телят, одержаних від корів третьої групи.

У цілому одержані результати досліджень показали, що парентеральне введення коровам за місяць до отелення досліджуваних препаратів, знижує інтенсивність процесів ПОЛ, стимулює глутатіонову систему антиоксидантного захисту у корів та народжених від них телят.

Висновки

Парентеральне введення коровам в останній місяць тільності вітамінів А, D₃, Е, лізину, метіоніну у комплексі з оцтовокислим цинком або селенітом натрію у вигляді ліпосомальної емульсії призводить до підвищення активності глутатіонової системи антиоксидантного захисту та зниження інтенсивності процесів ПОЛ у крові корів, а також в одержаних від них телят. При цьому вплив на активність досліджуваних біологічних систем в організмі корів і їх телят був виражений більшою мірою при застосуванні у складі досліджуваного препарату Селену, ніж Цинку.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження впливу нових імунотропних препаратів у вигляді ліпосомальної емульсії на Т- і В-клітинну ланку імунітету у корів та народжених від них телят.

L. I. Ponkalo

INTENSITY OF PEROXIDATION OF LIPIDS AND ACTIVENESS OF GLUTATHION SYSTEM OF ANTOIXIDANT PROTECTION IN INCALVERS AND THEIR CALVES UNDER THE INFLUENCE OF NEW IMMUNOTROPIC MEDICATION IN THE FORM OF LIPOSOMAL EMULSION

S u m m a r y

The article deals with data regarding influence of parenteral injection of vitamins A, D₃, E, lysine, methionine with zinc acetate or sodium selenite in the form of liposomal emulsion alone, to cows in the last spring months, on the intensity of lipid peroxidation processes (LP) and activeness

of glutathion system of antioxidant protection (APS) in their organism and calves born from them. It was determined stimulating influence of mentioned factors within liposomal emulsion on the activeness of glutathion APS, inhibitive influence on the intensity of LP products in the cows' organism before and after delivery and calves born from them. It is testified by obvious decrease in concentration of trichlorobenzok-active products and lipid hydroperoxides (LH) and increase of glutathion peroxydase activeness (GP) as well as content of renewed glutathione (RG). Indicated changes that occurred in blood of testing cows may be explained by complex additive action of the medication's compounds that normalize metabolic and free-radical processes in the organisms of cows and calves born from them. Including sodium selenite into liposomal emulsion leads to more influence on the activeness of glutathione APS and intensity of LP in blood of cows and their calves than zinc acetate.

Л. И. Понкало

ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У СТЕЛЬНЫХ КОРОВ И ИХ ТЕЛЯТ ПРИ ДЕЙСТВИИ НОВЫХ ИМУНОТРОПНЫХ СРЕДСТВ В ВИДЕ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЭМУЛЬСИИ

А н н о т а ц и я

В статье представлены результаты изучения влияния парентерального введения коровам в последний месяц стельности витаминов А, D₃, Е, лизина, метионина отдельно с уксуснокислым цинком или селенитом натрия в форме липосомальной эмульсии на интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность глутатионовой системы (САЗ) в их организме и рожденных от них телят. Обнаружено стимулирующие влияние указанных факторов в составе липосомальной эмульсии на активность глутатионовой САЗ и ингибирующие на образование продуктов ПОЛ в организме коров до и после родов и полученных от них телят, о чем свидетельствует достоверное снижение концентрации ТБК-активных продуктов и гидроперекисей липидов (ГПЛ) и повышения глутатионпероксидазной активности (ГП) и содержание восстановленного глутатиона (ВГ) в крови коров и их телят. Указанные изменения в крови животных опытных групп происходили благодаря комплексному действию компонентов препарата, которые нормализуют метаболические и свободнорадикальные процессы в организме коров и рожденных от них телят. Введение в составе липосомальной эмульсии селенита натрия вызывает большее влияние на активность глутатионовой САЗ и ингибирующий на интенсивность ПОЛ в крови коров и их телят, чем уксуснокислого цинка.

1. *Батлер Э.* Методика определения уровня восстановленного глутатиона в эритроцитах крови [Текст] : методические рекомендации по дифференциальной диагностике различных форм ишемической болезни сердца с использованием определения компонентов глутатионовой, противоперекисной каталитической системы в эритроцитах крови / Э. Батлер, О. Дюбра, Б. Келли. — Одесса, 1982. — С. 16–20.

2. *Владимиров Ю. А.* Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А.Владимиров // Соросовский образовательный журнал. — 2000. — Т. 6, № 12. — С. 13–19.

3. *Данчук В. В.* Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці / В. В. Данчук. — Кам'янець-Подільський : Абетка, 2006. — 192 с.

4. *Коробейникова С. Н.* Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК [Текст] / С. Н. Коробейникова // Лаб. дело. — 1989. — № 7. — С. 8–9.
5. *Кулинский В. Й.* Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы / В. Й. Кулинский, Л. С. Колисниченко // Успехи современной биологии. — 1993. — № 1, Т. 113. — С. 107–123.
6. *Куртяк Б. М.* Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині і тваринництві / Б. М. Куртяк, В. Г Янович. — Львів : Тріада плюс, 2004. — 426 с.
7. *Мирончик В. В.* Способ определения содержания гидроперекисей липидов в биологических тканях [Текст] : методики досліджень сільськогосподарських тварин / В. В. Мирончик — Львів, 1998. — С. 91–92.
8. *Моин В. М.* Простой и специфический метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах [Текст] / В. М. Моин // Лаб. дело. — 1996. — № 12. — С. 724–727.
9. *Снітинський В. В.* Біохімічна роль селену / В. В Снітинський, Г. Л. Антосяк // Український біохімічний журнал. — 1994. — Т. 66, № 5. — С. 3–16
10. *Bass R. T.* Effects of supplemental parenteral administration of vitamin E and selenium to Jerseys and Holsteins during the nonlactating period [Text] / R. T. Bass, W. S. Sweeker, C. C. Stallings // Am. J. Vet. Res. — 2000. — Vol. 61, N 9. — P. 1052–1056.
11. *Fisher D. D.* Effects of selenium sources on selenium status of lactating cows [Text] / D. D. Fisher, S. W. Saxton, R. D. Elliot, J. M. Beatty // Vet. Clin. Nutr. — 1995. — Vol. 2. — P. 68–74.
12. *Gunter S. A.* Effects of supplementary selenium source on the performance and blood measurements in beef cows and their calves [Text] / S. A. Gunter, P. A. Beck, J. M. Phillips // J. Anim. Sci. — 2003. — Vol. 81. — P. 856–864.

Рецензент: науковий співробітник лабораторії фізіології, біохімії та живлення птиці, кандидат сільськогосподарських наук Кисців В. О.