

DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-4-24-27
УДК 619:616-084:618.7

ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В РАННИЙ ПОСЛЕРОДОВЫЙ ПЕРИОД ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТА «ПРОАУТОВАК»

Зимников В.И. ORCID ID 0000-0002-6371-7143, Ческидова Л.В. ORCID ID 0000-0003-0196-1754,
Ермолова Т.Г. ORCID ID 0000-0002-3695-8494

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии
и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

*Проведенными исследованиями установлено, что применение препарата Проаутовак способствовало более выраженному изменению показателей системы ПОЛ-АОЗ. Так, концентрация МДА на 28,8% была ниже по сравнению с коровами из группы отрицательного контроля, ИЭИ – на 18,7%, МСМ – на 31,7%, NO – на 27,8%, при повышении содержания витамина А – на 50,0%, витамина Е – на 35,5% и витамина С – на 32,8%, а также активности каталазы – на 27,5% и глутатионпероксидазы – на 53,6%, что свидетельствует о снижении процессов перекисного окисления липидов и эндогенной интоксикации и активации ферментативного и неферментативного звеньев системы антиоксидантной защиты. **Ключевые слова:** профилактика, мастит, новотельные коровы, эндогенная интоксикация, антиоксидантная защита, проаутовак, биферон-Б.*

INDICATORS OF ANTIOXIDANT PROTECTION AND ENDOGENOUS INTOXICATION IN THE EARLY POSTPARTUM PERIOD WHEN USING THE DRUG PROAUTOVAK

Zimnikov V.I., Cheskidova L.V., Ermolova T.G.

FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy",
Voronezh, Russian Federation

*The conducted studies found that the use of the drug Proautovak contributed to a more pronounced change in the indicators of the LPO-AOD system, so the concentration of MDA was by 28.8% lower, compared to the cows from the negative control group, IEI - by 18.7%, MWM - by 31.7%, NO - by 27.8%, with an increase in the content of vitamin A - by 50.0%, vitamin E - by 35.5% and vitamin C - by 32.8%, as well as catalase activity - by 27.5% and glutathione peroxidase - by 53.6% that indicated a decrease in the processes of lipid peroxidation and endogenous intoxication and activation of the enzymatic and non-enzymatic components of the antioxidant defense system. **Keywords:** prevention, mastitis, newly calved cows, endogenous intoxication, antioxidant protection, Proautovak, Biferon-B.*

Введение. В условиях ведения интенсивного молочного животноводства одной из важнейших причин получения молока низкого санитарного качества и снижения молочной продуктивности коров является воспаление молочной железы, мастит.

По мнению современных ученых, окислительный стресс принимает непосредственное участие в патогенезе воспаления молочной железы, что проявляется чрезмерным накоплением в организме больных животных продуктов свободнорадикальных реакций, это обуславливается нарушениями функционирования системы антиоксидантной защиты [3, 5].

Несмотря на то, что перекисное окисление липидов (ПОЛ) является индуктором окислительного стресса при свободно радикальной патологии. ПОЛ рассматривается как один из доминирующих метаболических процессов, является основным источником энергии, необходимой для жизнедеятельности организма, обеспечивает регуляцию функциональной деятельности физиологических систем, а также является показателем устойчивости метаболических реакций в организме [10].

Накопление и утилизацию продуктов свободнорадикального окисления контролируют ферментативные и неферментативные звенья антиоксидантной защиты (АОЗ). Ограничивая содержание в организме продуктов перекисидации и активных форм кислорода, система АОЗ поддерживает на оптимальном уровне процессы свободнорадикального окисления липидов [1, 8].

Накоплению в организме больных животных, токсических продуктов свободнорадикального окисления способствует снижение функционирования ферментативных и неферментативных звеньев антиоксидантной защиты. На этом фоне происходит ослабление клеточного и гуморального иммунитета за счет негативного воздействия продуктов перекисидации на биосинтез белков, изменение структурного и функционального состояния биомембран [6].

Свободнорадикальные реакции принимают непосредственное участие в развитии воспалительных процессов в молочной железе, при нарушении функционирования ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты происходит чрезмерное накопление их продуктов в организме больных животных и возникает окислительный стресс [4]. В связи с этим с целью усиления работы системы антиоксидантной защиты организма для профилактики мастита у лактирующих коров необходимо применение препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами и направленных на нейтрализацию продуктов перекисидного окисления липидов [1, 9].

При разработке профилактических и терапевтических схем и фармацевтических препаратов в

качестве альтернативы традиционного лечения мастита могут быть использованы препараты рекомбинантных интерферонов, так как известно, что они способны оказывать антибактериальное, антиоксидантное и противовоспалительное действие [2, 7]. В связи с этим наиболее актуальной задачей является изучение динамики показателей системы пероксидного окисления липидов и ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты при применении рекомбинантных интерферонов для профилактики мастита у лактирующих коров.

Цель исследования - изучить показатели системы перекисного окисления липидов, эндогенной интоксикации и антиоксидантной защиты при применении препарата «Проаутовак» для профилактики мастита у лактирующих коров.

Материалы и методы исследований. Исследования проведены на новотельных коровах голштинской породы (n=30), разделенных по принципу пар-аналогов на три группы. Коровам первой группы (n=11) инъецировали проаутовак трехкратно с 24-часовым интервалом в дозе 10 мл/животное, начиная с первого дня послеродового периода, второй (n=10) – биферон-б трижды с 24-часовым интервалом в дозе по 5 мл, третьей (n=9) - препараты не вводили, и они служили в качестве отрицательного контроля.

На 14 день после отела животные, включенные в опыт, подвергались диагностическому исследованию на мастит с 2% раствором масттеста и клиническому обследованию, а также определяли количество соматических клеток в пробах молока с помощью прибора «DCC DeLaval» по результатам которого определили эффективность применения препарата проаутовак для профилактики послеродового мастита.

От всех животных перед введением и на 14 день после отела отбирали кровь для спектрофотометрического исследования.

При оценке состояния ферментативного звена системы антиоксидантной защиты исследовали активность каталазы по способности пероксида водорода образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс, а активность глутатионпероксидазы (ГПО) - по уменьшению количества восстановленного глутатиона (донора водорода) в среде инкубации при восстановлении гидроперексидей глутатионпероксидазой [4].

О состоянии неферментативного звена судили по содержанию в сыворотке крови витаминов А, Е и С. Определение витамина А основано на щелочном гидролизе и экстракции витамина из сыворотки крови и измерении до и после его разрушения ультрафиолетом; витамина Е - на определении ионов двухвалентного железа, образующихся при взаимодействии α -токоферола с хлорным железом (Fe^{3+}) в виде окрашенного комплекса Fe^{2+} с фенантролином, а витамина С – на восстановлении трехвалентного железа в двухвалентное с образованием с α, α' -дипиридилем окрашенного комплекса [4].

Метод определения стабильных метаболитов оксида азота (суммы NOx) основан на восстановлении NO_3^- до NO_2^- с использованием хлорида ванадия (III) и последующее определение образовавшегося нитрита с помощью реактива Грисса [4].

Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в крови устанавливали по образованию окрашенного триметилового комплекса при реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [4].

Молекулы средней массы (МСМ) - полипептиды низкой и средней массы определяли при осаждении крупномолекулярных частиц плазмы крови раствором ТХУ с регистрацией оптической плотности водного раствора супернатанта при 238, 254, 266 и 282 нм [4].

Индекс эндогенной интоксикации (ИЭИ) рассчитывали по спектральной характеристике супернатанта после освобождения плазмы крови от содержащихся в ней высокомолекулярных пептидов и белков с использованием 10% раствора трихлоруксусной кислоты [4].

Результаты исследований. Проведенными исследованиями установлено, что у всех новотельных коров, включенных в опыт, был повышенный уровень продуктов перекисного окисления липидов и эндогенной интоксикации (таблица 1).

Таблица 1 - Изменение показателей ПОЛ при применении препарата «Проаутовак»

Показатели	После отела	14 дней после отела		
		Проаутовак	Биферон-Б	Контроль
МДА, мкМ/л	3,12±0,19	3,17±0,29**	3,26±0,14*	4,17±0,21
МСМ, у.е.	1,88±0,13	1,53±0,11**	1,63±0,11*	2,24±0,13
ИЭИ, у.е.	48,8±3,5	36,7±2,9*	33,9±3,3*	42,1±2,3
NO _x , мкМ/л	69,1±4,9	41,8±4,1**	45,1±3,8*	53,2±4,4

Примечания: * P < 0,05; ** P < 0,01 – по отношению к отрицательному контролю.

Причиной повышения продуктов перекисидации в организме считается недостаточная эффективность антиоксидантной защиты на фоне усиления генерации активных форм кислорода (АФК). Многие авторы считают, что у новотельных коров после отела увеличивается концентрация МДА и АФК в эпителиальных клетках молочной железы при одновременном снижении их антиоксидантной

способности, что вызывает повреждение клеток и способствует развитию воспаления. Другие публикации свидетельствуют о том, что окислительный стресс является причиной развития воспаления в молочной железе, а его снижение может ослабить патологические реакции, что особенно важно при профилактике мастита [1].

Установлено (таблица 1), у животных, которым вводили биферон-б, на 14 день после отела концентрация малонового диальдегида была ниже – на 14,6% ($P < 0,05$) по сравнению с животными группы отрицательного контроля, молекул средней массы – на 27,2% ($P < 0,05$), индекса эндогенной интоксикации – на 14,7% ($P < 0,05$), оксида азота – на 15,2% ($P < 0,05$)

После применения проаутовака изменения показателей перекисного окисления липидов имеют более выраженный характер. Так, концентрация малонового диальдегида – на 28,8% ($P < 0,01$) ниже по сравнению с коровами из группы отрицательного контроля, индекса эндогенной интоксикации – на 18,7% ($P < 0,05$), молекул средней массы – на 31,7% ($P < 0,01$), оксида азота – на 27,8% ($P < 0,01$), что свидетельствует о снижении процессов эндогенной интоксикации, перекисного окисления липидов.

Во многих случаях в организме животных в качестве средства борьбы с микроорганизмами участвует АФК и система оксида азота [6]. Некоторые ученые связывают повышение показателей цитокинов с высоким уровнем маркеров окислительного стресса и оксида азота, что требует изменения подходов к лечению мастита и применения лекарственных средств, корректирующих уровень провоспалительных цитокинов [1, 10].

Результаты изучения изменений показателей системы антиоксидантной защиты представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Динамика показателей системы АОЗ при применении проаутовака

Показатели	До лечения	14 дней после отела		
		Проаутовак	Биферон-Б	Контроль
Витамин А, мкМ/л	1,2±0,8	1,5±0,8***	1,4±0,9**	1,0±0,11
Витамин Е, мкМ/л	16,7±1,6	18,7±1,3**	16,9±1,1*	13,8±15
Витамин С, мкМ/л	22,5±1,9	29,1±1,8*	26,4±2,1*	21,9±1,6
Каталаза, мкМ H ₂ O ₂ / л • мин.	33,9±2,7	41,7±2,5*	39,9±2,3*	32,7±2,1
ГПО, мМ GSH / л • мин.	10,9±0,9	14,9±1,2**	14,4±0,8**	9,7±0,7

Примечания: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ – по отношению к отрицательному контролю.

Как следует из представленных данных таблицы 2, у коров в первые дни после отела отмечен низкий уровень активности ферментативного и не ферментативного звеньев системы антиоксидантной защиты.

Вместе с этим установлено, что при применении Биферона- Б регистрировали повышение активности антиоксидантной защиты, о чем свидетельствует увеличение концентрации витамина А – на 40,0% ($P < 0,01$), витамина Е – на 22,4% ($P < 0,05$) и витамина С – на 20,5% ($P < 0,05$), а также активности каталазы и глутатионпероксидазы - на 22,0 ($P < 0,05$) и 48,4% ($P < 0,01$) соответственно.

При применении проаутовака в крови у обработанных животных отмечены наиболее значительные изменения ферментативного и неферментативного звеньев системы антиоксидантной защиты, что выражается в повышении содержания витамина А – на 50,0% ($P < 0,001$), витамина Е – на 35,5% ($P < 0,01$) и витамина С – на 32,8% ($P < 0,05$), а также активности каталазы – на 27,5% ($P < 0,05$) и глутатионпероксидазы – на 53,6% ($P < 0,01$).

Заключение. Проведенные исследования по изучению показателей перекисидации липидов, эндогенной интоксикации и системы антиоксидантной защиты при применении препарата «Проаутовак» для профилактики мастита у коров свидетельствуют о снижении в организме новотельных животных процессов свободнорадикального окисления, у обработанных животных на 14 день после отела произошло снижение концентрации малонового диальдегида – на 28,8%, по сравнению с коровами из группы отрицательного контроля, индекса эндогенной интоксикации – на 18,7%, молекул средней массы – на 31,7%, оксида азота – на 27,8%, а также активизации ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты, о чем свидетельствует увеличение в крови животных концентрации витамина А – на 50,0%, витамина Е – на 35,5% и витамина С – на 32,8%, а также активности каталазы – на 27,5% и глутатионпероксидазы – на 53,6%. Следовательно, применение препаратов рекомбинантных интерферонов для профилактики мастита у коров в ранний послеродовой период способствует нормализации показателей системы антиоксидантной защиты, что может быть использовано при разработке новых схем профилактики и лечения воспалительных процессов в молочной железе лактирующих коров.

Conclusion. The conducted studies on the indicators of lipid peroxidation, endogenous intoxication and the antioxidant defense system when using Proautovak for the prevention of mastitis in cows indicate a decrease in free radical oxidation processes in the body of newly calved animals. On day 14 after calving, there was a decrease in the malonic dialdehyde concentration by 28.8%, compared with the cows from the

negative control group, endogenous intoxication index – by 18.7%, medium-weight molecules – by 31.7%, nitric oxide – by 27.8%, as well as activation of enzymatic and non-enzymatic links of antioxidant protection, as evidenced by an increase in the blood concentration of vitamin A – by 50.0%, vitamin E – by 35.5% and vitamin C – by 32.8%, as well as catalase activity – by 27.5% and glutathione peroxidase – by 53.6%. Therefore, the use of recombinant interferon drugs for the prevention of mastitis in cows in the early postpartum period contributes to the normalization of the indicators of the antioxidant defense system, which can be used in the development of new schemes for the prevention and treatment of inflammatory processes in the mammary gland of lactating cows.

Список литературы. 1. Зимников, В. И. Динамика показателей системы ПОЛ-АОЗ при применении рекомбинантных интерферонов для терапии субклинического мастита у коров / В. И. Зимников, Л. В. Ческидова, Т. Г. Ермолова // *Ветеринарный Фармакологический вестник*. – 2022. – № 3 (20). – С. 82–91. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2022.3.82 2. Оксидантный и антиоксидантный статус коров при лечении мастита с использованием препарата «АМСФ» / В. И. Зимников [и др.] // *Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»*. – 2021. – Т. 57, вып. 3. – С. 82–85. – DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-3-82-85. 3. Киреев, И. В. Применение антиоксидантных препаратов в комплексной профилактике и терапии маститов у коров / И. В. Киреев, В. А. Оробец, Т. С. Денисенко // *Ветеринарный врач*. – 2017. – № 6. – С. 20–26. 4. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М. И. Рецкий [и др.]. – Воронеж : ВНИВИПФИТ, 2010. – 70 с. 5. Патогенетическое и клиническое обоснование рациональных методов фармакопрофилактики послеродовых воспалительных заболеваний матки у молочных коров / А. Г. Нежданов [и др.] // *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. – 2019. – № 3. – С. 110–115. 6. Nrf2 activation and NF-Kb & caspase/bax signaling inhibition by sodium butyrate alleviates LPS-induced cell injury in bovine mammary epithelial cells / I. Ali [et al.] // *Molecular immunology*. – 2022. – Vol. 148. – P. 54–67. – DOI 10.1016/j.molimm.2022.05.121. 7. Subclinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk / O. Atakisi [et al.] // *Research in Veterinary Science*. – 2010. – Vol. 89 (1). – P. 10–13. – DOI 10.1016/j.rvsc.2010.01.008. 8. Oxidative stress-induced inflammatory responses and effects of N-acetylcysteine in bovine mammary alveolar cells / H. Bae [et al.] // *Journal of Dairy Research*. – 2017. – Vol. 84 (4). – P. 418–425. – DOI 10.1017/S002202991700067X. 9. Oxidative stress and antioxidant defense / E. Birben [et al.] // *The World Allergy Organization journal*. – 2012. – Vol. 5 (1). – P. 9–19. – DOI 10.1097/WOX.0b013e3182439613. 10. Vitexin mitigates Staphylococcus aureus-induced mastitis via regulation of ROS/ER stress/NF-κB/MAPK pathway / Y. Chen [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2022. – Vol. 2022. – P. 1–20. – DOI 10.1155/2022/7977433.

References. 1. Zimnikov, V. I. Dinamika pokazatelej sistemy POL-AOZ pri primenenii rekombinantnyh interferonov dlya terapii subklinicheskogo mastita u korov / V. I. Zimnikov, L. V. Cheskidova, T. G. Ermolova // *Veterinarnyj Farmakologicheskij vestnik*. – 2022. – № 3 (20). – S. 82–91. – DOI 10.17238/issn2541-8203.2022.3.82 2. Oksidantnyj i antioksidantnyj status korov pri lechenii mastita s ispol'zovaniem preparata «AMSF» / V. I. Zimnikov [i dr.] // *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya «Vitebskaya ordena «Znak Pocheta» gosudarstvennaya akademiya veterinarnoj mediciny»*. – 2021. – T. 57, vyp. 3. – S. 82–85. – DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-3-82-85. 3. Kireev, I. V. Primenenie antioksidantnyh preparatov v kompleksnoj profilaktike i terapii mastitov u korov / I. V. Kireev, V. A. Orobec, T. S. Denisenko // *Veterinarnyj vrach*. – 2017. – № 6. – S. 20–26. 4. Metodicheskie polozheniya po izucheniyu processov svobodnoradikal'nogo okisleniya i sistemy antioksidantnoj zashchity organizma / M. I. Reckij [i dr.]. – Voronezh : VNIVIPFIT, 2010. – 70 s. 5. Patogeneticheskoe i klinicheskoe obosnovanie racional'nyh metodov farmakoprofilaktiki poslerodovyh vospalitel'nyh zabolevanij matki u molochnyh korov / A. G. Nezhdanov [i dr.] // *Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii*. – 2019. – № 3. – S. 110–115. 6. Nrf2 activation and NF-Kb & caspase/bax signaling inhibition by sodium butyrate alleviates LPS-induced cell injury in bovine mammary epithelial cells / I. Ali [et al.] // *Molecular immunology*. – 2022. – Vol. 148. – P. 54–67. – DOI 10.1016/j.molimm.2022.05.121. 7. Subclinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk / O. Atakisi [et al.] // *Research in Veterinary Science*. – 2010. – Vol. 89 (1). – P. 10–13. – DOI 10.1016/j.rvsc.2010.01.008. 8. Oxidative stress-induced inflammatory responses and effects of N-acetylcysteine in bovine mammary alveolar cells / H. Bae [et al.] // *Journal of Dairy Research*. – 2017. – Vol. 84 (4). – P. 418–425. – DOI 10.1017/S002202991700067X. 9. Oxidative stress and antioxidant defense / E. Birben [et al.] // *The World Allergy Organization journal*. – 2012. – Vol. 5 (1). – P. 9–19. – DOI 10.1097/WOX.0b013e3182439613. 10. Vitexin mitigates Staphylococcus aureus-induced mastitis via regulation of ROS/ER stress/NF-κB/MAPK pathway / Y. Chen [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2022. – Vol. 2022. – P. 1–20. – DOI 10.1155/2022/7977433.

Поступила в редакцию 21.10.2022.

DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-4-27-30

УДК 619:618.19:615:636.2

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «ПРОАУТОВАК» ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ МАСТИТА У ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ

**Зимников В.И. ORCID ID 0000-0002-6371-7143, Павленко О.Б. ORCID ID 0000-0001-9086-9241,
Сашнина Л.Ю. ORCID ID 000-0001-6477-6156, Чусова Г.Г. ORCID ID 0000-0003-1494-8807**
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии
и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация