

2022. – 32 s. 5. Prudnikov, V. S. *Patologicheskaya anatomiya zhivotnyh : uchebnik dlya studentov uchrezhdenij vysshego obrazovaniya po special'nostyam «Veterinarnaya medicina» / V. S. Prudnikov, B. L. Belkin, A. I. Zhukov. – Minsk : IVC Minfina, 2012. – 480 s. 6. Merkulov, G. A. Kurs patologogistologicheskoy tekhniki / G. A. Merkulov. – Leningrad : Medicina, 1969. – 432 s. 7. Sarkisov D. S. *Mikroskopicheskaya tekhnika : rukovodstvo ; pod red. D. S. Sarkisova, YU. L. Petrova. – M. : Medicina, 1996. – 544 s. 8. Kurs lekcij po chastnoj patologicheskoy anatomii : uchebno-metodicheskoe posobie dlya studentov po special'nosti "Veterinarnaya sanitariya i ekspertiza". CH. 2. Bolezni virusnoj i parazitarnoj etiologii, mikozy i mikotoksikozy / V. S. Prudnikov [i dr.]. - Vitebsk : VGAVM, 2013. - 106 s.**

Поступила в редакцию 19.01.2023.

DOI 10.52368/2078-0109-2023-59-1-14-17

УДК 619:577.115:618.19-002:636.2

СИСТЕМА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У КЛИНИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ МАСТИТОМ КОРОВ

Зимников В.И. ORCID ID 0000-0002-6371-7143

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

*Активные формы кислорода (АФК) и система оксида азота в большинстве случаев участвует в организме больных животных в качестве средства борьбы с микроорганизмами. Некоторые ученые повышение показателей цитокинов связывают с высоким уровнем маркеров окислительного стресса и оксида азота. В статье представлены результаты изучения системы ПОЛ-АОЗ клинически здоровых и больных субклиническим и клинически выраженным катаральным маститом коров. Установлено, что у коров? больных клинически выраженным катаральным маститом, выявлены более глубокие нарушения в системе ПОЛ-АОЗ, что выразилось дальнейшим истощением системы антиоксидантной защиты, снижением активности каталазы – на 24,3%, глутатионпероксидазы – на 43,9%, витамина А – на 36,6%, витамина Е – на 23,3% и витамина С – на 45,3% в сравнении с клинически здоровыми животными и возрастанием уровня эндогенной интоксикации за счет увеличения свободных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов. Так, у данных животных в крови отмечено более высокое содержание малонового диальдегида в 2,0 раза, средних молекулярных пептидов – на 67,4%, индекса эндогенной интоксикации – на 70,2%, оксида азота – на 46,2% в сравнении со здоровыми животными, что говорит о чрезмерном накоплении в организме больных животных продуктов перекисного окисления липидов и эндогенной интоксикации и усилении воспалительного процесса в молочной железе. **Ключевые слова:** коровы, мастит, ПОЛ-АОЗ, активные формы кислорода, эндогенная интоксикация.*

THE SYSTEM OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT DEFENSE IN CLINICALLY HEALTHY COWS AND COWS WITH MASTITIS

Zimnikov V.I.

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

*Reactive oxygen species (ROS) and the nitric oxide system in most cases are involved in the body of sick animals as a means of combating microorganisms. Some scientists attribute the increase in cytokines to high levels of markers of oxidative stress and nitric oxide. The article presents the results of studying the LPO-AOD system of clinically healthy cows and cows with subclinical and clinically pronounced catarrhal mastitis. It was found that in cows with clinically pronounced catarrhal mastitis deeper disorders in the LPO-AOD system were revealed. This was expressed by a further depletion of the antioxidant defense system, a decrease in the catalase activity by 24.3%, glutathione peroxidase activity – by 43.9%, vitamin A – by 36.6%, vitamin E – by 23.3% and vitamin C – by 45.3% in comparison with clinically healthy animals. There was a rise in the level of endogenous intoxication due to an increase in free oxygen species and lipid peroxidation products. Thus, in the blood of the animals, the 2.0 times increase in the content of malondialdehyde by was noticed, the number of medium molecular peptides increased – by 67.4%, index of endogenous intoxication – by 70.2%, nitric oxide – by 46.2%, in comparison with healthy animals. This proves excessive accumulation of products of lipid peroxidation and endogenous intoxication in the body of sick animals and increased inflammation in the mammary gland. **Keywords:** cows, mastitis, LPO-AOD, reactive oxygen species, endogenous intoxication.*

Введение. В современных реалиях ведения молочного скотоводства одной из главных причин недополучения молока и получения молока низкого санитарного качества является воспаление молочной железы, мастит.

Окислительный стресс, по мнению современных ученых, принимает непосредственное участие в протекании воспалительного процесса в молочной железе, это обуславливается нарушениями функционирования системы антиоксидантной защиты, что проявляется большим накоплением в организме больных животных продуктов свободнорадикальных реакций [4, 6].

Перекисное окисление липидов рассматривается как один из доминирующих метаболических процессов в организме животных, несмотря на то, что при свободнорадикальной патологии перекисное окисление липидов (ПОЛ) является индуктором окислительного стресса. В то же время ПОЛ

обеспечивает регуляцию функциональной деятельности физиологических систем, является основным источником энергии, необходимой для жизнедеятельности организма, а также является показателем устойчивости метаболических реакций в организме [3, 9].

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

Снижение функционирования ферментативных и неферментативных звеньев антиоксидантной защиты способствует накоплению в организме больных животных токсических продуктов свободнорадикального окисления. На этом фоне за счет негативного воздействия продуктов перекисидации на биосинтез белков происходит ослабление клеточного и гуморального иммунитета, изменение структурного и функционального состояния биомембран [3, 7].

В развитии воспалительных процессов в молочной железе непосредственное участие принимают свободно радикальные реакции, при нарушении функционирования ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты происходит чрезмерное накопление их продуктов в организме больных животных и возникает окислительный стресс [5].

В связи с этим, наиболее актуальной задачей является изучение динамики показателей системы перекисидного окисления липидов и ферментативного и не ферментативного звеньев антиоксидантной защиты клинически здоровых и больных субклиническим и клинически выраженным катаральным маститом коров.

Цель исследования - изучить показатели системы перекисидного окисления липидов, эндогенной интоксикации и антиоксидантной защиты клинически здоровых и больных маститом коров.

Материалы и методы исследований. При проведении исследований было подобрано по 8 клинически здоровых, больных субклиническим и клинически выраженным катаральным маститом лактирующих коров. От всех животных были отобраны пробы крови для определения показателей системы ПОЛ-АОЗ и эндогенной интоксикации.

При изучении активности 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 гидроперекисей глутатионпероксидазой [1, 5].

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 [1, 5].

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 [1, 5].

Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в крови устанавливали по образованию окрашенного триметилового комплекса при реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [1, 5].

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 [1, 5].

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 [1, 5].

Результаты исследований. Проведенными исследованиями установлено, что у всех исследуемых больных маститом коров, уровень продуктов перекисидного окисления липидов и эндогенной интоксикации был выше в сравнении с клинически здоровыми животными (таблица 1).

Таблица 1 - Показатели ПОЛ клинически здоровых и больных маститом коров

Показатели, ед. измерения	Клинически здоровые (n=8)	Больные субклиническим маститом (n=8)	Больные катаральным маститом (n=8)
МДА, мкМ/л	1,7±0,1	2,5±0,1	3,5±0,3
СМП, у.е.	0,89±0,09	1,25±0,13*	1,49±0,15
ИЭИ	21,89±1,08	24,15±1,67	37,31±1,33
NO _x , мкМ/л	46,7,1±1,9	57,8±2,1*	68,3±2,8**

Примечания: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ – степень достоверности в группах больных животных по отношению к клинически здоровым.

Усиления генерации активных форм кислорода (АФК) и недостаточная эффективность антиоксидантной защиты считается причиной повышения продуктов пероксидации в организме больных животных [3]. Многие ученые считают, что при заболевании коров маститом снижается антиоксидантная способность эпителиальных клеток молочной железы и происходит увеличение в них концентрации малонового диальдегида и активных форм кислорода, это провоцирует повреждение клеток и способствует развитию воспалительного процесса. В связи с этим можно сделать вывод о том, что окислительный стресс является одной из причин развития воспаления в молочной железе, а его усиление может усложнить патологические реакции, что особенно важно при протекании клинически выраженной формы мастита [1, 2].

Установлено (таблица 1), что заболевание коров субклиническим маститом сопровождалось повышением в крови малонового диальдегида – на 48,5% ($P < 0,001$), средних молекулярных пептидов – на 40,0% ($P < 0,05$), индекса эндогенной интоксикации – на 10,3%, оксида азота – на 23,8% ($P < 0,05$). У коров, больных клинически выраженным катаральным маститом, выявлены более выраженные изменения показателя перекисного окисления липидов и эндогенной интоксикации. Так, у данных животных в крови отмечено более высокое содержание малонового диальдегида в 2,0 раза ($P < 0,001$), средних молекулярных пептидов – на 67,4% ($P < 0,001$), индекса эндогенной интоксикации – на 70,2% ($P < 0,01$), оксида азота – на 46,2% ($P < 0,01$) в сравнении со здоровыми животными, что говорит о чрезмерном накоплении в организме больных животных продуктов перекисного окисления липидов и эндогенной интоксикации и усилении воспалительного процесса в молочной железе.

Результаты изучения показателей ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты клинически здоровых и больных маститом коров представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Показатели системы АОЗ клинически здоровых и больных маститом коров

Показатели, ед. измерения	Клинически здоровые (n=8)	Больные субклиническим маститом (n=8)	Больные катаральным маститом (n=8)
Каталаза, мкМ $H_2O_2/л \cdot мин \cdot 10^3$	53,06±1,13	45,13±1,53**	40,17±1,34***
ГПО, мкМ GSH/л·мин·10 ³	20,45±1,75	14,38±0,9*	11,47±0,35**
Витамин А, мкМ/л	1,9±0,3	1,5±0,1	1,2±0,1
Витамин Е, мкМ/л	18,4±0,3	15,1±0,6**	14,1±0,7***
Витамин С, мкМ/л	35,5±1,9	24,1±1,8*	19,4±1,2**

Примечания: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ - степень достоверности в группах больных животных по отношению к клинически здоровым.

Установлено, что у коров, больных субклиническим и клинически выраженным катаральным маститом, была понижена активность ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной защиты. Так у коров, больных субклиническим маститом, активность каталазы была снижена на 14,9% ($P < 0,01$), глутатионпероксидазы – на 29,7% ($P < 0,05$), уровень витамина А – на 20,4%, витамина Е – на 17,8% ($P < 0,01$) и витамина С – на 32,1% ($P < 0,05$).

У коров, больных клинически выраженным катаральным маститом, выявлены более выраженные нарушения в активности системы антиоксидантной защиты. Так, у данных животных в крови отмечена более низкая активность ферментативного и не ферментативного звеньев антиоксидантной защиты, что выражалось в снижении активности каталазы – на 24,3%, глутатионпероксидазы – на 43,9% ($P < 0,001$), витамина А – на 36,6%, витамина Е – на 23,3% ($P < 0,001$) и витамина С – на 45,3% ($P < 0,01$) в сравнении с клинически здоровыми животными.

Заключение. Таким образом, развитие воспаления молочной железы у лактирующих коров сопровождается негативными изменениями в системе ПОЛ-АОЗ. Уже при заболевании коров субклиническим маститом отмечается высокая эндогенная интоксикация и накопление продуктов перекисного окисления липидов, при понижении активности ферментативного и не ферментативного звеньев антиоксидантной защиты.

У коров больных клинически выраженным катаральным маститом, выявлены более глубокие нарушения в системе ПОЛ-АОЗ, что выражалось дальнейшим угнетением антиоксидантного статуса, снижением концентрации витамина Е – на 23,3%, витамина С – на 45,3% и витамина А – на 36,6% а также глутатионпероксидазы – на 43,9% и каталазы – на 24,3% на фоне возрастания уровня свободных форм кислорода эндогенной интоксикации за счет увеличения продуктов пероксидации. Так, у данных животных в крови отмечено более высокое содержание средних молекулярных пептидов – на 67,4%, малонового диальдегида - в 2,0 раза, оксида азота – на 46,2%, индекса эндогенной интоксикации – на 70,2%, в сравнении со здоровыми животными, что говорит о чрезмерном накоплении в организме больных животных продуктов ПОЛ и нарушении оксидантно-антиоксидантного статуса коров и усилении воспалительного процесса в молочной железе.

Conclusion. Thus, the development of the mammary gland inflammation in lactating cows is accompanied by negative changes in the LPO-AOD system. Even when cows become ill with subclinical mastitis, high endogenous intoxication and accumulation of lipid peroxidation products are noted, with a decrease in the activity of the enzymatic and non-enzymatic components of antioxidant defense.

In cows with clinically pronounced catarrhal mastitis, more profound disorders in the LPO-AOD system were revealed. This was expressed by a further inhibition of the antioxidant status, a decrease in the concentration of vitamin E – by 23.3%, vitamin C – by 45.3% and vitamin A – by 36.6%, glutathione – by 43.9% and catalase – by 24.3% against the background of an increase in the level of free oxygen species of endogenous intoxication due to an increase in peroxidation products. Thus, in the blood of these animals there was a higher content of medium molecular peptides – by 67.4%, malondialdehyde – by 2.0 times, nitric oxide – by 46.2%, index of endogenous intoxication – by 70.2% as compared to healthy animals. All this indicated an excessive accumulation of lipid peroxidation products in the body of sick animals, disorders in the oxidant-antioxidant status of cows and an enhancement of the inflammatory process in the mammary gland.

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. – 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. Зимников, В. И. Показатели антиоксидантной защиты и эндогенной интоксикации в ранний послеродовой период при применении препарата «проаутовак» / В. И. Зимников, Л. В. Ческидова, Т. Г. Ермолова // *Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины"*. – 2022. – Т. 58, вып. 4. – С. 24-26. - DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-4-24-27. 4. Киреев, И. В. Применение антиоксидантных препаратов в комплексной профилактике и терапии маститов у коров / И. В. Киреев, В. А. Орбеч, Т. С. Денисенко // *Ветеринарный врач*. - 2017. - № 6. - С. 20-26. 5. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М. И. Рецкий [и др.]. – Воронеж : ВНИВИПФИТ, 2010. – 70 с. 6. 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. 7. 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. 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. 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. 7977433. - 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. – 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. – Т. 57. – вып. 3. – С. 82-85. - doi: 10.52368/2078-0109-2021-57-3-82-85. 3. Zimnikov, V. I. Pokazateli antioksidantnoj zashchity i endogennoj intoksikacii v rannij poslerodovoj period pri primenenii preparata «proautovak» / V. I. Zimnikov, L. V. CHeskidova, T. G. Ermolova // *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya "Vitebskaya ordena "Znak Pocheta" gosudarstvennaya akademiya veterinarnoj mediciny"*. – 2022. – Т. 58, вып. 4. – С. 24-26. - DOI 10.52368/2078-0109-2022-58-4-24-27. 4. Kireev, I. V. Primenenie antioksidantnyh preparatov v kompleksnoj profilaktike i terapii mastitov u korov / I. V. Kireev, V. A. Orbec, T. S. Denisenko // *Veterinarnyj vrach*. - 2017. - № 6. - S. 20-26. 5. Metodicheskie polozheniya po izucheniyu processov svobodnoradikal'nogo okisleniya i sistemy antioksidantnoj zashchity organizma / M. I. Reckij [i dr.]. – Voronezh : VNIVIPFIT, 2010. – 70 s. 6. 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. 7. 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. 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. 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. 7977433. - doi: 10.1155/2022/7977433.

Поступила в редакцию 16.01.2023.