

## **ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ «АНТОКСАН» НА ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ ТЕЛЯТ РАНЬОГО ВІКУ**

*О. І. Віщур, І. В. Кичун, Н. А. Брода, Н. З. Огородник, Ю. Ф. Вах, І. Є. Соловодзінська*

Інститут біології тварин УААН

*У статті наведено дані результатів досліджень впливу нового комплексного імуномодулюючого препарату з антиоксидантною дією «Антоксан», в склад якого входять селеніт натрію, біосинтетичний  $\beta$ -каротин та сумарний інтерферон (спленоферон) на процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і систему антиоксидантного захисту (САЗ) в організмі телят раннього віку. Виявлено стимулювальний вплив препарату на активність САЗ та інгібуючий вплив на ПОЛ в організмі телят. Зокрема, встановлено вірогідне підвищення активності глутатіонпероксидази і відновленого глутатіону та зниження вмісту малонового діальдегіду і гідроперекисів ліпідів в крові телят. Вказані зміни відбуваються завдяки комплексній адитивній дії складників препарату, що призводить до нормалізації метаболічних та вільнорадикальних процесів в організмі телят.*

**Ключові слова:** ТЕЛЯТА, ІМУНОСТИМУЛЯТОРИ, ІМУНОПРОТЕКТОРИ, АНТИОКСИДАНТИ, ГЛУТАТІОНПЕРОКСИДАЗА, ГІДРОПЕРИКИСИ ЛІПІДІВ, МАЛОНОВИЙ ДІАЛЬДЕГІД.

Імунологічна реактивність тварин відіграє визначальну роль у формуванні їх опірності до інфекційних хвороб, чутливості до засобів специфічної профілактики, а у випадку захворювання — забезпечує активний імунологічний захист від збудників. Проте, активний захист молодняку, зокрема телят, за участю механізмів природної резистентності часто є недостатньо ефективним внаслідок поширених метаболічних порушень, серед яких важливе місце займає зниження активності антиоксидантної системи [1, 2]. У зв'язку з цим актуальною науково-практичною проблемою є розробка нових ефективних комплексних препаратів, які поєднують як імуномодельючі, так і антиоксидантні властивості. Застосування таких препаратів дозволить оптимізувати метаболічні та вільнорадикальні процеси в організмі телят та підвищити їх імунний потенціал. У попередніх роботах встановлено стимулювальний вплив розробленого нами нового імуномодулятора з антиоксидантними властивостями «Антоксан» на імунну реактивність та резистентність телят при застосуванні його в якості ад'юванта при профілактичних вакцинаціях [3, 4].

Метою даної роботи є дослідження впливу препарату «Антоксан» на інтенсивність ПОЛ та САЗ в організмі телят раннього віку.

### **Матеріали і методи**

Дослід провели у дослідному господарстві «Оброшино» Пустомитівського району, Львівської області на двох групах телят чорно-рябої молочної породи 3-денного віку, по 5 тварин у кожній групі. Тваринам дослідної групи у 3-, 10- і 20-денному віці внутрішньом'язово вводили імуномодулятор з антиоксидантною дією — «Антоксан» у дозі 1 мл/10 кг маси тіла, а тваринам контрольної групи — ізотонічний розчин натрію хлориду. На препарат «Антоксан» розроблені ТУ України та патент [5, 6].

Для досліджень від телят одержували кров з яремної вени перед введенням антоксану, на 3-й день після народження та у 10-, 20- і 30-денному віці. У цільній крові визначали активність глутатіонпероксидази (КФ.1.11.1.9.) за швидкістю окиснення глутатіону в присутності гідроперекису третинного бутилу [7] і вміст відновленого глутатіону [8]. У плазмі крові визначали вміст гідроперексидів ліпідів [9] та малонового діальдегіду (МДА) [10].

## Результати та обговорення

З наведених у таблиці 1 даних видно, що «Антоксан», при парентеральному введенні його телятам, впливає на вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у плазмі крові. Так, концентрація гідроперекисів ліпідів, які є вторинними продуктами перекисного окиснення ліпідів, у плазмі крові телят дослідної групи після введення їм антоксану на всіх стадіях дослідження була вірогідно менша ( $p < 0,05$ ), ніж у телят контрольної групи. Різниця в концентрації малонового діальдегіду в плазмі крові телят дослідної групи порівняно до його концентрації у плазмі крові телят контрольної групи були подібні до різниць в концентрації гідроперекисів ліпідів, проте вони виражені меншою мірою. Зокрема, різниця в концентрації малонового діальдегіду в плазмі крові телят дослідної групи порівняно до контрольної лише в 30-денному віці була вірогідною ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 1

Вміст малонового діальдегіду та гідроперекисів ліпідів у плазмі крові телят ( $M \pm m$ ,  $n=4$ )

Показники	Вік тварин, дні	Групи тварин	
		контрольна	дослідна
Малоновий діальдегід, мкмоль/мл	3-4	1,23±0,05	1,17±0,03
	10	1,18±0,04	1,09±0,03
	20	1,17±0,08	1,04±0,05
	30	1,23±0,08	0,97±0,06*
Гідроперекиси ліпідів, одЕ/мл	3-4	0,42±0,05	0,41±0,03
	10	0,37±0,02	0,26±0,03*
	20	0,36±0,02	0,28±0,02*
	30	0,30±0,02	0,20±0,02*

*Примітка:* в цій та наступних таблицях \* — статистично вірогідні різниці між досліджуваними показниками у тварин дослідної групи, порівняно до контрольної: \* —  $p < 0,05$

Ці дані свідчать про зниження інтенсивності перекисного окиснення ліпідів у плазмі крові телят, яким вводили «Антоксан», а також про більший інгібуєчий вплив досліджуваного препарату на початкові стадії перекисного окиснення ліпідів у їхньому організмі, ніж на кінцеві.

У результаті проведених досліджень встановлено, що активність глутатіонпероксидази (ГП) в еритроцитах крові досліджуваних телят у багато разів вища, ніж у плазмі (табл. 2). Як відомо, ферменти містяться в клітині, а їх активність у плазмі зумовлена виходом ферментних білків під час руйнування клітин крові при їх оновленні. Уведення телятам дослідної групи антоксану призводить до підвищення активності селеновмісного ферменту — глутатіонпероксидази в еритроцитах і плазмі крові. Так, активність цього ферменту в еритроцитах телят дослідної групи порівняно до телят контрольної групи у 20- і 30-денному віці була вищою відповідно на 24,2 ( $p < 0,05$ ) і 20,2 % ( $p < 0,5$ ). Підвищення каталітичної активності глутатіонпероксидази в еритроцитах крові телят дослідної групи можна пояснити підвищенням інтенсивності синтезу в них ферменту внаслідок збільшення доступності селену, що міститься в препараті. Активність глутатіонпероксидази в клітині тісно пов'язана з регенерацією глутатіону. Відновлений глутатіон разом з глутатіонпероксидазою і глутатіонредуктазою утворюють глутатіонову систему, яка захищає клітини від пероксидного стресу [11].

Таблиця 2

Активність глутатіонпероксидази в крові досліджуваних телят, нмоль GSH/хв·мг білка ( $M \pm m$ ,  $n=3-5$ )

Показники	Вік тварин, дні	Групи тварин	
		контрольна	дослідна
Плазма крові	3-4	0,344±0,008	0,361±0,065
	10	0,382±0,043	0,397±0,062
	20	0,421±0,064	0,483±0,034

	30	0,506±0,019	0,582±0,006*
Еритроцити	3-4	24,6±1,5	25,7±1,9
	10	27,3±1,8	26,3±2,1
	20	33,9±2,0	42,1±2,4*
	30	39,5±3,1	47,5±2,3

Проведені дослідження показали, що вміст відновленого глутатіону в плазмі і еритроцитах крові телят дослідної і контрольної групи протягом дослідного періоду поступово збільшується більше ніж у 2 рази (табл. 3). Глутатіонредуктаза каталізує відновлення окисленого глутатіону і завдяки чому забезпечується дія глутатіонпероксидази. Вміст відновленого глутатіону в еритроцитах крові телят дослідної групи порівняно з контрольною у 10-, 20- і 30-денному віці був вищий відповідно на 15,79, 15,88 та 14,63 %, проте ці різниці невірогідні ( $p < 0,5$ ). Тим не менше, ці дані свідчать про стимулювальний вплив антоксану на регенерацію відновленого глутатіону в еритроцитах крові досліджуваних телят.

Таблиця 3

Вміст відновленого глутатіону в крові телят, мкмоль/мл ( $M \pm m$ ,  $n=3-5$ )

Показники	Вік тварин, дні	Групи тварин	
		контрольна	дослідна
Плазма крові	3-4	0,025±0,007	0,028±0,004
	10	0,047±0,007	0,061±0,001
	20	0,054±0,008	0,081±0,003
	30	0,053±0,010	0,079±0,013
Еритроцити	3-4	0,33±0,06	0,35±0,02
	10	0,57±0,09	0,66±0,09
	20	0,77±0,12	0,89±0,11
	30	0,82±0,14	0,94±0,11

Як відомо відновлений глутатіон володіє антирадикальною дією і входить до складу глутатіонпероксидази та є донором водню, який використовується у знешкодженні супероксидного радикалу [12]. Завдяки наявності сульфгідрильної групи глутатіон здатний легко окислюватися і відновлюватися, тому він є стимулятором окисно-відновних процесів в організмі тварин.

Отже, отримані результати свідчать про стимулювальний вплив антоксану не тільки на активність імунної системи в організмі телят [3], а і на активність антиоксидантної системи, що можна пояснити антиоксидантною дією наявних в антоксані антиоксидантів – каротину і селену. Антиоксидантний ефект препарату, ймовірно, зумовлений адитивною антирадикальною дією окремих його компонентів. Зокрема,  $\beta$ -каротин є найбільшим активним природним антиоксидантом, а також попередником вітаміну А, який приймає участь у підтриманні фізіологічного рівня антиоксидантних реакцій [13]. Антиоксидантна дія селену зумовлена стимуляцією синтезу Se-залежної глутатіонпероксидази, яка розкладає гідроперекиси ліпідів, що утворюються в результаті відновлення супероксидного радикалу супероксиддисмутазою [14].

Загалом, одержані результати свідчать про антиоксидантну дію антоксану при парентеральному введенні його телятам у ранньому віці та про обґрунтованість його введення з метою підвищення імунного та антиоксидантного статусу.

## Висновок

Парентеральне введення телятам препарату «Антоксан» у ранньому віці призводить до вірогідного підвищення у крові активності глутатіонпероксидази і зниження вмісту гідроперекисів ліпідів і малонового діальдегіду, що свідчить про стимулювальний вплив препарату на активність антиоксидантної системи в їхньому організмі.

*O. I. Vishchur, I. V. Kychun, N. A. Broda, N. Z. Ohorodnyk, Y. F. Vah, I. E. Solovodzinska*

# INFLUENCE OF THE «ANTOXAN» PREPARATION ON THE PEROXIDATION OF LIPIDS AND ANTIOXIDANT SYSTEM ACTIVITY OF THE ORGANISM OF THE EARLY AGE CALVES

## Summary

Investigation data about the influence of new complex immunomodulating preparation with antioxidation properties «Antoxan», which contains sodium selenite, biosynthetic carotene and total interferon (splenoferron) on the processes of peroxidative oxygenation of lipids (POL) and system of the antioxidant defence (SAP) in the organism of the early age calves are shown in this article. Stimulating influence of the preparation on the activity of SAP and inhibitory influence on the POL in the organism of calves was established. Reliable increase of the glutathioneperoxidase activity, reductive glutathione and decrease of the malonic dialdehyde assay and hydroperoxide of lipids in the calves' blood was shown. These changes were caused by the complex additive influence of the preparation components, leading to metabolic and free-radical processes normalization in the organism of calves.

*О. И. Вищур, И. В. Кичун, Н. А. Брода, Н. З. Огородник, Ю. Ф. Вах, И. Е. Соловдовинская*

## ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «АНТОКСАН» НА ПЕРОКСИДНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА ТЕЛЯТ РАННЕГО ВОЗРАСТА

### Аннотация

В статье наведены данные результатов исследований влияния нового комплексного иммуномодулирующего препарата с антиоксидантным действием «Антоксан», в состав которого входят селенит натрия, биосинтетический β-каротин и суммарный интерферон (спленоферон) на процессы пероксидного окисления липидов (ПОЛ) и систему антиоксидантной защиты (САЗ) в организме телят раннего возраста. Выявлено стимулирующее влияние препарата на активность САЗ и ингибирующее влияние на ПОЛ в организме телят. Установлено достоверное повышение активности глутатионпероксидазы и восстановленного глутатиона и снижение содержания малонового диальдегида и гидроперекисей липидов в крови телят. Указанные изменения отмечаются благодаря комплексному адитивному действию компонентов препарата, что приводит к нормализации метаболических и свободнорадикальных процессов в организме телят.

1. *Квачов В. Г.* Новий клас імунопротекторних та ад'ювантних препаратів для профілактики хвороб продуктивних тварин [Текст] / Квачов В. Г., Сокирко Т. О., Вищур О. І. // *Наук. вісн. ЛДАВМ ім. С.З. Гжицького.* — 2001. — Т. 3, № 2. — С. 64–65.

2. *Сокирко Т. О.* Вплив нового комплексного препарату «Антоксан» на біохімічні показники організму тварин [Текст] / Сокирко Т. О., Вищур О. І. // *Ветеринарна біотехнологія.* — 2002. — № 2. — С. 96–101.

3. *Вищур О. І.* Розеткоутворюючі клітини крові телят при вакцинації та застосуванні препарату «Антоксан» [Текст] / Вищур О. І. // *Ветеринарна біотехнологія.* — 2004. — №5. — С. 9–15.

4. *Вищур О. І.* Неспецифічна резистентність та функціональна активність імунокомпетентних клітин крові телят при застосуванні препарату «Антоксан» [Текст] / Вищур О. І. // *НТБ Інституту біології тварин УААН.* — 2004. — №3. Вип.5. — С. 256–259.

5. Технічні умови, №244.30995014.001-2003. Імуномодулюючий препарат «Антоксан» [Текст] / В. Г. Квачов, Т. О. Сокирко, О. Я. Карась, В. В. Влізло, О. І. Вищур, І. Б. Ратич, Ю. М. Косенко, П. П. Фукс — від 15.04.03. — 16 с.

6. Деклараційний патент на винахід, №67102. Препарат для підвищення імунного потенціалу і антиоксидантного захисту у сільськогосподарських тварин «Антоксан» [Текст] / О. І. Вищур, В. Г. Квачов — опубл. 15.06.04, бюл. №6 — 5 с.

7. *Моин В. М.* Простой и специфический метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах [Текст] / Моин В. М. // Лаб. дело. — 1996. — №12. — С. 724–727.
8. *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 / Батлер Э., Дюбра О., Келли Б. — Одесса, 1982. — С. 16–20.
9. *Мирончик В. В.* Способ определения содержания гидроперекисей липидов в биологических тканях [Текст] : методики досліджень сільськогосподарських тварин / В. В. Мирончик — Львів, 1998. — С. 91–92.
10. *Коробейникова С. Н.* Модификация определения ПОЛ в реакции с ТБК [Текст] / Коробейникова С. Н. // Лаб. дело. — 1989. — № 7. — С. 8–9.
11. *Антоняк Г. Л.* Активність селензалежних ферментів еритроїдних клітин тварин у неонатальному періоді розвитку [Текст] / Антоняк Г. Л. // Укр. біохім. журнал. — 2000. — Т. 72, № 1. — С. 93–99.
12. *Барабой В. А.* Механизмы стресса и перекисное окисление липидов [Текст] / Барабой В. А. // Успехи современной биологии. — 1991. — № 6. — С. 922–931.
13. *Вальдман А. Р.* Витамины в питании животных (метаболизм и потребность) [Текст] / А. Р. Вальдман. — Х. : Оригинал, 1993. — 423 с.
14. *Барабой В. А.* Селен: біологічна роль та антиоксидантна активність [Текст] / Барабой В. А., Шестакова Е. Н. // Укр. біохім. журн. — 2004. — Т. 76, № 1. — С. 23–32.