

in each head), the content of cows – tethered. The basic diet of all groups was similar and differed only in the form and amount of Cu and Zn, together with further fed concentrates twice a day. Cows in need of these trace elements was satisfied, respectively, at 100 %, 50 % and 25 % in I, II and III experimental groups by compensating for the deficit of copper and zinc in the diet mainly additional introduction of these chelates biometals, and in the control group (IV) – 100 % due to their sulfates. Chelate complexes of Cu and Zn were presented glycinate soy protein.

Found that compensation of Cu and Zn deficiency is mainly due to the diet of cows chelate forms of these biometals contributed to a significant decrease in copper excretion in the feces and urine in the I group at 23,07 %; in II – by 35,79 % in the III – by 28,87 %, compared with group IV. Also noted a similar significant decrease in excretion of zinc 39,22

% in cows I group; to 50,12 % – in II; 50,34 % – in the III group of animals relative to the control. Established a significant increase in the degree of assimilation by the body of copper chelate forms of cows – at 14,04 abs. % in I; 15,74 abs. % – in II; 5,72 abs. % – III in the experimental groups compared to IV. Zinc absorption percentage of received was also significantly higher compared with controls at 9,38 abs. % in I; 9,67 abs. % – in II; 8,25 abs. % – III in the experimental groups.

Thus, it was found that the assimilation of dry cow trace elements Cu and Zn from their glycinate forms occurs significantly more efficient, which contributes to their lower allocation of manure in the environment.

Key words: *chelates, trace elements, copper, zinc, cows, retention, excretion*

*Впервые поступила в редакцию 14.05.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 577.29

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ФОРМЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА НА ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА КРОЛЬЧИХ

Штапенко О.В., Гевкан И.И., Матюха И.О., Слывчук Ю.И., Сырватка В.Я., Федорова С.В., Розгони И.И.

Лаборатория репродуктивной биотехнологии и разведения животных, Институт биологии животных, Национальная академия аграрных наук, Украина; shtapenko@ukr.net

В статье проанализировано влияние органических соединений микроэлементов в форме комплексного липосомального препарата на антиоксидантный статус крольчих в условиях интенсификации воспроизводительной способности на кролефермах. Приведенные данные свидетельствуют о том, что биологическая роль органических форм микроэлементов в организме в значительной степени реализуется через участие их в синтезе и стабилизации нуклеиновых кислот и белков, процессах энергетического обмена, пролиферации и дифференцировки клеток, поддержании антиоксидантного равновесия. Результаты исследований показали, что препарат органических форм микроэлементов является высокоэффективным при поддержке интенсивности обменных процессов и сохранении антиоксидантной — прооксидантного равновесия в репродуктивных органах, и в частности, в матке в условиях стимуляции охоты, оплодотворении и имплантации эмбрионов.

Ключевые слова: *комплексный липосомальный препарат, перекисное окисление белков, антиоксидантный статус*

Введение

Задачей сельскохозяйственной биотехнологии является обеспечение повышения репродуктивной способности животных. Важное место в обеспечении гомеостаза организмов сельскохозяйственных животных занимают минеральные вещества (макро — и микроэлементы). Их дефицит или избыток вызывает нарушение обменных процессов, воспроизводительных функций, приводит к возникновению различных заболеваний, снижению репродуктивности и ухудшению качества продукции [1, 2].

Известно, что цинк положительно влияет на процессы воспроизводства, состояние иммунной системы, всасывания питательных веществ из пищеварительного тракта, участвует в углеводном и азотистом обменах, является кофактором многих ферментов. Установлено, что протеинат цинка лучше влияет на формирование тела, репродуктивные функции и иммунную защиту у молодых и взрослых животных, чем оксид цинка [3].

Марганец влияет на рост и воспроизводство животных, участвует в обмене азота, кальция и фосфора является кофактором многих ферментов. Установлена тесная связь между обменом марганца и йода, из-за чего необходим контроль рационов коров по его доставке. К. Ahoла и др. [4] установили, что добавление марганца, меди и цинка влияет на минеральный обмен молочных коров и 1-2 годовых телок и уровень оплодотворения при искусственном осеменении.

За последние несколько лет потребности сельскохозяйственных животных в микроэлементах возросли. В основном кормовые добавки для животных в своем составе содержат микроэлементы в виде неорганических солей или оксидов [5]. Для нормального усвоения микроэлементы должны раствориться в тонком кишечнике, соединиться с органическими веществами, в

том числе с аминокислотами, чтобы транспортироваться через клеточные мембраны. Много неорганических микроэлементов у двенадцатиперстной кишки при pH 7,0-7,2 переходят в нерастворимую форму гидроокиси и выпадают в осадок, т.е. становятся малодоступными для усвоения организмом. В кормах присутствуют карбонаты, фосфаты, оксалаты и ураты, которые также склонны к образованию нерастворимых комплексов с различными неорганическими микроэлементами и снижают, таким образом, их усвоение, в тонком кишечнике вызывая ряд заболеваний. В результате большая часть необходимых для животного микроэлементов просто выводится из организма с фекалиями без участия в процессах обмена веществ, а дополнительное введение неорганических источников микроэлементов не способствует повышению усвоения, и не решает проблему их дефицита. Кроме этого, высокие дозировки приводят к побочным воздействиям на желудочно-кишечный тракт и весь организм в целом, а также негативно влияют на стабильность витаминов и других минералов в организме. Современная биотехнология позволяет создавать различные формы хелатных соединений. Усвоение микроэлементов в такой форме при поедании, с кормом значительно улучшается. Применение таких препаратов в животноводстве является дорогостоящим и возможно лишь в определенные периоды: ранний эмбриональный и сухостойный. Для создания депо и медленного поступления, органических микроэлементов в кровотоке, использование липосом является актуальным. Поэтому разработка методов изготовления новых органических форм микроэлементов у липосомальной форме для повышения воспроизводительной функции является актуальной проблемой животноводства Украины и требует изучения их воздействия на фоне снижения репродуктивной функции у сельскохо-

зьяйственных животных [6].

Следует отметить, что, несмотря на большое число факторов, способствующих нарушению нормальной воспроизводительной функции организма, действие их на конечном этапе однотипно и заключается в изменении функционирования клеточных и субклеточных структур, взаимосвязанных с процессами перекисного окисления липидов (ПОЛ) [7]. Продуктам, образующимся в результате ПОЛ, в настоящее время отводится главная роль в механизме повреждения клеток [8]. При повышении ПОЛ активизируется сложная многокомпонентная антиоксидантная система (АОС) организма, которая защищает органы и ткани от перекисления [9].

Итак, учитывая универсальный характер взаимодействия активных форм кислорода, ПОЛ, большое значение при оценке состояния больных с невынашиванием беременности уделяется антиоксидантной системе организма. Следует также отметить, что между показателями ПОЛ и иммунного статуса существует корреляционная взаимосвязь, свидетельствующая о том, что структура и функция клеток иммунной системы зависит от баланса про- и антиоксидантных систем организма. Однако работ по изучению свободно-радикальных процессов, в частности ПОЛ, и механизмов антиоксидантной защиты при нарушении репродуктивной функции явно недостаточно, именно поэтому представляет научный интерес изучение антиоксидантной системы подопытных животных при развивающейся беременности под влиянием различных факторов.

Принимая во внимание выше изложенное, **целью работы** было исследовать влияние комплексных препаратов микроэлементов на процессы окислительного стресса в организме крольчих и реакцию антиоксидантной системы на исследуемые препараты.

Материалы и методы

Опыт был проведен с целью разработки комплексного препарата органических соединений микроэлементов глутамат цинка и марганца, хром-метионин и селенита натрия в форме липосомальных препаратов для интенсификации репродуктивной функции у крольчих. Опыт проведен на крольчихах породы «Паннон Карпатский». Животные по принципу аналогов были разделены на 3 группы по 5 голов в каждой. Все крольчихи содержались на стандартном рационе хозяйства. Первая группа была контрольной, им при осеменении вводили 5 мл/голову физраствор. Для повышения оплодотворяемости крольчихам первой экспериментальной группы за 7 суток до осеменения подкожно вводили липосомальный препарат в состав которого входили органические соединения микроэлементов — глутамат цинка и марганца, хром-метионин, а также селенит натрия, фосфолипиды и витамины — А, Д, Е по 5 мл/голову. Крольчихам второй экспериментальной группы вводили, тот же препарат по 5 мл/голову при осеменении. После синхронизации и гормональной обработки крольчихи всех групп были искусственно осеменены. Образцы тканей репродуктивных органов отбирали на 14 сутки сукрольности после убоя крольчих для проведения биохимических исследований.

ТБК-активные продукты оценивали за содержанием продуктов, которые реагируют с 2-тиобарбитуровой кислотой (малоновый диальдегид, МДА) и выражали в нмоль/мг белка [10]. Уровень окислительного повреждения белков оценивали за содержанием альдегидных (ОМБ370) и кетоновых производных (ОМБ430) оксидационно-модифицированных белков в реакции с 2,4-динитрофенилгидразином и выражали в нмоль/мл [11]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по уровню торможения ферментом процесса восстановления нитросинего тетразолия в присутствии NADH и феназинметасуль-

фата [12]. Активность каталазы (КАТ) исследовали в реакции с молибдатом аммония и выражали в мкмоль/мин·мг белка [13]. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием методов вариационной статистики.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований мы установили изменения интенсивности процессов свободнорадикального окисления в матке крольчих при введении исследуемых препаратов, что отображено на рис. 1.

Полученные результаты показали, что концентрация ТБК — активных продуктов, которые являются основным биомаркером перекисного окисления липидов в организме животных, снизилась в ткани матки крольчих обеих опытных групп. Так, в гомогенате эндометрия крольчих 1-й опытной группы отмечалось снижение показателя в 1,2 раза ($P < 0,05$) по сравнению с контролем, а во 2-й группе — в 1,3 раза ($P < 0,01$).

Согласно рис. 1, содержание гидроперекисей липидов в матке крольчих первой опытной группы существенно не отличалось от показателей контрольной группы. Тогда, как у крольчих 2-й опытной группы которым вводили липосомальный препарат с микроэлементами за 7 дней до оплодотворения выявлено достоверное снижение содержания гидроперекисей липидов по сравнению с контрольной и 1-й опытной группами.

Комплексная оценка полученных результатов исследований показала, что введение липосомального препарата органических форм микроэлементов за 7 дней до оплодотворения и при оплодотворении крольчих снижает интенсивность липопероксидации.

Интенсификация процессов свободнорадикального окисле-

ния приводит также к окисной модификации белков (ОМБ), деструкции нуклеиновых кислот и углеводов, что ведет к структурным и метаболическим нарушениям в клетках [11]. Инициация ОМБ является наиболее опасным звеном повреждения клеток, которая приводит к инактивации цитоплазматических ферментов и мембранных ионных насосов с постепенной инициацией различных механизмов апоптоза клеток [14]. Вместе с тем, деструкция белков является более надежным маркером окислительных повреждений тканей, чем продукты ПОЛ, поскольку производные ОМБ более стабильны. Учитывая это, следующим этапом наших исследований был анализ содержания альдегидных и кетонных производных ОМБ (ОМБ₃₇₀ и ОМБ₄₃₀) в ткани матки крольчих при введении органических соединений микроэлементов (Рис. 2).

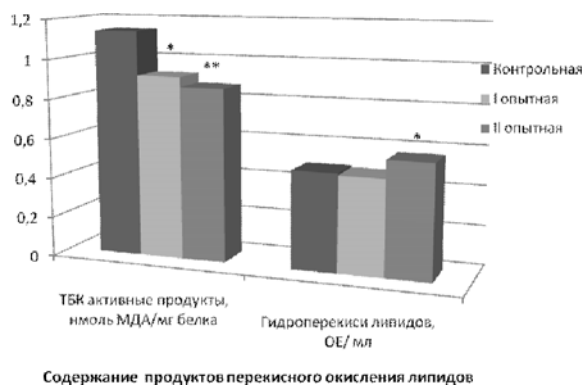


Рис. 1. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в ткани матки крольчих.
Примечание: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$

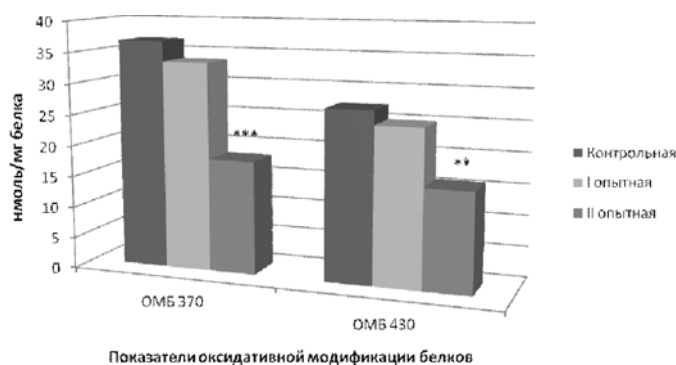


Рис. 2. Содержание альдегидных и кетонных производных окисной модификации белков в ткани матки крольчих.
Примечание: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$

Как показали результаты наших исследований, содержание альдегидных и кетонных производных окисной модификации белков достоверно снизилось во 2-й опытной группе, и имело тенденцию к убыванию в первой группе по сравнению с показателями животных контрольной группы.

Оксидативный стресс характеризует неспецифический ответ организма на неблагоприятные факторы различной природы. Оксидативный

стресс любой природы обуславливает быструю реакцию системы антиоксидантной защиты (АОЗ). Из литературных источников известно, что в механизмах регуляции свободнорадикальных и перекисных процессов ключевую роль играют ферменты АОЗ, такие как СОД, КАТ, ГР, ГПО т.д. [7]. Общим свойством всех ферментных антиоксидантов является наличие в их составе ионов переменной валентности, что в зависимости от условий, выступают как окислители или восстановители. СОД является внутриклеточным ферментом, который участвует в реакциях дисмутации супероксидного анион-радикала. Повышение эффективности функционирования системы АОЗ предотвращает возникновение негативных последствий, вызванных интенсификацией свободнорадикальных процессов.

В связи с этим, следующим этапом наших исследований было определение активности ферментов системы АОЗ в матке крольчих. Мы зафиксировали достоверное повышение активности каталазы во 2-й опытной группе по сравнению с показателями животных контрольной и первой опытной группы (рис. 3).

Учитывая тот факт, что изученные микроэлементы входят в состав активных центров ферментов, а также непосредственно принимают участие в защитных антиоксидантных процессах, введе-

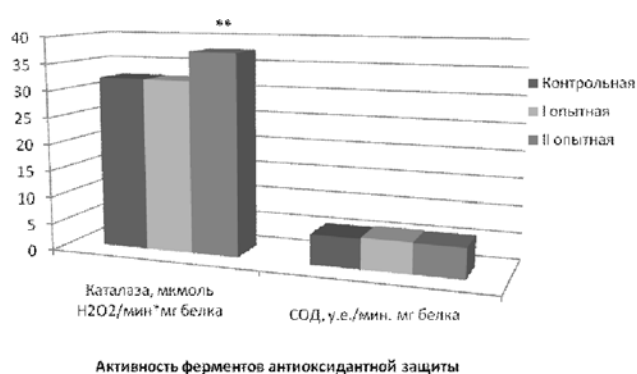


Рис. 3. Активность ферментов антиоксидантной защиты в ткани матки крольчих.

Примечание: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$

ние их в легкоусвояимой формах обеспечивает позитивное влияние на функционирование эндогенных антиоксидантных систем. В частности это проявилось снижением уровня ПОЛ на фоне возрастания уровня активности КАТ и стабильности СОД.

Эффективность липосомального препарата обусловлена содержанием основных необходимых при беременности микроэлементов, их суммарным эффектом и синергическим действием, что усиливает положительное влияние препарата при беременности, в частности на антиоксидантную систему организма.

Заключение

Применение органических форм микроэлементов в форме липосомальной эмульсии крольчихам при оплодотворении, способствует нормализации уровня ПОЛ и стабилизации окислительно-антиоксидантного равновесия в период сукрольности, что указывает на целесообразность его применения не только для обеспечения организма самок в период беременности в микроэлементах, но и для коррекции антиоксидантного статуса организма.

Литература

1. Ильков Н. И., Маринцова Н. Г., Новиков В. П. Разработка состава и исследование новой витаминной добавки с микроэлементами для нужд ветеринарной медицины // Науч.-техн. бюл. Института био-

- логии животных и Гос. н.-и. контрол. инта ветпрепаратов и корм. добавок. — 2010. — Вып. 11, N 1. — С. 160-165.
2. Трахтенберг И. М., Чекман И.С., Линник В.А. Взаимодействие микроэлементов: биологический, медицинский и социальный аспекты // Вестн. НАН Украины. — 2013. — Вып. 6. — С. 11–20.
 3. Антоняк Г.Л., Важненко О. В., Бовт В. Д. и др. Биологическая роль цинку в организме человека и животных // Биология животных. — 2011. — Вып. 13, N 1-2. — С. 20-32.
 4. Ahola JK, Baker DS, Burns PD, Mortimer RG, Enns RM, Whittier JC, Geary TW, Engle TE Effect of copper, zinc, and manganese supplementation and source on reproduction, mineral status, and performance in grazing beef cattle over two-year period // J. Anim. Sci. — 2004. — Vol. 82. — P. 2375-2383.
 5. Патент РФ № 2145479 А23К1/16 Премикс для коров Старикова Н.П. Заявка № 97119955 /13 24.11.1997 Дата публикации : 20.02.2000
 6. Штапенко О.В., Гевкан И.И., Дзень Є.А., Федорова С.В. Способ снижения уровня эмбриональной смертности в крольчих. Патент № 56695 Бюл. №2 от 25 01 2011.
 7. Patil S.B., Kodliwadmath M.V., Kodliwadmath M. Role of lipid peroxidation and enzymatic antioxidants in pregnancy-induced hypertension // J. Obstet. Gynecol. India. — 2006. — V.56, N5. — P. 399–401.
 8. Patil S. B., Kodliwadmath M. V., Kodliwadmath Sheela M. Study of oxidative stress and enzymatic antioxidants in normal pregnancy // J. Clin Biochem.. India. — 2007. — V.22, N1. — P. 135–137.
 9. Vanderlelie J, Venardos K, Clifton V.L., Gude N.M., Clarke F.M., Perkins A.V. Increased biological oxidation and reduced antioxidant enzyme activity in pre-eclamptic placentae // J. Placenta. — 2005. — V.26, N1. — P. 53–58.
 10. Корабейникова Э.Н. Модификации определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. Дело. — 1989. — Вып. 7. — С. 8-9.
 11. Levine RL, Garland D, Oliver CN et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins // Methods Enzymo. — 1990. — Vol.186. — P. 464–478.
 12. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека // Лаб. дело. — 1983. — №10. — С. 30-33.
 13. Королюк М. А., Иванова Л. И., Токарев В. Е. (1988) Метод определения каталазной активности. // Лабораторное Дело. — 1988. — №1. — С. 16-19.
 14. Stadtman ER, Levine RL Protein oxidation / Ann N Y Acad Sci. — 2000. — Vol. 899. — P. 191–208.

Referenses

1. Ilkov NI Marintsova N. Novikov, VP of Development and research of a new vitamin supplement with trace elements for the needs of veterinary medicine // scientific-technical. bulletin. Institute of Animal Biology and State. n-i. control. Inst veterinary products and feed. additives. - 2010 - Vol. 11, N 1. - S. 160-165. (In rus)
2. Trachtenberg IM, Chekman IS Linnik VA Interaction of trace elements: biological, medical and social aspects / / Vestn. National Academy of Sciences of Ukraine. - 2013 - Vol. 6 - S. 11-20. (In rus)
3. Antoniак GL, Vazhnenko OV, Bovt VD et al. Biological role of zinc in humans and animals / / Biology animals. - 2011 - Vol. 13, N 1-2. - P. 20-32. (In rus)
4. Ahola JK, Baker DS, Burns PD, Mortimer RG, Enns RM, Whittier JC, Geary TW, Engle TE Effect of copper, zinc, and manganese supplementation and source on reproduction, mineral status, and performance in grazing beef cattle over two-year period // J. Anim. Sci. - 2004. - Vol. 82. - P. 2375-2383.
5. RF Patent number 2,145,479 A23K1 / 16 Premix for cows Starikova NP Application number 97119955/13 24.11.1997 Publication date: 20.02.2000 (In rus)
6. Shtapenko OV Hevkan II, Zen EA, Fedorov SV A method for reducing the level of fetal death in rabbits. Patent number 56695 Bull. №2 on January 25, 2011. (In rus)
7. Patil SB, Kodliwadmath MV, Kodliwadmath M. Role of lipid peroxidation and enzymatic antioxidants in pregnancy-induced hypertension // J. Obstet. Gynecol. India. - 2006. - V.56, N5. - P. 399-401.
8. Patil SB, Kodliwadmath MV, Kodliwadmath Sheela M. Study of oxidative stress and enzymatic antioxidants in normal pregnancy // J. Clin Biochem .. India. - 2007. - V.22, N1. - P. 135-137.

9. Vanderlelie J, Venardos K, Clifton VL, Gude NM, Clarke FM, Perkins AV Increased biological oxidation and reduced anti-oxidant enzyme activity in pre-eclamptic placentae // J. Placenta. - 2005. - V.26, N1. - P. 53-58.
10. EN Korabeynikova Modification of the definition of lipid peroxidation products in the reaction with thiobarbituric acid // Lab. Business. - 1989 — Vip. 7 - S. 8-9. (In rus)
11. Levine RL, Garland D, Oliver CN et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins // Methods Enzym. - 1990. - Vol.186. - P. 464-478.
12. Dubinin EE, Sal'nikova LA, Efimova LF Activity and superoxide dismutase isoenzyme spectrum of erythrocytes and plasma of human blood // Lab. business. - 1983. - №10. - P. 30-33. (In rus)
13. Koroljuk MA, Ivanov LI, Tokarev VE (1988) Method for determination of catalase activity. // Laboratory work. - 1988. - №1. - P. 16-19. (In rus)
14. Stadtman ER, Levine RL Protein oxidation / Ann NY Acad Sci. - 2000. - Vol. 899. - P. 191-208.

Резюме

ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ СПЛУК
МІКРОЕЛЕМЕНТІВ У ФОРМІ
КОМПЛЕКСНОГО ЛІПОСОМАЛЬНИХ
ПРЕПАРАТІВ НА ПОКАЗНИКИ
ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ТА
АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАТУС КРОЛИЦЬ

*Штапенко О.В., Гевкан І.І., Матюха І.О.,
Сливчук Ю.І., Сирватка В.Я.,
Федорова С.В., Розгоні І.І.*

У статті проаналізовано вплив органічних сполук мікроелементів у формі комплексного ліпосомального препарату на антиоксидантний статус кролиць в умовах інтенсифікації відтворювальної здатності на кролефермах. Наведені дані свідчать про те, що біологічна роль органічних форм мікроелементів в організмі в значній мірі реалізується через участь їх у синтезі та стабілізації нуклеїнових кислот і білків, процесах енергетичного обміну, проліферації і диференціювання клітин, підтримці антиоксидантної рівноваги. Результати досліджень показали, що препарат органічних форм мікроелементів є висо-

коефективним за підтримки інтенсивності обмінних процесів і збереженні антиоксидантної — прооксидантної рівноваги в репродуктивних органах, і зокрема, в матці в умовах стимуляції полювання, заплідненні та імплантації ембріонів.

Ключові слова: комплексний ліпосомальний препарат, перекисне окислення білків, антиоксидантний статус

Summary

EFFECT OF ORGANIC COMPOUNDS OF TRACE ELEMENTS IN THE FORM OF LIPOSOMAL FORMULATIONS ON PARAMETERS OF OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT STATUS FEMALE RABBITS

Shtapenko O.V., Hevkan I.I., Matiukha I.O., Sluvchuk Y.I., Syrvatka V.Ya., Fyodorova S.V., Rozgoni I.I.

The influence of organic compounds of trace elements in the form of complex liposomal drug on the antioxidant status of rabbits in the intensification of reproductive ability on modern rabbit farms was established in the article. These data indicate that the biological role of organic forms of trace elements in the body largely realized through their participation in the synthesis and stabilization of nucleic acids and proteins, the processes of energy metabolism, proliferation and differentiation of cells, maintenance of antioxidant balance. The results showed that the drug organic forms of trace elements is highly supported by the intensity of metabolism and maintaining antioxidant — prooxidant balance in the reproductive organs, and in particular, in the uterus under the stimulation of hunting, fertilization and embryo implantation.

Key words: complex liposomal formulation, protein peroxidation, antioxidant status

*Впервые поступила в редакцию 15.05.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*