

скота / Е.М. Марьин, В.А. Ермолаев, О.Н. Марьина, И.С. Раксина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2012. - № 4. - С. 66-69.

7. Марьин, Е.М. Клинико-гематологические показатели при болезнях копытцев у крупного рогатого скота / Е.М. Марьин, О.Н. Марьина // Наука в современных условиях: от идеи до внедрения. - 2013. - № 1. - С. 52-56.

8. Руколь, В.М. Профилактика и лечение коров при болезнях конечностей / В.М. Руколь, А.А. Стекольников // Ветеринария. 2011. - № 11. - С. 50-53.

9. Рыжаков, А.В. Кормовой травматизм крупного рогатого скота в условиях промышленного производства / А.В. Рыжаков, А.В. Лазарев // Кормопроизводство. 2008. - № 12. - С. 29.

10. Самоловов, А.А. Хромота, болезни копытцев, некробактериоз молочных коров / А.А. Самоловов, С.В. Лопатин // Ветеринария. 2013. - № 6. - С. 28-31.

11. Семенов, Б.С. Хирургические болезни конечностей у молочных коров / Б.С. Семенов, В.Н. Виденин, Н.В. Пилаева, Г.Ю.

Савина // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2013. - № 3. - С. 107 – 108.

12. Симонова, В.Н. Динамика ортопедической патологии у коров / В.Н. Симонова, П.М. Ляшенко, В.А. Ермолаев, Е.Н. Никулина // Ветеринарный врач. - 2009. - № 5. - С. 38-40.

13. Якоб, В.К. Клиническая характеристика заживления язвенных процессов в области копытцев у крупного рогатого скота / В.К. Якоб, В.А. Ермолаев, Е.М. Марьин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2013. - № 3. - С. 138-140.

14. Огуй, В.Г. Состояние роговой подошвы копытца бычков симментальской породы, содержащихся на решетчатом настиле разного настила / В.Г. Огуй, Т.В. Куренинова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2009. - № 3 (53). - С. 53-55.

15. Марьин, Е.М. Природные сорбенты в лечении гнойных ран у животных / монография / Е. М. Марьин, В. А. Ермолаев, О. Н. Марьина // Ульяновск: УГСХА., 2010. - 141с.

УДК 637.13.02

## ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ МОЛОКА КОРОВ, БОЛЬНЫХ ПОСЛЕРОДОВЫМ ЭНДОМЕТРИТОМ

**Погорелова Наталья Анатольевна**, аспирант кафедры «Продукты питания и пищевая биотехнология»

**Высокогорский Валерий Евгеньевич**, доктор медицинских наук, профессор кафедры «Продукты питания и пищевая биотехнология»

**Стрельчик Наталья Валерьевна**, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Продукты питания и пищевая биотехнология»

ФГБОУ ВПО «ОмГАУ им. П.А. Столыпина»

644008, г. Омск, ул. Физкультурная, 2; тел.: 8(3812)65-16-66, (+8)913-687-01-77. e-mail: ntali839@list.ru

**Ключевые слова:** свободнорадикальное окисление, хемилюминесценция, процессы липидпероксидации, карбонильные производные белков.

В статье приведены результаты исследования интенсивности железоиндуцированной хемилюминесценции молока коров, больных послеродовым эндометритом. Установлено увеличение светосуммы и амплитуды медленной вспышки хемилюминесценции; обнаружено повышение содержания первичных продуктов перекисного окисления липидов - диеновых конъюгатов в гептановой и в изопропанольной фазах в липидных экстрактах

*и карбонильных производных белков молока коров, больных послеродовым эндометритом относительно значений показателя контрольной группы.*

## **Введение**

Гинекологические заболевания – распространенные заболевания лактирующих коров. По данным Епанчинцевой О.С., в 2011-2012г. заболеваемость послеродовым эндометритом в зависимости от сезона года колеблется от 13 до 27% от общего количества молочно-продуктивных коров [1].

Из анализа литературных источников следует, что в развитии эндометритов у крупного рогатого скота, как правило, участвуют многочисленные представители условно-патогенной микрофлоры [2]. Развитие заболевания вызывает изменение показателей качества молока и его технологических свойств. В молоке, полученном от коров, больных хроническими формами эндометрита, установлено снижение содержания жира, лактозы и казеина; минеральных веществ: кальция, фосфора, железа, меди. Кроме того, такое молоко характеризуется снижением содержания насыщенных жирных кислот при одновременном увеличении их ненасыщенных форм [3] и других компонентов, что отражается на процессах свободнорадикального окисления (СРО) и системы антиокислительной защиты [4, 5].

Учитывая изложенное, изменение жирнокислотного состава молока может отразиться на интенсивности свободнорадикальных процессов в молоке. Поэтому изучение состояния перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков молока крупного рогатого скота представляет теоретический и практический интерес.

Цель данного исследования – оценить выраженность окислительной модификации белков и перекисаации липидов молока-сырья коров с послеродовым эндометритом.

## **Объекты и методы исследований**

Исследования выполнены на базе хозяйств лесостепной зоны Омской области. В работе изучали биологический материал коров черно-пестрой породы, 3 - 4-летнего возраста, первой половины стельности.

Все коровы были полновозрастными (3-5 лактация), животные находились в одинаковых условиях кормления (по рационам хозяйства) и содержания. Группы комплектовались по принципу аналогов (вес, период лактации, форма вымени): 1 группа (контрольная) – клинически здоровые животные; 2 группа (основная) – коровы с диагнозом субклинический эндометрит. Разница в сроках отела не превышала 1 месяца. Кровь для биохимических исследований брали из яремной вены в утреннее время до кормления в вакуумные пробирки. Молоко охлаждали до 5<sup>0</sup>С и хранили при этой температуре до дальнейших исследований в течение 24 часов. Для хемилюминесцентного анализа использовали молоко сырое с содержанием жира 2,5%.

Состояние проокислительной системы оценивали по следующим показателям: интенсивности люминолзависимой Fe<sup>2+</sup>-индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) на приборе ХЛ-003 [6]; параметры липидперекисаации исследовали в гептан-изопропанольных экстрактах молока по методу И.А. Волчегорского [7]. Необходимость использования двух фаз вызвана особенностями экстрагирования, так, в гептан экстрагируются в основном нейтральные липиды, а изопропанол – фосфолипиды, которые являются важнейшими субстратами перекисного окисления липидов (ПОЛ). Определяли содержание молекулярных продуктов ПОЛ: диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ), конечных продуктов ПОЛ - оснований Шиффа (ОШ), в каждой из экстрагируемых фаз молока спектрофотометрическим методом при 220, 232, 278 и 400 нм. Результаты выражали в единицах окислительного индекса (*e.o.u.*), который рассчитывали как отношение  $E_{232/220} / E_{278/220} \cdot E_{400/220}$ . ТБК реактивные продукты (ТБК-РП) определяли по общепринятой методике с тиобарбитуровой кислотой [8].

Окислительную модификацию белков оценивали по Levine в модификации Дубининой Е.Е. [9, 10]. Карбонильные группиров-

Таблица 1

Значения хемилюминесценции проб молока коров в норме и при послеродовом эндометрите

Группа животных	Параметры ХЛ				
	Светосумма усл.ед.·мин	Спонтанная светимость усл.ед.	Быстрая вспышка усл.ед.	Медленная вспышка усл.ед.	Наклон усл.ед.
Контрольная (n=10)	10,77±1,04	1,71±0,55	7,43±0,91	4,21±0,39	1,47±1,37
Основная (n=10)	12,30±1,11	1,85±0,32	8,88±1,35	4,91±0,50	0,36±0,81
P	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05

Таблица 2

Показатели липопероксидации молока коров в норме и при послеродовом эндометрите

Показатель	Группа животных		
	Контрольная (n=10)	Основная (n=10)	P
ТБК – РП, ммоль/л	0,224±0,0594	0,569±0,238	p<0,001
Диеновые конъюгаты гептановая фаза, е.о.и.	1,037±0,039	1,130±0,040	p<0,05
Кетодиены и сопряжённые триены гептановая фаза, е.о.и.	0,090±0,010	0,093±0,032	p>0,05
Шиффовы основания гептановая фаза, е.о.и.	0,008±0,001	0,013±0,0039	p>0,05
Диеновые конъюгаты изопропанольная фаза, е.о.и.	0,433±0,018	0,500±0,049	p<0,05
Кетодиены и сопряжённые триены изопропанольная фаза, е.о.и.	0,205±0,026	0,240±0,024	p>0,05
Шиффовы основания изопропанольная фаза, е.о.и.	0,038±0,036	0,023±0,010	p>0,05

ки аминокислотных остатков, образующихся в результате окислительной модификации исследуемых белков, характеризовали степень их окислительной деструкции: нейтральные и основного характера альдегид-динитрофенилгидразоны (АДФГ) определяли при длине 356 и 430 нм; а кетон-динитрофенилгидразоны (КДФГ) нейтральные и основного характера при 370 и 530 нм соответственно [10].

Результаты обрабатывали с помощью пакета прикладных программ «Statistika 6,0» [11].

#### Результаты исследований

Как видно из табл. 1, в сыром молоке коров, больных послеродовым эндометри-

том, значение светосуммы, которое является интегральным показателем интенсивности свободнорадикального окисления, на 12,5% выше, чем в молоке здоровых животных. Высота медленной вспышки, отражающая максимальную интенсивность хемилюминесценции в присутствии ионов двухвалентного железа, была выше на 14% в основной группе относительно контрольной (p<0,05).

Показатель соотношения прооксидантов и антиоксидантов – тангенс угла наклона медленной вспышки в 4,1 раза больше в молоке, полученном от больных животных (p<0,05).

Так как решающую роль в повышении

Таблица 3

Показатели карбонилирования белков молока коров в норме и при послеродовом эндометрите

Показатель	Группа животных		
	Контрольная (n=10)	Основная (n=10)	P
Алифатические альдегид-динитрофенилгидразоны, (356 нм) е.о.п. на 1 мл молока	1,277±0,078	1,645±0,245	p<0,01
Алифатические кетон-динитрофенилгидразоны (370 нм) е.о.п. на 1 мл молока	1,144±0,093	1,469±0,228	p<0,01
Альдегид-динитрофенилгидразоны основного характера, (430 нм) е.о.п. на 1 мл молока	0,537±0,224	0,620±0,259	p>0,05
Кетон-динитрофенилгидразоны основного характера (530 нм) е.о.п. на 1 мл молока	0,029±0,031	0,203±0,098	p<0,05

значений показателей хемилюминесценции может играть активация пероксидации липидов, то в следующей серии исследовали различные продукты этого процесса. Прежде всего, в молоке коров основной группы установлено возрастание в 2,54 раза содержания ТБК-РП относительно значений показателя контрольной группы (p<0,01).

Как в гептановой, так и в изопропанольной фазе содержание первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов несколько выше в молоке коров основной группы. Уровень вторичных (кетодиены и сопряжённые триены) и конечных продуктов (Шиффовые основания) в молоке больных коров существенно не отличался от данных здоровых животных.

Учитывая, что активные формы кислорода могут вызывать окислительную деструкцию не только липидов, но и белков, то далее определяли количество карбонильных соединений белка сырого молока, основную часть которых составляют альдегидо- и кетонпроизводные нейтрального характера.

Нами установлено повышение уровня алифатических альдегид-динитрофенилгидразонов нейтрального характера на 28,8% (p<0,01) и кетон-динитрофенилгидразонов на 78% (p<0,01) у коров, больных послеродовым эндометритом, по сравнению с контрольной группой. Выявлено повышение и кетон-динитрофенилгидразонов основного характера в сыром молоке коров основной

группы в 7 раз по сравнению со здоровыми животными (p<0,05).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о значительных свободнорадикальных нарушениях белков молока коров, больных послеродовым эндометритом, в меньшей степени эти изменения выявлены в гептановой и изопропанольной фазах экстрактов липидов молока.

#### Выводы

1. Повышение показателей железиндуцированной хемилюминесценции указывает на большую подверженность свободнорадикальным процессам компонентов молока коров, больных послеродовым эндометритом, в сравнении со здоровыми животными.

2. Наиболее значительные нарушения окислительной модификации белков молока коров, больных послеродовым эндометритом, проявились в увеличении кетон-динитрофенилгидразонов основного характера.

#### Библиографический список

1. Епанчинцева, О.С. Профилактика и терапия послеродового эндометрита у коров / О.С. Епанчинцева, Е.И. Грибкова // Вестник «Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова». - 2013. - № 1. - С. 11-15.

2. Макаров, А.В. Физико-химические свойства молока при эндометритах у коров / А.В. Макаров, Л.И. Тарарина // Молочная промышленность. - 2009. - №3. - С. 78-79.

3. Тарарина, Л.И. Эндометриты у коров: Изменение технологических свойств молока / Л.И. Тарарина, А.В. Макаров, И.М. Саражакова, И.В. Боер // Молочная промышленность. - 2009. - №4. - С. 76-77.
4. Высокогорский, В.Е. Антиоксидантная активность коровьего и козьего молока / В.Е. Высокогорский, П.В. Веселов // Молочная промышленность. - 2009. - №7. - С. 86-87.
5. Высокогорский, В.Е. Антиокислительные свойства молока в разных зонах Омской области / В.Е. Высокогорский, Т.Д. Воронова, В. Веселов // Молочная промышленность. - 2009. - №10. - С. 73-74.
6. Багаутдинов, А.М. Хемилюминесцентные методы оценки функционального состояния животных: методические рекомендации / А.М. Багаутдинов, В.Н. Байматов, Р.Р. Фархутдинов. – М.: Издательская группа БДЦ-пресс, 2005. – 40 с.
7. Волчегорский, И.А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И.А. Волчегорский, А.Г. Налимов // Вопр. мед. химии. - 1989. - №1. - С. 127-131.
8. Стальная, Н.О. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Н.О. Стальная // Современные методы в биохимии: под редакцией В.Н. Ореховича. - М.: Медицина, 1977. - С. 66-68.
9. Levine, R.L. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins / R.L. Levine, D. Garland, C.N. Oliver et al. // Methods Enzymol. - 1990. - Vol. 186. - P. 464-478.
10. Дубинина, Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов, И.Г. Поротов // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т. 41, № 1. – С. 24 – 26.
11. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. - М: МедиаСфера, 2006. - 312 с.