

Научная статья

УДК 619: 612.12

doi: 10.34655/bgsha.2023.71.2.007

СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА ТЕЛЯТ ПОД ВЛИЯНИЕМ ВОДНОГО РАСТВОРА ФУЛЛЕРЕНА C₆₀, ЦИНКА, ВИТАМИНОВ D₃, С И КВЕРЦЕТИНА ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Сергей Дмитриевич Ключкин¹, Николай Александрович Пудовкин²

^{1,2} Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, Саратов, Россия

Автор, ответственный за переписку: Николай Александрович Пудовкин, nikopudovkin@yandex.ru

Аннотация. В статье изложены результаты исследований по изучению состояния про- и антиоксидантной системы организма телят под влиянием водного раствора фуллерена C₆₀, цинка, витаминов D₃, С и кверцетина для животных. Фуллерены и родственные производные на основе углерода демонстрируют растущую актуальность в биомедицине, в основном, из-за уникальных электронных и структурных свойств, которые делают их отличными кандидатами для множественной функционализации. Исследования были выполнены в 2023 году в лаборатории кафедры морфологии, патологии животных и биологии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова». Препарат на основе водного раствора фуллерена C₆₀, цинка, витаминов D₃, С и кверцетина для животных, включающего водный раствор фуллерена C₆₀ – 1 мл, 1 мг действующего вещества, цинк – 12 мг, витамин D₃ – 500 МЕ, витамин С – 90 мг, кверцетин – 10 мг. Соединение вводили внутримышечно телятам 3-месячного возраста в дозе 4 мл на животное. Дневные конъюгаты исследовали с помощью спектрофотометра при уровне поглощения ультрафиолета в диапазоне длины волны 232–234 нм. Содержание малонового диальдегида определяли тиобарбитуровым методом в сыворотке крови. Активность каталазы исследовали с помощью спектрофотометрического способа при нагревании в водяной бане. Активность супероксиддисмутазы исследовали модифицированным адренохромным методом. Установлено, что разработанная фармакологическая композиция на основе водного раствора фуллерена C₆₀, цинка, витаминов D₃, С и кверцетина для животных оказывает антиоксидантное действие на организм телят, выражающееся в активации антиоксидантных ферментов каталазы на 7,2% и СОД – на 20,5% относительно контроля. Также установлено ингибирующее действие фармакологической композиции на процессы перекисного окисления липидов, выражающееся в понижении уровня ДК в сыворотке крови на 39,2% и МДА – на 24,5% относительно контроля.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, цинк, фуллерен C₆₀, телята, сыворотка крови

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-26-00019 «Разработка антиоксидантных и противоопухолевых ветеринарных препаратов на основе нанополлимеров».

Original article

THE STATE OF THE PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE BODY OF CALVES UNDER THE INFLUENCE OF AQUEOUS SOLUTION OF FULLERENE C₆₀, ZINC, VITAMINS D₃, C AND QUERCETIN FOR ANIMALS

Sergei D. Klyukin¹, Nikolai A. Pudovkin²

^{1,2}Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilova, Saratov, Russia

Corresponding author: Nikolai A. Pudovkin, niko-pudovkin@yandex.ru

Abstract. *The article presents the results of studies on the state of the pro- and antioxidant system of the body of calves under the influence of an aqueous solution of C₆₀ fullerene, zinc, vitamin D₃, C and quercetin for animals. Fullerenes and related carbon-based derivatives shows increasing relevance in biomedicine, mainly due to unique electronic and structural properties that make them excellent options for multiple functionalization. The studies were carried out in 2023 in the laboratory of the Department of Morphology, Animal Pathology and Biology, Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov. Preparation based on an aqueous solution of fullerene C₆₀, zinc, vitamins D₃, C and quercetin for animals, including an aqueous solution of fullerene C₆₀ - 1 ml, 1 mg of active ingredient, zinc - 12 mg, vitamin D₃ - 500 IU, vitamin C - 90 mg, quercetin - 10 mg was under the research. The preparation was administered intramuscularly to 3-month-old calves with a dose of 4 ml per animal. Diene conjugates were studied with a spectrophotometer at an ultraviolet absorption level in the wavelength range of 232–234 nm. The content of malonyldialdehyde was determined by the thiobarbituric method in blood serum. Catalase activity was studied using a spectrophotometric method when heated in a water bath. Superoxide dismutase activity was studied by a modified adrenochromic method. It was found out that the developed pharmacological composition based on an aqueous solution of C₆₀ fullerene, zinc, vitamins D₃, C and quercetin for animals has an antioxidant effect on the body of calves, which is expressed in the activation of antioxidant enzymes catalase by 7.2% and SOD - by 20.5% with regard to the control. The inhibitory effect of the pharmacological composition on the processes of lipid peroxidation was also established, which is expressed in a decrease in the level of DC in the blood serum by 39.2% and MDA - by 24.5% relative to the control.*

Keywords: lipid peroxidation, antioxidant system, zinc, C₆₀ fullerene, calves, blood serum

Acknowledgments: The research was completed with the support of the grant project RSF № 22-26-00019 «Development of antioxidant and anticancer veterinary medicines based on nanofullerenes».

Введение. Окислительный стресс, в основном, определяется как нарушение внутреннего баланса организма между оксидантами и антиоксидантами (свободными радикалами и активными формами кислорода). В условиях высокого снабжения кислородом концентрации активных форм кислорода увеличиваются. Эти соединения взаимодействуют с клетками организма, от которых они приобретают электрон, что приводит к необратимому повреждению белков, липидов и ДНК. Ослабленные клетки теряют способность к размножению и регенерации и это основная причина ослабления иммунной систе-

мы. В этих условиях увеличивается заболеваемость [3].

Установлено, что в период роста животного происходит усиление процессов перекисного окисления липидов, а именно усиливается выработка свободных радикалов и активных форм кислорода, что приводит к дисбалансу оксидантно-антиоксидантного действия. Кроме того, в начале жизни организм нуждается в повышенных питательных веществах, в основном для получения энергии [1].

Результаты лабораторных исследований многих авторов свидетельствуют о том, что эффективным способом сниже-

ния частоты развития оксидативного стресса животных является введение в организм соединений, обладающих антиоксидантными свойствами [12]. Одними из таких химических соединений являются фуллерены.

Фуллерены и родственные производные на основе углерода демонстрируют растущую актуальность в биомедицине, в основном, из-за уникальных электронных и структурных свойств, которые делают их отличными кандидатами для множественной функционализации [3].

Цель – изучить состояние про- и антиоксидантной системы организма телят под влиянием водного раствора фуллерена C_{60} , цинка, витамина D_3 , С и кверцетина для животных.

Методика исследований. Исследования были выполнены в 2023 г. в лаборатории кафедры морфологии, патологии животных и биологии и УНПО «Муммовское» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова».

Животные формировались по принципу аналогов, по 10 голов в каждой группе.

Препарат на основе водного раствора фуллерена C_{60} , цинка, витаминов D_3 , С

и кверцетина для животных, включающего водный раствор фуллерена C_{60} – 1 мл, 1 мг действующего вещества, цинк – 12 мг, витамин D_3 – 500 МЕ, витамин С – 90 мг, кверцетин – 10 мг. Соединение вводили внутримышечно телятам 3-месячного возраста в дозе 4 мл на животное. Животным соединение вводили однократно.

Диеновые конъюгаты (ДК) исследовали с помощью спектрофотометра при уровне поглощения ультрафиолета в диапазоне длины волны 232–234 нм [6]. Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли тиобарбитуровым методом в сыворотке крови [5]. Активность каталазы исследовали спектрофотометрическим способом при нагревании в водяной бане [2]. Активность супероксиддисмутазы исследовали модифицированным адренехромным методом [10].

Статистическую обработку результатов эксперимента проводили с помощью компьютерной программы Excel 2010.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований по изучению влияния разработанной фармакологической композиции на процессы перекисного окисления липидов в сыворотке крови телят представлены на рисунке 1.

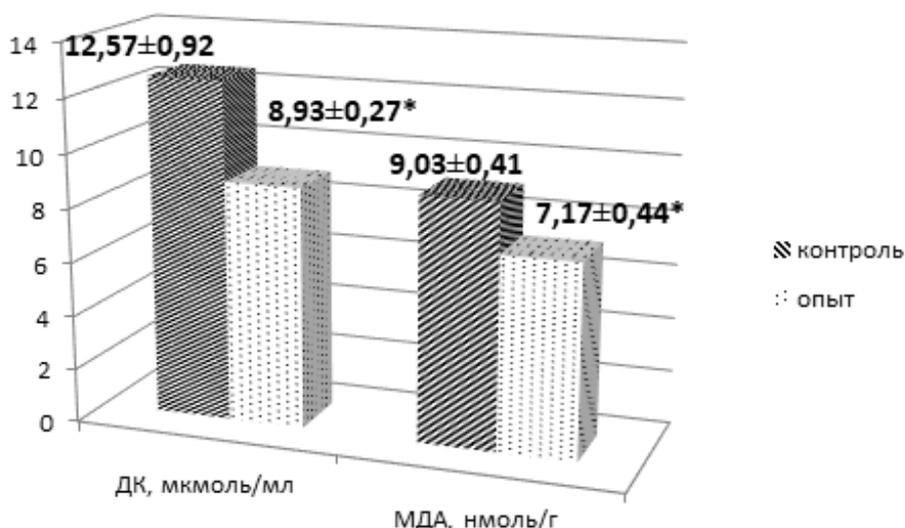


Рисунок 1. Показатели процессов перекисного окисления липидов сыворотке крови после введения фармакологической композиции (n=10)

Примечание: (*) $P \leq 0,050$

Установлено, что содержание ДК и МДА в сыворотке крови телят ниже физио-

логических значений, что говорит о свободнорадикальной патологии у животных [4].

После введения соединения концентрация ДК в сыворотке крови телят понизилась на 39,2%, МДА – на 24,5% относительно контроля (рис. 1). Понижение активности продуктов перекисного окисления липидов возможно объяснить способностью соединений фуллеренов образовывать структурные аналоги переходных состояний субстратов и таким образом функционировать в качестве эффективных ингибиторов процессов перекисного окисления липидов.

Физиологическая концентрация цинка

(Zn) ингибирует выработку активных форм кислорода, таких как анион супероксида ($\cdot\text{O}^-$), перекись водорода (H_2O_2) и радикальный гидроксил (ОН), а также активных форм азота, включая пероксинитрит [7]. Антиоксидантный эффект цинка может быть опосредован прямым действием иона цинка, его структурной ролью в антиоксидантных белках и модуляцией индукции металлотioneина. Непосредственная антиоксидантная активность ионов Zn связана с его связыванием с тиоловыми группами, что защищает их от окисления [8, 11].

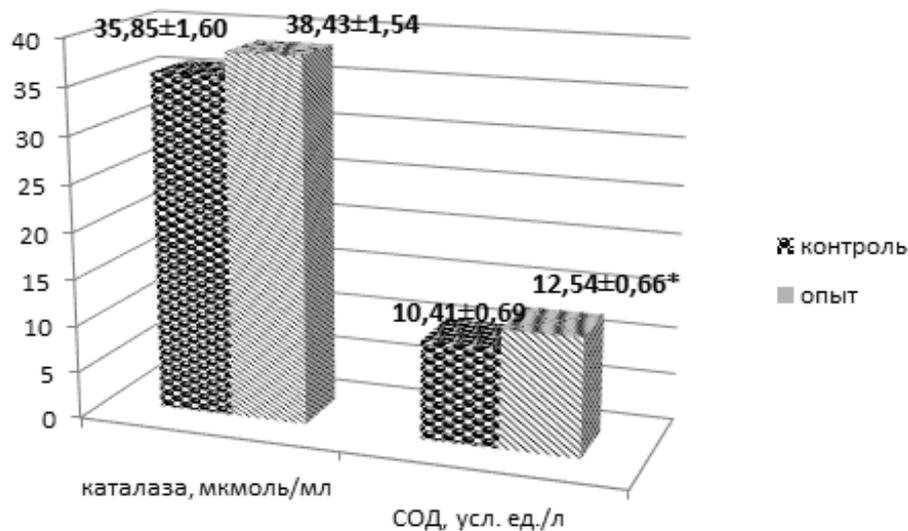


Рисунок 2. Показатели антиоксидантных ферментов в сыворотке крови после введения фармакологической композиции (n=10).

Примечание: (*) $P \leq 0,050$

Установлено, что активность каталазы повысилась на 7,2% относительно контроля (рис. 2). Активность супероксиддисмутазы также повысилась на 20,5%, по сравнению с контролем.

Цинк является кофактором антиоксидантного фермента Zn-супероксиддисмутазы, который подавляется в условиях дефицита цинка [10]. Также было продемонстрировано, что Zn может косвенно влиять на активность других антиоксидантных ферментов.

Заключение. Таким образом, разработанная фармакологическая композиция на основе водного раствора фуллерена C_{60} , цинка, витаминов D_3 , С и кверцетина для животных оказывает антиоксидантное действие на организм телят,

выражающееся в активации антиоксидантных ферментов каталазы на 7,2% и СОД – на 20,5% относительно контроля. Также установлено ингибирующее действие фармакологической композиции на процессы перекисного окисления липидов, выражающееся в понижении уровня ДК в сыворотке крови на 39,2% и МДА – на 24,5% относительно контроля.

Список источников

1. Воробьев В.И. Физиологический механизм влияния недостающих в среде и кормах микроэлементов на состояние эритрона, процессы свободнорадикального окисления и продуктивность жвачных животных / В.И. Воробьев, Д.В. Воробьев, Е.Н. Щербакова А.П. Полковниченко // Фундаментальные исследования. 2013. № 11-3. С. 461-

464. EDN: RTMIZN.

2. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарева // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–19.

3. Влияние водного раствора фуллере-на на процессы про- и антиоксидации в организме белых крыс / Н.А. Пудовкин, С.Д. Ключкин, А.А. Алексеев, В.В. Салаутин // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.П. Филиппова. 2022. № 2 (67). С. 102-108. doi: 10.34655/bgsha.2022.67.2.013. EDN: VVRAE.

4. Родионова Т.Н. Фармакодинамика селенорганических препаратов и их применение в животноводстве : специальность 16.00.04 : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Родионова Тамара Николаевна. Краснодар. 2004. 45 с. EDN NJRFJB.

5. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 66–67.

6. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Методы определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 67–68.

7. Hadwan M.H., Almashhedy L.A., Als Salman A.R.S. Study of the effects of oral zinc supplementation on peroxynitrite levels, arginase activity and NO synthase activity in seminal plasma of Iraqi asthenospermic patients // *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2014. №12. P. 1. doi: 10.1186/1477-7827-12-1.

8. Administration of zinc complex of acetylsalicylic acid after the onset of myocardial injury protects the heart by upregulation of antioxidant enzymes / S. Korkmaz-Icöz, A. Atmanli, T. Radovits, S. Li, P. Hegedüs, M. Ruppert, P. Brlecic, Y. Yoshikawa, H. Yasui, M. Karck, G.J. Szaby // *J Physiol. Sci.* 2016. Vol. 66(2). P. 113–125.

doi: 10.1007/s12576-015-0403-6.

9. Roles of zinc and copper in modulating the oxidative refolding of bovine copper, zinc superoxide dismutase / H.T. Li, M. Jiao, J. Chen, Y. Liang // *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2010. Vol. 42(3). Pp.183–194.

doi: 10.1093/abbs/gmq005.

10. Misra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of

epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // *J. Biol. Chem.* 1972. V. 247. Pp. 3170 – 3175.

11. Oteiza P.I. Zinc and the modulation of redox homeostasis // *Free Radic Biol Med.* 2012. Vol. 53(9). Pp.1748–1759. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.568.

12. Effect of short-term zinc supplementation on zinc and selenium tissue distribution and serum antioxidant enzymes / A.A. Skalny, A.A. Tinkov, Y.S. Medvedeva, I.B. Alchinova, M.Y. Karganov, A.V. Skalny, A.A. Nikonov // *Acta Sci Pol Technol Aliment.* 2015. Vol. 14(3). P. 269–276.

doi: 10.17306/J.AFS.2015.3.28.

References

1. Vorobyov V. I., Shcherbakova E. N., Zakharkina N. I. Physiological features of the metabolism of Fe, Zn, Mn, Se, J, Co and Cu in the body of omnivores. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015. №. 5. P. 613 (In Russ.)

2. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokareva V.E. Method for determining the activity of catalase. *Lab. delo*. 1988;1:16–19 (In Russ.)

3. Pudovkin N.A., Klyukin S.D., Alekseev A.A., Salautin V.V. Influence of an aqueous solution of fullerene on the processes of pro- and antioxidation in bodies of white rats. *Vestnik of Buryat State Academy of Agriculture named after V. Philippov*. 2022;2(67):102-108 (In Russ.)

4. Rodionova T.N. Pharmacodynamics of organoselenium preparations and their use in animal husbandry. Doctoral dissertation abstract. Krasnodar. 2004. 45 p. (In Russ.)

5. Stalnaya I.D., Garishvili T.G. Method for the determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid. *Sovremennyye metody v biokhimii*. M.: Medicine. 1977;66–67 (In Russ.)

6. Stalnaya I.D., Garishvili T.G. Methods for determining diene conjugation of unsaturated higher fatty acids. *Sovremennyye metody v biokhimii*. M.: Medicine. 1977;67–68 (In Russ.)

7. Hadwan M.H., Almashhedy L.A., Als Salman A.R.S. Study of the effects of oral zinc supplementation on peroxynitrite levels, arginase activity and NO synthase activity in seminal plasma of Iraqi asthenospermic patients. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2014; 12: 1. doi: 10.1186/1477-7827-12-1

8. Korkmaz-Icöz S., Atmanli A., Radovits T., Li S., Hegedüs P., Ruppert M., Brlecic P., Yoshikawa Y., Yasui H., Karck M., Szaby G.J.

Administration of zinc complex of acetylsalicylic acid after the onset of myocardial injury protects the heart by upregulation of antioxidant enzymes. *J Physiol Sci.* 2016;66(2):113–125 doi: 10.1007/s12576-015-0403-6

9. Li H.T., Jiao M., Chen J., Liang Y. Roles of zinc and copper in modulating the oxidative refolding of bovine copper, zinc superoxide dismutase. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2010; 42(3): 183–194.

doi: 10.1093/abbs/gmq005

10. Misra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide

dismutase *J. Biol. Chem.* 1972;247:3170–3175.

11. Oteiza P.I. Zinc and the modulation of redox homeostasis *Free Radic Biol Med.* 2012;53(9):1748–1759.

doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.568

12. Skalny A.A., Tinkov A.A., Medvedeva Y.S., Alchinova I.B., Karganov M.Y., Skalny A.V., Nikonorov A.A. Effect of short-term zinc supplementation on zinc and selenium tissue distribution and serum antioxidant enzymes *Acta. Sci. Pol. Technol Aliment.* 2015;14(3):269–276.

doi: 10.17306/J.AFS.2015.3.28

Информация об авторах

Сергей Дмитриевич Ключин – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Морфология, патология животных и биология», klyukin15@mail.ru;

Николай Александрович Пудовкин – доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой «Морфология, патология животных и биология», niko-pudovkin@yandex.ru

Information about the authors

Sergey D. Klyukin – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Morphology, Animal Pathology and Biology, klyukin15@mail.ru;

Nikolai A. Pudovkin – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Morphology, Animal Pathology and Biology, niko-pudovkin@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 30.03.2023; одобрена после рецензирования 27.04.2023; принята к публикации 10.05.2023

The article was submitted 30.03.2023; approved after reviewing 27.04.2023; accepted for publication 10.05.2023.