

УДК 619:615.32:614.31:637:636.4.053

**ПОКАЗАТЕЛИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА  
И АКТИВНОСТЬ ГЕПАТОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПОРОСЯТ  
В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ВЫРАЩИВАНИЯ**

**Петровский С.В., Котович И.В., Позывайло О.П., Шестакова М. И.**

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»,  
г. Витебск, Республика Беларусь

*В результате проведенных исследований установлен высокий уровень перекисного окисления липидов у поросят-отъемышей с недостаточной живой массой. Высокому уровню перекисного окисления липидов соответствует адекватный антиоксидантный статус поросят. Установлена высокая положительная корреляционная взаимосвязь между содержанием в крови конечных продуктов перекисного окисления липидов и активностью гепатоспецифических ферментов в крови поросят-отъемышей.*

*We were studied the high level of peroxidative status and adequate level of antioxidative status of postweaning pigs with low mass. There are high positive correlation between contents in the blood of postweaning pigs final products of oxidation of lipids and activity of liver's enzymes.*

**Введение.** Одной из приоритетных отраслей АПК Республики Беларусь является свиноводство. Согласно программе социально-экономического развития на 2006-2010 годы планируется реконструкция и техническое переоснащение 87 комплексов по откорму свиней. К 2010 году производство свинины на реконструированных комплексах должно составить 85-90% от валового по республике [9]. Однако необходимо отметить, что наряду с очевидными экономическими преимуществами промышленной технологии производства свинины существует ряд факторов, негативно влияющих на продуктивность животных. Содержание большого количества животных на ограниченных площадях, концентратный тип кормления, воздействие стрессов ведут к развитию патологий печени, широко распространенных в условиях комплексов [1, 10].

Основой патогенеза многих заболеваний является активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), протекающих по свободнорадикальному механизму. В здоровом организме ПОЛ протекает на крайне низком уровне и необходимо для обновления мембранных структур клетки. В то же время при длительных воздействиях на организм различных факторов, инициирующих процессы липопероксидации, ПОЛ нарушается и становится одним из ведущих звеньев в развитии различных патологий [8].

При стрессе, часто возникающем при промышленной технологии производства свинины, происходит усиление реакций ПОЛ и снижение интенсивности АОЗ [13]. Это приводит к снижению интенсивности роста поросят, в том числе и в послеотъемном периоде. В наибольшей степени это проявляется у поросят, имеющих при отъеме и переводе на участок доращивания низкую живую массу. Поэтому клинико-биохимическая оценка физиологического состояния таких животных с учетом оценки интенсивности реакций ПОЛ и состояния антиоксидантной защиты (АОЗ) представляет теоретический и практический интерес как в отношении выяснения роли данных процессов в механизме развития патологических состояний, так и в выборе стратегии для проведения необходимых лечебно-профилактических мероприятий.

В оценке патологий печени ключевое место занимает определение в сыворотке (плазме) крови активности индикаторных ферментов – сорбитолдегидрогеназы (СДГ), изоцитратдегидрогеназы (ИЦДГ), глутаматдегидрогеназы (ГлДГ) [4, 6, 11]. Повышение активности данных ферментов не только свидетельствует о заболеваниях печени, но и дает возможность их дифференциальной диагностики. В то же время необходимо отметить, что для такой прикладной характеристики необходимо иметь референтные величины для определенного вида, породы и возраста животных. Приводимые в литературе сведения по активности данных ферментов у свиней в возрастном аспекте отрывочны. Поэтому определенный интерес представляет изучение их активности у поросят в начальный период выращивания.

В связи с вышеизложенным целью нашей работы было изучение показателей ПОЛ, АОС и активности ряда гепатоспецифических ферментов плазмы крови поросят.

**Материал и методы.** Работа проводилась в условиях свиноводческого комплекса (СК-54) на 15 клинически здоровых поросятах-отъемышах белорусской крупной белой породы 35-дневного возраста. Поросята имели недостаточную для передачи на участок доращивания живую массу (4-7 кг). До достижения оптимальной массы данных поросят помещали в санитарные станки (пигбалий). На следующие сутки после постановки животных в пигбалий из венозного синуса был проведен отбор крови. Для получения плазмы использовали 10 % раствор ЭДТА-Na<sub>2</sub>.

Биохимический анализ крови проводили в лаборатории кафедры химии УО ВГАВМ.

В плазме крови определяли показатели прооксидантной системы – содержание диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов (КД), триенкетонов (ТК), ТБК-активных продуктов (ТБК-АП), оснований Шиффа (ОШ) и антиоксидантной системы – активность церулоплазмينا (ЦП), содержание токоферола (ТФ) и аскорбиновой кислоты (АК).

Продукты липопероксидации в плазме крови экстрагировали гептан-изопропанольной смесью (2:1) [3]. Оптическую плотность гептанового экстракта регистрировали на спектрофотометре СФ-46 в кварцевых кюветках толщиной 1 см. Измеренная при 232 нм оптическая плотность ( $A_{232}$ ) соответствует содержанию первичных продуктов, имеющих сопряженную систему двойных связей (диеновые конъюгаты), а при 278 нм ( $A_{278}$ ) – уровню вторичных продуктов ПОЛ (кетодиены и сопряженные триенкетоны). Значения абсорбции при 400 нм ( $A_{400}$ ) дают информацию о содержании конечных продуктов ПОЛ, т.е. оснований Шиффа [7].

Содержание ТБК-АП, которые также характеризуют уровень вторичных продуктов ПОЛ, определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Оптическую плотность бутанольного экстракта измеряли при 535 (специфическое) и 580 нм (неспецифическое поглощение) [2].

Содержание ДК, КД+ТК, ТБК-АП и ОШ выражали в условных единицах оптической плотности в расчете на мл плазмы крови и на мг липидов. При определении общих липидов использовали наборы НТПК «Анализ-Х» (Республика Беларусь).

Показатели АОС определяли фотометрическим методом: активность ЦП (КФ 1.16.3.1) по реакции окисления парафенилендиамина, а содержание АК и ТФ – по реакции с  $\alpha, \alpha'$ -дипиридилем [6].

Для более полной характеристики соотношения прооксидантной и антиоксидантной систем плазмы крови поросят были рассчитаны соотношения ТБК-АП/ЦП и ТБК-АП/ТФ.

Об активности СДГ и ГлДГ судили по убыли в реакционной смеси НАДН( $H^+$ ), а об активности ИЦДГ – по приросту НАДФН( $H^+$ ), которые регистрировали на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 340 нм [14]. Определение активности ГлДГ осуществляли с использованием наборов НТПК «Анализ-Х».

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с использованием программы «Microsoft Excel».

**Результаты исследований.** В литературе показатели ПОЛ приводятся в разных единицах, что часто затрудняет интерпретацию полученных экспериментальных данных. Поэтому мы рассчитали значения данных показателей на мл плазмы, а также на мг липидов (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы плазмы крови поросят

Исследованные показатели	Min – Max	M±σ
Показатели ПОЛ		
ДК, $A_{232}$ /мл плазмы	1,94 – 4,20	2,66±0,742
ДК, $A_{232}$ /мг липидов	0,54 – 1,27	0,90±0,256
КД+ТК, $A_{278}$ /мл плазмы	0,86 – 2,38	1,49±0,520
КД+ТК, $A_{278}$ /мг липидов	0,33 – 0,72	0,50±0,158
ТБК-АП, мкмоль/л	2,63 – 4,81	3,70±0,884
ТБК-АП, мкмоль/мг липидов	0,81 – 1,54	1,16±0,270
ОШ, $A_{400}$ /мл плазмы	0,60 – 3,48	1,40±0,971
ОШ, $A_{400}$ /мг липидов	0,23 – 1,05	0,45±0,278
Показатели АОС		
АК, мкмоль/л	20,33 – 32,52	24,78±4,297
ТФ, мкмоль/л	1,94 – 10,64	5,11±3,315
ЦП, мкмоль/л-мин	378,63 – 491,25	437,47±47,058
ТБК-АП/ТФ	0,428 – 2,479	1,025±0,7291
ТБК-АП/ЦП	0,006 – 0,011	0,008±0,0022

Уровень диеновых конъюгатов, являющихся первичными продуктами липопероксидации, является чувствительным тестом на обнаружение в биологическом материале ацилгидроперекисей полиненасыщенных жирных кислот [7]. Анализ полученных нами данных по содержанию ДК у поросят показывает, что их диапазон значительно превышает приводимые в литературе значения по свиньям (0,10–0,20 усл. ед. оптич. пл./мг липидов) [8].

Интенсивность образования вторичных продуктов ПОЛ оценивают по суммарному содержанию кетодиенов и триенкетонов, а также по образованию более устойчивых ТБК-активных продуктов, главным из которых является малоновый диальдегид. Полученные нами данные также превышают указываемые в литературе нормативные критерии (0,03–0,10 усл. ед. оптич. пл./мг липидов для КД+ТК и 0,10–0,50 мкмоль/л для МДА).

Основания Шиффа являются конечными продуктами ПОЛ. Они обладают высокой реакционной способностью и токсичностью. Повышение их уровня в организме указывает на изменения в структуре клеточных мембран, связанные с образованием полимерных сшивок белковых молекул, а также с нарушением функционирования ферментов и других биомолекул [6].

Полученные нами значения по содержанию ОШ в плазме крови, как и другие показатели ПОЛ, также оказались более высокими по отношению к нормативам (0,10–0,30 усл. ед. оптич. пл./мл плазмы).

Однако, резюмируя проведенные исследования по изучению интенсивности ПОЛ у поросят 35-дневного возраста, следует отметить, что указанный в литературе уровень ДК, КД, МДА, ОШ дается без учета породы, возраста и направления продуктивности свиней. Учитывая то, что мы исследовали клинически здоровых поросят в начале отъема, когда проявление стресс-факторов наиболее высоко, полученные нами результаты можно использовать в качестве ориентировочных для оценки состояния ПОЛ у поросят-отъемышей в начальный период их выращивания.

Для поддержания в организме физиологического гомеостаза и нормального функционирования органов и тканей необходим соответствующий баланс между функционированием прооксидантной и антиоксидантной систем.

Церулоплазмин в настоящее время рассматривается в качестве одного из основных антиоксидантов плазмы крови [6]. Помимо транспорта меди, он нейтрализует подобно супероксиддисмутазе радикалы  $O_2^{\cdot-}$ , связывает ионы  $Fe^{2+}$  и  $Cu^+$ , выводя их из реакции Фентона, которая является одной из ключевых в инициации процессов ПОЛ [15]. Результаты наших исследований показали, что активность данного фермента у поросят-отъемышей выше указываемых в литературе данных по свиньям (80–150 мкмоль/л-мин) [8]. Возможно, такая высокая активность ЦП является ответной реакцией на усиление процессов ПОЛ при действии стресс-факторов на организм поросят.

Токоферол является одним из важнейших природных антиоксидантов, защищающих клетку от процессов свободнорадикального окисления. В поддержании запасов витамина Е в организме животных ключевое значение принадлежит аскорбиновой кислоте. Полученные нами данные в среднем сопоставимы с приводимыми в литературе (5–15 мкмоль/л для витамина Е и 11–90 мкмоль/л для витамина С) [8, 12]. В то же время следует отметить, что у 40 % исследованных поросят уровень токоферола оказался ниже нормы.

Сопряженность протекания процессов липопероксидации и антиоксидантной защиты можно оценить, рассчитав соотношение ряда компонентов этих систем. Коэффициент ТБК-АП/ТФ в наших исследованиях в среднем был близким к 1, а отношение содержания ТБК-АП к уровню ЦП в силу высокой активности церулоплазмينا оказалось очень низким. Это показывает, что антиоксидантная система организма поросят в месячном возрасте в целом адекватно реагирует на изменение интенсивности процессов перекисного окисления липидов. Косвенным доказательством нашей точки зрения являются также высокие корреляции между рядом показателей ПОЛ и АОС (таблица 2).

Таблица 2 – Корреляции между показателями перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы плазмы крови поросят

Показатели	Коэффициент корреляции ( $r \pm m_r$ )
ДК – ТФ	-0,542±0,101
ДК – АК	0,708±0,071
ДК – ЦП	0,764±0,060
(КД+ТК) – ТФ	-0,145±0,140
(КД+ТК) – АК	0,648±0,083
(КД+ТК) – ЦП	-0,011±0,143
МДА – ТФ	0,368±0,124
МДА – АК	0,403±0,120
МДА – ЦП	0,016±0,143
ОШ – ТФ	-0,214±0,136
ОШ – АК	0,877±0,033
ОШ – ЦП	0,321±0,128

Наиболее высокая корреляционная зависимость была установлена для показателей ДК–ЦП, ДК–АК, (КД+ТК) – АК и ОШ–АК. Таким образом, из АОС в наибольшей степени на изменение показателей ПОЛ у поросят-отъемышей реагирует аскорбиновая кислота.

Для оценки функционального состояния печени в клинической практике используют определение активности индикаторных ферментов – СДГ, ИЦДГ, ГлДГ.

Сорбитолдегидрогеназа и НАДФ-зависимая дегидрогеназа являются цитоплазматическими ферментами и их повышение в сыворотке (плазме) крови происходит уже в начальный период развития заболеваний печени, а глутаматдегидрогеназа находится в митохондриях гепатоцитов и ее выход в кровь происходит лишь при тяжелых патологиях органа [4, 5, 12]. В связи с этим важно знать, какова активность данных ферментов у здоровых животных. Наши исследования показали, что наиболее высокая активность отмечается у ИЦДГ, далее следуют ГлДГ и СДГ (таблица 3)

При сравнении полученных данных с имеющимися в литературе следует отметить, что они в целом соответствуют нормативным критериям для свиней [12].

Таблица 3 – Активность гепатоспецифических ферментов в плазме крови поросят

Исследованные показатели	Min – Max	M±σ
СДГ, нкат/л	17,68 – 32,96	23,66±5,270
ИЦДГ, нкат/л	93,78 – 291,75	156,94±72,032
ГлДГ, нкат/л	10,72 – 48,23	24,50±12,702
СДГ/ГлДГ	0,683 – 1,725	1,095±0,3650

В ветеринарной практике для дифференциальной диагностики различных патологий организма животных часто используют определение соотношения активности ферментов, в частности СДГ/ГлДГ [5]. Увеличение данного показателя отмечается при остром гепатите, а уменьшение – при хроническом, а также при обтурационной желтухе. Рассчитанный нами коэффициент СДГ/ГлДГ для здоровых поросят находился в относительно узком интервале и был в среднем чуть выше 1.

Учитывая то, что с одной стороны при патологии печени увеличивается интенсивность процессов перекисного окисления липидов, а с другой – повышается активность гепатоспецифических индикаторных ферментов, определенный интерес представлял расчет корреляционных зависимостей между этими показателями (таблица 4).

Таблица 4 – Корреляции между показателями перекисного окисления липидов и активностью гепатоспецифических ферментов

Показатели	Коэффициент корреляции ( $r \pm m_r$ )
ДК – СДГ	0,749±0,063
ДК – ИЦДГ	0,678±0,077
ДК – ГлДГ	0,660±0,081
(КД+ТК) – СДГ	0,475±0,111

Продолжение таблицы 4

(КД+ТК) – ИЦДГ	0,766±0,059
(КД+ТК) – ГЛДГ	0,662±0,080
ТБК-АП – СДГ	0,485±0,109
ТБК-АП – ИЦДГ	0,864±0,036
ТБК-АП – ГЛДГ	0,370±0,123
ОШ – СДГ	0,897±0,028
ОШ – ИЦДГ	0,866±0,036
ОШ – ГЛДГ	0,834±0,044

Анализ данных таблицы показывает, что между показателями ПОЛ и активностью гепатоспецифических ферментов плазмы крови 35-дневных поросят выявлены положительные корреляции. При этом наиболее высокая корреляционная зависимость установлена между содержанием диеновых конъюгатов и активностью сорбитолдегидрогеназы, уровнем кетодиенов, триенкетонов, ТБК-активных продуктов и активностью изоцитратдегидрогеназы, а также между концентрацией конечных продуктов ПОЛ (оснований Шиффа) и активностью всех исследованных гепатоспецифических ферментов. Это дает основание, предположить, что при возможных патологиях печени у поросят в начальный период их выращивания совместное определение показателей ПОЛ и активности СДГ, ИЦДГ и ГЛДГ может быть использовано для оценки степени поражения органа.

**Заключение.** Проведенные нами исследования по изучению состояния ПОЛ, АОС и активности гепатоспецифических ферментов плазмы крови у поросят позволяют сделать следующие выводы:

1. Организм поросят-отъемышей, имеющих низкую живую массу в условиях промышленной технологии выращивания, характеризуется высокой интенсивностью процессов перекисного окисления липидов. В то же время на эти изменения адекватно реагирует антиоксидантная система.

2. Установлена высокая зависимость между содержанием оснований Шиффа, являющихся конечными продуктами процессов липопероксидации, и активностью индикаторных гепатоспецифических ферментов плазмы крови поросят-отъемышей.

3. Полученные результаты исследований могут быть использованы в оценке состояния прооксидантно-антиоксидантного статуса, а в комплексе с данными по активности сорбитолдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы и глутаматдегидрогеназы – для оценки функционального состояния печени у поросят-отъемышей с низкой живой массой в начальный период их выращивания.

**Литература.** 1. Багаутдинов, А.М. Экспериментальный и спонтанный гепатоз у свиней: автореф. дис...канд. вет. наук: 16.00.02 / А.М. Багаутдинов; Башкирский аграр. ун-т. – Уфа, 1999. – 22 с. 2. Гаврилов, В.Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Л.М. Мажуль // Вопросы мед. химии. – 1987. – № 1. – С. 118–122. 3. Гаврилов, В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Н.Ф. Хмара // Лаборатор. дело. – 1988. – № 2. – С. 60–64. 4. Комаров, Ф.И. Биохимические исследования в клинике / Ф.И. Комаров, Б.Ф. Коровкин, В.В. Меньшиков – Элиста: АПП «Джангар», 2001.–216 с. 5. Линг, К.П. Ферментный спектр сыворотки крови и печени коров в норме и при экспериментальном гепатите: автореф. дис. ... канд. биол. наук: – 03.00.04. / К.П. Линг; Тартуский гос. ун-т. – Тарту, 1988. – 18 с. 6. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник / И.П. Кондрахин [и др.], под ред. проф. И.П. Кондрахина. – М.: КолосС, 2004. – 520 с. 7. Перекисное окисление липидов при неврологической патологии у детей / Е.М. Васильева [и др.] // Клинич. лаборатор. диагностика. – 2005. – № 2. – С. 8–12. 8. Перекисное окисление липидов и эндогенная интоксикация (значение в патогенезе болезней животных, пути коррекции) / С.С. Абрамов [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – 208 с. 9. Программа социально-экономического развития Республики Беларусь на 2006-2010 годы: Официальное издание. – Минск: РУП «Издательство «Беларусь», 2006. – 176 с. 10. Сенько, А.В. Токсическая гепатодистрофия у поросят (патогенез, диагностика и лечение): автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.01 / А.В. Сенько; Витебская гос. акад. ветеринар. медицины. – Витебск, 2001. – 21 с. 11. Титов, В.Н. Патфизиологические основы лабораторной диагностики заболеваний печени / В.Н. Титов // Клинич. лаборатор. диагностика. – 1996. – № 1. – С. 3–9. 12. Холод, В.М. Справочник по ветеринарной биохимии / В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев. – Минск: Ураджай, 1988. – 168 с. 13. Чумаченко, В. В. Энергетический обмен у свиней при технологическом и транспортном стрессе и профилактике его натрием янтарнокислым: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.04 / В.В. Чумаченко; РАСХН. – Воронеж, 1997. – 18 с. 14. Gerlach, U., Sorbitol dehydrogenase / U. Gerlach // Methods of enzymatic analysis. – Third Edition. – Verlag Chemie. Weinheim–Deerfield Beach, Florida–Basel, 1983. – V. III. – P. 112–117. 15. Gutteridge, J.M. Inhibition of the Fenton reaction by the protein caeruloplasmin and other copper complexes. Assessment of ferroxidase and radical scavenging activities / J.M. Gutteridge // Chem. Biol. Interact. – 1985. – V. 56. – P. 113–120.

Статья поступила 17.02.2010 г.

УДК 619:616.2-08:636.2.053

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПУТЕЙ ТЕРАПИИ ПРИ РЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИИ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Пивовар Л.М.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,  
г. Витебск, Республики Беларусь»

Статья посвящена сравнительной эффективности путей введения лекарств в организм больных животных при респираторных заболеваниях. Установлено, что энтеральное (внутреннее) применение тромексина в комплексной терапии больных респираторной патологией телят обладает низкой терапевтической эффективностью и может заканчиваться летально. Парентеральное (внутримышечное)