

УДК 636.612.015.

ПОЛИМОРФИЗМ ТРАНСФЕРРИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ И ЕГО СВЯЗЬ С ОБМЕНОМ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ БЕЛКОВ

Румянцева Н.В., Холод В.М.

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

Установлены типы трансферринов у цыплят-бройлеров 46-дневного возраста и их связь с показателями, характеризующими транспортный фонд железа. Основные показатели ОЖ, ОЖСС и НЖСС имеют определенные различия. ОЖСС значительно различаются у цыплят-бройлеров между типами Tf АВ и Tf СД, АС и ВС. ОЖСС определяется, главным образом, концентрацией трансферрина в сыворотке крови, значения ОЖСС у цыплят-бройлеров с разными типами можно расценивать как разную концентрацию трансферрина в сыворотке крови у этих цыплят.

Types of transferrin in broilers chickens of 46 days-age and their connection with the indices, characterized transport iron fund, have been determined. The main indices of GI, C1CSA and U1CSA have definite differences. C1CSA differs considerably in broilers between Tf AB and Tf CD types AC and BC types. As C1CSA is determined mainly by concentration of transferrin in blood serum, findings of C1CSA in broilers with different types can be regarded as different concentration of transferrin in blood serum of these broilers.

Введение. Полиморфизм белков – широко встречаемое явление, обусловленное биологической неравноценностью аллотипов, ответственных за их синтез. У сельскохозяйственных животных он широко изучается в связи с тем, что полиморфные системы белков могут различаться по степени реализации своих биологических функций и по возможности их использования в селекции в качестве маркеров при определении хозяйственно-полезных признаков или в клинической практике в качестве указателей на предрасположенность к определенной патологии и уровень резистентности организма. Полиморфизм белков используется для более эффективного подбора родительских пар при скрещивании и нахождения более ценных генотипов. Поэтому полиморфизм белков крови стал объектом исследований не только в генетике, но и в клинической и сельскохозяйственной биохимии. Из сельскохозяйственных животных полиморфизм наиболее широко изучался у млекопитающих (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, лошади), в то время как у птицы он исследован значительно хуже [3, 5, 12].

Наиболее эффективным методом изучения полиморфных систем белков сыворотки крови является электрофорез на поддерживающей среде (агаре, агарозе, крахмальном и полиакриламидном геле). С его помощью показан полиморфизм основных групп белков сыворотки крови – альбуминов, трансферринов, гаптоглобинов, иммуноглобулинов и др.

Число фенотипов, обнаруживаемых на электрофореграмме, обусловлено техникой электрофоретического исследования и масштабами исследования. Так, например, в сыворотке крови крупного рогатого скота первоначально было описано шесть фенотипов трансферрина, но в дальнейшем, с увеличением ареала исследования и совершенствования техники электрофоретических методов, их число было увеличено до 12 [8].

Трансферрин – транспортный белок, переносящий железо от места его абсорбции к органам, где оно депонируется или используется для синтеза железосодержащих белков. Железо организма животных представлено геминными (содержащими гем) и негеминными белками. К первым относятся гемоглобин, миоглобин, каталаза, цитохромы, ко вторым – трансферрин, ферритин и некоторые другие.

Молекула трансферрина может связывать 2 атома железа, но при недостатке его степень насыщения трансферрина может уменьшаться. Обычно трансферрин сыворотки крови насыщен железом на $\frac{2}{3}$. Неполное насыщение трансферрина железом имеет свое физиологическое значение, так как установлено, что трансферрин, не полностью насыщенный железом, обладает бактериостатической активностью.

Молекулы трансферринов разных аллельных генов могут отличаться как первичной структурой, так и конформацией, что приводит к тому, что при примерно одинаковой молекулярной массе они при стандартных условиях будут иметь различный заряд и электрофоретическую подвижность.

Материал и методика исследования. Целью данной работы являлось изучение полиморфизма трансферрина у цыплят-бройлеров и связь различных его изоформ с содержанием железосодержащих белков.

Для исследования использовали сыворотку крови 50 цыплят-бройлеров кросса «Смена-2» 46-дневного возраста. В сыворотке крови определяли общее железо (ОЖ), общую железосвязывающую способность сыворотки крови (ОЖСС), ненасыщенную железосвязывающую способность (НЖСС), активность каталазы и содержание гемоглобина. Типы трансферрина определяли методом зонального электрофореза.

Электрофорез проводили в геле агарозы, используя прибор и стандартные наборы реактивов «Hydrigel HRK-20» французской фирмы «Sebia». Источником питания служил блок зарядки «Nugus – 2» той же фирмы. Электрофорез проводили при напряжении 80 В в течение 40 минут. Количественную обработку электрофореграммы проводили на денситометре «Sebia». При идентификации фенотипов трансферринов учитывали число фракций, их интенсивность и электрофоретическую подвижность. Подвижность отдельных трансферриновых фракций рассчитывали по отношению к альбумину. Относительная подвижность является более объективным критерием, чем абсолютная, так как при ее определении нивелируются все отклонения от стандартных условий, которые могут возникнуть в процессе электрофоретического разделения.

Содержание гемоглобина определяли гемоглобинцианидным методом с использованием стандартных наборов фирмы НТПК «Анализ Х».

Активность каталазы – по методу «Hugo E. Aebi».

ОЖ сыворотки крови, определяли батофенантролиновым методом с использованием стандартных наборов НТПК «Анализ Х». Общую железосвязывающую способность сыворотки крови (ОЖСС) определяли путем

насыщения сыворотки крови железом при добавлении раствора соли Мора, ненасыщенную железосвязывающую способность (НЖСС) определяли по разности между ОЖ и ОЖСС.

Результаты исследований и обсуждения. По результатам электрофоретического исследования у изучаемого поголовья цыплят-бройлеров установлено 4 фенотипа трансферрина обозначенных как АС, АВ, ВС и СД (рисунок 1), каждый из которых представлен двумя фракциями различающимися по электрофоретической подвижности и интенсивности. Относительная электрофоретическая подвижность составляет для фракции А - $0,59 \pm 0,03$; В - $0,48 \pm 0,005$; С - $0,43 \pm 0,008$; Д - $0,34 \pm 0,007$. Денситограмма типа Tf ВС представлена на рисунке 2.

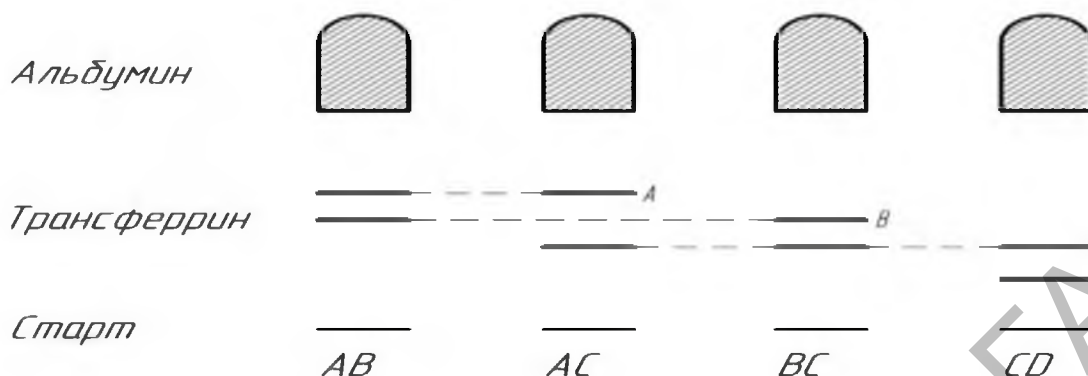


Рисунок 1 – Трансферрины сыворотки крови цыплят-бройлеров кросса «Смена-2»

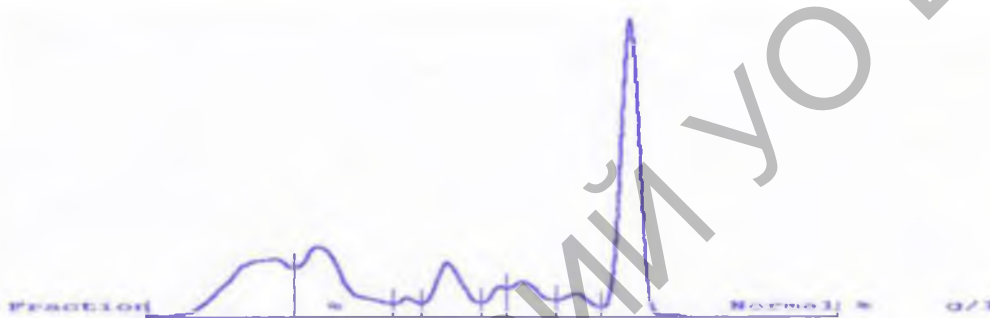


Рисунок 2 – Денситограмма трансферрина типа ВС

Распространение установленных фенотипов трансферринов среди цыплят кросса «Смена-2» неодинаковое. Наиболее встречаемым типом является АС-32% от общего числа исследованных животных, АВ – 26%, ВС – 24%, СД – 18%. Трансферрины фенотипов АД и ВД не были обнаружены у исследуемого контингента, очевидно в результате редкой встречаемости. Количество описанных фенотипов следует рассматривать как минимальное, так как с увеличением контингента птицы, подвергаемого изучению, их число может увеличиться.

К железосодержащим белкам с геминной формой железа относятся гемоглобин и каталаза. Транспортный фонд характеризуется такими показателями, как ОЖ, ОЖСС, НЖСС. Данные по содержанию этих показателей приведены в таблице.

Таблица – Показатели, характеризующие геминные белки и транспортный фонд железа сыворотки крови у цыплят-бройлеров с различными типами трансферрина ($M \pm \sigma$)

Показатели	Типы Tf			
	Tf АВ	Tf АС	Tf ВС	Tf СД
ОЖ, мкмоль/л	$17,10 \pm 0,56^*$	$15,74 \pm 0,41$	$17,16 \pm 1,03$	$17,28 \pm 1,06$
ОЖСС, мкмоль/л	$42,58 \pm 4,13^*$	$45,90 \pm 3,70$	$44,83 \pm 4,90^{**}$	$46,14 \pm 4,29^{**}$
НЖСС, мкмоль/л	$25,57 \pm 4,24^*$	$30,21 \pm 3,83$	$30,26 \pm 4,72^{**}$	$28,86 \pm 4,88^*$
Hb, г/л	$122,38 \pm 1,62$	$125,65 \pm 3,03$	$128,4 \pm 3,15$	$124,3 \pm 2,74$
Каталаза, ммоль/с H ₂ O ₂	$52,81 \pm 1,21$	$53,21 \pm 1,13$	$54,04 \pm 1,38$	$53,42 \pm 1,97$

Примечания: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$ по отношению к Tf АС

Анализируя данные, приведенные в таблице, по содержанию основных показателей, характеризующих обмен железа можно отметить, что содержание гемоглобина у цыплят с различными фенотипами трансферрина отличается незначительно. Так, если содержание гемоглобина в крови цыплят с типом Tf АВ принять за 100%, то у типа Tf ВС содержание гемоглобина составило -105%, Tf СД – 101,5% и Tf АС – 102,6%.

Активность каталазы сыворотки крови у цыплят с различными типами трансферрина также имела незначительные отклонения и колебалась в пределах 52,81 – 53,42 ммоль/с H₂O₂.

Трансферрины, относящиеся к негеминной форме белковосвязанного железа и связанные с ним показатели транспортного фонда железа обнаруживают более существенные различия. Наиболее высокое содержание общего железа сыворотки крови наблюдается у цыплят-бройлеров с типом Tf СД -17,28 мкмоль/л, а наиболее низкое содержание общего железа сыворотки крови - у цыплят с типом Tf АС (ниже на 9,8%). Содержание общего железа в сыворотке крови цыплят-бройлеров с типом Tf АВ и ВС существенно не отличается от типа СД и составляют 98,9% и 99,3% соответственно.

При исследовании ОЖСС у птицы с различными фенотипами трансферрина также наблюдались отличия. Наиболее высокая железосвязывающая способность наблюдалась также у бройлеров с фенотипом СД – 46,14 мкмоль/л. У птицы с фенотипом АВ она составляет 92,3% по отношению к типу Tf СД, у типов Tf АС и ВС – соответственно 99,5% и 97%.

Ненасыщенная железосвязывающая способность сыворотки крови (НЖСС), определяющая буферную емкость и характеризующая резервные возможности связывания ионов железа, наиболее высокая у цыплят с фенотипом Tf ВС, практически такая же – с типом Tf АС, в то время как у бройлеров с фенотипами Tf АВ и СД она ниже соответственно на 15% и 5%.

Характеризуя в целом показатели транспортного фонда железа у цыплят-бройлеров с различными изоформами трансферринов, нужно выделить тип Tf СД, который имеет наиболее высокие показатели содержания общего железа и общей железосвязывающей способности, а также характеризуется достаточно высокой буферной емкостью.

Заключение. У бройлеров кросса «Смена-2» установлено 4 фенотипа трансферрина, проявляющихся на электрофореграмме двумя фракциями с различной подвижностью и интенсивностью. Количество обнаруженных фенотипов следует рассматривать как минимальное, так как обнаружить редко встречающиеся формы можно только при очень большом числе исследований (например, встречаемость некоторых фенотипов может быть 1:1000 и ниже). Совершенствование техники электрофореза или использование других носителей (например, полиакриламидного геля) также может увеличить число фенотипов вследствие высокой разрешающей способности и деления однородной трансферриновой фракции на несколько подфракций.

Влияние на содержание геминных белков тип трансферрина фактически не оказывает, в то время как показатели транспортного фонда железа такую зависимость обнаруживают. Так как ОЖСС обусловлена наличием в сыворотке крови трансферрина, то различие в этом показателе характеризует как содержание трансферрина, так и его транспортные возможности в отношении железа. Наиболее высокое содержание ОЖ и ОЖСС наблюдается у «медленного» фенотипа СД (образованного фракциями с наименьшей подвижностью). «Быстрый» тип Tf АВ (образованный наиболее подвижными фракциями) имел достаточно высокое содержание общего железа, но обладает наименьшей железосвязывающей способностью, что указывает на худшие возможности транспортировки ионов железа. Учитывая значение трансферрина в формировании антибактериального иммунитета, можно предположить, что бройлеры с фенотипом СД должны быть более устойчивы к инфекции.

Литература: 1. Бахрамов, С.М. Трансферрин: роль в обмене железа и некоторые клинические аспекты / С.М. Бахрамов, Х.М. Казакбаева, А.А. Бугланов // *Гематология и трансфузиология*. - 1987. № - 3. - С.39 - 42. 2. Верболович, П.А. Железо в животном организме / П.А. Верболович, А.Б. Утешев. - Алма-Ата: наука, 1967. - 268с. 3. Жаворонков, А.А. Иммуные функции трансферрина / А.А. Жаворонков, Кудрин А.В. // *Гематология и трансфузиология*. - 1999. - №2. - С.40. 4. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.С. Камышников. - Минск: Беларусь, 2000. - Т. 1. - 495 с.; Т. 2. - 463 с. 5. Машуров, А.П. Генетические маркеры в селекции животных / А.П. Машуров. - М.: Наука, 1980, 315с. 6. Селянский, В.М. Анатомия и физиология с.-х. птицы / В.М. Селянский. - М.: Агропромиздат, 1986. - 271 с. 7. Петров, В.Н. Физиология и патология обмена железа / В.Н. Петров. - Л.: Наука, 1982. - 224 с. 8. Холод, В.М. Белки сыворотки крови в клинической и экспериментальной ветеринарии / В.М. Холод. - Минск: Ураджай, 1983. - 78 с. 9. Холод, В.М.. Справочник по ветеринарной биохимии / В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев. - Мн.: Ураджай, 1988. - 168 с. 10. Шмидт, Р.М. Использование трансферринов в качестве генотипических тестов продуктивности молочного скота / Р.М. Шмидт // *Биохимия с/х жив. и прод. прогр. (тезисы докладов)*. - Ташкент, 1986. - 215 с. 11. Уенден, А.Ф. Взаимосвязь типов трансферрина с продуктивностью у крупного рогатого скота / А.Ф. Уенден // *Совершенствование методов повышения продуктивности КРС: сб. науч. тр.* - Л. 1984. - С. 64 - 66. 12. Kmeic, M. Association between transferrin polymorphism and some biochemical characters of blood in lambs of polish long-wool sheep / M. Kmeic // *Genet. Polon.* - 1991. - Vol. 33, № 2. - P. 147 - 152.

Статья поступила 26.02.2010 г.

УДК 636.4. 063:631.223.6

РОСТ, СОХРАННОСТЬ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПОРОСЯТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ДЛЯ ЛОКАЛИЗАЦИИ ТЕПЛА БРУДЕРОВ РАЗЛИЧНЫХ КОНСТРУКЦИЙ

Соляник А.А.

УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Горки, Республика Беларусь

Изучены показатели роста, сохранности физиологического состояния поросят при использовании различных средств и способов обогрева и локализации тепла. Результаты исследований показали, что наиболее эффективно в дополнение к локальному обогреву в первые три недели подсосного периода с помощью ламп накаливания или обогреваемого пола использование в подсосный и послепососный периоды брудеров в виде крышек с козырьками.

Indicators of growth, safety of a physiological condition of pigs are studied at use of various agents and ways of heating and heat localisation. Results of researches have shown that use in подсосный and послепососный период брудеров in the form of covers with visors is the most effective in addition to local heating in first three weeks подсосного the period by means of filament lamps or a warmed floor.

Введение. Поддержание на должном уровне зооигиенических условий содержания животных приобретает особое значение на комплексах, где сосредоточено большое поголовье, и при производстве свинины предъявляются повышенные требования к биологическим особенностям и уровню продуктивности свиней. Из большого числа показателей микроклимата едва ли не самую большую сложность представляет