

УДК 636.2:612.015.3

ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У СУХОСТОЙНЫХ КОРОВ

Сологуб Е.А.

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

*Определены и проанализированы показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у сухостойных коров. Установлено, что у сухостойных коров за 39-40 дней до отела наблюдается более высокий функциональный уровень ферментативного и неферментативного звеньев системы антиоксидантной защиты и более низкая концентрация продуктов свободнорадикального окисления по отношению к коровам, которым до отела остается 20-21 день. **Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, крупный рогатый скот, сухостойный период, биохимические показатели.*

INDICATORS OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN DRY COWS

Sologub E.A.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The indicators of lipid peroxidation and antioxidant protection in dry cows were determined and analyzed. It has been established that in dry cows 39–40 days before calving a higher functional level of the enzymatic and non-enzymatic parts of the antioxidant defense system and a lower concentration of free radical oxidation products are observed regarding to cows, which remain 20–21 days to calve. **Keywords:** lipid peroxidation, antioxidant protection, cattle, dry period, biochemical parameters.*

Введение. В настоящее время животноводство перешло в основном на промышленную основу, что обусловило определенные изменения в традиционных условиях кормления и содержания. Эти изменения имеют двоякую сторону, с одной - это современные условия ведения животноводства, а с другой – это новые технологии в кормлении и адинамия, обуславливающие нарушения обмена веществ, появления новых звеньев в патогенезе болезней, изменения типичного (классического) проявления патологий, снижение эффективности традиционных способов лечения животных [7].

В последние годы установлено, что одним из таких звеньев в патогенезе многих заболеваний различного происхождения является перекисное окисление липидов (ПОЛ) [7, 16].

Продукты ПОЛ в небольших концентрациях участвуют в регуляции проницаемости клеточных мембран и стабильности липопротеиновых комплексов. Они также играют важную роль в обновлении фосфолипидного состава мембран, индукции биоэнергетических процессов, активации ряда ферментов, синтезе прогестерона, простагландинов и других биологически активных веществ [15, 20]. Работы последних лет свидетельствуют о том, что ПОЛ лежит в основе реакций фагоцитоза [11]. В то же время избыточное накопление в организме продуктов ПОЛ, практически всегда сопровождающее развитие стрессового состояния, приводит к нарушению структурно-функциональной организации биомембран и является одним из ведущих универсальных механизмов повреждения клетки [13, 17, 18].

Строгая регламентация процессов ПОЛ обеспечивается согласованным функционированием неферментативных и ферментативных механизмов системы антиоксидантной защиты (АОЗ), контролирующей уровень в организме активных форм кислорода, свободных радикалов и молекулярных продуктов перекисного окисления липидов [1, 19]. ПОЛ и АОЗ представляют собой единую систему, находящуюся в состоянии динамического равновесия, способную к саморегуляции [5, 6].

Факторами риска антиоксидантной недостаточности, приводящей к развитию свободно-радикальной патологии, являются наиболее напряженные периоды физиологического цикла у животных [10]. Одним из таких периодов является стельность у коров, которая оказывает влияние на метаболический статус всего организма животного [9].

Свободнорадикальная патология – дисбаланс между содержанием продуктов ПОЛ и функциональной активностью АОЗ – у клинически здоровых сухостойных коров приводит к рождению телят с низкими адаптационными возможностями [5].

Учитывая тот факт, что сигналом для запуска стресс-реакции служит смещение прооксидантно-антиоксидантного равновесия в направлении активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах и жидкостях организма, а истощение антиокислительных резервов служит причиной вторичной активации ПОЛ и развития различного рода патологических процессов, важное значение приобретает исследование показателей ПОЛ и антиоксидантной защиты у сухостойных коров [3, 14].

Материалы и методы исследований. Работа проводилась в лаборатории кафедры химии и в Научно-исследовательском институте прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии, аккредитованном в соответствии с требованиями СТБ ИСО/МЭК 17025 (аттестат аккредитации ВУ / 112 02. 1. 0. 0870). Объектом исследования была кровь клинически здоровых сухостойных коров черно-пестрой породы. Животные содержались в условиях фермы «Морозово» Оршанского района Витебской области и получали рацион, соответствующий их физиологическому состоянию.

Взятие крови проводили из яремной вены в утренние часы (до кормления) по общепринятой методике в две пробирки (пробирка №1 со стабилизатором (трилон Б) – для получения цельной крови и плазмы, пробирка №2 – для получения сыворотки), соблюдая правила асептики и антисептики. Сыворотку крови получали после ее свертывания при температуре +38 °С с последующим охлаждением до +4 °С и центрифугированием в течение 15 минут при 3000 оборотах в минуту. Плазму крови получали путем центрифугирования стабилизированной крови в аналогичных условиях.

В сыворотке крови были установлены следующие биохимические показатели: триглицериды (ТГ), общий холестерол (ОХ), липопротеины высокой плотности (ЛПВП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), аланинаминотрансфераза (АлАт), аспаратаминотрансфераза (АсАт), гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), щелочная фосфатаза (ALP), продукты ПОЛ (диенкетоны, диенальдегиды, малоновый диальдегид); АОЗ (ферментативное звено: активность каталазы, глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), супероксиддисмутазы (СОД) и неферментативное звено: концентрация восстановленного глутатиона (GSH), витамины А и Е), в плазме крови определяли неферментативный показатель антиоксидантной защиты - антиокислительную активность плазмы крови (АОА).

ТГ, ОХ, АлАт, АсАт, ГГТ, ALP в сыворотке крови определяли при помощи автоматического биохимического анализатора BS-200 с использованием стандартных наборов реактивов, производимые фирмой «Cormau» (Польша), витамины А, Е определяли при помощи анализатора Флюорат 02-2М Льюмэкс.

Фракции липопротеинов (ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП) определяли методом электрофоретического разделения сыворотки крови в геле агарозы [8, 12].

Определение первичных продуктов ПОЛ в сыворотке крови проводили спектрофотометрически после их экстрагирования гептан-изопропанольной смесью (1:1). После расслоения жидкостей аккуратно отбирали верхнюю фазу – гептановую и измеряли оптическую плотность при следующих длинах волн: 233 и 278 нм. Оптические плотности при 233 и 278 нм соответствуют концентрациям диенальдегидов (ДА) и диенкетонов (ДК) [4].

Концентрацию МДА в сыворотке устанавливали по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [2].

Активность каталазы, ГП, ГР, СОД, антиокислительную активность плазмы крови (АОА), концентрацию восстановленного глутатиона (GSH) определяли спектрофотометрически [8, 12].

Полученный цифровой материал обработан статистически с использованием программы Microsoft Excel.

Показатели ПОЛ, липидного обмена и состояние системы АОЗ в сыворотке крови определяли у 20 животных, разделенных на 2 группы: 1 группа (n=10) – сухостойные коровы раннего периода стельности – 39-40 дней до отела, 2 группа (n=10) – сухостойные коровы предельно-го периода – 20-21 день до отела.

Результаты исследований. Данные биохимических исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели ПОЛ, липидного обмена и антиоксидантной защиты у сухостойных коров (M±m)

Показатели, ед. изм.	1 группа (n=10)	2 группа (n=10)
МДА, мкмоль/л	2,06±0,194	5,30±0,117
ДА, ед. опт. плотности	0,60±0,001	0,96±0,001
ДК, ед. опт. плотности	0,39±0,011	0,44±0,001***
Общие липиды, г/л	4,91±0,031	4,02±0,018
ТГ, ммоль/л	0,18±0,017	0,15±0,010
ОХ, ммоль/л	3,34±0,142	3,01±0,176
ЛПВП, ммоль/л	2,52±0,206	2,45±0,303
ЛПНП, ммоль/л	1,19±0,084	5,27±0,223
ЛПОНП, ммоль/л	1,33±0,203	2,82±0,306***

Продолжение таблицы 1

Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ / г Hb	27,1±0,279	25,00±0,517**
ГП, ммоль GSH / г Hb	9,55±0,296	5,34±0,148
ГР, мкмоль НАДФН / г Hb	4,05±0,097	1,68±0,008
СОД, усл.ед. / г Hb	6,98±0,353	2,72±0,244
GSH, ммоль/л	0,61±0,057	0,23±0,020
АОА, л * мл ⁻¹ * мин ⁻¹	0,02±0,002	0,02±0,002
Витамин А, мкг/мл	0,07±0,004	0,06±0,003
Витамин Е, мкг/мл	2,16±0,180	1,76±0,073
АлАт, U/L	23,32±1,189	21,72±1,200
АсАт, U/L	78,66±2,707	89,37±1,774**
ГГТ, U/L	23,77±0,703	25,16±1,595
ALP, U/L	65,50±3,675	48,52±1,232

Примечания: ** - p<0,01; *** - p<0,001 (по отношению к 1 группе).

Как видно из таблицы 1, состояние стельности сопровождается усилением процессов липопероксидации. Об этом свидетельствуют показатели ПОЛ. Так, содержание в сыворотке крови первичных (ДА, ДК) и вторичных (МДА) продуктов ПОЛ у животных 2 группы выше на 37,5%, 11,36% (p<0,001), 61,13% соответственно по отношению к животным 1 группы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что стельность у коров сопровождается окислительным стрессом, который выражен наиболее значительно у животных 2 группы. Эти изменения можно объяснить усиливающимся напряжением метаболических процессов в организме животных на завершающем этапе беременности.

Анализируя данные по системе АОЗ, можно отметить, что накопление токсических перекисных продуктов в крови у коров 2 группы вызвало подавление активности ферментативных и неферментативных механизмов АОЗ. Так, у животных 2 группы активность каталазы, ГП, ГР, СОД, GSH, витаминов А, Е по отношению к животным 1 группы уменьшилась на 7,75% (p<0,01), 44,08%, 58,52%, 61,03%, 62,30%, 14,29%, 18,52% соответственно. Таким образом, активность ферментативных и неферментативных механизмов АОЗ связана с интенсивностью перекисного окисления липидов: при накоплении первичных и вторичных продуктов ПОЛ снижается активность системы АОЗ.

Изменения в содержании продуктов ПОЛ и системы АОЗ у сухостойных коров приведены на рисунках 1, 2, 3.

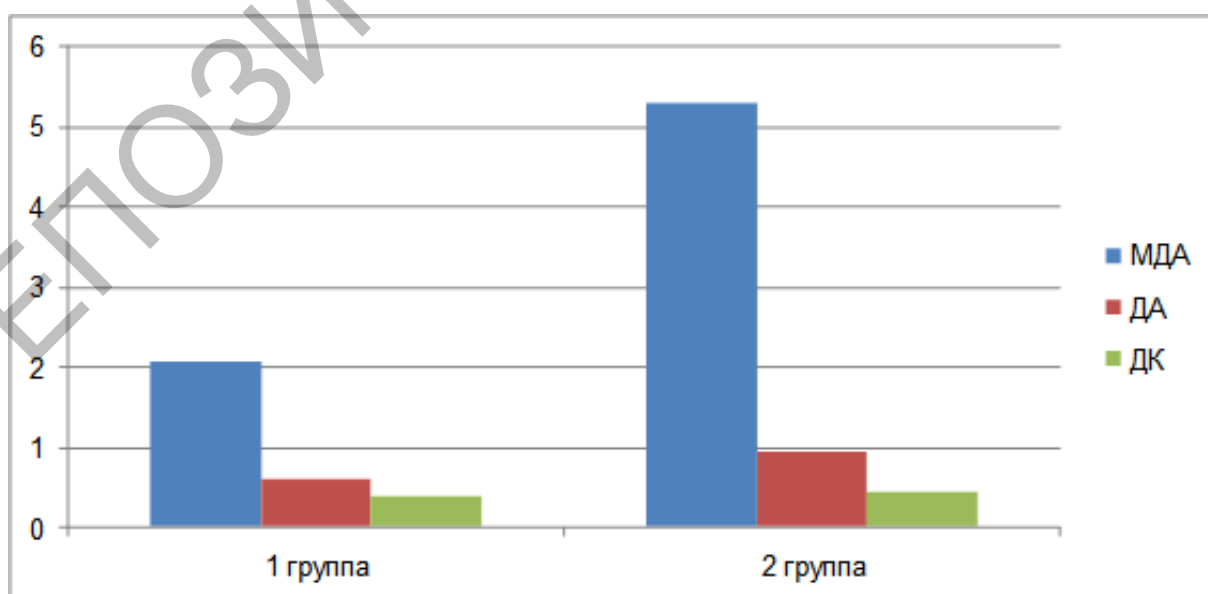


Рисунок 1 - Содержание продуктов ПОЛ у сухостойных коров

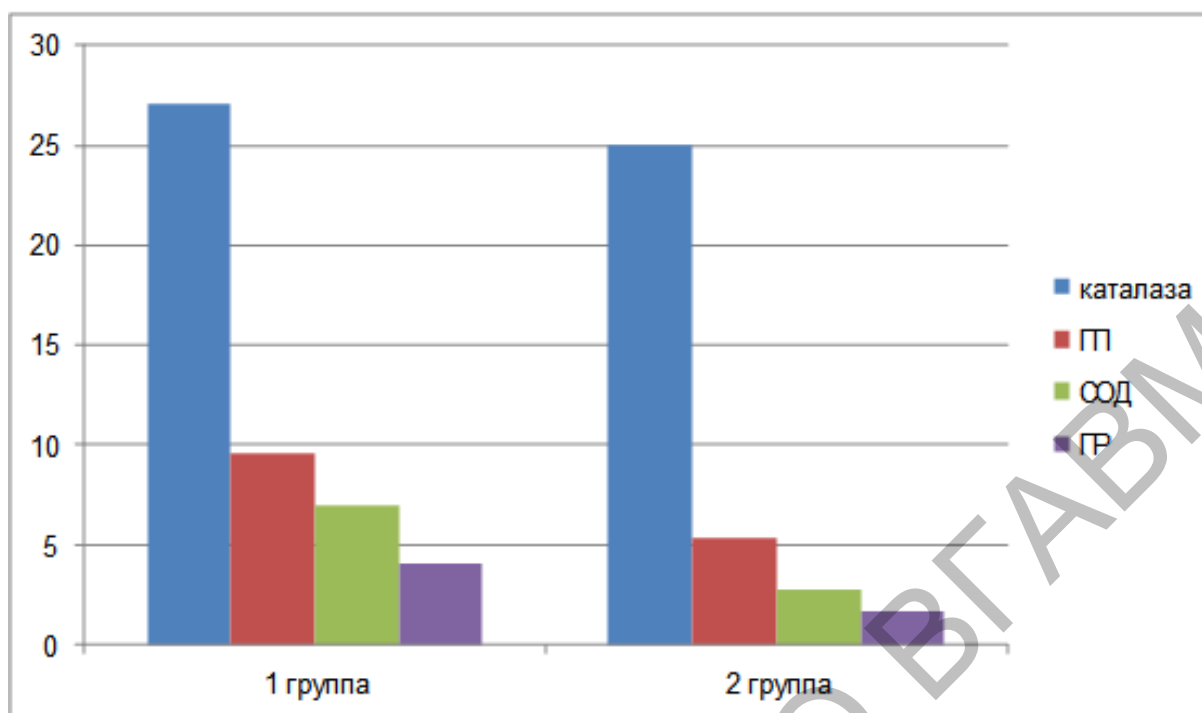


Рисунок 2 - Активность антиоксидантных ферментов у сухостойных коров

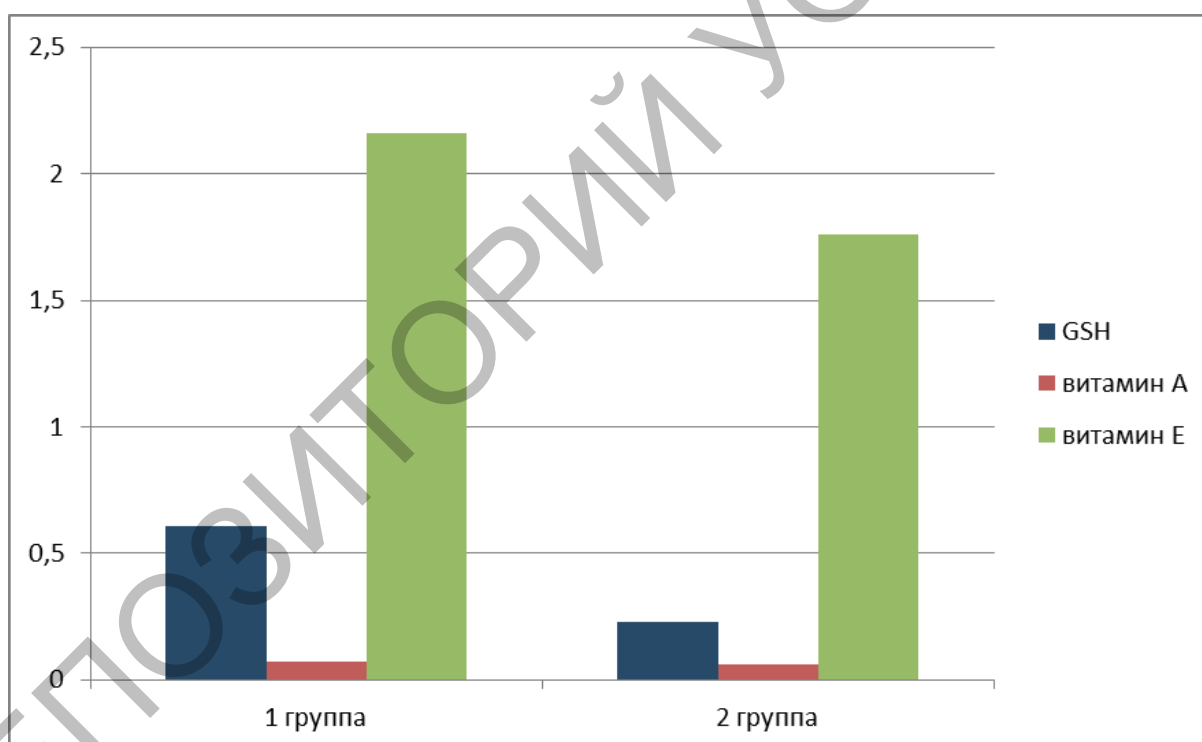


Рисунок 3 - Диаграмма неферментативного звена антиоксидантной системы у сухостойных коров

Что касается липидного обмена, то со стороны липопротеинов (ЛПНП, ЛПОНП) наблюдается такая же тенденция, как и при ПОЛ: увеличение содержания ЛПНП, ЛПОНП у коров 2 группы на 77,42% и 52,84% ($p < 0,001$) соответственно по отношению к животным 1 группы. Содержание ЛПВП в сыворотке крови существенных различий по группам не имело и составило $2,52 \pm 0,206$ и $2,45 \pm 0,303$ ммоль/л.

Содержание общих липидов в организме животных за 39-40 дней до отела составило $4,91 \pm 0,031$ г/л, а за 20-21 день до отела оно снизилось на 18,13%. Аналогичная ситуация отмечена и в динамике содержания триглицеридов и общего холестерина. Так, концентрация триглицеридов и холестерина у сухостойных коров 2 группы снизилась на 16,67% и 9,88% соответственно по отношению к животным 1 группы. Такое снижение содержания компонентов липид-

ного спектра сыворотки крови свидетельствует об усиленном их накоплении в организме для последующего использования в период отела в качестве энергетического материала.

Содержание ферментов (АлАт, АсАт, ГГТП, ALP) у животных исследуемых групп находилось в физиологических пределах. Однако наблюдалось увеличение содержания АсАт, ГГТП у животных 2 группы по отношению к животным 1 группы на 11,98% ($p < 0,01$), 5,52% соответственно и снижение концентрации АлАт и ALP у коров 2 группы на 6,86% и 25,92% соответственно по сравнению с животными 1 группы.

Заключение. У сухостойных коров за 39-40 дней до отела установлен более высокий функциональный уровень активности ферментативных и неферментативных механизмов АОЗ и более низкая концентрация продуктов свободнорадикального окисления по отношению к животным, которым до отела оставалось 20-21 день.

Литература. 1. Антиоксидантный статус беременных и бесплодных высокопродуктивных коров / Г. Близнецова [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. – 2008. – № 7. – С. 39–40. 2. Гаврилов, В. Б. Анализ продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Л. М. Мажуль // Вопросы медицинской химии. – 1987. – № 1. – С. 119–122. 3. Германович, Н. Ю. Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах глубокоостельных коров / Н. Ю. Германович // Наука – производству : материалы научно-практической конференции, г. Гродно, март 2000 г. / Гродненский сельскохозяйственный институт. – Гродно, 2000. – С. 165–166. 4. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2-х т. / В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2000. – Т. 2. – 463 с. 5. Кармолиев, Р. Х. Биохимические процессы при свободнорадикальном окислении и антиоксидантной защите. Профилактика окислительного стресса у животных (обзор) / Р. Х. Кармолиев // Сельскохозяйственная биология. – 2002. – № 2. – С. 19–28. 6. Меньщикова, Е. Б. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, вып. 4. – С. 442–454. 7. Перекисное окисление липидов и эндогенная интоксикация у животных (значение в патогенезе внутренних незаразных болезней животных, пути коррекции) : монография / С. С. Абрамов [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2007. – 208 с. 8. Рогожин, В. В. Практикум по биологической химии : учебно-методическое пособие для студентов вузов по специальностям «Зоотехния» и «Ветеринария» / В. В. Рогожин. – Санкт-Петербург ; Москва ; Краснодар : Лань, 2006. – 255 с. 9. Состояние перекисного окисления липидов у глубокоостельных коров / И. Ю. Постраш [и др.] // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» : научно-практический журнал. – Витебск, 2008. – Т. 44, вып. 2, ч. 1. – С. 115–117. 10. Способ профилактики свободнорадикальной патологии у коров / З. Я. Косорлукова [и др.] // Ветеринарный консультант. – 2007. – № 19. – С. 17–18. 11. Степанова, И. П. О взаимосвязи между перекисным окислением липидов и активностью антиоксидантной системы защиты у коров / И. П. Степанова, Л. М. Дмитриева, И. В. Конева // Сельскохозяйственная биология. Сер. Биология животных. – 2005. – № 2. – С. 113–115. 12. Чиркин, А. А. Практикум по биохимии : учебно-методическое пособие / А. А. Чиркин. – Минск : Новое знание, 2002. – 512 с. 13. Bilayer deformation, pores, and micellation induced by oxidized lipids / P. Boonnoy [et al.] // The Journal of Physical Chemistry Letters. – 2015. – Vol. 6, № 24. – P. 4884–4888. 14. Effect of lipid peroxidation on membrane permeability of cancer and normal cells subjected to oxidative stress / J. Van der Paal [et al.] // Chemical science. – 2016. – Vol. 7, №1. – P. 489–498. 15. Effect of lipid peroxidation on the properties of lipid bilayers: a molecular dynamics study / J. Wong-Ekkabut [et al.] // Biophysical journal. – 2007. – Vol. 93, № 12. – P. 4225–4236. 16. Gaschler, M. M. Lipid peroxidation in cell death / M. M. Gaschler, B. R. Stockwell // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2017. – Vol. 482, №3. – P. 419–425. 17. Girotti, A. W. Photosensitized oxidation of membrane lipids: reaction pathways, cytotoxic effects, and cytoprotective mechanisms / A. W. Girotti // Journal of Photochemistry and Photobiology B : Biology. – 2001. – Vol. 63, № 1–3. – P. 103–113. 18. Membrane changes under oxidative stress: the impact of oxidized lipids / R. Itri [et al.] // Biophysical reviews. – 2014. – Vol. 6, № 1. – P. 47–61. 19. Niki, E. Dynamics of antioxidant action of vitamin E / E. Niki, N. Noguchi // Accounts of chemical research. – 2004. – Vol. 37, №1. – P. 45–51. 20. The effect of lipid oxidation on the water permeability of phospholipids bilayers / M. Lis [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2011. – Vol. 13, № 39. – P. 17555–17563.

Статья передана в печать 25.09.2019 г.

УДК 636.4.087.6

ПРИМЕНЕНИЕ СУХОЙ ПЛАЗМЫ В РАЦИОНЕ СВИНЕЙ И ИЗУЧЕНИЕ ЕЕ ВЛИЯНИЯ НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ

Сыса Л.В., Субботина И.А., Сыса С.А.

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

В статье описаны возможные пути повышения общего белка, способствующие повышению резистентности. Описано влияние препаратов крови (сухой плазмы) на рост, развитие свиней. При применении плазмы в рационе поросят отмечали, что животные были подвижны, активны, аппетит вы-