

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОСВЯЗИ КАРОТИНОИДОВ, ВИТАМИНА А И МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЕ ОРГАНИЗМА СВИНЕЙ

Любина Екатерина Николаевна, доктор биологических наук, доцент кафедры «Биология, химия и технология хранения и переработки продукции растениеводства»
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

Гусева Ирина Тимуровна, кандидат педагогических наук, доцент, заведующая кафедрой «Химия»
ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова»

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел.: 8(8422)55-95-16; e-mail:star982@rambler.ru

Ключевые слова: перекисное окисление, антиоксиданты, стресс, минеральные вещества, витамин А, бета-каротин.

В статье представлены материалы исследований, которые углубляют и расширяют имеющиеся в биохимии представления о тонких механизмах ферментативной и неферментативной защиты клеток, активности течения свободнорадикальных процессов у свиноматок в различные физиологические периоды в условиях современных интенсивных технологий содержания и в зависимости от обеспеченности животных витамином А.

Введение

В условиях интенсивных промышленных технологий производства животноводческой продукции организм животных испытывает повышенные функциональные нагрузки [1], снижается интенсивность его адаптивных реакций на все внешние раздражители. В результате этого ухудшается физиологическое состояние животных, нарушаются обменные процессы и ослабевают естественные защитные силы. Прежде всего, это обусловлено развитием хронического стресса и его вредных последствий, которые становятся основными факторами снижения продуктивности [2, 3].

Одним из ведущих адаптивных эффектов ответной реакции организма на различные по своей природе стрессы является активация процессов перекисного окисления липидов [4]. Повышенное производство сверхреакционноспособных свободных радикалов приводит к повреждению структур как отдельных биомолекул, так и биологических мембран, в частности их барьерной, рецепторной, каталитической функций. В результате чего возникают многочисленные нарушения работы тканей и органов, при-

водящие к дестабилизации гомеостаза и возникновению ряда хронических заболеваний.

Наиболее уязвимыми к повреждающему эффекту реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) являются критические периоды онтогенеза. У свиноматок такими являются поздний предродовой и ранний послеродовой периоды, когда свойственная животным высокая скорость окислительного и энергетического метаболизма сопровождается образованием большого количества активных форм кислорода, вызывая напряжение, а в ряде случаев – истощение механизмов антиоксидантной защиты [5].

Поэтому для обеспечения высокой продуктивности при интенсивном выращивании свиней необходимо, прежде всего, повысить их устойчивость к различным стресс факторам.

Главенствующую роль в поддержании успешного функционирования всех систем иммунобиологического надзора при любых неблагоприятных воздействиях играют биоантиоксиданты. Особенно актуальным представляется оптимизация антиоксидантного статуса с помощью витамина А и его

предшественника бета-каротина, поскольку этот вопрос продолжает оставаться дискуссионным [6,7]. К антиоксидантам относится и ряд соединений растительного происхождения, объединенных под общим названием – биофлавоноиды, среди которых наиболее высокоэффективным в связывании свободных радикалов является дигидрокверцетин [8].

Принимая во внимание, что в активные центры основных антиоксидантных ферментов, нормализующих свободнорадикальные процессы, входят микроэлементы, то изменение их концентрации можно рассматривать как один из путей регуляции активности процессов перекисного окисления. Однако до настоящего времени остается недостаточно изученной взаимосвязь между содержанием витамина А, бета-каротина и минеральным обменом. Таким образом, изучение физиолого-биохимических механизмов действия различных форм витамина А и бета-каротина и их взаимосвязи с интенсивностью процессов перекисного окисления липидов, активностью системы антиоксидантной защиты и минеральными элементами в организме свиней является актуальным, что и определило необходимость проведения наших исследований.

Объекты и методы исследований

Для решения поставленной задачи были проведены эксперименты на базе свиноплеменного хозяйства «Стройпластмассагропродукт» Ульяновского района Ульяновской области на свиноматках крупной белой породы. По принципу аналогов были сформированы четыре группы животных, которые содержались на хозяйственных рационах при соблюдении зоотехнических и ветеринарных требований. Супоросные и лактирующие свиноматки всех групп получали одинаковый основной рацион (ОР). Первая (контрольная) группа получала ОР без дополнительных добавок. С 87-го дня супоросности и в течение лактации свиноматки 2-й, 3-й и 4-й групп дополнительно к основному рациону получали очищенный витамин А, каротинсодержащий препарат «Бетацинол» и витамин А с гепатопротектором соответственно. Выпаивание препара-

тов производилось с молочной сывороткой 10-дневными курсами из расчета: витамин А, витамин А с гепатопротектором – по 0,3 мл на животное для супоросных, 0,55 мл – подсосным свиноматкам; бетацинол – 2 мл для супоросных, 3 мл – подсосным свиноматкам на животное в сутки.

Состояние процесса свободнорадикального окисления у свиноматок оценивали по содержанию в сыворотке крови малонового диальдегида (МДА) [9]; функционирование антиоксидантной системы – по активности ферментов: каталазы [10]; глутатионредуктазы (ГР) [11]; супероксиддисмутазы [12]; церулоплазмينا [13].

Материалом для исследований обеспеченности организма свиноматок микроэлементами являлась кровь, взятая у трех животных из каждой группы, на 94 сутки супоросности и 35 сутки лактации из сосудов хвоста. Также проводилось изучение элементного состава покровных волос. Исследование концентрации минеральных элементов проводили с помощью атомно-абсорбционной спектрофотометрии по методам, описанным в справочном пособии под ред. Б.Д. Кальницкого [14].

Результаты исследований

В результате проведенных исследований установлено, что в группе, где супоросным маткам скармливали «Витамин А» показатель интенсивности реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ), оцениваемый нами по уровню малонового диальдегида (МДА), образующегося при кипячении в кислой среде метаболитов пероксидации, был ниже на 8,90% ($P>0,05$), в группе, где животные получали «Бетацинол» – на 9,42% ($P>0,05$), в группе, где свиноматки получали «Витамин А с гепатопротектором» – на 25,65% ($P<0,01$) по сравнению с контрольной группой.

В подсосный период у лактирующих животных второй, третьей и четвертой опытных групп уровень МДА снизился на 3,68%, 5,52% и 9,81% соответственно по сравнению с контролем, хотя это понижение не было статистически достоверным.

Более значительное снижение уровня МДА у свиноматок, получавших «Витамин А

Таблица 1

**Активность ферментов АОС в сыворотке крови свиноматок
($M \pm m$, $n=3$)**

Физиологическое состояние	1 группа (контроль)	2 опытная группа	3 опытная группа	4 опытная группа
Супероксиддисмутаза (СОД), ед.ак. $\times 10^{-2}$				
Супоросные свиноматки	49,22 $\pm$ 7,21	80,29 $\pm$ 15,13	51,38 $\pm$ 9,54	83,74 $\pm$ 15,18
Лактирующие свиноматки	64,94 $\pm$ 8,21	87,55 $\pm$ 14,51	64,13 $\pm$ 7,91	81,41 $\pm$ 10,21
Глутатионредуктаза (ГР), мкмоль/с $\times$ л				
Супоросные свиноматки	0,05 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01
Лактирующие свиноматки	0,08 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,01*
Каталаза, мкмоль H_2O_2 /л $\times$ с $\times 10^3$				
Супоросные свиноматки	7,26 $\pm$ 0,26	13,76 $\pm$ 1,17**	13,60 $\pm$ 1,31**	12,86 $\pm$ 0,43***
Лактирующие свиноматки	25,74 $\pm$ 3,61	27,06 $\pm$ 1,02	25,58 $\pm$ 2,95	30,83 $\pm$ 1,66
Церулоплазмин (ЦП), мг/л				
Супоросные свиноматки	156,04 $\pm$ 8,12	158,95 $\pm$ 5,25	169,16 $\pm$ 5,26	180,83 $\pm$ 2,92*
Лактирующие свиноматки	210,00 $\pm$ 22,02	277,08 $\pm$ 42,36	320,83 $\pm$ 17,68*	239,16 $\pm$ 27,82

* $P < 0,05$ в сравнении с контрольной группой,

** $P < 0,01$ в сравнении с контрольной группой,

*** $P < 0,001$ в сравнении с контрольной группой.

с гепатопротектором» как в период супоросности, так и в период лактации, полагаем, связано с присутствием дигидрокверцетина, который является эффективным антиоксидантом.

Высокие значения уровня МДА у животных контрольной группы можно объяснить тем, что их антиоксидантные системы не справлялись с проявлением повреждающего действия свободных радикалов и перекисных соединений.

Применение воднодиспергированных форм ретинола в рационах супоросных и лактирующих свиноматок оказало существенное влияние на активность ферментов антиоксидантной системы защиты организма (табл.1). Установлено повышение активности супероксиддисмутазы, церулоплазмينا, каталазы и глутатионредуктазы у ма-

ток, получавших «Витамин А» и «Витамин А с гепатопротектором» во все исследуемые периоды, что в целом отражает активацию ферментного звена антиоксидантной системы защиты, направленного на поддержание гомеостаза организма.

При введении в корма супоросных и лактирующих свиноматок бета-каротина в составе «Бетацинола» выявлено повышение активности церулоплазмينا и каталазы. Однако на активность супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в сыворотке крови маток воднодиспергированная форма бета-каротина влияния не оказала.

Таким образом, проведенные исследования показали, что интенсивность свободнорадикальных процессов находилась в прямой зависимости от применяемых воднодиспергированных форм бета-каро-

тина, витамина А и его сочетаний с биофлавоноидами. Так, у свиноматок контрольной группы период супоросности и лактации сопровождался активацией ПОЛ, о чем свидетельствует повышение в сыворотке крови этих животных концентрации МДА и снижение активности ферментов - супероксиддисмутазы, церулоплазмينا, каталазы, предупреждающих образование перекисей и разрушающих их. Полученные данные свидетельствуют о дисбалансе в состоянии системы антиоксидант-прооксидант у маток, что особенно важно в последнюю треть беременности и в период лактации, так как срыв физиологической системы АОС влечет за собой чрезмерную активацию свободно-радикального окисления и может привести к развитию до- и послеродовой патологии.

Известно, что оксидативному повреждению могут подвергаться любые органы и ткани. Согласно существующему представлению о единстве структуры и функции, повреждение тканей и органов свободными радикалами должно найти свое отражение в изменении их минерального обмена. Действительно, в ходе проведенного анализа проб сыворотки крови и покровных волос супоросных и лактирующих свиноматок были установлены сдвиги их элементного состава при применении воднодиспергированных форм бета-каротина, витамина А и его комбинации с биофлавоноидами. Наиболее выраженные различия в элементном статусе исследованных групп свиноматок выявлены по содержанию цинка, меди, марганца, железа, йода и селена [15].

Установлена сопряженность изменений между содержанием некоторых из этих микроэлементов и активностью ферментов в крови. Так, уровень меди в крови супоросных и лактирующих маток коррелировал с активностью церулоплазмينا ($r=0,63$; $P<0,05$ и $r=0,54$) и с активностью СОД ($r=0,46$ и $r=0,38$); концентрация железа - с активностью каталазы ($r=0,53$ и $r=0,55$). Также у супоросных животных выявлена коррелятивная зависимость между уровнем селена в сыворотке крови и обеспеченностью маток витамином А, которую определяли по содержанию ретинола в печени новорожденных

поросят ($r=0,73$; $P<0,01$). Поскольку большинство из этих микроэлементов входят в состав металлоферментов антиоксидантной системы организма, возможно, изменение их концентрации можно рассматривать как способ регуляции интенсивности процессов перекисного окисления в последнюю треть супоросности и в период лактации.

Более низкое содержание у маток контрольной группы цинка, меди, селена и железа можно считать началом формирования антиоксидантной недостаточности с учетом повышения уровня малонового диальдегида и снижения элементов, содержащихся в активных центрах ферментов антиоксидантной системы защиты организма.

Выводы

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что применение в рационах животных бета-каротина, воднодиспергированного витамина А и его комбинации с биофлавоноидами приводит к снижению токсичных продуктов перекисного окисления липидов (МДА) за счет активации ферментного звена антиоксидантной системы, что, однако, не исключает и возможное влияние бета-каротина и биофлавоноидов как факторов неферментного происхождения.

Установлено, что при более низкой обеспеченности животных ретинолом и каротином происходит снижение накопления в крови и покровных волосах микроэлементов - цинка, меди, железа и селена, входящих в активные центры ферментов, что, видимо, является причиной депрессии антиоксидантной системы защиты организма.

Выявленные закономерности служат теоретическим обоснованием для разработки практических приемов регуляции уровня свободно-радикальных реакций, в пределах биологических возможностей организма свиней, что имеет большое практическое значение, открывающее перспективы управления процессами адаптации и повышения резистентности животных, стимулирования роста, развития и повышения продуктивности.

Библиографический список

1. Стеценко, И.И. Активность роста и прочность костей скелета свиней при введении в рацион минеральных добавок / И.И. Стеценко, Н.А. Любин, Т.М. Шленкина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2011. - №2. - С. 41-46.
2. Хныченко, Л.К. Стресс и его роль в развитии патологических процессов / Л.К. Хныченко, Н.С. Сапронов // Научные обзоры. - 2003. - Том 2, №3. - С. 2-15.
3. Плященко, Сергей Иванович. Стрессы у сельскохозяйственных животных: монография / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров. - М.: Агропромиздат, 1987. - 192с.
4. Влияние комплекса антиоксидантных препаратов на продуктивность птицы родительского стада и качество инкубационных яиц / Г.И. Боряев, Е.В. Здравьева, Ю.Н. Федоров, Ю.В. Кравченко // Нива Поволжья. - 2012. - №3. - С.49-55.
5. Бета-каротин: применение при воспроизводстве животных и птицы: информационный обзор / В.А. Антипов, А.Н. Турченко, В.С. Самойлов, Р.В. Казарян, С.П.Кудинова, Е.В.Кузьмина. - Краснодар, 2008. - 56с.
6. Сидоров, И.В. Активные формы кислорода в окислительных процессах у животных и защитная регуляторная роль биоантиоксидантов / И. В. Сидоров, Н.А. Костромитинов // Сельскохозяйственная биология. - 2003. - №6. - С.3-14.
7. Young, A. J. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids/ A. J. Young, G. M. Lowe //Arch. Biochem.and Biophys.-2001.-385,№1.-С.20-27.
8. Биополимер древесины дигидрокверцетин – перспективная биологически активная кормовая добавка для телят и поросят / Ю.П. Фомичев, Ю.Н. Пучков, Р.Г. Шайдуллина, А.В. Заболотский, Е.О. Фоломова, С.А. Лашин // Практик. - 2005. - №11-12. - С. 52-54.
9. Андреева, Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лабораторное дело. - 1988. - №11. - С.41-43.
10. Медицинские лабораторные технологии: справочник / под ред. А.И. Карпищенко. - Санкт-Петербург, 1998. - Том 1. - 396с.
11. Асатиани, В.С. Ферментные методы анализа / В.С. Асатиани. - М.: Наука, 1969. - С.607-610.
12. Nishikimi, M. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen / M. Nishikimi, N. Appa, K. Yagi // Biochem.Biophys.Res.Comm.-1972.-Vol.46.- P.949-326.
13. Горячковский, А.М. Клиническая биохимия / А. М. Горячковский . - Одесса, 1998. - 608с.
14. Методы биохимического анализа: справочное пособие / под ред. Б.Д. Кальницкого. - Боровск, 1997.- 356 с.
15. Любина, Е.Н. Свободнорадикальное окисление липидов, активность антиоксидантной системы защиты у свиней в зависимости от обеспеченности их организма витамином А / Е.Н. Любина // Ветеринарный врач. -2008.-№2.-С.28-31.