

Библиографический список

1. Хази́ев, Р.Ш. Изучение биологически активных веществ растений рода *Amaranthus* L./Р.Ш. Хази́ев//Дисс. канд. Биол. Наук. – Казань КГУ – 1993. – 20с.
2. Цепалева, О.В., Пектины растений вида *Amaranthus cruentus* / О.В. Цепалева, Н.А. Соснина, Е.Н. Офицеров и др. // Материалы I Междн. Симпозиума «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их практического использования. – Пущино. – 1995. Т.1. – с.32
3. Офицеров, Е.Н. Углеводы амаранта и их практическое использование / Е.Н. Офицеров, В.И. Костин. Изд. РАН Уральское отд. Ульяновск, 2001. – 182с.
4. Химическая энциклопедия. 1992. - Т.3. - С.895-897.
5. Голубев, В.Н. Пищевые и биологически активные добавки / В.Н. Голубев, Л.В. Чичева-Филатова, Т.В. Шленская. – М.: Издательский центр «Академия», 2003. – 208 с.
6. Ильина, И.А. Научные основы технологии модифицированных пектинов. - Краснодар, 2001. – 312с.
7. Brigand, G. Insight into the structure of Pectic by High performance chromatographic methods /G. Brigand, A. Denis //Carbohydrate Polymers. - 1990. - V.12, N 1. - P.61-77.
8. Hourdet, D. Solution of Pectin Polysaccharides - III: Molecular Size of Heterogeneous Pectin Chains. Calibration and Application of SEC to Pectin Analysis / D. Hourdet, G. Muller //J. Carbohydrate Polymers. - 1991. - № 16. - P.409-432.
9. Nicolas, C.C. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth / C.C. Nicolas, M. David //The Plant Journal. - 1993. - V.3, № 1. - P.1-30.
10. Голубев, В.Н. Пектин: химия, технология, применение/ В.Н. Голубев, Н.П. Шелухина - Москва, 1995. - 317 с.
11. Михеева, Л.А. Получение и некоторые химические свойства пектинов растений рода амарант/Л.А. Михеева//Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук. - Ульяновск, 2001. 205 с.
12. Василенко, Ю.К., Кайшева Н.Ш., Компанцев В.А. и др. Сорбционные свойства пектиновых препаратов/ Ю.К. Василенко, Н.Ш. Кайшев, В.А. Компанцев и др. //Химико-фармацевтический журнал. - 1993. - С.44-46.

УДК 612.753:619

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ У СВИНЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРИМЕНЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ВИТАМИНА А И БЕТА-КАРОТИНА

*Любин Николай Александрович, доктор биологических наук, профессор
Стеценко Ирина Игоревна, доктор биологических наук, профессор
Любина Екатерина Николаевна, кандидат биологических наук, доцент
ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»
432017 г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1 тел. 8(8422)55-95-68*

Ключевые слова: свиноматки, питание, витамин А, бета-каротин, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система защиты организма

В статье рассматривается влияние применения различных форм ретинола и бета-каротина на состояние антиоксидантной системы и интенсивность реакций перекисного окисления липидов в организме свиноматок и полученных от них поросят в разные физиологические периоды. Показано, что витамин А и его источники действуют как антиоксиданты в биологических системах, обеспечивая защитный эффект.

Введение.

Загрязнение окружающей среды веществами техногенного происхождения, а также многочисленные стресс-факторы, которым подвергаются животные в условиях современных комплексов приводят к повышенному образованию активных форм кислорода, вызывая напряжение, а в ряде случаев - истощение механизмов антиоксидантной защиты. При этом чрезмерная реакционная способность свободных радикалов, особенно в критические периоды онтогенеза, способна оказывать негативное влияние на клетки, вызывая мутагенное действие, подавляя активность энергетических процессов, что является основой развития патологий и нарушений обмена веществ, приводя к снижению продуктивности и росту затрат в животноводстве [1, 3, 6, 8].

Деструктивное действие активных кислородных форм в нормальных физиологических условиях сдерживается многоуровневой системой антиоксидантной защиты, но в случае недостатка антиоксидантов в организме развиваются признаки окислительного стресса. Поэтому одним из результативных подходов в решении проблемы повышения здоровья и продуктивности животных следует признать активное вторжение в регуляцию его антиоксидантной системы.

Среди многочисленных факторов, определяющих интенсивность реакций ПОЛ в организме, значительное место принадлежит витаминам. В последние годы большое внимание в этом отношении привлекает витамин А и его предшественник бета-каротин, однако вопрос их роли в регуляции свободнорадикальных процессов остается спорным: имеются работы, указывающие на то, что ретинол и его предшественники способны проявлять как прооксидантный, так и антиоксидантный эффект [12, 14].

Отсутствие единого мнения в этом вопросе побудило нас провести исследование влияния применения различных форм ретинола и бета-каротина на функциональное состояние системы антиоксидантной защиты и интенсивность реакций перекисного окисления липидов в организме свиноматки

и полученных от них поросят в разные физиологические периоды.

Материалы и методы

Для решения поставленных задач были проведены исследования на базе свиного комплекса хозяйства «Стройпластмассагропродукт» Ульяновского района Ульяновской области на свиноматках и полученных от них поросятах крупной белой породы. Отбор животных в группы проводили по принципу аналогов с учетом возраста, живой массы, породности, происхождения, их содержали в одинаковых условиях, при соблюдении соответствующих ветеринарных и зоотехнических требований. Исследования проводили на фоне сбалансированного кормления по основным питательным и биологически активным веществам согласно рекомендуемым нормам.

В первом цикле экспериментов были сформированы четыре группы животных. 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 воднодиспергированные витаминные добавки: витамин А, каротинсодержащий «Бетацинол» и комбинацию витамина А с биофлавоноидами соответственно. Выпаивание препаратов производилось 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.

Во втором цикле экспериментов проводилось изучение влияния на организм свиней каротиноидов, источниками которых послужили порошкообразные формы бета-каротина. Были сформированы три группы животных. Первая группа получала ОР без дополнительных добавок (контрольная группа). Супоросным и лактирующим свиноматкам, а также поросятам (в послеродовой период) 2-й и 3-й опытных групп дополнительно в основной рацион вводили

ли препараты β -каротина: «Бета-рост» и «Бета-рост с липидами». Супоросным свиноматкам изучаемые витаминные добавки давали ежедневно во время утреннего кормления из расчета: «Бета-рост» - 1,3 г, а «Бета-рост с липидами» – 5 г на животное в сутки. Лактирующие свиноматки и поросята отъемыши получали препараты ежедневно из расчета «Бета-рост» - 1,9 г – подсосным свиноматкам и по 0,31 г на голову для поросят; «Бета-рост с липидами» - 7,6 г – подсосным свиноматкам и по 1,2 г на голову для поросят.

Состояние процесса свободнорадикального окисления оценивали по содержанию в сыворотке крови и гомогенатах печени малонового диальдегида (МДА) по методу Л.И. Андреевой [2], а активность антиоксидантной системы - по активности ферментов: каталазы [9], глутатионредуктазы (ГР) [4], супероксиддисмутазы [13], церулоплазмина [7].

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась общепринятыми методами вариационной статистики. Результаты экспериментов обработаны методом регрессионного и корреляционного анализа по Г.Ф. Лакину [10]. При определении достоверности использовали коэффициент Стьюдента и критерий достоверности. Результаты рассматривали как достоверные начиная с $p \leq 0,05$

Результаты и обсуждение

Для оценки интенсивности процессов перекисного окисления липидов были проведены исследования по содержанию малонового диальдегида (МДА). Общеизвестно, что это соединение не является природным метаболитом и в организме практически отсутствует, однако служит достаточно надежным и объективным критерием оценки процессов ПОЛ, так как природные метаболиты липопероксидации при кипячении в кислой среде с тиобарбитуровой кислотой превращаются в малоновый диальдегид.

В первом цикле экспериментов, в группе, где маткам скармливали «Витамин А» уровень МДА 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% ($P < 0,01$) соответственно по сравнению с первой группой, что свидетельствует о том, что применяемые воднодиспергированные формы витамина А и бета-каротина проявляют себя как эффективные антиоксиданты, приводящие к снижению токсичных продуктов перекисного окисления липидов. Выявленная отрицательная коррелятивная зависимость ($r = - 0,45$) между уровнем МДА в крови супоросных свиноматок и их обеспеченностью витамином А, которую определяли по содержанию ретинола в печени новорожденных поросят, доказывает антиоксидантные свойства ретинола.

В подсосный период у лактирующих животных второй, третьей и четвертой опытных групп уровень МДА снизился на 3,68%, 5,52% и 9,81% по сравнению с первой группой, хотя это снижение не было статистически достоверным. Более значительное снижение содержания МДА у свиноматок, получавших «Витамин А» с гепатопротектором как в период супоросности, так и в период лактации, полагаем, связано с присутствием компонента – дегидрохверцетина – который является эффективным антиоксидантом [5,11].

Применение воднодиспергированной формы витамина А и его комбинации с биофлавоноидами в рационах супоросных и лактирующих свиноматок оказало существенное влияние на активность ферментов антиоксидантной системы защиты организма (табл.1).

Установлено повышение активности супероксиддисмутазы, церулоплазмина, каталазы и глутатионредуктазы у свиноматок второй и четвертой опытных групп по сравнению с контролем во все исследуемые периоды, что в целом отражает активацию ферментного звена АОС, направленного на поддержание гомеостаза организма.

При введении в корма супоросных и лактирующих свиноматок бета-каротина в составе «Бетацинола» выявлено повышение активности церулоплазмина и каталазы. Однако на активность супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в сыворотке крови

Таблица 1

Активность ферментов антиоксидантной защиты в сыворотке крови свиноматок на фоне применения различных форм витамина А и бета-каротина ($M \pm m$, $n=3$)

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

маток воднодиспергированная форма бета-каротина влияния не оказала (табл.1).

Важнейшим этапом онтогенеза животных является адаптация после рождения и в раннем постнатальном периоде, что, прежде всего, связано с существенными различиями метаболизма плода и новорожденного, обусловленными особенностями поступления и использования питательных веществ, а также снабжения организма кислородом. Результаты определения уровня МДА в гомогенатах печени выявили, что у новорожденных поросят второй, третьей и четвертой опытных групп его содержание было на 62,34% ($P < 0,05$), 71,75% ($P < 0,01$) и 72,52% ($P < 0,01$) соответственно ниже в сравнении с аналогами из контрольной группы. В 40-суточном возрасте установленная закономерность сохранилась, что свидетельствует о более активном течении реакций перекисного окисления липидов в контрольной группе.

Проведенный корреляционный ана-

лиз выявил достоверную взаимосвязь между содержанием ретинола в печени 1- и 40-суточных поросят и уровнем МДА: $r = -0,88$ ($P < 0,001$) и $r = -0,67$ ($P < 0,05$), что является отражением антиоксидантных свойств витамина А.

Исследование показателей антиоксидантной системы защиты в гомогенатах печени у 1- и 40-суточных поросят второй и четвертой опытных групп в целом отражает активацию ферментативного звена АОС. Так, активность супероксиддисмутазы у новорожденных животных второй и четвертой опытных групп повысилась на 33,79% и 28,63% соответственно по сравнению с аналогами из первой группы. К 40-суточному возрасту активность СОД снизилась во всех опытных группах, однако у животных, полученных от свиноматок, которым в корма вводили воднодиспергированные формы ретинола «Витамин А» и «Витамин А с гепатопротектором», она была на 59,79% и 51,08% выше относительно животных кон-

Таблица 2

Активность ферментов антиоксидантной защиты в ткани печени поросят (M±m, n=3)

Физиологическое состояние	1 группа (контроль)	2 опытная группа	3 опытная группа
Супероксиддисмутаза (СОД), ед.ак./мг белка×10 ⁻²			
1-суточные поросята	126,45±13,03	159,29±26,53	125,70±32,38
60-суточные поросята	103,77±7,81	141,61±17,80	158,86±12,24*
Каталаза, мкмоль Н ₂ О ₂ /лхс ×мг белка×10 ⁻²			
1-суточные поросята	12,37±2,62	15,38±0,96	17,00±2,59
60-суточные поросята	14,64±0,48	14,93±1,12	15,16±0,68
Глутатионредуктаза мкмоль/г белка ×10 ⁻²			
1-суточные поросята	19,38±1,67	20,83±1,12	21,79±4,03
60-суточные поросята	12,47±2,05	18,36±3,24	19,81±4,41

*P<0,05 в сравнении с контрольной группой

трольной группы.

У новорожденных поросят второй и четвертой опытных групп выявлено увеличение активности каталазы на 67,25%(P<0,01) и 80,94% (P<0,01), церулоплазмина на 34,67%(P>0,05) и 31,99% (P>0,05), глутатионредуктазы на 6,26 и 3,96% соответственно в сравнении с контрольными животными. Повышенную активность каталазы, церулоплазмина, глутатионредуктазы в этих же группах мы регистрировали и в 40-суточном возрасте, при этом активность ферментов с возрастом уменьшалась.

Применение воднодиспергированной формы бета-каротина привело к усилению активности супероксиддисмутазы в 1,24(P>0,05) и 1,40(P<0,05)раза, каталазы в 1,73(P<0,01) и 2,01(P<0,05) раза, церулоплазмина в 1,47(P<0,05) и 1,20(P>0,05) раза, сопровождающееся снижением малонового диальдегида на 71,75(P<0,01) и 83,90% (P<0,01) относительно аналогов из контрольной группы, что свидетельствует о коррекции общего окислительного стресса у поросят. Учитывая установленную достоверную коррелятивную взаимосвязь между активностью ГР и содержанием бета-каротина в крови 40-суточных поросят третьей опытной группы ($r=-0,81$), а также то, что степень ПОЛ, оцениваемая нами по уровню МДА обратно коррелирует с уровнем в крови каротина ($r= -0,67$) у животных этой же группы, можно предположить, что бета-каротин способен перехватывать свободные радикалы, включаясь в цепь нефермента-

тивных реакций антирадикальной системы организма и в том числе проявлять глутатионсберегающую функцию.

Таким образом, по результатам биохимических исследований воднодиспергированные формы витамина А и бета-каротина проявили себя как эффективные антиоксиданты, приводящие к снижению токсичных продуктов перекисного окисления липидов (МДА) как у свиноматок, так и у полученных от них поросят, что согласуется с проводимыми нами ранее исследованиями.

Одним из направлений в ветеринарной фармакологии является создание сыпучих комплексных препаратов, поэтому была поставлена задача изучить влияние порошкообразных форм бета-каротина «Бета-рост» и «Бета-рост с липидами» на интенсивность процессов перекисного окисления липидов и активность антиоксидантной системы защиты организма.

В результате проведенных исследований установлено, что новорожденные животные, полученные от свиноматок, получавших дополнительно к основному рациону «Бета-рост» и «Бета-рост с липидами», были менее уязвимы к окислительному повреждению печени, что подтверждается снижением в ней уровня МДА по сравнению с контрольной группой. Так, в организме 1-суточных поросят второй и третьей опытных групп его уровень был на 6,5% и 17,88% соответственно меньше в сравнении с аналогами из контрольной группы. В 60-суточном возрасте существенных различий по

содержанию малонового диальдегида у поросят всех опытных групп установлено не было.

Использование порошкообразного бета-каротина, источником которого послужили «Бета-рост» и «Бета-рост с липидами», в рационах свиноматок, а также полученных от них поросят, оказало существенное влияние на активность ферментов антиоксидантной системы защиты организма (табл. 2).

Установлено повышение активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионредуктазы в гомогенатах печени молодняка на фоне снижения уровня МДА, как в 1-, так и в 60-суточном возрасте, что в целом отражает активацию ферментативного звена антиоксидантной системы.

Таким образом, проведенные исследования показали, что интенсивность свободнорадикальных процессов находилась в прямой зависимости от применяемых форм витаминных препаратов. Следовательно, дефицит ретинола является одной из причин возникновения сдвига тканевого баланса в системе антиоксидантов и прооксидантов в сторону последних, что проявляется в увеличении перекисного окисления липидов. В зависимости от состава и формы применяемых добавок снижение интенсивности процессов ПОЛ происходило за счет активации ферментного звена АОС, что, однако, не исключает и возможное влияние бета-каротина и биофлавоноидов как факторов неферментного происхождения.

Библиографический список

1. Абрамова, Ж.И. Человек и противомикробные вещества / Ж.И. Абрамова, Г.И. Оксенгендлер // Л.: Наука. Ленингр. отделение, 1985. – 232с.
2. Андреева, Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лабораторное дело, №11, 1988. - с.41-43.
3. Антипов, В.А. Бета-каротин: при-

менение при воспроизводстве животных и птицы / В.А. Антипов, А.Н. Турченко, В.С. Самойлов, Р.В. Казарян, С.П.Кудинова, Е.В.Кузьмина // Информационный обзор. Краснодар, 2002. – 56с.

4. Асатиани, В.С. Ферментные методы анализа, М.: «Наука», 1969:607-610.

5. Бабий Н.В. Дигидрохверцетин – природный антиоксидант XXI века / Н.В. Бабий, Д.В. Пеков, И.В. Бирик // Хранение и переработка сельхозсырья, 2009 - №7. – с.46-47.

6. Галочкин, В.А. Новые горизонты повышения неспецифической резистентности и продуктивности животных / В.А. Галочкин // Боровск, 2001, 91с.

7. Горячковский, А.М. Клиническая биохимия / А. М. Горячковский, Одесса, 1998. – 608с.

8. Кармолиев, Р.Х. Биохимические процессы при свободнорадикальном окислении и антиоксидантной защите. Профилактика окислительного стресса у животных. Сельскохозяйственная биология, 2002, 2:19-28.

9. Карпищенко, А.И. Медицинские лабораторные технологии: Справочник Том 1, 2, Санкт-Петербург, 1998

10. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин // М.: Высшая школа, 1980, 293с

11. Саввин А.В. Антиоксидант – дигидрохверцетин / А. В. Саввин // Молочная промышленность, 2006, №9, стр. 64

12. Kennedy, T.A. Peroxyl radicals scavenging by β -carotene in lipid bilayers. Effect of oxygen partial pressure / T.A. Kennedy, D.C. Liebler // J. Biol. Chem.-1992.-267.- p. 4658-4663.

13. 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. Commun.-1972.- vol.46.- p.949-326.

14. Zhang, P. β -carotene oxidation: effect of ascorbic acid and α -tocopherol / P.Zhang, S. Omate // J.Toxicology, 2000, 146.1.- 37-47.