

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ИНТЕНСИВНОСТЬЮ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, АКТИВНОСТЬЮ АНТИОКСИДАНТОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ И ИММУННЫМ СТАТУСОМ ОРГАНИЗМА ПОРОСЯТ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ БЕТА-КАРОТИНА

Любин Николай Александрович*, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой «Морфология, физиология и патология животных»

Любина Екатерина Николаевна*, доктор биологических наук, профессор кафедры «Биология, химия и технология хранения и переработки продукции растениеводства»

Кафиятуллина Алсу Гакилевна**, кандидат химических наук, доцент кафедры «Химия» ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»*, ФГБОУ ВПО «Ульяновский ГПУ им. И.Н. Ульянова»**

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

Ключевые слова: перекисное окисление, антиоксиданты, витамин А, бета-каротин, фагоцитоз, циркулирующие иммунные комплексы.

В статье представлены материалы исследований, которые углубляют и расширяют имеющиеся в биохимии представления о взаимосвязи интенсивности течения свободнорадикальных процессов, активности звеньев системы антиоксидантной защиты и факторов иммунитета у поросят в условиях различной обеспеченности животных витамином А.

Введение

Важнейшим этапом онтогенеза животных является адаптация после рождения и в раннем постнатальном периоде. Это, прежде всего, связано с существенными различиями метаболизма плода и новорожденного, обусловленными особенностями поступления и использования питательных веществ, а также снабжения кислородом. Переход к легочному типу дыхания при рождении, а также температурный и физический стрессы могут оказывать существенное влияние на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), интенсивность обмена которых после рождения возрастает [1, 2]. Процесс липопероксидации, вызванный эндогенными и экзогенными причинами является универсальным неспецифическим патогенетическим звеном в развитии многих заболеваний в системе мать-плод, так как цепной характер свободнорадикальных процессов и чрезвычайная токсичность образующихся при этом продуктов играют существенную роль в развитии ряда заболеваний. Поэтому одним из центральных вопросов участия свободнорадикальных реакций

в физиологических процессах является выяснение возможности и механизмов их регуляции.

Известно, что существует взаимосвязь между антиоксидантными системами защиты и естественной резистентностью [3]. Так, усиление свободнорадикальных реакций перекисного окисления липидов приводит к нарушению функции переработки антигенной информации и синтеза антител. В то же время ряд иммуномодуляторов блокирует перекисное окисление липидов плазматических и субклеточных мембран, предохраняя их от действия перекисей и свободных радикалов, образующихся особенно часто в метаболически активных клетках (макрофаги, нейтрофилы), и тем самым сохраняют нормальную структуру и функцию мембран [4, 5].

В связи с этим актуальной задачей является поиск эффективных биологически активных веществ, способных регулировать уровень свободнорадикальных процессов и влиять на развитие иммунных реакций. При этом желательно использовать только естественные природные средства профилакти-

ки и лечения заболеваний, направленные на получение экологически чистой и натуральной биопродукции.

Витамины участвуют практически во всех биохимических процессах в организме животных, в том числе определяют интенсивность реакций ПОЛ и поддерживают естественную резистентность млекопитающих. В последние годы значительное внимание в этом отношении привлекает витамин А и его предшественник бета-каротин [6], однако вопрос их роли влияния на иммунологические факторы и в регуляции свободно-радикальных реакций в организме остается спорным.

В связи с вышеизложенным задачей наших исследований являлось изучение особенностей процессов перекисного окисления липидов, активности антиоксидантной и иммунной систем поросят в постнатальном онтогенезе при использовании в рационах каротинсодержащих препаратов.

Объекты и методы исследований

Для решения поставленной задачи были проведены эксперименты на базе свинокомплекса хозяйства «Стройпластмасс-агропродукт» Ульяновского района Ульяновской области на поросятах, полученных от свиноматок крупной белой породы. По принципу аналогов были сформированы три группы животных, которые содержались на хозяйственных рационах при соблюдении зоотехнических и ветеринарных требований. До 40-суточного возраста поросята содержались под матками. Супоросным и лактирующим свиноматкам, а также поросятам (в после отъемный период) 2 и 3 опытных групп дополнительно в основной рацион вводили препараты β-каротина: «Бетацинол» и «Бетавитон» соответственно. 1 группа была контрольной. Изучаемые препараты давали во время утреннего кормления 10-дневными курсами с таким же перерывом из расчета 2 мл на животное в сутки для супоросных, 3 мл – подсосным свиноматкам и по 0,5 мл на голову для поросят.

С целью получения представления о состоянии системы неспецифической защиты организма в сыворотке крови в 1- и 60-суточных поросят был изучен фагоцитоз

с помощью тест-набора «Определение фагоцитоза» химической компании «Реакомплекс». Фагоцитарное число определяли как среднее количество частиц, поглощенное одним активным нейтрофилом. Фагоцитарную ёмкость крови определяли умножением фагоцитарного числа на абсолютное количество сегментоядерных нейтрофилов, проявивших фагоцитоз. Определение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) проводили на основании изменения величины светового рассеяния раствора полиэтиленгликоля вследствие осаждения им ЦИК из сыворотки крови [7]. Состояние процесса свободнорадикального окисления у поросят оценивали по содержанию в гомогенатах печени малонового диальдегида (МДА) [8]; функционирование антиоксидантной системы - по активности ферментов: глутатионредуктазы [7], супероксиддисмутазы [9]. Полученные данные обработаны биометрически и приведены в таблицах 1 и 2.

Результаты исследований

В результате проведенных исследований установлено, что интенсивность процессов перекисного окисления липидов находилась в прямой зависимости от применяемых препаратов (табл.1). Так, в организме новорожденных поросят второй и третьей опытных групп содержание малонового диальдегида было на 40,43% ($P>0,05$) и 49,69% ($P<0,01$) соответственно меньше в сравнении с аналогами из контрольной группы. Тенденция к снижению этого показателя у поросят сохранилась и в 60-суточном возрасте. Можно предположить, что накопление МДА в крови поросят контрольной группы свидетельствует об активации процессов перекисного окисления липидов.

Выявлено, что содержание продуктов перекисного окисления липидов в печени у поросят 1-суточного возраста было выше, чем у двухмесячных животных, следовательно, высокая скорость ПОЛ в раннем постнатальном онтогенезе находится во взаимосвязи с высокой интенсивностью их роста. Аналогичная направленность изменений интенсивности свободнорадикальных реакций была получена М.И. Рецким с соавторами (2005) на телятах [10]. По-видимому,

Таблица 1

Активность ферментов АОС и уровень МДА в ткани печени поросят на фоне применения соединений β -каротина ($M \pm m$, $n=3$)

Физиологическое состояние	Группа животных		
	1 группа (контроль)	2 опытная группа	3 опытная группа
Малоновый диальдегид (МДА), мкмоль/мг белка $\times 10$			
1-суточные поросята	3,24 \pm 0,08	1,93 \pm 0,51	1,63 \pm 0,21**
60-суточные поросята	1,37 \pm 0,53	0,80 \pm 0,15	0,53 \pm 0,11
Глутатионредуктаза (ГР), мкмоль/с \times мг белка $\times 10^{-2}$			
1-суточные поросята	135,83 \pm 25,61	86,36 \pm 22,46	68,31 \pm 24,72
60-суточные поросята	43,62 \pm 7,29	22,74 \pm 1,82*	14,01 \pm 1,74*
Супероксиддисмутаза (СОД) ед. акт. / мг белка $\times 10^{-2}$			
1-суточные поросята	448,12 \pm 74,84	154,21 \pm 47,60*	210,01 \pm 39,89*
60-суточные поросята	255,34 \pm 65,54	145,61 \pm 4,20	72,51 \pm 9,05

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

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

в первые часы и сутки жизни происходит интенсификация процессов свободнорадикального окисления липидов, а с течением времени постепенное повышение функционального состояния ферментативного звена АОС способствует уменьшению накопления в крови поросят продуктов ПОЛ.

Определение активности супероксиддисмутаза (СОД) – важнейшего фермента АОС [11] в раннем онтогенезе показало, что у 1-суточных поросят, полученных от свиноматок второй и третьей опытных групп, она снизилась в сравнении с контролем на 65,58% ($P < 0,05$) и 53,13% ($P < 0,05$) соответственно. Тенденция снижения активности СОД у поросят, получавших «Бетацинол» и «Бетавитон», сохранилась и у 60-суточного молодняка (табл.1). Как видно из представленных в таблице данных, наиболее высокая активность СОД наблюдалась в первые сутки после рождения, что обусловлено повышенной генерацией супероксид-анион радикала в условиях резко возрастающей обеспеченности организма новорожденных кислородом. У поросят 60-суточного возраста активность этого фермента снижалась. Наблюдаемое изменение, по-видимому, связано с интенсивностью свободнорадикальных процессов в организме. Резкое возрастание ПОЛ в стрессовых ситуациях

мобилизует антиоксидантную систему новорожденного организма, направленную на ингибирование свободных радикалов, с чем связано последующее снижение активности СОД.

Активность глутатионредуктазы (ГР) у новорожденных поросят второй и третьей опытных групп снизилась в сравнении с контролем на 36,42% ($P > 0,05$) и 49,70% ($P > 0,05$) соответственно. Пониженную активность ГР в этих же группах в сравнении со сверстниками из контрольной группы мы регистрировали и в 60-суточном возрасте, при этом с возрастом активность этого фермента уменьшалась (табл.1). Возможно, повышение уровня свободнорадикальных процессов активизирует антиоксидантную систему организма. Именно с этим и связано увеличение активности ГР у новорожденных и снижение у 60-суточных поросят. Установлена взаимосвязь между активностью глутатионредуктазы и содержанием витамина А в печени как у 1-суточного, так и 60-суточного молодняка ($r = -0,53$ и $-0,51$ соответственно), что может быть связано со способностью ретинола перехватывать свободные радикалы, включаясь в цепь неферментативных реакций антирадикальной системы организма

Филогенетически наиболее древней

Таблица 2

Влияние препаратов β-каротина на неспецифические клеточные и гуморальные факторам резистентности животных.

Физиологическое состояние	Группа животных		
	1 группа (контроль)	2 опытная группа	3 опытная группа
	Фагоцитоз %		
1-суточные поросята	57,67 ±1,85	40,67 ±3,18**	42,00 ±1,73**
60-суточные поросята	70,00 ±0,57	66,66 ±1,42	62,33 ±2,60*
	Фагоцитарное число, мкр.част.		
1-суточные поросята	3,07 ±0,14	4,93 ±0,37**	4,73 ± 0,20**
60-суточные поросята	3,83 ±0,03	3,83 ±0,32	3,90 ±0,40
	Фагоцитарная емкость, тыс. мкр.част.		
1-суточные поросята	176,46±6,06	201,26±24,49	195,10±5,20
60-суточные поросята	256,5±11,52	256,06±24,32	256,43±21,81
	Циркулирующие иммунные комплексы, ед		
1-суточные поросята	22,00±4,40	16,50±0,01	18,6±5,56
60-суточные поросята	14,26±1,01	15,28±1,05	14,43±1,03

формой неспецифической защитной реакции организма является фагоцитоз, поэтому при оценке иммунного статуса особое внимание обращают на функциональное состояние фагоцитов. В результате проведенных исследований установлено, что у новорожденных животных второй и третьей опытных групп уровень фагоцитарной активности был ниже, чем у поросят контрольной группы (табл.2)

Аналогичные изменения наблюдались и в крови поросят двухмесячного возраста (табл.2). Однако каротинсодержащие препараты вызвали достоверное увеличение фагоцитарного числа у 1-суточных поросят, получавших «Бетаинол» и «Бетавитон», на 60,59% и 54,07% соответственно, по сравнению с молодняком первой группы, то есть обусловили интенсификацию этого процесса. Фагоцитарное число у 60-суточных поросят всех групп практически не отличалось.

В ходе эксперимента отмечено увеличение числа поглощенных микробных тел у 1-суточных поросят второй и третьей опытных групп на 14,05% и 10,80% соответственно, по сравнению с аналогами из первой

группы, что отражает положительное влияние препаратов на данный вид защиты. У 60-суточного молодняка свиней различий по этому показателю клеточного иммунитета между всеми группами опытных животных выявлено не было.

В ходе изучения действия препаратов β-каротина на уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), которые отражают степень антигенной нагрузки на организм, установлена четкая тенденция снижения их содержания у 1-суточных поросят, полученных от свиноматок, получавших препараты β-каротина, по сравнению с контрольными животными (табл.2). Так, у новорожденного молодняка второй и третьей опытных групп этот показатель был ниже на 15,00% ($P>0,05$) и 15,45% ($P>0,05$) по сравнению с аналогами из контрольной группы. Известно, что иммунные комплексы, возникающие в условиях небольшого избытка антигена, представляют наибольшую опасность ввиду длительности их циркуляции и высокой комплементактивирующей способности. Поэтому снижение их уровня под влиянием применяемых воднодиспергированных форм бета-каротина можно рассма-

тривать как положительный эффект.

Выводы

Таким образом, в результате проведенных исследований нами установлено, что включение бета-каротина в рационы свиноматок и полученных от них поросят, источником которого послужили препараты «Бетацинол» и «Бетавитон», «стимулирует неспецифические механизмы защиты у молодняка свиней и повышает адаптационные возможности животных к факторам внешней среды, что, возможно, связано с торможением активности свободно-радикальных реакций перекисного окисления липидов.

Библиографический список

1. Пероксидное окисление липидов и система антиоксидантной защиты в период ранней постнатальной адаптации телят / М.И. Рецкий, В.С. Бузлама, Н.Н. Каверин, А.И. Золотарев, С.В. Быкова // Сельскохозяйственная биология. - 2004. - №2. - С.56-60.

2. Любин, Н.А. Функциональное состояние системы антиоксидантной защиты и свободнорадикального окисления у свиней в зависимости от применения различных форм витамина А и бета-каротина / Н.А. Любин, И.И. Стеценко, Е.Н. Любина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - № 1 (21). - С. 54-59.

3. Галочкин, В.А. Антиоксидантный статус организма свиноматок и их потомства при использовании минеральных и органических форм селена / В.А. Галочкин, Т.С. Кузнецова // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. - 2000. - №2. - С. 51.

4. Effect of β -carotene on health sta-

tus and performance of sows and their litters / P. Kostoglou, S.C. Kyriaris, A. Papasteriadis, N. Rovmpies, C. Alexopoulos, K. Saoulidis // J.Anim.Nutr. - 2000. - №3.- С.150-157.

5. Количественное содержание иммунокомпетентных клеток в крови поросят-отъемышей при стимуляции иммунных реакций / Г.М. Топурия, Л.Ю. Топурия, Д.Р. Бибилова, М.Б. Ребезов // Вестник мясного скотоводства. - 2014. - Том1, №. 84. - С. 87-90.

6. Марьина, О.Н. Влияние применения препарата β -каротина на продуктивность свиней / О.Н. Марьина, Н.А. Любин, М.С. Сеитов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - 2008. - Том 3, № 19-1.- С. 214-215.

7. Карпищенко, А.И. Медицинские лабораторные технологии. Том 1: справочник / А.И. Карпищенко. - Санкт-Петербург, 1998. - 396с.

8. 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.

9. 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.- С.949-326.

10. Применение селекора новорожденным телятам / М.И Рецкий, А.Г.Шахов, А.И. Золотарев [и др.] // Ветеринария. - 2005. - № 11. - С.52-54.

11. Robles, R. Oxidative stress in the neonate / R. Robles, N. Palomino, A. Robles // Early Hum.Dev.- 2001.- № 65. -С.75-81.