

УДК 636.2:612.015.3

**ОСОБЕННОСТИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА И ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРОКСИДНОГО
ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ
КОРОВ-ПЕРВОТЕЛОК В НАЧАЛЬНЫЙ ПЕРИОД ЛАКТАЦИИ****И. В. Котович**

кандидат биологических наук, доцент,
заведующий кафедрой биологии УО МГПУ им. И. П. Шамякина

О. П. Позывайло

кандидат ветеринарных наук, доцент,
доцент кафедры биологии УО МГПУ им. И. П. Шамякина

В. П. Баран

кандидат биологических наук, доцент,
заведующий кафедрой химии УО ВГАВМ

Н. П. Разумовский

кандидат биологических наук, доцент,
доцент кафедры кормления УО ВГАВМ

Исследовано состояние липидного обмена, пероксидного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АОС) плазмы крови коров-первотелок ЗАО «Ольговское» Витебской области в начальный период лактации. Установлено, что на фоне избытка жира в рационе и нарушения сахаро-протеинового соотношения организм коров характеризуется высокой интенсивностью процессов пероксидного окисления липидов и разбалансированностью системы ПОЛ-АОС.

Введение

Для эффективного функционирования молочного скотоводства в Республике Беларусь в соответствии с Государственной программой устойчивого развития села к 2015 году удой молока на корову должен достигнуть не менее 6300 кг молока. В селекционных стадах, на основе применения новейших методов селекции и разведения, планируется создать генетический потенциал с продуктивностью коров на уровне 15000 кг молока за лактацию [1]. Повышение продуктивности в животноводстве возможно только на основе глубоких знаний взаимоотношений организма с окружающей средой и внедрения в производство биологически обоснованной системы содержания и кормления животных, обеспечивающей интенсификацию отрасли с применением передовых технологических процессов [2].

Генетические особенности высокопродуктивных коров, высокий энергетический обмен, способность превращения энергии корма в молоко приводят к повышению стресс-чувствительности к негативным факторам, сопровождающим промышленную технологию (гипоксия, гиподинамия, изменение условий кормления и содержания), активизируют прооксидантные процессы, снижают иммунитет и приводят к развитию различных заболеваний [3]–[7].

В такой ситуации объективная оценка метаболического статуса организма крупного рогатого скота на разных этапах его развития, способствует диагностике и принятию своевременных профилактических мер для сохранения здоровья животных и повышения их продуктивности. Одной из составляющих его оценки является исследование особенностей липидного обмена и прооксидантно-антиоксидантного статуса организма животных [6].

Среди показателей, характеризующих состояние липидного обмена, в настоящее время определяют содержание общих липидов, триглицеридов (триацилглицеринов), общего холестерина. Интенсивность прооксидантной системы оценивают по уровню диеновых конъюгатов (ДК), кетодикенов и триенкетонов (КД+ТК), активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП) в плазме (сыворотке) крови, а для оценки состояния

антиоксидантной системы (АОС) исследуют содержание аскорбиновой кислоты (АК), токоферола (ТФ) и активность церулоплазмينا (ЦП) [2], [6]–[11].

В литературе имеются публикации, посвященные исследованию данных вопросов. Однако они проводились главным образом на фоне изучения влияния кормовых добавок или ветеринарных препаратов. Поэтому изучение состояния липидного обмена, прооксидантной и антиоксидантной систем необходимо для определения референтных величин, характеризующих метаболический статус организма коров на определенных этапах его онтогенеза и во взаимосвязи с уровнем продуктивности. Это позволит своевременно выявлять нарушения протекания обменных процессов и проводить необходимые лечебные и профилактические мероприятия, корректировать кормление и содержание животных в различные периоды их промышленной эксплуатации.

Цель нашей работы состояла в исследовании показателей липидного обмена, пероксидного окисления липидов и антиоксидантной системы плазмы крови у коров-первотелок в начальный период лактации.

В связи с этим были поставлены следующие *задачи*:

- определить содержание первичных (диенкетонов) и вторичных (кетодиенов + триенкетонов, а также ТБК-активных продуктов) в плазме крови коров-первотелок;
- определить показатели АОС (содержание АК, ТФ, активность ЦП) в плазме крови данных животных.

Методы исследования. Работа проведена на базе молочного комплекса «Подберезье» СПК «Ольговское» Витебского района Витебской области. Для решения поставленных задач были отобраны 10 коров-первотелок с живой массой 450–470 кг и суточным удоем 23,5 кг молока. Животные находились в одной секции с беспривязным содержанием.

Исследование химического состава кормов, входивших в состав рациона коров-первотелок, проводили в соответствии с традиционными методами зооанализа в лаборатории кафедры кормления сельскохозяйственных животных учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» (УО ВГАВМ). В кормах рассчитывали обменную энергию и определяли содержание сухого вещества, сырого и переваримого протеина, сырой клетчатки, сахаров и сырого жира.

Кровь от животных брали из яремной вены утром до кормления в стерильные пробирки с соблюдением правил асептики и антисептики. В качестве антикоагулянта для получения плазмы использовали гепарин.

Биохимические исследования проводили в лаборатории кафедры химии УО ВГАВМ. В плазме крови определяли показатели обмена липидов – содержание общих липидов, триглицеридов, общего холестерина, прооксидантной системы – уровень диеновых конъюгатов, кетодиенов, триенкетонов, ТБК-активных продуктов и антиоксидантной системы – содержание аскорбиновой кислоты, токоферола и активность церулоплазмينا.

Уровень общих липидов, триглицеридов и общего холестерина определяли фотометрическим методом с использованием наборов НТК «Анализ-Х» (Республика Беларусь) и «Витал Дигностикс СПб» (Российская Федерация).

Продукты ПОЛ в плазме крови экстрагировали гептан-изопропанольной смесью, взятой в соотношении 2:1. Оптическую плотность гептанового экстракта измеряли на спектрофотометре СФ-46. Значения абсорбции при 232 нм (A_{232}) соответствовали содержанию диеновых конъюгатов, а при 278 нм (A_{278}) – суммарному уровню кетодиенов и триенкетонов [10], [12]. Показатели абсорбции A_{232} и A_{278} выражали в расчете на мл плазмы крови и на мг липидов плазмы крови.

Содержание ТБК-активных продуктов в мкмоль/л плазмы определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой, регистрируя оптическую плотность бутанольного экстракта при 535 нм (специфическое поглощение) и 580 нм (неспецифическое поглощение) [13].

Показатели АОС определяли фотометрическим методом: активность ЦП (КФ 1.16.3.1) в мкмоль/л·мин плазмы по реакции окисления парафенилендиамина, а содержание АК и ТФ в мкмоль/л – по реакции с α, α' -дипиридиллом [8].

Для более полной характеристики прооксидантно-антиоксидантного статуса организма первотелок были рассчитаны соотношения ТБК–АП/ЦП и ТБК–АП/ТФ.

Статистическая обработка экспериментальных данных осуществлялась с использованием программ «Биолстат» и «Microsoft Excel».

Результаты исследования и их обсуждение

Организм коров-первотелок отличается высокой продуктивностью, что приводит к большому напряжению обменных процессов в организме животных, а это, в свою очередь, предъявляет повышенные требования к организации их полноценного кормления [14], [15]. Проведенный нами анализ рациона первотелок показал, что по кормовым единицам и уровню обменной энергии он в целом соответствовал норме (таблица 1). Однако по ряду элементов питания имелись отклонения от нормативных критериев. Так имелся дефицит протеина (8,1–8,5%) и сахаров (11,1%) на фоне повышенного содержания в рационе первотелок жира. Снижение сахаро-протеинового соотношения может явиться предпосылкой к развитию кетоза, что отразится на снижении продуктивности коров и приведет к их ранней выбраковке из стада.

Таблица 1 – Содержание элементов питания в рационе коров-первотелок в начальный период лактации

Показатели	Смесь злаково-бобовых трав	Комби-корм	Всего в рационе	Норма	% обеспеченности
Количество, кг	50	6	56		
Обменная энергия, Мдж	130	65	195	193	101,0
Сухое вещество, кг	12,5	5	17,5	19	92,1
Сырой протеин, г	1350	1176	2526	2760	91,5
Переваримый протеин, г	900	750	1650	1795	91,9
Сырая клетчатка, г	3950	336	4286	4180	102,5
Сахара, г	900	340	1240	1395	88,9
Сырой жир, г	500	156	656	615	106,7

Отмеченные нарушения в кормлении животных отразились на состоянии липидного обмена, ПОЛ и АОС, показатели которых отличались широкой вариабельностью (таблица 2). При этом содержание общих липидов у 70% исследованных коров превышало норму (2,80–6,00 г/л) [8].

Гиперхолестеринемия также была зарегистрирована у 70% животных (норма – 1,30–4,42 ммоль/л). В то же время у всех исследованных коров первой лактации уровень триглицеридов плазмы крови был ниже нормативных величин (0,22–0,60 ммоль/л) [8], что, возможно, связано с низким уровнем эндогенного синтеза данной группы липидов.

Определение диеновых конъюгатов, являющихся первичными продуктами пероксидного окисления липидов, используется для обнаружения в биологическом материале ацилгидроперексидей полиненасыщенных жирных кислот [10]. Анализ проведенных нами исследований показал, что содержание диеновых конъюгатов в плазме крови не превышает нормативных значений (0,100–0,300 ед. опт. пл./мг липидов).

Таблица 2 – Показатели липидного обмена, пероксидного окисления липидов и антиоксидантной системы плазмы крови коров-первотелок в начальный период лактации

Исследованные показатели	Min–Max	M±σ
1	2	3
<i>Показатели липидного обмена</i>		
ОЛ, г/л	4,40–10,13	6,92±1,838
ТАГ, _оль/л	0,01–0,10	0,05±0,032
ОХ, _оль/л	3,23–10,43	5,45±2,084
<i>Показатели ПОЛ</i>		
ДК, A ₂₃₂ /мл плазмы	0,062–0,377	0,203±0,0847

Продолжение таблицы 2

1	2	3
КД+ТК, A ₂₇₈ /мл плазмы	0,109–0,180	0,148±0,0232
ДК, A ₂₃₂ /мг липидов	0,010–0,052	0,031±0,0139
КД+ТК, A ₂₇₈ /мг липидов	0,016–0,033	0,023±0,0070
ТБК-АП, мкмоль/л	1,60–11,28	5,70±3,223
<i>Показатели АОС</i>		
АК, мкмоль/л	13,78–27,55	21,30±3,801
ТФ, мкмоль/л	5,26–14,33	8,36±2,522
ЦП, мкмоль/л·мин	66,50–328,22	162,71±68,222
ТБК-АП/ТФ	0,112–1,580	0,755±0,4511
ТБК-АП/ЦП	0,013–0,114	0,043±0,0332

Аналогичная картина получена нами и по уровню диенкетонов и триенкетонов, уровень которых не превысил норму (0,050–0,100 ед. опт. пл/мг липидов) [7], [8]. В то же время содержание ТБК-активных продуктов, основным компонентом которых является малоновый диальдегид, оказался значительно выше нормы (0,25–1,00 мкмоль/л) [7]. Это свидетельствует об усилении процессов свободно-радикального окисления и накоплении вторичных продуктов ПОЛ.

Для поддержания в организме животных физиологического гомеостаза и нормального функционирования органов и тканей необходим баланс между функционированием прооксидантной и антиоксидантной систем.

Переход биологической системы на более напряженный уровень деятельности сопряжен с повышенной потребностью в веществах, обладающих антиоксидантной активностью.

Активность церулоплазмينا является важным показателем, позволяющим осуществлять динамические наблюдения за функциональным состоянием антиоксидантного потенциала организма животных [2], [6]. Данный белок нейтрализует радикалы O₂⁻, связывает ионы Fe²⁺ и Cu⁺, которые являются инициаторами процессов ПОЛ [8], [16], [17]. Проведенные нами исследования по активности церулоплазмينا плазмы крови показали, что у 40% первотелок данный показатель ниже необходимых нормативных величин (150–550 мкмоль/л·мин) [7], [8].

Токоферол – один из важнейших компонентов антиоксидантной системы. Он защищает от процессов свободнорадикального окисления непредельные жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов клеточных мембран [18]. Анализ литературных данных показал большую вариабельность данного показателя у крупного рогатого скота. В наших исследованиях было установлено, что уровень витамина Е в плазме крови 90% обследованных животных не соответствовал норме (10–34 мкмоль/л) [7], [8].

Аскорбиновая кислота также является компонентом АОС. Она способствует сохранению запасов витамина Е. Полученные нами результаты по содержанию аскорбиновой кислоты показали, что ее уровень у всех исследованных первотелок оказался ниже нормы (34,09–85,23 мкмоль/л) [8].

Таким образом, низкий уровень церулоплазмينا, токоферола и аскорбиновой кислоты в плазме крови свидетельствует о слабой активности антиоксидантной системы у коров-первотелок в начальный период лактации, когда организм животных характеризуется напряженностью метаболических процессов и подвержен воздействию различных стрессовых факторов.

Сопряженность протекания процессов ПОЛ и АОЗ можно оценить, рассчитав соотношение ряда компонентов этих систем и корреляций между ними. Определенные нами соотношения ТБК-АП/ТФ и ТБК-АП/ЦП плазмы крови коров-первотелок вследствие отсутствия в литературе нормативных величин могут служить ориентировочными данными для анализа сбалансированности системы ПОЛ-АОС в последующих исследованиях.

Расчет корреляций между показателями ПОЛ и АОС показал, что между ними в целом имеет место отрицательная зависимость (таблица 3). Это указывает на разбалансированность в работе данных систем. Лишь между суммарным содержанием кетодиенов и триенкетонов с одной стороны, и уровнем аскорбиновой кислоты, с другой стороны, имеется положительная корреляция средней величины.

Таблица 3 – Корреляции между показателями пероксидного окисления липидов и антиоксидантной системы плазмы крови коров-первотелок в начальный период лактации

Показатели	Коэффициент корреляции (r)
ДК – АК	0,20
ДК – ТФ	-0,23
ДК – ЦП	-0,33
КД+ТК – АК	0,41
КД+ТК – ТФ	-0,08
КД+ТК – ЦП	0,13
ТБК-АП – АК	-0,46
ТБК-АП – ТФ	-0,44
ТБК-АП – ЦП	-0,25

Выводы

Проведенные нами исследования по изучению состояния липидного обмена, ПОЛ и АОС у коров-первотелок в начальный период лактации позволили сделать следующие выводы:

1. Избыток жиров в рационе животных приводит к повышению содержания общих липидов, общего холестерина, ТБК-активных продуктов на фоне низкого уровня антиоксидантов плазмы крови.

2. Для восстановления сбалансированности нарушенного в начальный период лактации прооксидантно-антиоксидантного соотношения у коров-первотелок необходимо скорректировать рацион животных по жиру и витаминам-антиоксидантам.

3. Полученные результаты исследований могут быть использованы в оценке состояния липидного обмена и прооксидантно-антиоксидантного статуса организма коров-первотелок, а в комплексе с другими биохимическими показателями плазмы крови – для мониторинга физиологического состояния данных животных в начальный период лактации.

Литература

1. Государственная программа устойчивого развития села на 2011–2015 годы [Электронный ресурс] / Комитет по сельскому хозяйству и продовольствию Гомельского облисполком. – Режим доступа : [http : //www.agro.gomel.by/docs/ceho.pdf](http://www.agro.gomel.by/docs/ceho.pdf). – Дата доступа : 26.07.2013.

2. Ярован, Н.И. Биохимические аспекты оценки, диагностики и профилактики технологического стресса у сельскохозяйственных животных : автореф. дис. ... д-ра. биол. наук : 03.00.04 / Н. И. Ярован ; ФГОУ ВПО МГАВМиБ им. К. И. Скрябина. – М., 2008. – 39 с.

3. Венцова, И. Ю. Показатели антиоксидантного статуса у высокопродуктивных коров в динамике сухостойного и послеродового периодов / И. Ю. Венцова // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2012. – № 4. – С. 46–48.

4. Воскобойник, В. Ф. Ветеринарное обеспечение высокой продуктивности коров / В. Ф. Воскобойник. – М. : Росагропромиздат, 1988. – 287 с.

5. Копылов, С. Е. Перекисное окисление липидов у коров / С. Е. Копылов, Е. В. Пименов // Ветеринарная медицина. – 2012. – № 1. – С. 45–47.

6. Новикова, И. А. Коррекция биохимического статуса у высокопродуктивных коров при кетозах в условиях промышленного комплекса : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.01.04 / И. А. Новикова ; ФГБОУ ВПО КГСХА им. проф. И. И. Иванова. – Курск, 2013. – 19 с.

7. Перекисное окисление липидов и эндогенная интоксикация у животных (значение в патогенезе внутренних болезней животных, пути коррекции : монография) / С. С. Абрамов [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2007. – 208 с.

8. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики : справочник / И. П. Кондрахин [и др.] ; под ред. проф. И. П. Кондрахина. – М. : КолосС, 2004. – 520 с.

9. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М. : МЕДпресс-инфо, 2004. – 920 с.

10. Перекисное окисление липидов при неврологической патологии у детей / Е. М. Васильева [и др.] // Клинич. лаборатор. диагностика. – 2005. – № 2. – С. 8–12.

11. Холод, В. М. Справочник по ветеринарной биохимии / В. М. Холод, Г. Ф. Ермолаев. – Минск : Ураджай, 1988. – 168 с.
12. Гаврилов, В. Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Н. Ф. Хмара // Лаборатор. дело. – 1988. – № 2. – С. 60–64.
13. Гаврилов, В. Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Л. М. Мажуль // Вопросы мед. химии. – 1987. – № 1. – С. 118–122.
14. Ковзов, В. В. Диагностика нарушений обмена веществ у высокопродуктивных коров / В. В. Ковзов // Ученые записки Витебской ордена «Знак Почета» гос. акад. ветеринар. медицины. – 2007. – Т. 43, вып. 1. – С. 109–111.
15. Разумовский, Н. П. Высокопродуктивные коровы: обмен веществ и полноценное кормление / Практическое пособие для ветеринарных врачей, зооинженеров, студентов факультета ветеринарной медицины, зооинженерного факультета и слушателей ФПК / Н. П. Разумовский, В. В. Ковзов, И. Я. Пахомов. – Витебск : УО ВГАВМ, 2007. – 290 с.
16. Gutteridge, J. M. Inhibition of the Fenton reaction by the protein caeruloplasmin and other copper complexes. Assessment of ferroxidase and radical scavenging activities / J. M. Gutteridge // Chem. Biol. Interact. – 1985. – V. 56. – P. 113–120.
17. Stoj, C. Cuprous oxidase activity of yeast Fet 3 p and human ceruloplasmin: implication for function / C. Stoj, D. J. Kosman // FEBS Lett. – 2003. – V. 554. – P. 422–426.
18. Евсигнеева, Р. П. Витамин Е как универсальный антиоксидант и стимулятор биологических мембран / Р. П. Евсигнеева, И. М. Волков, В. В. Чудинова // Биол. мембраны. – 1998. – Т. 15, № 2. – С. 119–136.

Summary

The state of lipid metabolism, lipid peroxidation (LPO) and antioxidation system (AOS) of the blood plasma of fresh cows in the initial period of lactation at «Olgovskoye» closed company in Vitebsk region. It has been found out that against the background of the abundance of the sugar-protein correlation the organism of a cow is characterized by the high intensity of lipid peroxidation processes and by the disbalance of the lipid peroxidation- antioxidation system.

Поступила в редакцию 30.08.13