

УДК 636.2:612.015.3

**ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРООКСИДАНТНОЙ
И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ
У КОРОВ-ПЕРВОТЕЛОК В ТЕЧЕНИЕ ЛАКТАЦИОННОГО ПЕРИОДА**

О. П. Позывайло

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

И. В. Котович

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

С. Ю. Зайцев

доктор химических и доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой химии
ФГБОУ ВПО «МГАВМБ им. К. И. Скрябина» РФ

Исследованы показатели прооксидантного и антиоксидантного статуса у коров-первотелок черно-пестрой породы ЗАО «Ольговское» Витебской области в начальный и заключительный периоды лактации. Установлено, что на фоне дисбаланса между содержанием железа, меди и кобальта в крови коров отмечается низкая активность антиоксидантной системы организма первотелок.

Введение

Одним из важных факторов нормального физиологического состояния животных является сбалансированность интенсивности процессов пероксидного (перекисного) окисления липидов (ПОЛ) и состояния антиоксидантной системы (АОС) организма. ПОЛ в норме протекает на крайне низком уровне и выполняет функцию обновления фосфолипидного состава клеточных мембран. Перекиси, образующиеся в результате неферментативного окисления, выступают в роли неспецифических регуляторов фаго- и липоцитоза, окислительной деструкции чужеродных веществ, регуляторов проницаемости мембран лизосом и разборке избыточных мембранных структур. Ферментативное перекисное окисление способствует синтезу прогестерона, простагландинов, лейкотриенов и ряда других биологически активных веществ.

Под действием экстремальных факторов наблюдается интенсификация свободнорадикальных процессов и избыточное накопление продуктов ПОЛ, что играет важную роль в развитии синдрома эндогенной интоксикации, снижении активности антиоксидантной защиты и является основой патогенеза многих заболеваний незаразной этиологии [1], [2]. Например, в период интенсивного раздоя у 80% высокопродуктивных коров наблюдается нарушение прооксидантно-антиоксидантного статуса и отклонение от нормы ряда биохимических показателей [3].

Инициаторами процессов ПОЛ могут выступать ионы Fe^{2+} и Cu^+ . Вступая с пероксидом водорода в реакцию Фентона, они являются источником образования наиболее реакционной из активных форм кислорода (АФК) – радикала OH^\bullet , что приводит в свою очередь к серьезным нарушениям в функционировании различных структур клетки и к ее цитолизу [4], [5].

Поэтому опасны высокие дозы железа и меди на фоне стрессовых ситуаций и дефицита антиоксидантов.

Основную роль в связывании и транспорте меди в организме животных обеспечивает церулоплазмин, выполняющий также и антиоксидантные функции. Церулоплазмин – медьсодержащий белок и, по современным представлениям, рассматривается как один из основных

компонентов антиоксидантной системы плазмы крови. Он проявляет как специфическую (подобно супероксиддисмутазе), так и неспецифическую (купроксидазную и ферроксидазную) антиоксидантную активность [6]–[9].

Токоферол и аскорбиновая кислота также входят в состав АОС организма. Токоферол участвует в защите ненасыщенных жирных кислот фосфолипидов клеточных мембран от процессов липопероксидации, а аскорбиновая кислота способствует сохранению запасов витамина Е [10]–[12]. На кумуляцию аскорбиновой кислоты в организме животных и состояние АОС оказывает влияние кобальт [13].

В связи с тем, что одной из важных задач, стоящих на современном этапе развития молочного скотоводства Республики Беларусь, является получение большего количества продукции при сохранении здоровья животных, определенный интерес представляет изучение у коров-первотелок сбалансированности систем перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты организма. *Целью* нашей работы явилось исследование показателей прооксидантного и антиоксидантного статуса коров-первотелок в начальный и заключительный периоды лактации, когда организм животных характеризуется большим напряжением метаболических процессов в условиях адаптации к новым условиям кормления и содержания.

В работе были поставлены следующие *задачи*:

- изучить динамику содержания железа и меди в плазме, гемоглобина и кобальта – в цельной крови коров в течение лактационного периода;
- определить характер изменения уровня антиоксидантов плазмы крови – аскорбиновой кислоты, токоферола и церулоплазмينا.

Материал и методы исследований. Работа проводилась на базе ЗАО «Ольговское» Витебского района Республики Беларусь. Для решения поставленных задач в начальный период лактации были отобраны коровы-первотелки (10 голов) с учетом возраста (2,5 года), живой массы (450–470 кг) и уровня продуктивности (суточный удой – 23,5 кг молока). Животные в течение лактационного периода находились в одной секции в условиях беспривязного содержания. Среднесуточный удой в конце лактации составлял 12 кг молока.

Для проведения биохимических исследований в начале и в конце лактационного периода у животных из яремной вены брали кровь (утром до кормления) в стерильные пробирки с соблюдением правил асептики и антисептики). Стабилизацию крови осуществляли с помощью гепарина.

Экспериментальные исследования были проведены в ЦНИЛ научно-исследовательского института ветеринарной медицины и биотехнологии (аттестат аккредитации согласно СТБ / ИСО / МЭК 17025 № ВУ / 11202.1.0.087) и в лаборатории кафедры химии УО «ВГАВМ».

В плазме крови фотометрическим методом определяли содержание железа (по образованию комплекса ионов Fe^{2+} с хромогеном с применением наборов ООО «Ольвекс Диагностикум», Российская Федерация), меди (по реакции ионов Cu^{+} с батокупроином с использованием наборов фирмы «PLIVA-Lachema», Чешская республика), аскорбиновой кислоты и токоферола – по реакции с α , α -дипиридиллом, активность церулоплазмينا – по реакции окисления парафенилендиамина [7].

Для более полной характеристики обмена железа и меди исследовали содержание гемоглобина и кобальта в цельной крови. Концентрацию гемоглобина определяли гемиглобинцианидным методом (с применением наборов НТК «Анализ-Х», Республика Беларусь), а кобальта – атомно-абсорбционным методом с использованием спектрофотометра МГА-915 (Российская Федерация).

Полученные данные были статистически обработаны с использованием программы «Microsoft Excel».

Результаты исследования и их обсуждение

Железо, кобальт и медь входят в состав ряда ферментов, необходимых для обеспечения процессов жизнедеятельности организма (кроветворение, окислительное фосфорилирование и др.) [6], [13], [14]. В организме животных медь участвует в мобилизации железа из печени и клеток ретикулоэндотелиальной системы, катализирует включение железа в структуру гемоглобина.

Также она способствует поступлению железа в костный мозг, где совместно принимает участие в созревании эритроцитов. Медь является кофактором супероксиддисмутазы, необходимой для нейтрализации свободных радикалов кислорода, активно участвует в биохимических процессах как составная часть электронпереносящих белков, осуществляющих реакции окисления органических субстратов молекулярным кислородом [13].

В тоже время, ионы Fe^{2+} и Cu^+ могут вовлекаться в процессы ПОЛ, что при их интенсификации может привести к различным патологиям. Проведенные нами исследования показали, что содержание железа в плазме крови коров-первотелок в начальный и заключительный периоды лактации имеет широкую вариабельность значений (таблица). При этом в начале лактации данный показатель был близок к нижней границе нормы, а у 40% животных оказался ниже ее.

Таблица – Динамика содержания гемоглобина*, железа, кобальта*, меди, аскорбиновой кислоты, токоферола и активность церулоплазмينا в крови коров-первотелок в различные периоды лактации

Исследованные показатели	Min – Max	M ± m	Норма
<i>Начало лактации</i>			
Гемоглобин, г/л	86,57–102,00	95,10 ± 1,46	99,00–129,0
Железо, мкмоль/л	12,91–28,95	19,48 ± 1,67	17,85–28,57
Кобальт, нмоль/л	380,00–1 000,00	582,00 ± 67,52	510,00–850,00
Медь, мкмоль/л	13,48–32,36	21,60 ± 2,20	12,50–18,75
Аскорбиновая кислота, мкмоль/л	13,78–27,55	21,30 ± 1,20	34,09–85,23
Токоферол, мкмоль/л	5,26–14,33	8,36 ± 0,80	14,00–34,00
Церулоплазмин, мкмоль/л-мин	66,50–328,22	162,71 ± 21,57	150,00–550,00
<i>Конец лактации</i>			
Гемоглобин, г/л	88,28–139,71	111,92 ± 4,93**	99,00–129,0
Железо, мкмоль/л	16,35–54,87	33,33 ± 4,20**	17,85–28,57
Кобальт, нмоль/л	150,00–1 060,00	550,00 ± 69,37	510,00–850,00
Медь, мкмоль/л	29,66–64,72	37,99 ± 3,58**	12,50–18,75
Аскорбиновая кислота, мкмоль/л	18,29–24,39	20,94 ± 0,61	34,09–85,23
Токоферол, мкмоль/л	1,12–9,24	2,98 ± 0,81***	14,00–34,00
Церулоплазмин, мкмоль/л-мин	72,94–148,02	117,45 ± 7,73	150,00–550,00

Примечание – содержание гемоглобина и кобальта приведено в цельной крови, остальных показателей – в плазме.

P < 0,01; *P < 0,001 по отношению к показателям на начало лактации.

В конце лактационного периода отмечалось резкое увеличение содержания железа в плазме крови первотелок – на 71,10% (P < 0,01) по отношению к началу лактации. При этом уровень железа у 50% коров превышал норму.

Низкое содержание железа в начале лактации отразилось и на концентрации гемоглобина в крови первотелок. Данный белок проявляет как прооксидантные, так и антиоксидантные свойства [15]. Уровень гемоглобина в крови 70% первотелок в начальный период лактации не соответствовал норме. Это может привести к нарушению транспорта кислорода в организме коров и к разбалансированности системы ПОЛ-АОС.

В заключительный период лактации содержание гемоглобина в крови коров-первотелок повышается на 12,53% ($P < 0,01$) и в целом соответствует необходимым нормативным критериям.

Одной из возможных причин низкого уровня железа и гемоглобина в крови коров-первотелок в начале лактации мы считаем несбалансированность рациона животных по кобальту.

Так, обеспеченность животных данным микроэлементом составляла в начальный период лактации лишь 58%. При этом концентрация кобальта в крови колебалась в широких пределах, а у 60% первотелок она оказалась ниже нормы. Низкое содержание кобальта в крови 50% первотелок отмечалось и в заключительный период лактации. При этом уровень обеспеченности коров данным микроэлементом в рационе составлял всего 38,8%.

Недостаток кобальта в рационе коров может привести к снижению интенсивности микробиальных процессов в рубце, нарушению процессов кроветворения, белкового и углеводного обмена. В конечном итоге может снизиться живая масса коров, их продуктивность, что приведет к ранней выбраковке животных из стада.

Содержание меди в плазме крови коров-первотелок имело широкий диапазон колебаний в начале и в конце лактации. При этом в начальный период лактации концентрация меди в плазме крови у 40% обследованных животных соответствовала норме, а у 60% оказалась выше необходимых нормативных значений [7]. К окончанию лактации уровень меди в плазме крови увеличился на 75,88% ($P < 0,01$) и у всех первотелок значительно превышал норму. Это можно объяснить высоким содержанием меди в рационе коров. Так, при норме 100 мг, фактическое содержание меди в рационе первотелок составляло 173 мг.

Высокий уровень железа и меди в организме коров-первотелок на фоне выявленного в их рационе в заключительный период лактации избытка жира (456 г вместо 355 г по норме) может способствовать активизации процессов перекисного окисления липидов и привести к различным патологическим процессам, снижению продуктивности и нарушению репродуктивных функций.

На фоне дисбаланса между содержанием железа, кобальта и меди в начальный и заключительный периоды лактации нами был выявлен низкий уровень антиоксидантов в плазме крови коров-первотелок. Так в начале лактации активность церулоплазмينا была близка к нижней границе нормы. Однако у 30% коров она не соответствовала ей. К концу лактационного периода активность церулоплазмينا снизилась на 27,52%. Содержание аскорбиновой кислоты и токоферола было ниже нормы на 37,52% и 40,29% соответственно. В конце лактации концентрация аскорбиновой кислоты в плазме крови первотелок осталась практически на том же уровне, а содержание токоферола снизилось в 2,8 раза ($P < 0,001$).

Низкий уровень аскорбиновой кислоты, токоферола и церулоплазмينا может приводить к ослаблению антиоксидантной защиты в начале и в конце лактационного периода, когда организм коров-первотелок отличается напряжением всех метаболических процессов и подвержен воздействию различных стрессовых факторов.

Выводы

Проведенные исследования позволяют сделать следующие *выводы*:

1. В начальный период лактации отмечается низкий уровень гемоглобина и кобальта в цельной крови, а также железа в плазме крови коров-первотелок. К концу лактации содержание гемоглобина повышается до нормы, а концентрация железа и меди резко возрастает, превышая нормативные критерии, что создает предпосылки для активизации процессов перекисного окисления липидов.

2. На фоне дисбаланса между содержанием железа, кобальта и меди в начальный и заключительный периоды лактации отмечается низкий уровень антиоксидантов в плазме крови коров-первотелок.

3. Для устранения нарушения прооксидантно-антиоксидантного статуса коров-первотелок в начальный и заключительный периоды лактации следует скорректировать рацион животных по жиру, меди, кобальту и витаминам-антиоксидантам.

Літэратура

1. 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.

2. Тихазе, А. К. Влияние убихинона Q₁₀ и витаминов-антиоксидантов на свободнорадикальное окисление фосфолипидов мембран печени крыс / А. К. Тихазе, Г. Г. Коновалова, В. В. Ланкин // Бюл. экспер. биологии и медицины. – 2005. – № 8. – С. 30–32.

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

4. Gutteridge, J. M. Inhibition of the Fenton reaction by the protein ceruloplasmin and other copper complexes. Assessment of ferroxidase and radical scavenging activities / J. M. Gutteridge // Chem. Biol. Interact. – 1985. – V. 56. – P. 113–120.

5. Орлов, Ю. П. Метаболизм железа в биологических системах (биохимические, патофизиологические и клинические аспекты) / Ю. П. Орлов, В. Т. Долгих // Биомедицинская химия. – 2007. – Т. 53, вып. 1. – С. 25–38.

6. Васин, А. В. Идентификация молекулярной формы церулоплазмينا, локализованной в митохондриях крысы: автореф. ... дис. канд. биол. наук: 03.00.04 / А. В. Васин; ГУ НИИ экспер. медицины РАМН. – СПб., 2005. – 24 с.

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

8. Мжельская, Т. И. Биологические функции церулоплазмينا и их дефицит при мутации генов, регулирующих обмен меди и железа / Т. И. Мжельская // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. – 2000. – Т. 130, № 8. – С. 124–133.

9. 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.

10. 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.

11. Кармолиев, Р. Х. Свободнорадикальная патология в этиопатогенезе болезней животных / Р. Х. Кармолиев // Ветеринария. – 2005. – № 4. – С. 42–45.

12. Морозкина, Т. С. Витамины / Т. С. Морозкина, А. Г. Мойсеенок. – Минск: ООО «Асар», 2002. – 112 с.

13. Кучинский, М. П. Биозлементы – фактор здоровья и продуктивности животных / М. П. Кучинский. – Минск: Бизнесофсет, 2007. – 372 с.

14. Olivares, M. Copper as an essential nutrient / M. Olivares, R. Uauy // Am. J. Clin. Nutr. – 1996. – V. 63, № 5. – P. 791 S–796 S.

15. Калиман, П. А. Метаболизм гема и оксидативный стресс / П. А. Калиман, Т. В. Баранник // Укр. биохим. журнал. – 2001. – Т. 73, № 1. – С. 5–15.

Summary

The data of black-and-white first cow heifers prooxidant and antioxidant status during the initial and final period of lactation are examined. Against the imbalance between iron, copper and cobalt content in cows' blood low activity of first cow heifers organism's antioxidant system is determined.

Поступила в редакцию 23.11.12.