

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, НЕФЕРМЕНТАТИВНОЙ И ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ВОЗРАСТНОЙ ДИНАМИКЕ САМЦОВ КРОЛИКОВ

Д.Д. Аджиев

Российский государственный аграрный университет МСХА им. К.А. Тимирязева,
Москва, Россия;
Учреждение Российской академии медицинских наук Гематологический научный центр РАМН,
e-mail: adjiev-dd@mail.ru

Исследовали состояние перекисного окисления липидов по содержанию малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в плазме крови самцов кроликов разных возрастных групп, состояние неферментной антиоксидантной защиты: по содержанию токоферола и ретинола, а также ферментов эритроцитов (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза). Показано, что многие из исследованных параметров имеют уникальную возрастную динамику. Выявлена способность синтетических антиоксидантных препаратов в определенных дозах влиять на баланс в системе антиоксидантной защиты и минимизировать окислительный стресс. Приводится анализ полученных данных в связи с биологическими особенностями окислительного метаболизма животных, адаптационными возможностями и их продуктивностью.

Ключевые слова: кролики, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, малоновый диальдегид, диеновые конъюгаты, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза.

Введение

Одним из важных механизмов нормального развития организма является поддержание баланса процессов свободнорадикального и перекисного окисления различных субстратов и состояния антиоксидантной защиты (АОЗ).

Сравнительно мало изучены возрастные и половые особенности состояния антиоксидантной системы кроликов. Ранее были представлены данные, полученные на самках кроликов разного возраста при воздействии различных дозировок синтетических антиоксидантов. Были выявлены многочисленные особенности, в частности снижение содержания некоторых продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при одновременном увеличении активности некоторых ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах. Сделано предположение, что это, по всей видимости, коррелирует

со снижением скорости окислительного метаболизма при переходе к более зрелому возрасту.

Целый ряд различных факторов и в первую очередь качественный и количественный состав кормового рациона, обеспечивающий организм веществами и витаминами, необходимыми для формирования структуры и функционирования антиоксидантной системы (АОС), в значительной степени определяет состояние процессов ПОЛ и АОЗ.

Установлено также, что наряду с активацией ферментного звена значительную роль в становлении антиоксидантогенеза играют неферментные незаменимые факторы, одними из которых являются витамины с антиоксидантными свойствами – токоферолы и ретинолы.

В последние годы стало ясно, что одним из ведущих факторов, негативно влияющих на состояние здоровья молодняка кроликов, стали недостаточно полноценные рационы питания

с дефицитом микроэлементов, витаминов и других веществ, необходимых для нормального физиологического функционирования организма и качества получаемой от него продукции. Кроме того, до сих пор в кролиководстве не разработано существенных способов коррекции антиоксидантной недостаточности с учетом пола и возраста животных.

Целью работы явилось сравнительное исследование возрастных особенностей процессов свободно-радикального и перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у самцов кроликов.

Материалы и методы

Исследование проведено на 40 кроликах породы *советская шиншилла*, находящихся на стандартном рационе лаборатории экспериментальных животных, которым дополнительно к основному рациону вводились различные дозы антиоксидантных препаратов. Формирование групп животных проводилось по принципу аналогов с учетом возраста, пола и живой массы. Из подобранных по полу животных было сформировано 4 группы по 10 голов в каждой. Подопытные животные находились в одинаковых условиях содержания и были клинически здоровы.

VI (контрольную) группу вошли 10 кроликов, которые получали основной рацион (ОР) в виде гранулированного комбикорма К-122. Животные II и III и IV опытных групп дополнительно к основному рациону получали препарат *агидол кормовой* в дозах 250, 350 и 450 мг/кг комбикорма. Основной рацион животных во всех группах соответствовал нормам кормления кроликов, разработанным НИИПЗК (2006 г.), и состоял из полнорационного гранулированного комбикорма. Общая питательность рационов животных подопытных групп была одинаковой. Опыт, в который были отобраны крольчата в 60-дневном возрасте со средней живой массой 1,5 кг, продолжался 120 дней и был разбит на три этапа (начало – возраст 60 дней, середина – возраст 120 дней и конец – возраст 180 дней).

Подготовка биологического материала. Образцы гепаринизированной крови центрифугировали на стандартной лабораторной центрифуге при 3000 об/мин 15 мин. Плазму отделяли от осадка эритроцитов. Гемолизаты

готовили разведением эритроцитарной смеси дистиллированной водой (1 : 1, v/v), после чего замораживали при 10–15 °С.

Методы определения. Физиологическое состояние животных определяли по биохимическим и морфологическим показателям крови. Кровь брали из краевой ушной вены у кроликов обоих полов всех возрастных групп.

Интенсивность перекисного окисления липидов определяли по накоплению продуктов перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) – диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в плазме крови. В качестве основных показателей антиоксидантной защиты определяли активности каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы эритроцитов.

Содержание диеновых конъюгатов (ДК) в плазме оценивали на основе классического метода Z. Placer (1968) в модификации В.Б. Гаврилова, М.И. Мишкорудной (1983). При этом 0,2 мл плазмы вносили в пробирки с плотной крышкой и добавляли 2 мл чистоперегнанной смеси изопропанола гептан (1 : 1, v/v). Смесь встряхивали в течение 1 часа, после чего добавляли 0,5 мл HCl (рН = 2) и еще раз встряхивали 2 мин, затем добавляли 1 мл чистоперегнанного гептана и встряхивали еще 15 мин. Примерно через 1 час верхнюю фазу фотометрировали при 232 нм против контрольной пробы. Использовали коэффициент экстинкции $-2,2 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$.

Содержание ТБК-продуктов (малоновый диальдегид) в плазме оценивали по методу М. Mihara с соавт. (1980). 0,2 мл плазмы крови смешивали с 2 мл 1,4 %-й ортофосфорной кислоты и 1 мл 0,5 %-й тиобарбитуровой кислоты. Смесь инкубировали в кипящей бане 45 мин, после чего охлаждали и добавляли 2 мл н-бутанола. Пробирки тщательно встряхивали и центрифугировали при 4000 g в течение 20 мин. Верхнюю фазу фотометрировали против контрольной пробы при 532–570 нм. Расчеты проводили с коэффициентом экстинкции $1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$.

Определение активности глутатионредуктазы эритроцитов проводили на основе метода J.A. Tilbotsen, H. Sauberlich (1971) в адаптации для фотометра ФП-901 Г.Ю. Мальцева, Л.А. Орловой (1993). Параметры измерения: время

задержки – 15 с, время измерения – 120 с, кинетический режим: 37 °С, $\lambda = 340$ нм, $\varepsilon = 5,66$ (для ФП).

Определение активности глутатионпероксидазы эритроцитов проводили на основе метода G. Mille (1959) в модификации для ФП-901 (Мальцев, Тышко, 2002). Параметры измерения: время задержки – 20 с, время измерения – 120 с, кинетический режим: 37 °С, $\lambda = 340$ нм, $\varepsilon = 5,66$ (для ФП). При этом каталазная компонента была блокирована добавлением азида натрия.

Определение активности каталазы эритроцитов проводили на основе метода N. Oshino с соавт. (1973) в модификации Г.Ю. Мальцева, А.В. Васильева (1994) с использованием алкогольдегидрогеназной ловушки. Параметры измерения: время задержки – 20 с, время измерения – 120 с, кинетический режим: 37 °С, $\lambda = 340$ нм, $\varepsilon = 5,66$ (для ФП).

Определение активности супероксиддисмутазы эритроцитов проводили на основе метода M. Nishikimi с соавт. (1972) в модификации для ФП-901 (Мальцев, Васильев, 1994). Режимы измерения: время задержки – 10 с, время измерения – 180 с, кинетический режим: 25 °С, $\lambda = 540$ нм, параллельный режим для опытной и фоновой пробы.

Анализ показателей периферической крови проводили на полностью автоматизированном гематологическом анализаторе «Abacus junior vet».

Биохимические исследования крови проводили на автоматическом анализаторе открытого типа Labio 200 с программным обеспечением Master Labio 200. Принцип работы – фотометрия.

Концентрацию ретинола и α -токоферола в плазме крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием концентрирующих патронов.

Математическую обработку полученных результатов проводили общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программы Statistica 6,0.

Работа выполнена на кафедре кормления и кафедре морфологии и физиологии животных Российского государственного аграрного университета МСХА имени К.А. Тимирязева и в Государственном учреждении Гематологический научный центр РАМН в 2008–2010 гг.

Результаты исследований

Экспериментальные исследования различных показателей антиоксидантного статуса организма кроликов самцов показали значительные изменения как по возрастной динамике, так и при применении синтетических антиоксидантов (группы II–IV).

Основным параметром оценки наличия окислительного стресса является накопление первичных и вторичных продуктов свободно-радикального окисления. В силу стабильности продукты перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), включая диеновые конъюгаты ПНЖК (ДК) и основной продукт реакции с тиобарбитуровой кислотой – малоновый диальдегид (МДА) являются наиболее информативными показателями наличия окислительного стресса.

В табл. 1 представлены результаты измерений содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в различные периоды онтогенеза кроликов-самцов при добавлении синтетических антиоксидантов.

По содержанию диеновых конъюгатов в плазме крови в контрольной группе животных с возрастом отмечаются значительные изменения. Наблюдается достоверная (до 18,2 % – в 120 дней и до 13,7 % – в 180 дней) тенденция к уменьшению. В то же время в отношении содержания малонового диальдегида следует отметить менее значительное по мере взросления (на 180-й день), но достоверное уменьшение его содержания примерно на 17,9 % ($p < 0,05$). В сравнении с полученными данными на самках следует отметить аналогию в тенденции с той лишь разницей, что в отличие от самцов снижение содержания продуктов ПОЛ на самках по мере взросления шло почти в 2 раза интенсивнее.

В экспериментальных группах (группы II–IV) в возрастном аспекте имеются аналогичные и достоверные тенденции к снижению диеновых конъюгатов: на 29,3 % в середине опыта и на 32,2 % в конце опыта в группе II, на 24,8 % и 26,7 % – в группе III и на 24,1 % и 26,1 % – в IV группе соответственно. Что касается данных по отношению к контрольной группе, то имеется значительное достоверное снижение содержания ДК в середине эксперимента в группах II и

Таблица 1

Содержание продуктов перекисного окисления липидов в плазме крови самцов кроликов

Возраст, дни	Группа			
	I (контроль)	II	III	IV
Диеновые конъюгаты, нмоль/мл				
60	2,04 ± 0,07	2,05 ± 0,09	2,06 ± 0,19	2,03 ± 0,16
120	1,67 ± 0,02	1,45 ± 0,04*	1,55 ± 0,14	1,54 ± 0,02*
180	1,76 ± 0,05	1,39 ± 0,06*	1,51 ± 0,13	1,50 ± 0,15
Малоновый диальдегид, нмоль/мл				
60	1,23 ± 0,09	1,21 ± 0,08	1,22 ± 0,07	1,21 ± 0,07
120	1,01 ± 0,11	0,74 ± 0,07	0,76 ± 0,05	0,85 ± 0,04
180	1,01 ± 0,04	0,68 ± 0,06*	0,68 ± 0,07*	0,74 ± 0,05*

* $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе I.

IV на 13,2 % и 7,8 % соответственно ($p < 0,05$). В III группе достоверных изменений не отмечается. Имеется значительное достоверное снижение содержания ДК к концу эксперимента в группе II на 21 % ($p < 0,05$). Во II и III опытной группе содержание продуктов ПОЛ в плазме крови самцов кроликов по отношению к контролю уменьшилось на 14,2 % и 14,8 % соответственно, но эти отличия недостоверны (табл. 1).

Выявлено значительное уменьшение уровня малонового диальдегида в эритроцитах самцов кроликов опытных групп в возрастной динамике по отношению к началу опыта. Так, в середине опыта содержание малонового диальдегида снизилось во всех опытных группах, однако наиболее существенное понижение уровня содержания продукта ПОЛ по отношению к началу отмечено во II и III опытных группах на 38,8 % и 37,7 % соответственно. В конце опыта (возраст 180 дней) содержание МДА снизилось еще больше во всех опытных группах животных (на 43,8 % – во II, на 44,3 % – в III и на 29,7 % – в IV группе) по отношению к началу эксперимента. По отношению к контролю содержание МДА в середине опыта недостоверно снизилось во II опытной группе на 26,7 %, в III – на 24,7 % и в IV группе – на 15,8 % соответственно. В конце опыта по отношению к контрольным значениям достоверное снижение составило: во II, III – на 32,7 и в IV опытных группах – на 26,7 % ($p < 0,05$) (табл. 1).

Таким образом, действие синтетических антиоксидантов у самцов кроликов на про-

дукты ПОЛ практически повторяет их эффект у самок с разницей по амплитуде снижения. Можно предположить, что эти различия обусловлены большей склонностью к образованию свободных радикалов у самок более зрелого возраста.

Среди низкомолекулярных антиоксидантов, представляющих неферментативное звено антиоксидантной системы, значительная роль принадлежит витамину Е (α -токоферолу) и витамину А (ретинолу). Предотвращая окисление ненасыщенных жирных кислот – важнейших компонентов клеточных мембран и органелл, токоферол поддерживает структурную целостность клеток (Зенков, 2001). Кроме того, витамин Е, который в организме кроликов не синтезируется, известен как витамин плодовитости, или фактор размножения. Известно, что отсутствие токоферола в пище животных ведет к бесплодию: у самцов прекращается образование спермы, у самок наблюдается резорбция яйцеклеток. Установлено, что потребность самцов в витамине Е в 1,5 раза выше, чем у самок.

Антиоксидантную систему защиты организма условно можно разделить на неферментативные и ферментативные звенья, причем первые в большей степени выполняют функцию быстрой инактивации свободных радикалов кислорода и азота, в то время как ферментативные относятся к терминальным системам длительной защиты организма.

Витамины с антиоксидантными свойствами – токоферол (Е) и ретинол (А) – относятся к числу

важнейших неферментативных антиоксидантов, реализующих свое действие в мембранной и липопротеиновой фазах. Содержание витаминов А (ретинола) и Е (токоферола) в плазме крови было исследовано в данных экспериментальных условиях. В табл. 2 приведены данные, полученные на самцах кроликов в различных возрастных группах в динамике использования синтетических антиоксидантов.

Исследование содержания альфа-токоферола и ретинола в плазме крови самцов кроликов позволяет выявить возрастную закономерность, заключающуюся в достоверном увеличении содержания токоферола на 21 % и на 25,7 % на сроках 120 и 180 дней по отношению к начальным значениям (в 60 дней), в то время как для ретинола таких изменений не отмечается. Эта возрастная динамика характерна и для самок.

Использование синтетических антиоксидантов в опытных группах (группы II–IV) привело к достоверному увеличению содержания токоферола на 180-й день во всех группах относительно начальных значений: во II группе – на 41,3 %, в III группе – на 28,5 % и в IV группе – на 37,2 % по отношению к начальным значениям. Однако, что касается достоверных различий с контрольной группой, то достоверное увеличение при $p < 0,05$ отмечается для II группы – на 14,7 % (табл. 2).

Содержание витамина А во всех опытных группах самцов кроликов в середине опыта достоверно не изменилось, однако тенденция к более существенному повышению по сравне-

нию с начальным этапом опыта наблюдается в опытных группах животных на 21,7 %, 23,8 % и на 13 % соответственно во II–IV группах на сроке 180 дней (различия по отношению к начальному периоду недостоверны). В то же время по отношению к контролю увеличение содержания ретинола во II опытной группе на 81,8 % можно считать достоверным ($p < 0,05$). Но в других опытных группах (III–IV) значительное увеличение (в III группе – на 54,5 % и в IV группе – на 50 %) не является достоверным из-за высокой дисперсии данных (табл. 2).

Таким образом, характер изменения токоферолов плазмы крови у самцов и самок кроликов почти идентичен, однако в отношении содержания ретинола имеются значительные половые различия неясной природы.

Ферментативная система антиоксидантной защиты на уровне целого организма представлена эритроцитарной системой ферментов, включая супероксиддисмутазу и каталазу в качестве начального звена защиты от супероксид-анион радикалов и перекиси водорода и конечного глутатионового звена – глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в качестве защиты от органических гидроперекисей.

В табл. 3 представлены данные об активности супероксиддисмутазы и каталазы этих ферментов в эритроцитах самцов кролика при воздействии синтетических антиоксидантов.

Анализ возрастной динамики активности супероксиддисмутазы и каталазы показыва-

Таблица 2

Содержание витаминов Е (альфа-токоферола) и А (ретинола) в плазме крови самцов кроликов

Возраст, дни	Группа			
	I (контроль)	II	III	IV
Альфа-токоферол, мкг/мл				
60	1,52 ± 0,02	1,55 ± 0,04	1,54 ± 0,03	1,53 ± 0,03
120	1,84 ± 0,06	1,90 ± 0,07	1,86 ± 0,03	1,87 ± 0,05
180	1,91 ± 0,08	2,19 ± 0,08*	1,98 ± 0,08	2,01 ± 0,11
Ретинол, мкг/мл				
60	0,21 ± 0,05	0,23 ± 0,05	0,21 ± 0,07	0,23 ± 0,03
120	0,25 ± 0,10	0,28 ± 0,09	0,26 ± 0,06	0,26 ± 0,06
180	0,22 ± 0,05	0,40 ± 0,06*	0,34 ± 0,07	0,33 ± 0,10

* $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе I.

Таблица 3

Активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы эритроцитов самцов кроликов

Возраст, дни	Группа			
	I (контроль)	II	III	IV
СОД, усл. ед./мл				
60	1312 ± 61	1311 ± 38	1313 ± 53	1312 ± 47
120	1218 ± 57	1229 ± 68	1222 ± 44	1222 ± 59
180	1083 ± 26	1216 ± 29*	1216 ± 27*	1201 ± 37
Каталаза, кУ/мл				
60	368 ± 23	369 ± 25	371 ± 19	370 ± 18
120	345 ± 7	356 ± 20	354 ± 22	354 ± 25
180	317 ± 4	344 ± 5*	348 ± 4*	333 ± 8

* $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе I.

ет достоверное снижение активности обоих ферментов на 17,4 % и на 13,9 % по мере взросления животных. Эти данные, отчетливо проявляющиеся как у самок, так и у самцов, свидетельствуют о наличии параллелизма между окислительными процессами и окислительным метаболизмом в расчете на единицу массы тела, которые, как известно, являются максимальными в юном возрасте.

В отличие от контрольной группы введение синтетических антиоксидантов самцам кроликов приводило к увеличению активности супероксиддисмутазы. Если в возрастной динамике отмечается лишь тенденция к уменьшению активности примерно на 6,2–7,2 % в различных группах, то по отношению к контрольным уровням активность фермента во всех опытных группах в середине опыта несколько выше (аналогичные параметры в активности супероксиддисмутазы наблюдаются и у самок кроликов). В конце эксперимента это увеличение достоверно (при $p < 0,05$) выше на 12,3 % во II, III и недостоверно – на 10,9 % – в IV опытных группах соответственно (табл. 3).

Если по мере взросления активность каталазы во всех изучаемых группах животных к концу опыта несколько уменьшается по сравнению с начальным этапом исследований, то по отношению к контрольным значениям активность фермента увеличивается в опытных группах в середине (возраст 120 дней) и в конце опыта (возраст 180 дней). Так, по отношению к контрольным уровням активность каталазы в

конце опыта достоверно (при $p < 0,05$) возросла во II и в III опытных группах на 8,5 % и 9,8 %, а в IV – недостоверно на 5 % соответственно. Такое значительное увеличение каталазной активности в группах II и III отличается по амплитуде от более умеренного увеличения активности у самок (табл. 3).

Важнейшей системой инактивации свободных радикалов, а точнее продуктов взаимодействия кислородных радикалов с органическими субстратами, преимущественно ненасыщенными жирными кислотами и образованием гидроперекисей, является комплекс ферментов – глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. С помощью глутатиона глутатионпероксидаза катализирует реакцию восстановления гидроперекисей.

В табл. 4 представлены данные об активности указанных ферментов в возрастной динамике и при воздействии синтетических антиоксидантов.

В контрольной группе животных активность глутатионпероксидазы с возрастом понижается на 34,8 % (на грани достоверности различий) в возрасте 120 дней и достоверно (при $p < 0,05$) на 41,7 % – в возрасте 180 дней. Глутатионредуктазная активность также имеет тенденцию к уменьшению на 24,7 % к концу опыта (на грани достоверности различий). Скорее всего, эти ферменты, как и супероксиддисмутаза и каталаза, отражают снижение удельного окислительного метаболизма с возрастом.

Таблица 4

Активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы эритроцитов самцов кроликов

Возраст, дни	Группа			
	I (контроль)	II	III	IV
Глутатионпероксидаза, мкмоль/мин мл				
60	24,7 ± 2,7	24,5 ± 2,7	24,7 ± 2,4	24,3 ± 2,9
120	16,1 ± 1,6	19,4 ± 1,3	19,3 ± 1,4	19,2 ± 1,4
180	14,4 ± 0,8	18,3 ± 0,8*	17,4 ± 0,8	17,4 ± 0,7
Глутатионредуктаза, мкмоль/мин мл				
60	2,5 ± 0,2	2,5 ± 0,2	2,5 ± 0,2	2,5 ± 0,2
120	2,3 ± 0,3	2,4 ± 0,3	2,4 ± 0,3	2,4 ± 0,3
180	1,9 ± 0,05	2,1 ± 0,03*	2,04 ± 0,05	2,0 ± 0,06

* $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе I.

Анализ динамики активности глутатионпероксидазы в опытных группах показывает, что к концу экспериментального периода активность фермента последовательно возрастает по отношению к начальным значениям. К концу эксперимента (возраст 180 дней) активность глутатионпероксидазы уменьшается (на грани достоверности различий) во II, III и IV опытных группах на 25,3 %, 29,5 % и 28,4 % по отношению к началу эксперимента. По отношению к контролю увеличение активности во всех опытных группах (II–IV) в середине опыта составляет 20,5 %, 19,9 % и 19,3 %, а уже к концу становится еще выше (во II достоверно при $p < 0,05$ на 27,1 %, и в III и IV – на 20,8 % соответственно) (табл. 4).

Активность глутатионредуктазы в середине эксперимента незначительно отличалась от контрольных показателей, но в конце активность фермента достоверно (при $p < 0,05$) увеличилась во II опытной группе на 10,8 % и в III и IV опытных группах на 9,7 % и 7,5 % соответственно.

По отношению к началу эксперимента в опытных группах (II–IV) активность глутатионредуктазы уменьшилась на 19,3 %, 17,1 % и 16,6 % соответственно (табл. 4).

Результаты исследований активностей ферментов начального и конечного звеньев антиоксидантной системы показывают, что применение синтетических антиоксидантов в той или иной степени индуцирует синхронное образование ферментов для поддержания новых

стационарных условий, связанных со снижением уровня продуктов свободнорадикального и перекисного окисления.

Для того чтобы оценить биологическое действие полученных изменений, целесообразно сопоставить их с некоторыми биологическими параметрами, в частности с показателями прироста живой массы (в табл. 5 представлены результаты этих исследований).

Данные показывают, что к концу опытного периода (возраст 180 дней) живая масса в опытной группе II была достоверно ($p < 0,05$) выше на 4,4 %, чем в контроле. Показатель абсолютного прироста в этой группе был наиболее выражен и за весь период опыта превысил аналогичный показатель в I (контрольной) группе на 7,4 % (табл. 5).

Таким образом, можно считать установленным наличие связи между приростом живой массы и состоянием антиоксидантной защиты в различные периоды онтогенеза.

Мясная продуктивность молодняка самцов кроликов

В конце эксперимента был проведен контрольный убой с 12-часовой голодной выдержкой. Было отобрано по 3 животных из каждой группы. Убойные качества самцов кроликов представлены в табл. 6.

Наибольшая живая масса и масса тушки наблюдались у самцов кроликов II опытной группы, которым вводили в рационы антиок-

Таблица 5

Динамика живой массы молодняка самцов кроликов (кг)

Возраст, дни	Группа			
	I (контроль)	II	III	IV
Глутатионпероксидаза, мкмоль/мин мл				
60	1,54 ± 0,02	1,54 ± 0,01	1,55 ± 0,02	1,53 ± 0,04
120	3,15 ± 0,05	3,19 ± 0,04	3,16 ± 0,03	3,17 ± 0,02
180	3,83 ± 0,02	4,00 ± 0,03*	3,89 ± 0,04	3,91 ± 0,04
Абсолютный прирост, кг				
	2,29 ± 0,04	2,46 ± 0,01*	2,34 ± 0,06	2,38 ± 0,06
В процентах к контрольной группе				
	100	107,4	102,2	103,9

* $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе I.

Таблица 6

Убойные качества самцов кроликов

Группа	Живая масса, кг	Убойный выход, %	Масса, кг			
			тушки	головы	внутренних органов	печени
I (контроль)	3,83 ± 0,03	58,0	2,22 ± 0,03	0,333 ± 0,02	0,651 ± 0,02	0,165 ± 0,08
II	4,00 ± 0,03*	59,3	2,37 ± 0,06	0,348 ± 0,09	0,680 ± 0,03	0,171 ± 0,06
III	3,89 ± 0,01	58,2	2,26 ± 0,02	0,338 ± 0,09	0,661 ± 0,03	0,168 ± 0,05
IV	3,91 ± 0,03	58,3	2,28 ± 0,04	0,340 ± 0,01	0,665 ± 0,04	0,167 ± 0,08

сидантные препараты в дозах 250 мг/кг. Масса тушки у кроликов II опытной группы была достоверно на 6,8 % выше, чем у кроликов контрольной группы (различия достоверны при $p < 0,05$) и на 4,9 и 3,9 % выше, чем у кроликов III и IV опытных групп.

Убойный выход в контрольной группе был на 1,3 % ниже, чем у кроликов II опытной группы. По сравнению с II и III опытными группами различия незначительные.

Как показала дегустационная оценка мяса (мышцы бедра и длиннейшая) и бульона, наилучшие вкусовые качества отмечены у кроликов II опытной группы. Несколько хуже вкусовые качества мяса и бульона самцов кроликов I (контрольной), III и IV опытных групп.

В сравнении с кроликами I (контрольной), III и IV опытных групп шкурки самцов кроликов II опытной группы имели на единицу площади

более толстую мездру и соответственно наибольшую массу. Животные II опытной группы по длине волос, массе шкурок и толщине мездры превосходят животных I (контрольной), III и IV опытных групп.

Классность самцов кроликов

Итоговая оценка животных по различным признакам позволяет устанавливать классную принадлежность. Самцы кроликов всех изучаемых групп имели классность не ниже I. Животные II опытной группы по телосложению и густоте волосяного покрова оказались лучшими. По живой массе и воспроизводительной способности самцы кроликов всех исследуемых опытных групп отнесены к I классу. Конвенциональные условия содержания самцов кроликов в биоклинике существенного влияния на классность не оказали.

Экономическая эффективность использования антиоксидантных препаратов (самцы кроликов)

В период проведения опыта поедаемость комбикорма была хорошей и в целом равномерной. Животные I, II, III и IV групп потребили за первый период (60–120 дней) опыта 82,6, 85,1, 81,8 и 82,2 кг комбикорма и во второй период (120–180 дней) – 106,9, 104,5, 102,7 и 102,2 кг соответственно. За весь опытный период (60–180 дней) потреблено 189,4; 189,6; 184,5 и 184,4 кг комбикорма соответственно (табл. 7).

За период с 60- до 180-дневного возраста наименьшая величина затрат корма на 1 кг прироста живой массы была у животных II, III и IV опытных групп (7,71; 7,88 и 7,76 кг). В сравнении с контрольной группой молодняк самцов кроликов II, III и IV опытных групп в период выращивания с 60- до 180-дневного возраста затрачивал кормов на 1 кг прироста меньше на 6,8, 4,7 и 6,2 % соответственно (табл. 8).

Экономическая эффективность рассчитывалась в ценах 2010 г. с учетом показателей среднесуточного прироста, сохранности поголовья и общих затрат корма за весь период опыта. Анализ результатов показал, что по сравнению с контрольной группой стоимость прироста во II, III и IV группах была ниже на 10,52; 7,27 и 9,59 руб. соответственно. Наиболее низкая стоимость прироста отмечена во II опытной группе самцов кроликов.

Обсуждение

Как известно, у растущих животных имеет место высокая скорость окислительного или энергетического метаболизма, что в принципе сопровождается побочным дополнительным образованием активных форм кислорода и азота (АФК, АФА).

Известно, что основной функцией АОС является поддержание на стационарном уровне концентрации АФК, участвующих в таких про-

Таблица 7

Потребление корма (самцы кроликов)

Показатель	Группа			
	I (контроль)	II	III	IV
Возраст, дни	60–120			
Кормодни	600	600	600	600
Потреблено корма, кг	82,6	85,1	81,8	82,2
Потреблено корма, кг к. ед*.	76,6	78,9	75,9	76,2
Потреблено корма, г/гол./сут	137,6	141,9	136,4	137,0
Потреблено корма, к. ед./гол./сут	127,6	131,6	126,5	127,1
Возраст, дни	120–180			
Кормодни	600	600	600	600
Потреблено корма, кг	106,9	104,5	102,6	102,2
Потреблено корма, кг к. ед*.	99,1	96,9	95,2	94,8
Потреблено корма, г/гол./сут	178,1	174,1	171,1	170,4
Потреблено корма, к. ед./гол./сут	165,2	161,5	158,7	158,0
Возраст, дни	60–180			
Кормодни	1200	1200	1200	1200
Потреблено корма, кг	189,4	189,6	184,5	184,4
Потреблено корма, кг к. ед*.	175,7	175,8	171,1	171,0
Потреблено корма, г/гол./сут	157,9	158,0	153,7	153,7
Потреблено корма, к. ед./гол./сут	146,4	146,5	142,5	142,5

Примечание. Здесь и далее в таблицах в 100 г комбикорма содержится 92,74 к. ед.*

Таблица 8

Затраты корма на 1 кг прироста самцов кроликов

Возраст, дни	Группа							
	I (контроль)		II		III		IV	
	Затраты корма, кг	Затраты корма, кг к. ед.	Затраты корма, кг	Затраты корма, кг к. ед.	Затраты корма, кг	Затраты корма, кг к. ед.	Затраты корма, кг	Затраты корма, кг к. ед.
60–120	5,13	4,76	5,16	4,79	5,09	4,72	5,02	4,66
120–180	15,76	14,62	12,90	11,96	14,03	13,01	13,85	12,85
60–180	8,27	7,66	7,71	7,15	7,88	7,31	7,76	7,20

цессах жизнедеятельности клетки, как дифференцировка, пролиферация и др. (Меньщикова и др., 2006). Для сохранения гомеостаза при действии на организм разнообразных факторов среды необходим баланс между системами генерации и тушения АФК (Хавинсон и др., 2003). Функциональная роль антиоксидантной системы эритроцитов связана не только с каскадом ферментов, включая супероксиддисмутазу, каталазу, глутатионпероксидазу и глутатионредуктазу, но и с высокими диффузионными параметрами контакта с плазмой крови, содержащей продукты перекисного окисления, активные формы кислорода и др.

Эта система может представлять информативное значение благодаря относительному (например 68 суток у кроликов) долгожительству эритроцита.

В нормальных физиологических условиях деструктивное действие АКМ сдерживается многоуровневой системой антиоксидантной защиты. В случае недостатка антиоксидантов в организме развиваются процессы окислительного стресса, сопровождающиеся нарушением баланса в системе прооксидант–антиоксиданты. Организм находится в состоянии окислительного стресса, если суммарные отклонения от контрольных значений в процессе накопления основных продуктов перекисного окисления липидов превышают активность основного ферментативного звена, если наоборот, то в состоянии активированной компенсации. При этом необходимо учитывать, что свободные радикалы играют также и положительную роль в организме, в частности в образовании простагландинов, в системе антибактериальной защиты и др.

Исследование контрольной группы животных (самцов кроликов) позволяет выявить некоторые особенности формирования антиоксидантного статуса организма. Все это сопровождается снижением стационарных уровней продуктов свободнорадикального и перекисного окисления эндогенных органических соединений при одновременном увеличении активности неферментной и ферментной систем защиты. Оптимальная оценка антиоксидантного статуса организма может быть обеспечена оценкой баланса между отклонениями от контрольных значений в суммарном накоплении продуктов ПОЛ и активностью основных ферментных и неферментных антиоксидантных систем. К числу таких показателей можно отнести содержание продуктов перекисного окисления липидов – диеновых конъюгатов ПНЖК (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в плазме крови и активность антиокислительных ферментов эритроцитов – глутатионпероксидазы (ГП), супероксиддисмутазы (СОД), глутатионредуктазы и каталазы.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение синтетических антиоксидантов способствует поддержанию высокой активности ферментной антиоксидантной системы эритроцитов самцов кроликов, что приводит к снижению стационарного уровня продуктов свободнорадикального и перекисного окисления эндогенных соединений. Эти данные наиболее важно рассматривать в сочетании с традиционными биологическими признаками, включая пол, прирост массы, продуктивность и др.

Определение активности основных антиоксидантных ферментов и количества продуктов перекисного окисления липидов в возрастной динамике может представлять определенный

практический интерес для кролиководов и биологов в понимании функционирования антиоксидантной системы защиты организма. Так, оценка баланса между уровнем накопления продуктов перекисного окисления липидов и активностью антиоксидантных ферментов (системы АОС-ПОЛ) может быть использована, в частности, в кормлении животных разных возрастных групп и пола для получения максимально возможной продуктивности.

Литература

- Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. 1983. № 3. С. 33–35.
- Мальцев Г.Ю., Васильев А.В. Способ определения активности каталазы и супероксиддисмутазы эритроцитов на анализаторе открытого типа // Вопр. мед. химии. 1994. № 2. С. 56–58.
- Мальцев Г.Ю., Орлова Л.А. Оптимизация определения активности глутатионредуктазы эритроцитов человека на полуавтоматическом анализаторе // Вопр. мед. химии. 1993. № 2. С. 59–61.
- Мальцев Г.Ю., Тышко Н.В. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Гигиена и санитария. 2002. № 2. С. 69–72.
- Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. М.: Слово, 2006. 556 с.
- Зенков Н.К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньшикова. М.: Наука: Интерпериодика, 2001. 343 с.
- Хавинсон В.Х., Баринев В.А., Арутюнян А.В., Малинин В.В. Свободнорадикальное окисление и старение. СПб: Наука, 2003. 327 с.
- Mihara M., Uchiyama M., Fukuzawa K. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCl₄ intoxication and vitamin E deficiency // Biochem. Med. 1980. V. 23. № 3. P. 302–311.
- Mille G. The purification and properties of glutathione peroxidase of erythrocytes // J. Biol. Chem. 1959. V. 244. P. 502–506.
- Niashikimi M., Rao N.A., Jagi K. The occurrence of superoxide anion // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1972. V. 46. № 2. P. 849–854.
- Oshino N., Chance B., Sies H. The role of H₂O₂ generation in perfused rat liver and the reaction of catalase compound I and hydrogen donors. II // Arch. Biochem. 1973. V. 154. P. 117–131.
- Placer Z. Lip peroxidation systeme im biologischen material // Nahrung. 1968. Bd. 12. S. 679.
- Tilborts J.A., Sauberlich H.S. Effect of riboflavin depletion and repletion on the erythrocyte glutathione reductase in the rat // J. Nutr. 1971. V. 101. P. 1459.

LIPID PEROXIDATION PRODUCTS AND NONENZYMATIC AND ENZYMIC ANTIOXIDANT SYSTEMS IN MALE RABBITS: AGE DYNAMICS

D.D. Adjiev

Russian State Agrarian University – MTAA named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russia;
Hematology Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia,
e-mail: adjiev-dd@mail.ru

Summary

The following parameters essential for antioxidant protection were studied in blood plasma of rabbits of various ages: level of lipid peroxidation, judged from the contents of malondialdehyde and diene conjugates; the state of nonenzymatic antioxidant system, from the contents of tocopherol and retinol; and contents of erythrocyte enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase). Many of the parameters studied showed unique age dynamics patterns, different from those previously studied in females. Certain doses of synthetic antioxidants proved to control the balance in the antioxidant protection system and reduce oxidative stress. The data are analyzed in the context of biologic features of oxidative metabolism in animals, adaptive capacity and productivity.

Key words: rabbits, lipid peroxidation, antioxidant system, malondialdehyde, diene conjugates, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase.