

*И. В. Котович, О. П. Позывайло, С. Ю. Зайцев*

**ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ  
И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ  
В ПЕРИОД ИНТЕНСИВНОГО РОСТА  
И В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЖИВОЙ МАССЫ**

*Исследовано состояние пероксидного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АОС) плазмы крови 10-дневных цыплят-бройлеров разной живой массы кросса «Росс 308» Смолевичской бройлерной птицефабрики. Установлено, что к концу первой декады периода выращивания организм цыплят характеризуется высокой интенсивностью процессов перекисного окисления липидов. У бройлеров с живой массой, соответствующей технологической норме, отмечаются более низкие значения показателей ПОЛ плазмы крови – уровень диеновых конъюгатов, кетодиенов, триенкетонов и активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. При этом прооксидантно-антиоксидантный статус данных цыплят является более сбалансированным.*

**Введение**

Одной из наиболее рентабельных и динамично развивающихся отраслей аграрного сектора экономики Республики Беларусь является бройлерное птицеводство. Этому способствуют интенсивный рост птицы, эффективное использование кормов и относительно небольшие затраты их на единицу продукции, высокий уровень механизации и автоматизации производства, выполнение производственного процесса по технологическому графику, успехи науки в области селекции и ветеринарии.

В то же время эксплуатация бройлеров на фоне интенсивных технологий их выращивания сопровождается напряжением всех метаболических систем организма и нередко приводит к различным заболеваниям, среди которых высокий удельный вес занимают незаразные патологии (алиментарная и токсическая дистрофия, мочекишный диатез, гиповитаминозы и др.). Появлению этих заболеваний способствуют рационы с повышенным содержанием протеинов, жиров, продуктов свободнорадикального окисления липидов, недостаток витаминов (А, Е, С, группы В), аминокислот (метионина, цистеина), микроэлементов, воздействие стресс-факторов [1]–[3].

В такой ситуации одной из основных и наиболее актуальных задач птицеводческих предприятий является обеспечение сохранности поголовья птицы и получение здорового молодняка. Предпосылкой успешной профилактики заболеваний является их ранняя диагностика, в которой важное значение принадлежит биохимическому мониторингу прооксидантно-антиоксидантного статуса организма птицы.

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) в здоровом организме протекает на сравнительно низком уровне и направлено на обновление мембранных структур клетки. Однако при длительных воздействиях на организм различных факторов, инициирующих процессы липопероксидации, ПОЛ нарушается и становится одним из ведущих звеньев в развитии различных патологий. Этому также способствует низкий уровень антиоксидантной защиты (АОЗ) организма. Среди показателей, характеризующих состояние прооксидантной системы, определяют уровень диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов и триенкетонов (КД + ТК), активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП) и оснований Шиффа (ОШ) в плазме (сыворотке) крови, а для оценки состояния антиоксидантной системы (АОС) исследуют содержание токоферола (ТФ) и активность церулоплазмينا (ЦП) [2]–[8].

В литературе имеется достаточно большое количество работ, посвященных исследованию данных показателей. В то же время они проводились, в основном, на фоне использования кормовых добавок, ветеринарных препаратов или экспериментального моделирования различных

патологий. Поэтому определенный теоретический и практический интерес представляет исследование системы ПОЛ–АОС для определения референтных величин, характеризующих состояние организма птицы на определенных этапах его онтогенеза. Это позволит своевременно выявлять нарушения протекания метаболических процессов и проводить необходимые лечебно-профилактические мероприятия, а также корректировать кормление и содержание птицы в различные периоды ее выращивания.

*Цель* нашей работы состояла в исследовании показателей пероксидного окисления липидов и антиоксидантной системы плазмы крови у цыплят-бройлеров в период их наиболее интенсивного развития.

В связи с этим были поставлены следующие *задачи*:

– определить содержание первичных (диенкетонов), вторичных (кетодиенов + триенкетонов, а также ТБК-активных продуктов) и конечных (оснований Шиффа) продуктов ПОЛ в плазме крови бройлеров 10-дневного возраста с разной живой массой;

– определить показатели АОС (содержание ТФ, активность ЦП) в плазме крови цыплят данных групп.

*Методы исследования.* Экспериментальные исследования были проведены на двух группах цыплят-бройлеров 10-дневного возраста кросса «Росс 308» Смоленской бройлерной птицефабрики: 1 группа – бройлеры с живой массой, соответствующей производственным технологическим показателям ( $206,00 \pm 18,841$  г), 2 группа – цыплята, имевшие живую массу ниже нормативных критериев ( $151,00 \pm 21,331$  г).

В плазме крови определяли показатели прооксидантной системы – содержание диеновых конъюгатов, кетодиенов, триенкетонов, ТБК-активных продуктов, оснований Шиффа и антиоксидантной системы – активность церулоплазмينا и содержание токоферола.

Продукты липопероксидации в плазме крови экстрагировали гептан-изопропанольной смесью (2:1) [9]. Оптическую плотность гептанового экстракта регистрировали на спектрофотометре СФ-46 в кварцевых кюветах толщиной 1 см. Измеренная при 232 нм оптическая плотность ( $A_{232}$ ) соответствует содержанию первичных продуктов, имеющих сопряженную систему двойных связей (диеновые конъюгаты), а при 278 нм ( $A_{278}$ ) – уровню вторичных продуктов ПОЛ (кетодиены и сопряженные триенкетоны). Значения абсорбции при 400 нм ( $A_{400}$ ) дают информацию о содержании конечных продуктов ПОЛ, т. е. оснований Шиффа [7].

Содержание ТБК-АП, которые также характеризуют уровень вторичных продуктов ПОЛ, определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Оптическую плотность бутанольного экстракта измеряли при 535 нм (специфическое) и 580 нм (неспецифическое поглощение) [10].

Содержание ДК, КД + ТК, а также ОШ выражали в условных единицах оптической плотности в расчете на мл, а ТБК-АП – в мкмоль на л плазмы крови.

Показатели АОС определяли фотометрическим методом: активность ЦП (КФ 1.16.3.1) – по реакции окисления парафенилендиамина, а содержание ТФ – по реакции с  $\alpha$ ,  $\alpha'$ -дипиридиллом [6].

Для более полной характеристики соотношения прооксидантной и антиоксидантной систем организма 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**

Конец первой декады жизни цыплят-бройлеров характеризуется высокой интенсивностью их роста. Поэтому несомненную теоретическую и практическую значимость в данный период представляет изучение метаболического статуса организма птицы. Одной из составляющих его оценки является исследование состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты организма бройлеров.

Определение диеновых конъюгатов, являющихся первичными продуктами ПОЛ, служит чувствительным тестом на обнаружение в биологическом материале ацилгидроперекисей полиненасыщенных жирных кислот [7]. Анализ полученных нами данных по содержанию ДК у 10-дневных цыплят кросса «Росс 308» с разной живой массой показывает их достаточно высокий уровень (таблица 1). При этом у цыплят, имевших живую массу ниже плановых

производственных показателей, уровень ДК был выше на 63,5% ( $P < 0,001$ ). Аналогичная тенденция была выявлена В. П. Бараном (2005) для цыплят-бройлеров кросса «Смена» [11]. В то же время следует отметить, что показатели ПОЛ у цыплят кросса «Росс 308» значительно выше.

Таблица 1 – Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы плазмы крови цыплят-бройлеров кросса «Росс 308»

Исследованные показатели	1-я группа цыплят	2-я группа цыплят
<i>Показатели ПОЛ</i>		
ДК, $A_{232}/мл$	$2,63 \pm 0,322$	$4,30 \pm 0,166^{***}$
КД+ТК, $A_{278}/мл$	$0,47 \pm 0,048$	$0,67 \pm 0,070^{***}$
ТБК-АП, $мкмоль/л$	$1,55 \pm 0,153$	$1,82 \pm 0,194^*$
ОШ, $A_{400}/мл$	$0,21 \pm 0,030$	$0,24 \pm 0,026$
<i>Показатели АОС</i>		
ТФ, $мкмоль/л$	$9,46 \pm 0,612$	$7,10 \pm 1,000^{**}$
ЦП, $мкмоль/л-мин$	$63,71 \pm 6,141$	$61,78 \pm 3,762$
ТБК-АП/ТФ	$0,164 \pm 0,0143$	$0,263 \pm 0,0646^*$
ТБК-АП/ЦП	$0,024 \pm 0,0040$	$0,030 \pm 0,0032$

Примечание: \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$  по отношению к бройлерам с живой массой, соответствующей норме.

Интенсивность образования вторичных продуктов ПОЛ оценивают по суммарному содержанию кетодиенов и триенкетенов, а также по образованию более устойчивых ТБК-активных соединений, главным из которых является малоновый диальдегид (МДА). Полученные нами данные по содержанию КД и ТК также существенно превышают указываемые в литературе нормативы по другим кроссам птицы. Птица с меньшей живой массой имела более высокие показатели вторичных продуктов липопероксидации. Так, суммарное содержание КД и ТК у цыплят 2-й группы оказалось на 42,55% ( $P < 0,001$ ), а уровень ТБК-АП на 17,42% выше ( $P < 0,05$ ), чем у цыплят, имевших живую массу, соответствующую норме.

Основания Шиффа представляют собой конечные продукты ПОЛ. Они обладают высокой реакционной способностью и токсичностью. Увеличение их уровня в организме указывает на изменения в структуре клеточных мембран, связанные с образованием полимерных сшивок белковых молекул, а также с нарушением функционирования ферментов и других биомолекул. В то же время необходимо отметить, что в литературе не указаны нормативы по данному показателю для сельскохозяйственной птицы. Учитывая то, что мы исследовали клинически здоровых цыплят, полученные нами результаты можно использовать в качестве ориентировочных для оценки состояния ПОЛ у бройлеров в начальный период их выращивания. Межгрупповое сравнение значений ОШ в плазме крови цыплят-бройлеров с разной живой массой также показало их больший уровень у птицы с меньшей живой массой (на 14,29%). Однако эта разница оказалась недостоверной.

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

Церулоплазмин в настоящее время рассматривается в качестве одного из основных антиоксидантов плазмы крови. Он нейтрализует подобно супероксиддисмутазе радикалы  $O_2^-$ , связывает ионы  $Fe^{2+}$  и  $Cu^+$ , выводя их из реакции Фентона, которая является одной из ключевых в инициации процессов ПОЛ [12]. Результаты наших исследований показали, что активность данного фермента у цыплят-бройлеров в целом сопоставима с литературными данными (50–150  $мкмоль/л-мин$ ) [6], хотя и приближается к нижней границе нормы.

При этом существенной разницы между группами цыплят с разной живой массой мы не обнаружили.

Токоферол является одним из важнейших природных антиоксидантов, защищающих ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов клеточных мембран от процессов свободнорадикального окисления. Анализ литературных данных показал большую вариабельность данного показателя у мясных цыплят. В наших исследованиях был установлен более высокий уровень витамина Е у птицы с живой массой, соответствовавшей технологической норме (на 33,24%,  $P < 0,01$ ).

Сопряженность протекания процессов липопероксидации и антиоксидантной защиты можно оценить, рассчитав соотношение ряда компонентов этих систем и корреляций между ними. Коэффициент ТБК-АП/ТФ и ТБК-АП/ЦП в наших исследованиях оказался более низким у цыплят 1-й группы. Это свидетельствует о том, что в 10-дневной возрасте у бройлеров, имеющих живую массу, соответствующую технологическим параметрам, антиоксидантная система в большей степени синхронизирована с интенсификацией процессов ПОЛ.

Расчет корреляций между показателями ПОЛ и АОС свидетельствует, что у цыплят 1-й группы работа АОС связана с функционированием токоферола, а у бройлеров 2-й группы – церулоплазмина (таблица 2).

Таблица 2 – Корреляции между показателями перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы плазмы крови цыплят-бройлеров кросса «Росс 308»

Показатели	Коэффициент корреляции (r)	
	1-я группа цыплят	2-я группа цыплят
ДК – ТФ	0,73	-0,12
ДК – ЦП	0,49	0,73
КД + ТК – ТФ	0,44	-0,31
КД + ТК – ЦП	-0,24	0,13
ТБК-АП – ТФ	0,45	-0,57
ТБК-АП – ЦП	-0,34	0,35
ОШ – ТФ	0,46	-0,17
ОШ – ЦП	0,14	0,52

### Выводы

Проведенные нами исследования по изучению состояния ПОЛ и АОС плазмы крови 10-дневных цыплят-бройлеров позволяют сделать следующие выводы:

1. Организм цыплят-бройлеров к концу первой декады жизни характеризуется высокой интенсивностью процессов перекисного окисления липидов. При этом у птицы, имеющей живую массу, соответствующую производственным нормативам, отмечаются более низкие значения показателей ПОЛ. Прооксидантно-антиоксидантная система у данной птицы является более сбалансированной.

2. Полученные результаты исследований могут быть использованы в оценке состояния прооксидантно-антиоксидантного статуса, а в комплексе с другими биохимическими показателями плазмы крови – для оценки физиологического состояния цыплят-бройлеров с разной живой массой в начальный период их выращивания.

### Литература

1. Бессарабов, Б. Ф. Незаразные болезни птиц / Б. Ф. Бессарабов. – М. : КолоС, 2007. – 175 с.
2. Кочиш, И. И. Перекисное окисление липидов и защита от активных форм кислорода L-лизинном организма цыплят-бройлеров / И. И. Кочиш, П. А. Ершов, В. А. Лукичева // Птица и птицепродукты. – 2011. – № 1. – С. 34–35.
3. Методические указания по контролю за состоянием обмена веществ у цыплят-бройлеров / Б. Я. Бирман [и др.]; НАН Респ. Беларусь, Мин-во сельского хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, Ин-т эксперимент. ветеринарии, Витебская гос. акад. ветеринар. медицины. – Минск, 2003. – 23 с.

4. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М. : МЕДпресс-инфо, 2004. – 920 с.
5. Кармолиев, Р. Х. Биохимические процессы при свободнорадикальном окислении и антиоксидантной защите. Профилактика окислительного стресса у животных / Р. Х. Кармолиев // Сельскохозяйственная биология. Сер., Биология животных. – 2002. – № 2. – С. 19–28.
6. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики : справочник / И. П. Кондрахин [и др.] ; под ред. проф. И. П. Кондрахина. – М. : КолоС, 2004. – 520 с.
7. Перекисное окисление липидов при неврологической патологии у детей / Е. М. Васильева [и др.] // Клинич. лаборатор. диагностика. – 2005. – № 2. – С. 8–12.
8. Перекисное окисление липидов и эндогенная интоксикация (значение в патогенезе болезней животных, пути коррекции) / С. С. Абрамов [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2007. – 208 с.
9. 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.
10. 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.
11. Баран, В. П. Липидный обмен у цыплят-бройлеров в период выращивания и при патологии печени : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.04 / В. П. Баран ; ВГАВМ. – Витебск, 2005. – 20 с.
12. 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.

#### *Summary*

The state of the lipid peroxide oxidation (POL) and blood plasma antioxidation system (AOS) for the 10-days broiler chickens of different body weight of the cross «Ross 308» by Smolevichskoi broiler factory has been investigated. It has been stated that chickens have high intensity lipid peroxide oxidation processes at the end of the first decade of the body growth. The chickens having the body weight in accordance with technological norms have higher POL parameters of the blood plasma – level of dienyl conjugate, ketodienes, ketotrienes and active products, interacting with tiobarbituric acid. At the same time, the prooxidation-antioxidation status of such chickens are more balanced.

*Поступила в редакцию 07.07.11.*