

УДК 636.2.053.085.15:612.34

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ИНСУЛЯРНОГО АППАРАТА
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У БЫЧКОВ
ПРИ ВВЕДЕНИИ В РАЦИОН ПРОПИЛЕНГЛИКОЛЯ**

Воловников В. В., Матвеев В. А., Баранова И. А.

Институт физиологии, биохимии и питания с.-х. животных, г. Боровск, Россия

Общепризнанным фактом является участие инсулина в регуляции метаболизма углеводов, липидов, белков и его ключевая роль в контроле роста животных. Логично полагать, что метаболиты, образующиеся в процессе обмена, могут влиять на интенсивность синтеза и инкрецию инсулина. Однако механизм, обеспечивающий регуляцию функциональной активности инсулярного аппарата, не ясен и в научном мире продолжается дискуссия по поводу возможного участия тех или иных метаболитов в регуляции синтеза и инкреции инсулина.

Показано, что у человека и моногастричных животных ведущим регулятором активности инсулярного аппарата является глюкоза (Jefferson, 1977; McCann, 1986; Weekers, 1986). У жвачных животных из желудочно-кишечного тракта глюкоза поступает в небольшом количестве, т.к. ферментация углеводов в рубце идет в основном с образованием летучих жирных кислот. Поэтому потребности организма жвачных в глюкозе в значительной мере обеспечиваются за счет образования ее в клетках печени в процессе глюконеогенеза из пропионата, лактата и аминокислот. Однако динамика изменения концентрации пропионата и аминокислот в крови бычков после приема корма не совпадает по времени с увеличением в крови уровня инсулина. Из этого следует, что эти метаболиты при данной физиологической ситуации не играют существенной роли в механизме регуляции инкреции инсулина.

Известно, что в процессе ферментации углеводов в рубце жвачных животных может образовываться пропиленгликоль (1,2-пропандиол), который поступает в кровь и в клетках печени превращается в глюкозу (Christensen, 1997; Kim, 2003). Опубликован ряд работ (Stader, 1991; Christensen, 1997; Miyoshi, 2001), в которых показано, что при скармливании пропиленгликоля лактирующим коровам у них в крови повышается концентрация глюкозы и инсулина. Однако механизм действия пропиленгликоля не ясен.

В связи с этим целью нашей работы было изучение функциональной активности инсулярного аппарата поджелудочной железы у бычков при введении в рацион пропиленгликоля.

Для решения поставленных задач в комплексе с сотрудниками других лабораторий провели эксперименты на молодняке крупного рогатого скота в виварии института. Опыт проведен методом групп и периодов на 8-месячных бычках холмогорской породы с живой массой в начале опыта 125-130 кг. Содержание животных привязное, кормление индивидуальное, 2-разовое. Ежедневно учитывали потребление корма. Для оценки интенсивности роста ежемесячно до утреннего кормления в течение двух смежных дней животных взвешивали.

В предварительный период опыта в течение двух месяцев животные находились на одинаковом по составу и питательности рационе. Бычки были приучены

к максимальному потреблению сена и силоса. В дальнейшем по принципу аналогов с учетом живой массы и интенсивности роста бычки были распределены в три группы по 3 головы в каждой. Животные всех групп получали одинаковый рацион, сбалансированный по питательным веществам, с содержанием сырого протеина и обменной энергии согласно существующим нормам для молодняка при интенсивном выращивании и откорме, обеспечивающим среднесуточный прирост живой массы 1000-1400 г (Калашников и др., 2003). В состав рациона входили: сено злаковое, силос злаковый и комбикорм в количестве 55-60% по обменной энергии. Уровень сырого протеина в сухом веществе рациона составлял 12,7%.

В первый период опыта бычкам 2-й группы при каждом кормлении к разовой порции комбикорма добавляли 40 мл пропиленгликоля, а животным 3-й группы – 80 мл пропиленгликоля. Соответственно суточная доза пропиленгликоля на голову составила во 2-й группе 80 мл, а в 3-ей – 160 мл. Продолжительность данного периода эксперимента – 41 день. В начале и конце данного периода опыта брали пробы крови пункцией яремной вены до утреннего кормления и через 1 и 3 часа после него. В конце опыта провели балансировый опыт и взяли пробы мочи для анализа.

Во втором периоде исследований опыт был продолжен по приведенной выше схеме, но при этом были увеличены дозы пропиленгликоля. Суточная доза пропиленгликоля составила во 2-й группе 200 мл, а в 3-ей – 250 мл. Продолжительность данного периода исследований – 42 дня. В середине и конце его были взяты пробы крови пункцией яремной вены до утреннего кормления и через 1 и 3 часа после него и проведен 2-х суточный сбор мочи.

В третьем периоде опыта 9 бычков распределили в две группы по принципу аналогов по живой массе и интенсивности роста – 5 голов в опытной группе и 4 в контрольной. В этот период уровень сырого протеина в сухом веществе рациона был увеличен до 14,2% за счет введения в состав комбикорма соевого шрота. Животным 2-й (опытной) группы при каждом кормлении к разовой порции комбикорма добавляли пропиленгликоль в дозе 250 мл в сутки. Продолжительность данного периода эксперимента 54 дня. В конце 3-ей серии опыта были взяты пробы крови пункцией яремной вены до утреннего кормления и через 1 и 3 часа после него, проведен балансировый опыт и взяты пробы мочи. В дальнейшем после убоя животных была проведена обвалка полутуш и взяты образцы мышечной и жировой ткани для биохимических исследований.

В пробах цельной крови определяли концентрацию глюкозы глюкозооксидазным методом (Материкин, Матвеев, 1997). В образцах плазмы крови определяли содержание инсулина иммуноферментным методом (Радченков, Матвеев, 1997). Для характеристики эффективности использования протеина корма определяли содержание мочевины в цельной крови и моче химическим методом по реакции с ди-ацетилмоноксимом (Методы биохим. анализа, 1997). Математическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия для оценки межгрупповых эффектов, корреляционного и регрессионного анализа (Лакин, 1980).

Результаты исследований показали, что у бычков контрольной группы во все периоды исследований наблюдалась типичная реакция инсулярного аппарата на прием корма, которая проявлялась в увеличении концентрации инсулина через 1 час после приема корма с последующим возвращением к исходному уровню (табл. 1). При скармливании бычкам с кормом пропиленгликоля подъем уровня инсулина

в плазме крови бычков опытных групп после приема корма был значительно больше, чем в контроле, что свидетельствует об индукции секреции инсулина.

Таблица 1. Концентрация инсулина в плазме крови у бычков при введении в рацион пропиленгликоля, мкед/мл ($M \pm m$, $n=8$)

Группа	Время после приема корма, часы		
	0	1 час	3 часа
1-й период			
1-ая	7,46±0,49	10,64±1,30	9,15±1,16
2-ая	8,33±0,61	13,99±1,18	9,39±0,41
% к 1 гр.	111,7	131,4	102,6
3-я	9,47±0,99	19,55±3,00	13,06±3,57
% к 1 гр.	126,9	183,7	142,6
2-й период			
1-ая	7,72±0,93	11,91±0,57	11,36±1,52
2-ая	7,87±0,66	20,70±2,66	12,03±3,21
% к 1 гр.	101,9	173,8 *	105,9
3-я	10,69±0,86	37,94±2,56	18,53±3,03
% к 1 гр.	138,4	318,5 ***	163,2
3-й период			
1-ая	20,63±3,38	41,30±5,18	33,30±1,67
2-ая	22,35±4,12	70,24±7,00	35,83±6,58
% к 1 гр.	108,4	170,1 *	107,6

Примечание: Здесь и далее – * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,005$.

Максимальные различия по концентрации инсулина между контрольной и опытными группами наблюдались через 1 час после приема корма. С увеличением дозы пропиленгликоля различия между группами по содержанию инсулина в плазме крови после приема корма, как правило, возрастали. При увеличении уровня протеинового питания в 3-ей серии эксперимента установлен более высокий уровень инсулина в плазме крови у бычков обеих групп (табл. 1), по сравнению с предыдущими этапами опыта. Однако и на фоне повышенной активности инсулярного аппарата у бычков опытной группы пропиленгликоль обеспечил индукцию инкретции инсулина и его концентрация через 1 час после приема корма была выше на 70,1%, чем в контроле.

Для оценки функционального состояния инсулярного аппарата рассчитали индекс активности поджелудочной железы, как отношение концентрации инсулина через 1 час после приема корма к его базальному уровню. Данные, приведенные на рис. 1, свидетельствуют о дозозависимой индукции активности инсулярного аппарата при введении пропиленгликоля.

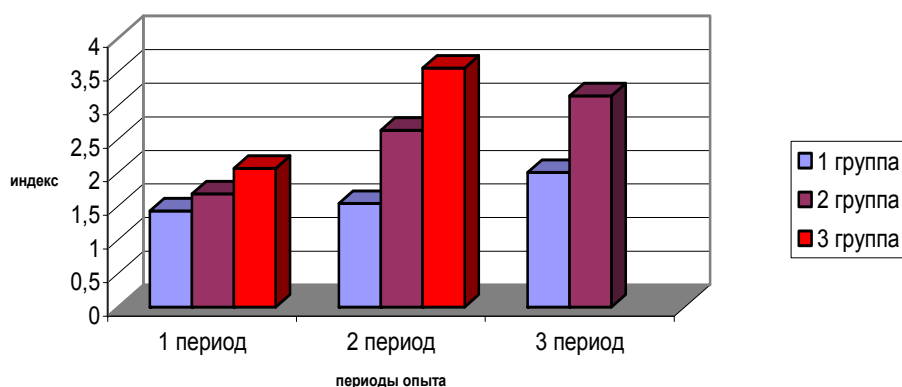


Рис. 1 Индекс активности инсулярного аппарата у бычков через 1 час после приема корма с добавкой пропиленгликоля

Результаты исследований показали, что у бычков контрольной группы после приема корма концентрация глюкозы в крови в большинстве случаев снижается (табл. 2), что, по-видимому, связано с усилением ее использования в тканях. Следовательно, подъем уровня инсулина через час после приема корма не связан с увеличением в крови концентрации глюкозы, которая в данном случае не является индуктором секреции инсулина.

Таблица 2. Концентрация глюкозы в крови бычков при введении в рацион пропиленгликоля, мг%

Группа	Время после приема корма, часы		
	0	1	3
1-й период			
1-ая	50,76±1,14	50,33±2,41	54,36±1,01
2-ая	50,08±1,35	51,48±0,87	52,47±1,46
% к 1 гр.	98,6	102,3	96,5
3-ая	50,48±2,50	54,27±1,75	56,38±1,49
% к 1 гр.	99,5	107,8	103,7
2-й период			
1-ая	56,38±1,65	51,41±1,27	50,46±2,51
2-ая	57,99±2,99	54,25±0,93	56,76±0,90
% к 1 гр.	102,8	105,5	112,5
3-ая	58,22±1,73	56,52±0,63	55,15±1,24
% к 1 гр.	103,3	109,9 *	109,3
3-й период			
1-ая	54,47±0,92	55,10±0,43	54,68±0,80
2-ая	56,94±1,22	58,14±1,01	57,06±0,90
% к 1 гр.	104,5	105,5 *	104,4

При скармливании бычкам пропиленгликоля с кормом концентрация глюкозы в крови бычков после приема корма увеличивалась в 1-й и 3-ей сериях опыта и существенно не изменялась во 2-й серии эксперимента (табл. 2). В результате

этого концентрация глюкозы через 1 час после приема корма во все периоды опыта была выше у животных опытных групп. С увеличением дозы пропиленгликоля различия между группами по содержанию глюкозы в крови у бычков после приема корма возрастали. На основании этого можно полагать, что пропиленгликоль после приема корма метаболизируется с образованием глюкозы.

В организме жвачных животных около 30% глюкозы образуется из аминокислот. При этом образуется мочевины, которая выводится из организма с мочой. Можно было полагать, что при применении пропиленгликоля уменьшится использование аминокислот на образование глюкозы и это будет способствовать усилению их использования на рост мышечной ткани. При среднем уровне протеинового питания в 1-м и 2-м периодах опыта не было установлено существенных различий между группами животных по концентрации мочевины в крови и моче, а также по количеству выделенной мочевины с мочой. В 3-й период опыта, когда был увеличен уровень протеина в рационе, концентрация мочевины в крови у бычков опытной группы после приема корма была значительно ниже и, соответственно, меньше выделялось ее с мочой (табл. 3). Следовательно, применение бычкам в заключительный период откорма пропиленгликоля в дозе 250 мл на фоне повышенного уровня протеинового питания обеспечило повышение использования аминокислот на биосинтез белков и, соответственно, эффективности использования протеина корма на продукцию.

Таблица 3. Концентрация мочевины в крови и скорость выделения ее с мочой у бычков с живой массой 340-350 кг при введении в рацион пропиленгликоля в дозе 250 мл/голову/сутки (2-я группа, 3-й период опыта)

Показатели	1-я группа	2-я группа	% к 1 гр.
Концентрация мочевины в крови до приема корма, ммоль/л	2,28±0,11	2,40±0,15	105,2
Концентрация мочевины в крови через 1 час после приема корма, ммоль/л	3,59±0,19	2,08±0,1	57,9 ***
Концентрация мочевины в крови через 3 часа после приема корма, ммоль/л	4,23±0,15	3,98±0,26	94,2
Концентрация мочевины в моче, ммоль/л	318,82±30,9	235,84±4,5	74,0
Выделение мочевины с мочой, ммоль/сут	3158,6±126,6	2593,9±77,2	82,1

Данные по метаболизму мочевины согласуются с результатами исследований по потреблению и использованию азота корма. По данным лаборатории пищеварения, в первой серии опыта не было существенных различий между группами животных по потреблению, перевариванию и отложению азота в организме бычков. В заключительный период опыта, при скармливании бычкам 250 мл пропиленгликоля, были выше переваримость азота корма на 6,6%, отложение его на прирост на 24,4% и эффективность использования переваренного азота на 21,1%. Следовательно, применение бычкам пропиленгликоля в дозе 250 мл на фоне повышенного уровня протеинового питания обеспечило повышение эффективности использования азота корма на продукцию. Это подтверждается результатами контрольного убоя. У бычков опытной группы по сравнению с контролем была больше на 4,1%

масса туши, на 8,5% ($P < 0,05$) количество мякоти в туше, на 17,8% отношение мякоти к костям и меньше на 19,1% ($P < 0,05$) внутреннего жира в туше.

Таким образом, введение в заключительный период откорма в рацион бычков пропиленгликоля вызывает достоверное увеличение концентрации инсулина, способствует поддержанию стабильного уровня глюкозы в условиях повышенной ее утилизации и достоверному снижению мочевины в крови. Полученные данные позволяют предположить, что индукция секреции инсулина у бычков при применении пропиленгликоля происходит в результате опосредованного его действия на клетки в стенке рубца, способные образовывать гормоны и медиаторы, стимулирующие активность инсулярного аппарата поджелудочной железы, а также вследствие всасывания пропиленгликоля из рубца с последующими эффектами на уровне бета-клеток поджелудочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jefferson L.S., Li S.B., Rannels S.R. Regulation by insulin of amino acid release and protein in the perfused rat hemi-corpus. *J. Biol. Chem.*, 1977, 252: 1476-1483.
2. McCann S.P., Reimers T.J. Effects of obesity on insulin and glucose metabolism in cyclic heifers. *J. Anim. Sci.*, 1986, 62(3): 772-782.
3. Weekers T.E.C. Insulin and Growth. Control and manipulation of animal growth. Butterworths, 1986: 187-206.
4. Gurta N.K., Robinson W.G. The enzymatic conversion of lactaldehyde to propandiol. *J. Biol. Chem.*, 1960, 235: 1609-1612.
5. Stader V.A., Grummer R.R., Bertics S.J. Effect of prepartum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1993, 76: 2931-2939.
6. Christensen J.O., Grummer R.R., Rasmusen E.E., Bertics S.J. Effect of method of delivery of propylene glycol on plasma metabolites of feed-restricted cattle. *J. Dairy Sci.*, 1997, 80: 563-568.
7. Miyoshi S., Pate J.L., Palmquist D.L., Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *J. Anim. Reprod Sci.*, 2001, Oct 31, 68 (1-2): 29-43.
8. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных: Справочное пособие. 3-е издание переработанное и дополненное (под ред. А.П. Калашникова и др.). Москва, 2003, 456 с.
9. Радченков В.П., Матвеев В.А. Методы анализа гормонов крови. В кн.: Методы биохимического анализа (справочное пособие). Боровск, 1997: 165-200.
10. Материкин А.М., Матвеев В.А., Галочкина В.П., Мартынова А.С., Семина Н.Н. Методы анализа метаболитов и активности ферментов углеводного обмена. В кн.: Методы биохимического анализа (справочное пособие). Боровск, 1997: 231-253.
11. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биологич. спец. вузов. М.: Высш. школа, 1980, 293 с.

The effects of propylene glycol as feed additive on functional activity of pancreatic insulin apparatus in bulls

Volovnikov V.V., Matveev V.A., Baranova I.A.

*Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Farm Animals,
Russian Agricultural Academy, Borovsk, Russia*

In the trials performed on growing and fattening bulls the effects of addition of propylene glycol (PG) to feed at dose of 80 - 250 ml/d were studied. The increment of insulin level in blood at 1 hr after feeding was elevated in bulls fed PG compared to control. The ratio of insulin concentration in blood at 1 hr after feeding to its basal concentration was dose depending upon feeding of PG. The concentration of glucose in blood had tendency to increase as dose of PG was increased. In fattening bulls fed protein additives with 250 mg PG/d the concentration of urea in blood and excretion of urea with urine were decreased compared to control bulls fed protein additive without PG and the nitrogen accretion was increased by 24,4%, quantity of meat by % ($P<0.05$) and quantity of visceral fat was decreased by 19.1% ($P<0.05$).

Key words: bulls, growth, fattening, propylene glycol, glucose, insulin, urea

Prob. Prod. Anim. Biol., 2007, 2:68-74