

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ ОРГАНІЗМУ КАЧОК.

КОЛЕСНИКОВ М.О.-аспірант*,МЕЛЬНИК Н.О.-студент

Таврійська державна агротехнічна академія

В роботі виявлені вікові особливості функціонування антиоксидантних ферментів в організмі качок. Показано, що в період з 7-42 доби відбувається зниження активностей СОД і КТ, активність ГПО компенсаторно зростає. Незбалансованість анти-прооксидантних процесів раннього онтогенезу обумовлена несформованістю механізмів ферментативної адаптивної відповіді.

В дослідженнях останніх років показано, що процеси вільнорадикального перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) постійно відбуваються в організмі і зв'язані в нормі з реакціями біосинтезу простагландинів, лейкотриєнів, оновленням ліпідного складу клітинних мембран та регуляції їх проліферації [1]. Але за умов дії несприятливих факторів виникнення стану оксидативного стресу супроводжується інтенсифікацією процесів ПОЛ із порушенням структурно-фізіологічних властивостей фосфоліпідного матриксу, модифікацією мембранозв'язаних ферментів та ДНК-структур[2]. В організмі тварин інтенсивність ПОЛ підтримується у межах фізіологічної норми завдяки системі антиоксидантного захисту, де важливе місце посідають ферментативні редокс-системи.

У дослідах [3] відмічено підвищення рівня ПОЛ і відповідне зростання активності ферментів в ранній постнатальний онтогенез птиці у зв'язку з переходом від ембріональної гіпоксії до відносної гіпероксії. Разом з тим, стан антиоксидантної системи (АОС) організму птиці залежить від рівня активності метаболічних процесів, які особливо підвищені в організмі птиці м'ясного напрямку продуктивності в період інтенсивного росту. Тому існує необхідність дослідження активності антиоксидантних ферментів організму качок в постнатальному онтогенезі за умов інтенсивного енергетичного обміну з метою визначення адаптаційно-критичних періодів для антиоксидантного гомеостазу.

Дослідження проводили на качках білої пекінської породи кросу "Медео", яких утримували на долівці з глибокої підстилки. Доступ до корму і води був вільний. Каченятам згодовували стандартні корми зі зниженим на 10-15% рівнем обмінної

енергії та протеїну. Каченят декапітували у добовому, 7-, 21-, 28-, 42-, 56-, 70-денному віці, збирали кров і відокремлювали плазму та сироватку. Печінку гомогенізували у 50 мМ фосфатному буфері (рН 7,4) на 0,9% розчині хлористого натрію у співвідношенні 1:9 (маса:об'єм) на холоді. Рівень ліпопероксидації в тканинах печінки та плазмі крові оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) у реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою [2]. Активність антиоксидантних ферментів визначали за наступними методиками: супероксиддисмуази (СОД) (КФ.1.15.1.1) в тканинах печінки та еритроцитах за допомогою системи НАДН-ФМС-НСТ [4], каталази (КТ) (КФ.1.11.1.6) за здатністю H_2O_2 утворювати комплекс з солями молібдену [5]; глутатіонпероксидази (ГПО) (КФ.1.11.1.9) за швидкістю окислення глутатіону у присутності гідроперекису третбутилу [6]. Визначали в тканинах печінки і сироватці крові вміст вітаміну Е за реакцією з залізопіріділовим реактивом [7], вміст білка за Lowry О.Н. et al. [8]. Результати дослідження опрацьовано статистично з виковищенням t-критерію Ст'юдента.

Постембріональний період онтогенезу супроводжується переходом до відносної гіпероксії, що пов'язано з підсиленням генерації активних кисневих метаболітів і активацією процесів ПОЛ, тому вміст МДА в тканинах печінки та плазмі крові добових каченят підвищений (табл). Далі відбувається уповільнення процесів пероксидації, проте спалахи ПОЛ у тканинах печінки в 21-денному і в плазмі крові в 28-денному віці свідчать про не сформованість механізмів регуляції вільнорадикальних процесів на рівнях клітинних біоантиоксидантів та ферментів. Протягом першого тижня онтогенезу активність СОД в тканинах печінки та еритроцитах зростає в 1,2-1,3 рази і залишається підвищеною до 21 доби. Період з 4-го до 6-го тижня життя каченят характеризується низькою СОД активністю, яка зменшується в тканинах печінки в 1,7, а в еритроцитах в 2,2 рази порівняно з цим показником у 21-денних каченят. З 42 доби відмічено зростання активності СОД і в 70-денному віці вона наближається в печінці до значень в 1,3 рази вищих, ніж у добових каченят, а в еритроцитах приблизно дорівнює добової активності.

Активність каталази у сироватці крові качок значно підвищується в ранній період онтогенезу, що є відповіддю на високий рівень пероксидації. Проте, згасання КТ активності у тканинах печінки зумовлене зростанням вмісту головного

тканинного антиоксиданту – токоферолу на 31% і зниженням МДА в 2,8 рази при порівнянні з добовими каченнями. Швидке витрачання токоферолу в гальмуванні ПОЛ у період з 7-42 доби викликає послаблення захисту фосфоліпідних мембран. Так, вже на 3-му тижні вміст МДА в тканинах печінки збільшується в 2,25 рази ($P<0,01$) при зниженні вмісту вітаміну Е в 2,1 рази порівняно з показниками у тижневих каченят. Ці зміни викликають адаптивне зростання КТ активності в печінці у 21-денному віці, але подальше падіння Е-вітамінної забезпеченості порушує регуляцію синтезу гемових груп каталази і приводить до виснаження пулу КТ на 6-му тижні онтогенезу, коли зафіксована найнижча активність цього ферменту як в тканинах печінки, так і в сироватці крові. Низька Е-вітамінна забезпеченість сприяє нагромадженню інтермедіаторів ПОЛ, які викликають пригнічення ферментативної активності СОД і КТ[9], що узгоджується з отриманими результатами.

Табл.1 Рівень переокиснення ліпідів та компоненти антиоксидантної системи качок в онтогенезі ($M\pm m, n=3$).

Показники	Вік, доба						
	1	7	21	28	42	56	70
МДА, нмоль/г тканин печінки	227,45 ±10,44	79,30 ±0,26*	177,97 ±9,40*	159,95 ±5,09	101,48 ±9,37*	72,12 ±4,62*	90,81 ±5,21*
МДА, нмоль/мл плазми крові	893,16 ±40,76	820,51 ±39,16	452,99 ±36,51*	626,07 ±50,52*	358,97 ±9,79*	416,67 ±3,70*	352,56 ±16,96*
СОД, ум.од/хв•мг білка еритроцитів	1,208 ±0,009	1,413 ±0,017*	1,442 ±0,003	0,658 ±0,026*	0,909 ±0,016*	0,879 ±0,007	1,143 ±0,029*
СОД, ум.од/хв•мг білка тк.печінки	0,209 ±0,011	0,267 ±0,001*	0,293 ±0,001*	0,263 ±0,003*	0,172 ±0,016*	0,263 ±0,009*	0,267 ±0,009
Каталаза, нкат/г білка сироватки	0,61 ±0,06	1,46 ±0,07*	0,92 ±0,05*	1,08 ±0,04	0,57 ±0,06*	1,26 ±0,13*	1,09 ±0,04
Каталаза, нкат/г білка тк.печінки	467,13 ±4,17	178,75 ±4,47*	296,13 ±4,17*	99,10 ±4,59*	74,45 ±1,66*	93,12 ±2,91*	324,92 ±2,02*
ГПО, ммольGSH/ хв•мг білка плазми крові	0,088 ±0,004	0,035 ±0,003*	0,057 ±0,003*	0,072 ±0,005	0,051 ±0,006*	0,016 ±0,003*	0,028 ±0,003*
ГПО, ммольGSH/ хв•мг білка тканин печінки	1,634 ±0,086	0,663 ±0,06*	1,385 ±0,077*	1,421 ±0,061	1,119 ±0,097*	0,599 ±0,068*	0,133 ±0,003*
Вітамін Е, мкг/мл сироватки крові	160,16 ±3,96	85,73 ±3,20*	125,90 ±3,95*	64,72 ±3,46*	55,90 ±1,46	62,81 ±1,38*	86,30 ±2,40*
Вітамін Е, мкг/г тканин печінки	235,53 ±3,55	309,18 ±3,91*	148,48 ±7,19*	102,93 ±3,69*	84,74 ±5,83	121,73 ±9,57*	158,07 ±6,67*

* - різниця вірогідна при порівнянні з попереднім результатом онтогенезу ($P<0,05$)

Протягом перших 4-ох тижнів онтогенезу спостерігалась асинхронність активності КТ у сироватці крові та тканинах печінки качок, що, імовірно, пояснюється звільненням мембранозв'язаної каталази клітин печінки і збільшенням її рухливої більш реакційноздатної фракції в гемодинамічній системі яка транспортується до інших органів. Протягом 6-10 тижнів онтогенезу активність КТ зростає як в тканинах печінки так і в сироватці крові в 4,4 і 2,1 рази відповідно. Звісно, що КТ є синергістом СОД і між активностями цих ферментів у нормі існує прямий кореляційний зв'язок[10]. Проте, рання постнатальна адаптація качок відзначається відсутністю тісної кореляції між активностями КТ і СОД ($r=0,25$), що пояснюється несформованністю адаптаційних механізмів ензимної та неензимної ланцюгів АОС. Лише з 42-ої до 70-ої доби відмічено прямий кореляційний зв'язок поміж активностями цих ферментів ($r=0,59$) на фоні поступової активації СОД, КТ і зростання вмісту вітаміну Е в тканинах печінки та сироватці крові.

Активність ГПО на першому тижні онтогенезу значно знижується відповідно до уповільнення ПОЛ в тканинах печінки і зростання активності КТ і СОД в крові качок. З 7-ої до 28-ої доби відмічена активація каталітичної функції ГПО у печінці в 2,14 і в плазмі крові в 2,06 рази ($P<0.01$), яка залишається на підвищеному до 6 тижня життя і поступово згасає до кінця дослідження. Ініціація ГПО активності у період 21-42 доби є компенсаторною відповіддю на зниження активностей СОД і КТ та вмісту вітаміну Е.

Найбільш активні ростові процеси в організмі качок припадають на період 3-6 тижнів, що вимагає зростання швидкості енергетичного обміну. Разом з тим, підвищення інтенсивності метаболічних процесів (β -окислення, циклу Кребса, пентозофосфатного шунту) призводить до зростання пулу НАДН (НАДФН). Отже, ГПО має підвищену здатність до утилізації ліпопероксидів завдяки високому рівню відновленого глутатіону[11], генерація якого в глутатіонредуктазній реакції відбувається з використанням нікотинамідних коферментів.

Наведені експериментальні дані свідчать, що формування ферментативної АОС організму качок залежить від інтенсивності протікання процесів ПОЛ та рівня ендогенних біоантиоксидантів, вітаміну Е, зокрема. Найбільш критичним, з цієї

точки зору, є період з 7-ої до 42-ої доби онтогенезу качок. На 6 тижні життя зафіксовано значне зменшення активностей КТ і СОД на фоні виснаження пулу вітаміну Е за підвищеного енергетичного обміну речовин. Надмірна компенсаторна гіперактивність ГПО протягом цього періоду змінюється гіпоактивністю ферменту. Таким чином, оптимізація ферментативної АОС захисту організму промислової птиці в адаптаційно-критичні періоди, пов'язані з встановленням фізіологічних механізмів на етапі інтенсивного розвитку вимагає введення екзогенних біоантиоксидантів.

Література

1. Козлов Ю.П. Свободнорадикальное окисление липидов в биомембранах в норме и патологии/Биоантиокислители.-М.,1975.-С.5-14.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.-М.:Наука,1972.-252с.
3. Калитка В.В., Донченко Г.В. Антиоксидантова система і перекисове окиснення ліпідів у курчат за постнатального онтогенезу/ Укр.біохім.журн.-1995.-67, №2.- С.80-85.
4. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А.,Ефимова Л.Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека/Лаб.дело.-1983.- №10.-С.30-33.
5. Королюк М.А., Иванова А.И., Майорова И.Т. Метод определения активности каталазы/ Лаб.дело.-1988.-№1.-С.16-19.
6. Гаврилова О.Г.,Хмара П.Ф. Определение активности глутатионпероксидазы при насыщающих концентрациях субстрата/ Лаб.дело.-1986.-№12.-С.721-723.
7. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические:Справочник/ под ред.Антонова Б.И./ М.:Агропромиздат,1991.-с.40.
8. Lowry O.H., Rosenbrough N.I.,Farr A.R. Protein measurement with the Folin phenol reagent// J.Biol.Chem.-1951.-193,№1.-P.265-275.
9. Дудник Д.Б.,Тихазе А.К. Изменение активности СОД и ГПО в процессе интенсификации перекисного окисления липидов при ишемии печени/ Бюл.эксперим.биол. и мед.-1981.-91,№4.-С.452.

10. Воскресенский О.Н., Бобырев В.Н. Антиоксидантная система, онтогенез и старение/ Вопр. мед. химии.-1982.-№1.-С.14-27.

11. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона/ Успехи биол. химии.-1990.-31.-С.157-179.

В работе выявлены возрастные особенности функционирования антиоксидантных ферментов в организме уток. Показано, что в период с 7-42 суток происходит снижение активностей СОД и КТ, активность ГПО компенсаторно возрастает. Несбалансированность анти-прооксидантных процессов раннего онтогенеза обусловлена несформированностью механизмов ферментативного адаптивного ответа.

It was found the antioxidant enzymes function age peculiarities in the duck's organism. It was shown the reduction of SOD and catalase activities and compensatory increasing of glutathionheroxidase activity during 7-42 days period. Misbalancing of anti-prooxidant processes is conditioned by disforming of enzymes adaptive answer mechanisms in the early ontogenesis.

***-- науковий керівник, професор, д.с.-г.н. Калитка В.В.**