

Фізіолого-біохімічні, біотехнологічні та морфологічні способи підвищення продуктивності тварин.

УДК 577.15:577.161.3:636.597

СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ КАЧОК В ПЕРІОД ЯЙЦЕНОСНОСТІ.

Колесніков М.О., к.с.г.н., доцент

Таврійська державна агротехнічна академія, м. Мелітополь, Україна

Досліджено стан ліпофільних та ферментативних компонентів антиоксидантної системи качок протягом яйцекладки. Зафіксовано падіння КТ активності та зростанням СОД, ГПО активності тканин качок в період яйценосності. Виявлено залежність вмісту МДА в печінці та крові качок від Е- та А-вітамінної забезпеченості тканин протягом яйцекладки.

Ключові слова: антиоксидантна система, пероксидація ліпідів, яйценосність, качки.

Вступ. Важливе місце в формуванні функціонально-значущих механізмів адаптації організму до фізіологічних станів належить антиоксидантній системі [1]. У фізіологічно-критичні періоди відбувається певне виснаження резервів антиоксидантної системи і можливим є розвиток оксидативного стресу. Чутливими до оксидативного стресу є високопродуктивна птиця, особливо в період підготовки організму до яйцекладки [2]. Разом з тим, стан антиоксидантної системи організму птиці залежить від рівня активності метаболічних процесів, які підвищені в організмі птиці м'ясного напрямку продуктивності в період яйценосності. Визначення рівня функціонування антиоксидантної системи (АОС) дає можливість встановити рівень адаптивної відповіді організму до фізіологічного напруження та з'ясувати доцільність використання екзогенних препаратів антиоксидантної та адаптогенної дії.

Постановка завдання, мета статті. Тому метою даної роботи було вивчення особливостей функціонування ферментативної та неферментативної ланок АОС, перебігу процесів пероксидації ліпідів в організмі качок протягом періоду яйценосності.

Матеріали і методи. Досліди проводили на качках пекінської породи, які утримувались на підлозі з глибокою підстилкою та мали вільний доступ до корму і води. Качкам згодовували стандартний корм (№ ПК 20-1) без застосування додаткових фармакологічних препаратів.

Качок декапітували у періоди початку яйцекладки (7 місяць), пік яйцекладки (10 місяць) та кінець яйцекладки (13 місяць). Збирали кров і виділяли сироватку. З гепаринізованої крові після центрифугування отримували плазму та еритроцитарну масу. Печінку гомогенізували у 50 мМ фосфатному буфері (рН

7,4) на 0,154 М розчині хлористого натрію у співвідношенні 1:9 (маса:об'єм). Інтенсивність спонтанної пероксидації ліпідів (ПОЛ) в тканинах печінки та плазмі крові оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою [3]. Супероксиддисмуазну активність (СОД) (КФ.1.15.1.1) визначали в тканинах печінки та еритроцитах за допомогою тетразолію нітросинього в системі НАДН-феназинметасульфат [4], каталазну (КТ) (КФ.1.11.1.6) за здатністю H_2O_2 утворювати комплекс з молібденовими солями [5]; глутатіонпероксидазну (ГПО) (КФ.1.11.1.9) в тканинах печінки та плазмі крові за швидкістю окислення глутатіону в присутності гідроперекису третбутилу [6]. Вміст білка визначали за Lowry O.H. et al. [7]. В тканинах печінки, сироватці або плазмі крові визначали вміст вітамінів А та Е згідно методу [8], а каротиноїди фотометрично при $\lambda=440\text{нм}$, загальні ліпіди тканин печінки після екстрагування хлороформом - гравіметрично [3]. Результати дослідження опрацьовано статистично з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати дослідження. За даними табл. 1 видно, що вміст МДА в тканинах печінки качок в період інтенсивної яйценосності зменшується в 2,24 рази ($P<0,01$) та зростає до кінця яйцекладки до значення 227,01 нМ/г. Подібна динаміка узгоджується із зміною вмісту загальних ліпідів тканин печінки качок, які є головним субстратом процесів пероксидації. Вміст загальних ліпідів печінки зростає до кінця яйцекладки в 3,22 рази ($P<0,01$), а потім знижується в 1,92 рази ($P<0,01$). Це пов'язано з депонуванням ліпідів в тканинах та їх використанням, з одного боку, на енергетичні процеси, а з іншого - на синтез компонентів яйця. За даними літератури [9], відомо, що для періоду інтенсивної яйценосності характерним є високий вміст поліненасичених жирних кислот у складі ліпідів сироватки крові, що ймовірно, пояснює зростання рівня процесів ПОЛ у крові в цей період порівняно з початком та кінцем яйцекладки.

Подібна асинхронність у змінах вмісту МДА в печінці та крові качок пов'язана із забезпеченістю організму птиці вітамінами-антиоксидантами. Вітамін Е, як головний тканинний антиоксидант включається до процесів гальмування ПОЛ шляхом взаємодії з перекисними радикалами. Протягом досліджуваного періоду спостерігається депонування вітаміну Е в тканинах печінки на що вказує зростання його вмісту в 3,1 рази ($P<0,01$) (див. табл. 1). Це стало можливим завдяки іммобілізації пулу вітаміну Е з крові, так як його вміст в сироватці крові качок зменшився в 2,5 рази до кінця яйцекладки.

Динаміка змін вмісту вітаміну А в тканинах печінки та крові качок носить також протилежний характер. Тоді як, вміст вітаміну А в печінці зменшується в 1,9 рази до періоду інтенсивної яйценосності та далі зростає в 3,44 рази до кінця яйцекладки, в сироватці крові вміст вітаміну А зростає в 1,24 рази до періоду інтенсивної яйценосності та зменшувався в 2,12 рази ($P<0,01$) до періоду закінчення яйцекладки.

Таблиця - 1 Вміст МДА та ліпофільних компонентів антиоксидантної системи організму качок протягом яйцекладки. (M±m, n=3)

Показники	Періоди яйцекладки		
	початок	пік	кінець
МДА, нМ/г тканин печінки	299,37 ±16.93	133,52 ±15,39*	227,01 ±17,64*
МДА, нМ/мл плазми крові	739,13 ±39.57	961,53 ±55,52*	412,39 ±11,31*
Заг. ліпіди, мг/г тканин печінки	33,1 ±1,6	106,5 ±1,9**	55,5 ±6,1**
Вітамін А, мкг/г тканин печінки	10,54 ±2.07	5,59 ±0,64	19,22 ±1,50**
Вітамін А, мкг/мл плазми крові	1,71 ±0.10	2,12 ±0,14	1,003 ±0,06**
Вітамін Е, мкг/г тканин печінки	54,79 ±2.09	85,97 ±1,77**	168,36 ±12,49*
Вітамін Е, мкг/мл сироватки крові	46,98 ±1.14	20,27 ±0,99**	18,86 ±1,46
каротиноїди, мкг/г тканин печінки	3,17 ±0.16	2,54 ±0,13	6,52 ±0,60**
каротиноїди, мкг/мл плазми крові	1,38 ±0.04	0,64 ±0,03**	0,89 ±0,04**

Примітка: Тут та у таблиці 2: * - різниця вірогідна порівняно з попереднім строком дослідження, $P<0,05$; ** - $P<0,01$

Відомо, що метаболізм ретинолів тісно залежить від обміну білків, тому зростання вмісту білків тканин печінки та крові має обумовлювати відповідне накопичення вітаміну А. Так, вміст білків печінки вірогідно зростав в період інтенсивної яйцекладки та знаходився на підвищеному рівні до її закінчення (табл. 2), що свідчить про високу функціональну активність тканин печінки у період яйцекладки, яка супроводжується підвищенням засвоєння кормів і трансформацією поживних речовин у компоненти яйця [10]. Таким чином, різке зменшення концентрації вітаміну А в печінці качок в період інтенсивної яйценосності може пояснюватися лише активним його включенням до компонентів яйця.

Іншою причиною вітамін А-дефіцитного стану качок може бути низький вміст каротиноїдів або низька активність каротиндіоксигенази тканин печінки [11]. Так, вміст каротиноїдів знижувався в 1,25 рази в тканинах печінки та в 2,16 рази ($P<0,01$) в крові качок з початку яйцекладки

до її піку, що вказує на їх активне транспортування та включення до структурних елементів жовтку яйця.

Стверджувати однозначно, що до кінця яйцекладки відбувається виснаження резервів АОС неможливо, з огляду на відносно низький рівень перебігу процесів ПОЛ, високий вміст вітаміну Е, каротиноїдів в тканинах печінки качок. Проте, загальне уявлення стосовно проантиоксидантної рівноваги організму качок в період яйценосності дають дані про стан ферментативної ланки АОС.

СОД є ключовим ферментом антиоксидантного захисту, який активно елімінує супероксиданіон-радикали і таким чином попереджує розвиток вільнорадикальних ланцюгових реакцій. В період яйцекладки супероксиддисмутазна активність тканин печінки незначно знижується до піку яйцекладки та вірогідно зростає до кінця яйцекладки (табл. 2).

Таблиця 2 - Вміст білку та активність ферментів антиоксидантної системи організму качок в період яйцекладки ($M \pm m$, $n=3$)

Показники	Періоди яйцекладки		
	початок	пік	початок
СОД, ум.од./хв.•мг білка тк. печінки	0,205 $\pm 0,031$	0,190 $\pm 0,033$	0,252 $\pm 0,006^*$
СОД, ум.од./хв.•мг білка еритроцитів	0,497 $\pm 0,016$	0,730 $\pm 0,022^{**}$	0,766 $\pm 0,011$
Каталаза, нкат/г білка тк. печінки	222,44 $\pm 13,08$	130,81 $\pm 15,05^*$	147,02 $\pm 1,56$
Каталаза, нкат/г білка сироватки	1,95 $\pm 0,26$	0,67 $\pm 0,03^{**}$	0,66 $\pm 0,09$
ГПО, мМ /хв•мг білка тк. печінки	0,154 $\pm 0,013$	0,390 $\pm 0,022^{**}$	0,303 $\pm 0,019^*$
ГПО, мМ /хв•мг білка плазми крові	0,056 $\pm 0,006$	0,112 $\pm 0,008^{**}$	0,089 $\pm 0,007$
Заг. білок, мг/г тканин печінки	182,47 $\pm 2,83$	219,78 $\pm 2,40^{**}$	201,41 $\pm 7,64$
Заг. білок, мг/мл сироватки крові	34,37 $\pm 0,63$	48,44 $\pm 0,13^{**}$	26,53 $\pm 0,32^{**}$

Зміни СОД активності еритроцитів вказують на активацію її ферментативних функцій в період інтенсивної яйцекладки, що узгоджується із високим вмістом МДА в крові качок саме в цей період.

Відомо що каталазна активність знаходиться у прямій залежності від СОД активності на рівні субстрату ферментативної реакції. І хоча тканини

печінки качок в періоди інтенсивної яйцекладки та її затухання характеризуються низькою КТ активністю, тісний кореляційний зв'язок між цими ферментами відсутній. Слід відзначити, що КТ активність сироватки крові качок в період інтенсивної яйцекладки та при її затуханні має в 2,9 рази ($P < 0,01$) нижчі значення порівняно з початком яйцекладки.

ГПО активність зростала в тканинах печінки та крові качок в 2,5 та 2,0 рази ($P < 0,01$) відповідно з початку до піку яйцекладки та залишалася на підвищеному рівні до кінця яйцекладки. Це вказує на зростання ролі ГПО активності в регуляції перекисних процесів в організмі каченят на цьому етапі постнатального розвитку. Слід відмітити, що ефективна реалізація адаптивної реакції ГПО можлива лише завдяки зростанню пулу відновленого глутатіону, що утворюється в глутатіонредуктазній реакції за участю нікотинамідних коферментів. В свою чергу, зростання пулу НАДН (НАДФН) відбувається за умов активного перебігу метаболічних процесів, які саме і підвищуються в період інтенсивної яйценосності [12]. Подібна активація ГПО, імовірно, є компліментарною до низької КТ активності в названі періоди яйцекладки качок. Аналізуючи динаміку ферментативної ланки АОС організму качок можна сказати, що зафіксовані в період яйценосності зміни спрямовані на підтримку низького рівня ліпопероксидації та забезпечення нормального перерозподілу та депонування ліпофільних компонентів у яйці.

Висновки. Встановлено, що рівень перебігу процесів ПОЛ в печінці та крові качок пов'язаний із Е- та А-вітамінною забезпеченістю тканин протягом яйцекладки. Період яйценосності качок супроводжується падіння КТ активності та компенсаторним зростанням СОД, ГПО активності досліджуваних тканин, що забезпечує відповідний рівень адаптивної реакції організму качок до фізіологічного напруження в період яйцекладки.

Література

1. Sies H. Strategies of antioxidant defense // Eur. J. of Biochem. – 1993. – Vol.215. – P. 213-219.
2. Головач В.М., Снітинський В.В., Аксьонова Г.В., Стояновський В.Г., Равлик О.М. Стреси сільськогосподарських тварин і птиці. – К.: Урожай, 1990. – 144 с.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 272 с.
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. 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.
8. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические: Справочник / под ред. Б.И. Антонова. – М.: Агропромиздат, 1991. – С.23-42.
9. Боднар Р.С. Состав липидов и содержание а-токоферола в тканях уток и их продуктивность в зависимости от физиологического состояния и различного Е-витаминного обеспечения: Автореф.дис...к.б.н.: 03.00.04 / УНИИФБсхЖ. - Львов, 1990. – 20 с.
10. Sedlyk A.A., Kusnjak G.M. Age peculiarities of protein and lipids synthesis in the hen tissues //Symp. Ukraine-Osterreich 'Landwirtschaft: Wissenschaft and Praxis".Tschernivci.-2000.-P.119.
11. Castenmiller J.J.M., West C.E. Bioavailability and bioconversion of carotenoids // Annu. Rev. Nutr. - 1998. – V. 18. – P. 19-38.
12. Franson JC, Hoffman DJ, Schmutz JA. Blood selenium concentrations and enzyme activities related to glutathione metabolism in wild emperor geese // Environ. Toxicol. Chem. - 2002. - V. 21(10). - P. 2179-2184.

Summary

Kolesnykov M.O. The state of duck's organism antioxidant system during egg-layer period.

The state of duck's lipophylic and enzymatic antioxidant system during egg-layer period was investigated. It has established the decreasing of CAT activity and increasing of SOD, GPx activities of duck's tissues. The relation between MDA and vitamin E, A content in duck's hepatic and blood tissues during egg-layer period was found.