

УДК 577.15:577.161.3:636.597

М.О.КОЛЕСНИКОВ, В.В.КАЛИТКА

РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В АДАПТАЦІЇ КАЧОК ДО УМОВ ПОСТНАТАЛЬНОГО РОЗВИТКУ.

Проведено исследование по выявлению особенностей функционирования антиоксидантной системы организма уток в постнатальном онтогенезе. Ткани печени и плазмы крови суточных утят характеризуются повышенным уровнем ПОЛ, что сопровождается изменениями в супероксиддисмутазной, каталазной и глутатионпероксидазной активностях. Содержание продуктов пероксидации постепенно снижается, однако, несформированность механизмов адаптации нарушает согласованное функционирование антиоксидантных ферментов на фоне истощения резервов витаминов А и Е от 7 до 42 суточного возраста. Интенсификация ПОЛ на 8 и 10 неделях онтогенеза обусловлена увеличением содержания липидов, что, возможно, является ответом на рост энергетических нужд организма уток при формировании пера.

Ключові слова: утка, антиоксидантна система, адаптація, онтогенез.

Ранній постембріональний період у тварин супроводжується встановленням механізмів метаболічної адаптації до нових умов дихання та живлення. Проте, існують суттєві відмінності у процесах закінчення ембріонального розвитку між птахами та ссавцями. Вони полягають у розвитку стимуляції до народження в самому ембріоні птаці, а не організмі матері; в функціонуванні хоріоалантоїсного та легеневого механізмів респірації ембріона птаці у паранатальний період (2-3 дні до кінця інкубаційного періоду) при безперервному збільшенні долі легеневого

дихання, а не різкому одномоментному його початку [1]. Ці фізіологічні особливості переходу від ембріонального до постнатального розвитку, неодмінно, впливають на адаптаційні можливості організму птаці в онтогенезі. Важливе місце в формуванні функціонально-значущих механізмів адаптації організму до оточуючого середовища належить антиоксидантній системі захисту [2,3]. Функціонування антиоксидантної системи (АОС) визначає рівень компенсаторної та адаптивної відповіді організму за умов можливого розвитку оксидативного стресу при транспортуванні, вакцинації, перегрупуванні, що особливо важливо для птахів, умови промислового утримання яких істотно відрізняються від природних.

Динаміка активності АОС організму птаці у віковому аспекті на сьогодні вивчена недостатньо, а існуючі літературні дані суперечливі. Показана активація ферментативних систем елімінації активних форм кисню [4], інтенсифікація перекисного окислення [5], або відсутність інтенсивного перебігу пероксидації [6] при переході від ембріональної гіпоксії до відносної гіпероксії в ранній постнатальний період у курчат. Практично відсутні дані про особливості формування АОС організму качок. Треба взяти до уваги, що стан АОС залежить від активності метаболічних процесів, які особливо інтенсивні в організмі високопродуктивної птаці у період інтенсивного росту. З цієї точки зору, характерною ознакою при постнатальній адаптації, для птаці м'ясного напрямку продуктивності, є підвищена чутливість до порушення рівноваги між інтенсивністю перекисних процесів та функціональною активністю АОС.

Тому, метою роботи було з'ясування особливостей взаємодії основних компонентів АОС і рівня ліпопероксидації в організмі каченят-бройлерів у різні

вікові періоди для визначення адаптаційно-критичних етапів становлення антиоксидантного гомеостазу.

Матеріали і методи.

Досліди проводили на качках-бройлерах білої пекінської породи. Каченята утримувались на долівці з глибокої підстилки та мали вільний доступ до корму і води. Каченятам згодовували стандартний корм (№ ПК 21-22) без застосування додаткових вітамінних преміксів та фармакологічних препаратів.

Каченят у віці 1, 7, 21, 28, 42, 56, 70 діб декапітували. 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 спонтанного переокиснення ліпідів (ПОЛ) в тканинах печінки та плазмі крові оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою [3]. Ферментативні активності визначали за наступними методиками: супероксиддисмурази (СОД) (КФ.1.15.1.1) в тканинах печінки та еритроцитах за допомогою тетразолію нітросинього в системі НАДН-феназинметасульфат [7], каталази (КТ) (КФ.1.11.1.6) за здатністю H_2O_2 утворювати комплекс з молібденовими солями [8]; глутатіонпероксидази (ГПО) (КФ.1.11.1.9) в тканинах печінки та плазмі крові за швидкістю окислення глутатіону в присутності гідроперекису третбутилу [9]. Вміст білка визначали за Lowry O.H. et al. [10]. В тканинах печінки, сироватці та плазмі крові визначали вміст вітамінів А та Е згідно методу [11], загальні ліпіди тканин печінки після екстрагування хлороформом - гравіметрично [3]. В роботі використовували реактиви кваліфікації «х.ч.», «ч.д.а.»

виробництва фірм «Реагент», «Сімко». Результати дослідження опрацьовано статистично з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати та обговорення.

У результаті проведених досліджень встановлено, що тканини печінки та плазма крові добових каченят характеризуються високим вмістом МДА (табл.1) при порівнянні з цим показником у тижневих каченят ($P < 0,01-0,05$). Це, безперечно, зумовлене, з одного боку, гіперпродукцією активних форм кисню, з іншого – великим вмістом ліпідів, що інтенсифікує процес неконтрольованого ПОЛ.

Протягом першого тижня онтогенезу відбувається зменшення вмісту супероксиданіон-радикалів завдяки зростанню активності ключового ферменту АОС – супероксиддисмутази в тканинах печінки та еритроцитах на 31,1% і 22,1% відповідно (табл.2). В цей період онтогенезу відмічено гальмування ПОЛ в тканинах печінки на 37,3% та плазмі крові на 38,4%. З 7 до 42 доби відбувається поступове зменшення вмісту МДА в печінці, що неможливо однозначно пояснити активацією певних ланок АОС.

У 3-тижневих каченят, порівняно з 7-денними, супероксиддисмутазна активність тканин печінки та еритроцитів залишається підвищеною. На 4 та 6 тиждів життя відмічається зниження СОД активності, яка в тканинах печінки зменшується в 1,3 і 1,7 рази та в еритроцитах в 1,2 і 1,3 рази відповідно, порівняно з цим показником у 3-тижневих каченят. Після 6 тижня СОД активність тканин печінки та еритроцитів вірогідно зростає, що є, імовірно, реакцією на фізіологічний стрес, пов'язаний з початком ювенільного линяння у птиці.

Відомо, що КТ є синергіст СОД і між активностями цих ферментів повинен існувати прямий кореляційний зв'язок [12]. У протилежність цьому, рання постнатальна адаптація качок відзначається відсутністю тісної кореляції між КТ і СОД активностями ($r=0,16$), що пояснюється, можливо, несформованістю адаптаційних механізмів різних ланцюгів АОС. Каталазна активність в сироватці крові 7-денних качок значно підвищена, порівняно з добовими каченятами, що є індуктивною відповіддю на великі концентрації перекису водню, який генерується в ході реакції дисмутації. Проте, в тканинах печінки, навпаки, КТ активність зменшується в 3 рази і знову зростає в період з 7 до 21 доби. Подібна асинхронність між КТ активностями у сироватці крові та тканинах печінки протягом перших 3 тижнів онтогенезу, імовірно, зумовлена звільненням мембранозв'язаної КТ клітин печінки і збільшенням пулу рухливої, реакційно здатної фракції в гемодинамічному руслі. На 3 та 6 тиждень спостерігається згасання КТ активності в сироватці крові, що корелює з відповідним зменшенням СОД активності.

Глутатіонпероксидазна активність знижується в тканинах печінки та плазмі крові на першому тижні відповідно до уповільнення ПОЛ і зростання СОД активності. У 3 та 4-тижневих каченят зафіксоване вірогідне підвищення ГПО активності тканин печінки порівняно з тижневими каченятами. Ініціація ГПО активності в організмі качок є компенсаторною реакцією на зниження СОД і КТ активностей при незмінному рівні ПОЛ. Слід відмітити, що зростання швидкості енергетичного обміну супроводжується найбільш активними ростовими процесами в організмі качок які припадають на 3-6 тижні постнатального онтогенезу. Разом з тим, підвищення інтенсивності метаболічних процесів (β -окислення, циклу Кребса,

пентозофосфатного шунту) призводить до зростання пулу НАДН (НАДФН). За рахунок активації глутатіонредуктазної реакції з інтенсивним витрачанням нікотинамідних коферментів поповнюється фонд відновленого глутатіону і ГПО має підвищену здатність до утилізації ліпопероксидів [13]. Проте, у 42 та 56-денних каченят не спостерігається компенсаторного підвищення ГПО активності на фоні зменшення СОД і КТ активностей, що можливо пояснюється зниженням інтенсивності ПОЛ на цьому етапі онтогенезу. ГПО і КТ активність тканин печінки 70-денних качок зростає у відповідь на більш, ніж дворазове підвищення рівня ліпопероксидації.

Відомо, що функціонування антиоксидантних ферментів, особливо ГПО і КТ, тісно пов'язане з неферментативними компонентами антиоксидантного захисту [14].

Найбільший вміст вітаміну Е як основного ендogenous антиоксиданту зафіксовано у добових каченят. Впродовж перших 3 тижнів його концентрація падає як в тканинах печінки, так і сироватці крові (в 2,0 і 2,6 рази відповідно), що пояснюється швидким окисненням токоферолу до токоферилхінону в реакціях гальмування ПОЛ. Доведено, що в печінці добових гусенят, курчат відсутня активна хінонредуктаза, яка забезпечує подальшу реутилізацію α -токоферилхінону. Внаслідок цього останній накопичується в печінці і гальмує обмін α -токоферолу [15]. Подібна динаміка Е-вітамінної забезпеченості знаходить експериментальне підтвердження [6]. Падіння концентрації вітаміну Е обумовлює конформаційні зміни мембранозв'язаних ферментів, порушує регуляцію синтезу гемових груп КТ, пригнічує ферментативну СОД і ГПО активність тканин печінки та крові качок [16].

Про це свідчить відмічене нами виснаження загального пулу КТ та падіння СОД і ГПО активностей на 6 тижні онтогенезу.

Вміст вітаміну А в плазмі крові 7-денних каченят в 1,94 рази більший при порівнянні з добовими, що можливе завдяки надходженню вітаміну А з жовткового мішка та печінки. За даними Душейко А.А. [17] ембріональні залишки вітаміну А задовольняють потреби птиці протягом першого тижня постнатального онтогенезу. Далі його вміст в організмі залежить лише від екзогенного введення та біотрансформації з каротину. Отже, недостатня кількість вітаміну А в раціоні та фізіологічно обумовлена неспроможність качок до утворення вітаміну А з каротину на першому місяці життя пояснюють зменшення вмісту ретинолів в 3,0 рази в плазмі крові та доволі повільне накопичення його в тканинах печінки. На 4 та 6 тиждів відбувається депонування ретинолу в печінці, можливо, як за рахунок трансформування каротину в ретинол, так і внаслідок більш сталого рівня пероксидації. Низька забезпеченість токоферолом у 6 та 8 тижневих каченят, імовірно, дезактивує каротиндеоксигеназу [18] та викликає підсилення антиоксидантної функції вітаміну А, що в кінцевому рахунку знижує його депонування в тканинах печінки. Дефіцит вітаміну А в організмі, в свою чергу, провокує зниження КТ і ГПО активностей тканин печінки та крові качок, що узгоджується з існуючими даними [19].

Слід відмітити, що фізіологічно обумовлене зменшення рівня загальних ліпідів в тканинах печінки у постнатальному онтогенезі з подальшою стабілізацією змінюється у 70-денних каченят зростанням їх вмісту майже в 2 рази, при порівнянні з цим показником у 56-денних качок. Накопичення ліпідів, можливо, є відповіддю на

зростання енергетичних потреб організму при формуванні пера та інтенсивному рості [20]. Зростання пулу ліпідних поліненасичених субстратів у цей період викликає інтенсифікацію ПОЛ в 1,93 рази в тканинах печінки і в 1,35 рази в плазмі крові каченят. Інтенсифікація ПОЛ негативно впливає на синтез білка [21], імовірно саме тому відмічене різке зменшення його вмісту в тканинах печінки качок 70-денного віку ($146,4 \pm 1,5$ мг/г), порівняно з 56-денними каченятами ($219,3 \pm 1,4$ мг/г). Це, безперечно, погіршує транспортування та порушує депонування вітаміну А, про що свідчить зменшення його вмісту на 33 % в печінці качок на 10 тижні онтогенезу.

Таким чином, проведене дослідження дозволяє зробити висновки, що функціонування системи АО захисту організму качок в онтогенезі має складний характер і залежить від рівня ендогенних антиоксидантів та механізмів їх регенерації. Узгоджене і безперебійне функціонування цих механізмів детермінує надійність АОС захисту організму. Вичерпання одного з компонентів системи може викликати як компенсаторну реакцію іншого компоненту, так і порушення механізмів його відновлення. Найбільш критичним, з цієї точки зору, є період з 7 до 42 доби онтогенезу качок, коли відбувається гальмування КТ і СОД активностей тканин, а компенсаторна ГПО гіперактивність швидко змінюється її зниженням на фоні виснаження пулу досліджуваних вітамінів-антиоксидантів. Оптимізація АОС захисту організму птиці у критичні періоди при інтенсивному розвитку вимагає введення екзогенних антиоксидантів.

1. *Фисинин В.И., Журавлёв И.В., Айдинян Т.Г.* Эмбриональное развитие птицы. М.: Агропромиздат, 1990. 240 с.
2. *Тиунов Л.А.* // Вестник РАМН. 1995. № 3. С. 9—13.
3. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
4. *Калитка В.В., Донченко Г.В.* // Укр. биохим. журн. 1995. 67, №2. С. 80—86.
5. *Цехмістренко С.І.* // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. 1997. вип.4. ч.1. С. 328—330.
6. *Кучмістова О.Ф.* Вміст антиоксидантів та перекисне окислення ліпідів у тканинах птахів у ембріогенезі та ранньому постнатальному онтогенезі: Автореф. дис. ...канд. биол. наук. Сімф., 1998. 18 с.
7. *Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Ф.* // Лаб.дело. 1983. № 10. С. 30—33.
8. *Королюк М.А., Иванова А.И., Майорова И.Т.* // Там же. 1988. № 1. С. 16—19.
9. *Гаврилова О.Г., Хмара П.Ф.* // Там же. 1986. № 12. С. 721—723.
10. *Lowry O.H., Rosenbrough N.I., Farr A.R.* // J.Biol.Chem. 1951. 193, № 1. P. 265—275.
11. *Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические.* Справочник / Под ред. Б.И.Антонова.. М.: Агропромиздат, 1991. С. 23—42.
12. *Ahnja B.S., Kiran U.* // Curr. sci. 1978. 47, № 15. P. 544—545.
13. *Кулинский В.И., Колесниченко Л.С.* // Успехи биол. химии. 1990. 31. С. 157—179.
14. *Воскресенский О.Н., Бобырев В.Н.* // Вопр. мед. химии. 1982. № 1. С. 14—27.
15. *Ионов И.А.* // Укр. биохим. журн. 1997. 69, № 5—6. С. 3—11.
16. *Дудник Д.Б., Тихазе А.К.* // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 1981. 91, № 4. С. 452.

17. Душейко А.А. Витамин А. Обмен и функции. К.: Наукова думка, 1989. 288 с.
18. Nagao. A., During A., Hoshino.C. et al. // Arch. Biochem. and Biophys. 1996. 328, № 1. P. 57—63.
19. Koul A., Khanduja K., Koul I. et al.// J. Clin.Biochem. and Nutr. 1989. V.6, № 1. P. 21.
20. Тертерян Е.Е. Липидный обмен у кур в постнатальном онтогенезе и при использовании биологически активных добавок: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1988. 30 с.
21. Лукьянова Л.Д. Кислородозависимые процессы в клетке и её функциональное состояние. М.: 1982. С. 31—34.

Табл. 1 Рівень перекиснення ліпідів і забезпеченість вітамінами Е та А качок за постнатального онтогенезу ($M \pm m$, $n=3-4$).

| Показники | Вік, доба | | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 1 | 7 | 21 | 28 | 42 | 56 | 70 |
| МДА, нмоль/г тканин печінки | 224,27 ± 22,28 | 140,63 ± 3,49* | 120,21 ± 10,02 | 118,19 ± 2,01 | 78,14 ± 1,99* | 92,81 ± 3,71* | 179,60 ± 9,83* |
| МДА, нмоль/мл плазми крові | 623,9 ± 11,3 | 384,6 ± 11,1* | 435,9 ± 7,4* | 442,3 ± 3,7 | 363,3 ± 20,1* | 324,8 ± 14,0 | 438,6 ± 11,5* |
| Заг.ліпіди, мг/г тканин печінки | 207,4 ± 3,3 | 100,8 ± 3,2* | 35,3 ± 1,4* | 35,9 ± 0,7 | 33,3 ± 4,2 | 41,3 ± 2,1 | 77,1 ± 4,5* |
| Вітамін Е, мкг/г тканин печінки | 414,92 ± 15,48 | 356,33 ± 19,13 | 203,87 ± 2,05* | 229,51 ± 7,77* | 166,27 ± 4,91* | 101,48 ± 7,41* | 129,53 ± 6,83* |
| Вітамін Е, мкг/мл сироватки крові | 60,62 ± 2,40 | 39,31 ± 1,38* | 23,16 ± 2,42* | 51,15 ± 2,00* | 15,27 ± 0,55* | 10,85 ± 0,83* | 38,45 ± 1,17* |
| Вітамін А, мкг/г тканин печінки | 6,67 ± 0,60 | 5,55 ± 0,34 | 32,10 ± 1,74* | 25,17 ± 2,24 | 65,27 ± 2,31* | 60,51 ± 2,71 | 41,03 ± 2,69* |
| Вітамін А, мкг/мл плазми крові | 1,42 ± 0,07 | 2,75 ± 0,08* | 1,15 ± 0,16* | 0,89 ± 0,06 | 1,37 ± 0,04* | 1,23 ± 0,05 | 0,90 ± 0,02* |

* - різниця вірогідна при порівнянні з попереднім строком онтогенезу, $P < 0,05$

Табл. 2 Антиоксидантні ферменти організму качок за постнатального онтогенезу ($M \pm m$, $n=3-4$).

| Показники | Вік, доба | | | | | | |
|---|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | 1 | 7 | 21 | 28 | 42 | 56 | 70 |
| СОД, ум.од/хв•мг білка еритроцитів | 0,971 ± 0,010 | 1,186 ± 0,017* | 1,250 ± 0,005* | 1,026 ± 0,025* | 0,986 ± 0,006 | 1,204 ± 0,009* | 1,115 ± 0,013 |
| СОД, ум.од/хв•мг білка тканин печінки | 0,238 ± 0,004 | 0,312 ± 0,007* | 0,301 ± 0,004 | 0,237 ± 0,003* | 0,176 ± 0,001* | 0,266 ± 0,001* | 0,229 ± 0,007* |
| Каталаза, нкат/г білка сироватки | 0,96 ± 0,06 | 2,00 ± 0,05* | 1,32 ± 0,07* | 0,98 ± 0,10* | 0,84 ± 0,12 | 0,78 ± 0,04 | 0,39 ± 0,06* |
| Каталаза, нкат/г білка тканин печінки | 204,75 ± 6,57 | 69,10 ± 1,87* | 165,97 ± 6,29* | 75,78 ± 5,34* | 58,57 ± 4,81 | 47,14 ± 2,47 | 103,92 ± 5,61* |
| ГПО, мкмольGSH/хв•мг білка плазми крові | 49,67 ± 2,73 | 36,01 ± 3,06* | 65,80 ± 6,76* | 133,69 ± 7,72* | 94,70 ± 4,73* | 99,38 ± 8,50 | 60,41 ± 7,95* |
| ГПО, мкмольGSH/хв•мг білка тканин печінки | 463,5 ± 20,6 | 350,8 ± 66,4 | 470,1 ± 18,6 | 791,3 ± 29,8* | 193,2 ± 13,1* | 300,6 ± 18,8* | 397,7 ± 11,6* |

* - різниця вірогідна при порівнянні з попереднім строком онтогенезу, $P < 0,05$

М.А.Колесников, В.В.Калитка

РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В АДАПТАЦИИ УТОК К УСЛОВИЯМ ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ.

Проведено исследование по выявлению особенностей функционирования антиоксидантной системы организма уток в постнатальном онтогенезе. Ткани печени и плазмы крови суточных утят характеризуются повышенным уровнем ПОЛ, что сопровождается изменениями в супероксиддисмутазной, каталазной и глутатионпероксидазной активностях. Содержание продуктов пероксидации постепенно снижается, однако, несформированность механизмов адаптации нарушает согласованное функционирование антиоксидантных ферментов на фоне истощения резервов витаминов А и Е от 7 до 42 суточного возраста. Интенсификация ПОЛ на 8 и 10 неделях онтогенеза обусловлена увеличением содержания липидов, что, возможно, является ответом на рост энергетических нужд организма уток при формировании пера.

Ключевые слова: *утка, антиоксидантная система, адаптация, онтогенез.*

Таврическая государственная агротехническая академия, Мелитополь

М.О.Колесніков, В.В.Калитка

РОЛЬ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В АДАПТАЦІЇ КАЧОК ДО УМОВ ПОСТНАТАЛЬНОГО РОЗВИТКУ.

Проведено дослідження по з'ясуванню особливостей функціонування антиоксидантної системи організму качок за постнатального онтогенезу. Тканини печінки та плазма крові добових каченят характеризуються підвищеним рівнем ліпопероксидації, що супроводжується змінами в супероксиддисмутазній, каталазній

та глутатионпероксидазній активностях. Вміст продуктів ПОЛ поступово знижується, проте, несформованість механізмів адаптації порушує узгоджене функціонування антиоксидантних ферментів на фоні вичерпання резервів вітамінів А і Е від 7 до 42 добового віку. Інтенсифікація ПОЛ на 8 та 10 тижнях онтогенезу обумовлена зростанням вмісту ліпідів, що, імовірно, є відповіддю на ріст енергетичних потреб організму качок при формуванні пера.

Ключові слова: качки, антиоксидантна система, адаптація, онтогенез.

Таврійська державна агротехнічна академія, Мелітополь

M.A.Kolesnykov, V.V.Kalitka

THE ROLE OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN DUCKS ADAPTATION TO THE POSTNATAL DEVELOPMENT CONDITION.

The peculiarities of antioxidant system functioning of ducks organism were exposed in postnatal ontogenesis. The liver's tissues and blood's plasma of daily ducks are characterized with a high LPO level, that leads to changes of superoxiddismutase, catalase, glutathionperoxidase activity. The content of LPO products declines, but disforming of adapt mechanism breaks the coordinating function of enzymes while vitamin A and E provision are deficient sience 7 till 42 days age. In the 8 and 10 ontogenesis' weeks the LPO intensification depends on lipid's content increasing. Perhaps, it is an answer on energy need growth of ducks organism in forming feather period.

Key words: ducks, antioxidant system, adaptation, ontogenesis.

Tavria state agrotechnical academy, Melitopol

