

УДК 577.12.–152.–161:591

**ТКАНИННА СПЕЦИФІЧНІСТЬ ФОРМУВАННЯ
АДАПТИВНОЇ ВІДПОВІДІ НА ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС
У ГУСЕЙ В УМОВАХ ГІПО- І ГІПЕРОКСІЇ**

О.О. ДАНЧЕНКО, доктор сільськогосподарських наук
Л.М. ЗДОРОВЦЕВА, Ю.П. ПАЩЕНКО, здобувачі*
**Мелітопольський державний педагогічний університет
імені Богдана Хмельницького**

Встановлено специфічність функціонування системи антиоксидантного захисту в тканинах мозку і серця гусей в умовах гіпо- і гіпероксії під час переходу від ембріогенезу до постнатального періоду. Доведено, що мобілізація системи антиоксидантного захисту в тканинах мозку відбувається як за рахунок підвищення рівня узгодженості показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, так і шляхом скорочення ненасиченості жирних кислот ліпідів мозку.

Ключові слова: *пероксидне окиснення ліпідів, система антиоксидантного захисту, гіпо- і гіпероксія, постнатальна адаптація, жирнокислотний склад, рівень ненасиченості.*

Відомо, що суттєвіші зміни фізіологічних функцій відбуваються після вилуплення птахів у період адаптації до нових умов існування в кисневому середовищі. У постнатальному періоді при промисловому утриманні птиці принципово змінюються природні умови її існування, що спричиняє порушення фізіолого-біохімічного гомеостазу в її організмі, інтенсифікацію процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), падіння активності ендогенних антиоксидантів і, як наслідок, подовження термінів вирощування птиці та погіршення якості м'ясної продукції. Тому з'ясування механізмів антиоксидантного захисту (АОЗ) і розробка заходів щодо усунення шкідливого впливу антропогенних чинників в умовах існуючих технологій вирощування птиці вкрай потрібне [1, 9, 10].

* Науковий керівник – доктор сільськогосподарських наук О.О. Данченко

Мозок має низку особливостей, які роблять його найчутливішим до дії вільних радикалів. Для мозку характерний високий вміст ненасичених ліпідів, що визначає його як домінуючий субстрат для процесів ПОЛ. Окрім того, він активно забезпечується киснем і містить широкий спектр ферментів, які генерують АФК. У багатьох відділах головного мозку виявлено високий вміст негемового заліза, що в поєднанні зі значною кількістю аскорбінової кислоти може відігравати важливу роль в ініціації процесів ПОЛ [6, 11]. Такий перелік односпрямовано діючих факторів передбачає надзвичайно високу активність і мобільність системи АОЗ мозку.

Тканини серця характеризуються найвищим рівнем споживання кисню серед усіх м'язових тканин. Головним субстратом біологічного окиснення в серцевих м'язах є жирні кислоти.

У викладених нами раніше результатах досліджень було проаналізовано стан системи антиоксидантного захисту тканин гусей під час переходу від гіпоксії кінця ембріонального періоду до гіпероксії початку постнатального існування [4, 5, 6]. Встановлено, що в скелетних м'язах і м'язовому шлунку підтримка прооксидантно-антиоксидантної рівноваги відбувається шляхом активізації антиоксидантних ферментів і вітамінів, а для міокарда – ще й зниженням рівня ненасиченості субстрату ліпопероксидації. Доведено [3, 5], що збільшення ефективності функціонування системи АОЗ мозку відбувається за рахунок підвищення узгодженості показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. Проте одним із шляхів регуляції ПОЛ є зміни субстрату пероксидації ліпідів, їхнього жирнокислотного складу (ЖКС).

Мета роботи полягала у з'ясуванні впливу ЖКС ліпідів на підтримку прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в тканинах мозку і серця гусей в умовах гіпо- і гіпероксії.

Матеріали та методи досліджень. Для інкубації відбирали яйця гусей італійської породи з середньою масою ($134,2 \pm 8,4$) г. Дослідження системи АОЗ в ембріогенезі проводили у фізіологічно обґрунтовані терміни [7]: 15 діб – замикання алантоїсу, наявність сформованої печінки, 22 доби – перехід з

білкового типу живлення до жовткового, 28 діб – перенесення ембріонів на виведення. У постнатальному періоді дослідження обмежувались 14-добовим віком (ранній постнатальний період онтогенезу). Об'єктом дослідження були тканини мозку і серця. Ембріони і гусенят декапітували згідно зі схемою експерименту. Виділені після декапітації тканини промивали у фізіологічному розчині і гомогенізували у 50 мМ фосфатному буфері ($pH = 7,4$). Ліпідні екстракти одержували за методом E.G. Bligh та W.I. Dyer [2] із рекомендаціями F.V. Palmer [13]. Жирнокислотний склад визначали методом газорідинної хроматографії. Ненасиченість жирних кислот (N_{Σ}) рахували як сумарну еквівалентну концентрацію ненасичених жирних кислот (НЖК) відносно подвійних зв'язків [4].

Математична обробка експериментальних даних здійснювалася відомими методами математичної статистики, у тому числі кореляційного, регресійного, факторного та дисперсійного аналізів, з використанням пакетів комп'ютерних програм MS Excel 2003 та SPSS-13.

Результати досліджень та їх обговорення. Аналіз жирнокислотного складу тканин серця гусенят свідчить, що ліпіди міокарда впродовж досліджуваного періоду характеризувались достатньо стабільним рівнем ненасиченості їхнього жирнокислотного складу (табл. 1). Зміни ЖКС цих тканин у другій половині ембріонального періоду були спрямовані на зниження рівня ненасиченості жирних кислот (ЖК). У добових гусенят рівень ненасиченості ЖК ліпідів міокарда був на 10,2 % нижчим порівняно з відповідним вихідним показником. Зниження ненасиченості ЖК відбувалось за рахунок підвищення моно- і дієнових кислот (олеїнової, лінолевої) при одночасному скороченні вмісту довголанцюгових ПНЖК (в першу чергу докозапентаєнової (ДПК) і докозагексаєнової (ДГК)). Таким чином, у міокарді відбувається скорочення рівня ненасиченості ЖК, що є одним з біохімічних механізмів генетично запрограмованої адаптації пташенят до умов постнатального розвитку. Адже на тлі переходу від гіпоксії кінця ембріонального періоду до гіпероксії початку атмосферного дихання зниження рівня ненасиченості субстрату ліпопероксидації сприяє гальмуванню ПОЛ.

1. Жирнокислотний склад ліпідів міокарда гусенят, $M \pm m$, $n = 6$
(ω – масова частка, %; N – ненасиченість ЖК, мМоль/г)

Кислота	Вік, доба					
	15 ембр.		1		15	
	ω	N	ω	N	ω	N
16:0	32,34 ± 1,42	-	26,39 ± 1,52*	-	22,56 ± 1,15	-
16:1	3,77 ± 0,11	0,148	2,23 ± 0,09**	0,009	2,39 ± 0,05	0,009
18:0	16,80 ± 0,33	-	12,94 ± 0,42*	-	14,26 ± 0,43	-
18:1	19,39 ± 1,03	0,688	35,25 ± 1,14**	1,250	28,47 ± 0,94*	1,010
18:2	3,87 ± 0,07	0,276	10,51 ± 0,03**	0,750	11,77 ± 0,03	0,840
18:3	0,33 ± 0,00	0,036	0,20 ± 0,00*	0,022	5,23 ± 0,02**	0,564
20:4	10,28 ± 0,23	1,353	8,60 ± 0,12	1,131	8,57 ± 0,07	1,128
22:5	5,26 ± 0,11	0,797	1,31 ± 0,03**	0,198	0,79 ± 0,00*	0,120
22:6	2,94 ± 0,09	0,538	0,47 ± 0,00**	0,086	1,73 ± 0,01**	0,316
Вміст НЖК	46,35	3,84	59,13	3,45	60,12	3,99

Примітка. Тут і в табл. 2 різниця достовірна порівняно з попереднім значенням: * $p < 0,05$;
** $p < 0,01$.

Формування адаптивної відповіді організму гусенят на умови постнатального розвитку супроводжувалось підвищенням рівня ненасиченості ЖК ліпідів міокарда на 15,7 %, головним чином, за рахунок стрімкого зростання вмісту ліноленової і помірнішого – ДПК у цей період онтогенезу.

У тканинах мозку гусенят більший вміст НЖК і найвищий рівень їх ненасиченості спостерігали у 15-добових ембріонів (табл. 2). Серед НЖК у цьому віці відзначали найвищий вміст олеїнової кислоти та ПНЖК: арахідонової, докоза-пентаєнової, докозагексаєнової. На частку цих кислот припадає 82,1% усіх НЖК. Саме тому тканини мозку порівняно з тканинами серця мають на 36,7 % більшу ненасиченість, а отже і підвищену здатність до пероксидації. Серед насичених кислот у мозку, так само як і в міокарді, переважали пальмітинова і стеаринова кислоти.

Перехід до постнатального розвитку супроводжувався зменшенням вмісту НЖК у мозку 1-добових гусенят на 20,1 %, а ненасиченості – на 35,2 %, головним чином за рахунок зниження вмісту ПНЖК. На відміну від міокарда в мозку при переході до постнатального періоду рівень олеїнової кислоти не підвищувався.

2. Жирнокислотний склад ліпідів мозку гусенят, $M \pm m$, $n = 6$
 (ω – масова частка, %; N – ненасиченість ЖК, мМоль/г)

Кислота	Вік, доба					
	15ембр.		1		15	
	ω	N	ω	N	ω	N
16:0	26,50 ± 1,30	-	34,32 ± 1,52*	-	23,83 ± 1,15**	-
16:1	2,97 ± 0,11	0,117	2,65 ± 0,09	0,104	1,99 ± 0,09*	0,078
18:0	20,21 ± 0,63	-	19,82 ± 0,42	-	21,93 ± 1,83	-
18:1	17,98 ± 0,43	0,638	14,96 ± 0,54*	0,530	21,17 ± 0,34*	0,751
18:2	1,49 ± 0,07	0,106	1,96 ± 0,03	0,140	2,37 ± 0,03*	0,169
18:3	0,07 ± 0,00	0,001	0,12 ± 0,00*	0,013	0,33 ± 0,01**	0,036
20:4	11,71 ± 0,73	1,541	7,49 ± 0,32*	0,986	8,23 ± 0,27	1,083
22:4	-	-	7,16 ± 0,86	0,102	-	-
22:5	9,63 ± 0,21	1,761	5,51 ± 0,27**	0,835	4,86 ± 0,17	0,736
22:6	5,94 ± 0,29	1,087	3,77 ± 0,09*	0,690	10,14 ± 0,23**	1,855
Вміст НЖК	55,12	5,25	44,01	3,40	51,72	4,75
АК/ДГК	1,97	1,42	1,99	1,43	0,81	0,58

Достатньо специфічним для мозку є співвідношення незамінних жирних кислот лінолевої (ЛК) і ліноленової (ЛЛК) та продуктів їх десатурації арахідонової і докозагексаєнової. У добових гусенят мозок містить лінолевої кислоти у 5,4, а ліноленової у 1,7 раза менше, ніж серце. Одночасно мозок у 8,0 разів переважає міокард за вмістом ДГК. Низька концентрація лінолевої кислоти на тлі значно вищого вмісту арахідонової і докозапентаєнової кислот, що належать до ω -6 ряду може свідчити на користь активізації десатуразних ферментів Δ -3 і Δ -6 рядів ЖК у тканинах мозку щойно вилуплених гусенят.

Взагалі активність цих ферментів у мозку різних тварин є незначною [14], але на ранньому етапі розвитку, що відповідає нейронній і гліальній мультиплікації, у ньому спостерігається вища, порівняно з м'язовими тканинами і навіть з печінкою активність десатуразних ферментів, оскільки розвиток цього органу потребує великої кількості ПНЖК для синтезу мембран [8]. Багаторазове підвищення активності десатуразних ферментів, імовірно, і є причиною низького вмісту лінолевої кислоти в мозку гусенят цього віку.

Високий вміст ДГК у ліпідах мозку зумовлює менші значення показника АК/ДГК, що характеризує стан рівноваги у простагландинсинтетазній системі: у 1-добових гусенят цей показник для мозку у 9,2 раза менший, ніж для

міокарда. Така відмінність ЖКС мозку і міокарда підтверджує органну специфічність перебігу регуляторних процесів у тканинах мозку.

Постнатальна адаптація в тканинах мозку супроводжується підвищенням вмісту НЖК (на 17,7 %) і ненасиченості ЖК (на 39,7 %). Проте рівень цього підвищення в мозку, що відбувається, головним чином, за рахунок збільшення вмісту ДГК і олеїнової кислоти, достовірно перевищує аналогічні зміни ЖКС ліпідів мозку.

Таким чином, найвища ненасиченість ЖК ліпідів мозку спостерігається в середині ембріонального періоду. Скорочення ненасиченості ліпідів клітинних мембран мозку наприкінці ембріогенезу є генетично запрограмованою підготовкою організму ембріонів до умов постнатального існування. В цих тканинах високий вміст довголанцюгових ПНЖК (ДПК, ДГК), які проявляють біоефекторні властивості.

Отже, під час переходу від гіпоксії кінця ембріонального розвитку до гіпероксії початку постнатального існування система АОЗ досліджених тканин мозку і міокарда зазнає пошкодження, рівень якого визначається, в першу чергу, інтенсивністю споживання кисню цими тканинами, а також здатністю до пероксидації ліпідів цих тканин, що значною мірою залежить від їхньої ненасиченості і структурної організації. Кількість подвійних зв'язків вважається індексом окиснюваності тканинних ліпідів. Хоча роботами А. Наглер із співробітниками [12] показано, що у природних ліпід-білкових надмолекулярних комплексах окиснення ПНЖК із різним ступенем ненасиченості може мати складніший і менш передбачуваний характер, ніж у гомогенних системах. Дійсно, зміни рівня ненасиченості ЖК ліпідів серця і мозку під час оксидативного стресу неадекватні. Так, якщо впродовж другої половини ембріогенезу рівень ненасиченості ЖК ліпідів мозку гусенят скоротився на 35,2 %, то в міокарді – тільки на 11,3 %.

Висновки. Вищий рівень споживання кисню на тлі відносно невисокої активності основних антиоксидантів і їхнього слабого впливу на антиоксидантну активність мозку [3, 5] дозволяє припустити, що специфічність

підтримки прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в тканинах мозку в умовах гіпо- і гіпероксії полягає в запуску опосередкованих нейрогуморальних механізмів, які, по-перше, скорочують ненасиченість ЖК ліпідів мозку, що суттєво підвищує їхню резистентність до АФК, а, по-друге, збільшують ефективність функціонування системи АОЗ за рахунок підвищення узгодженості показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги [3].

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреев А.Ю. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях / А.Ю. Андреев, Ю.Е. Кушнарера, А.А.Старков // Биохимия. – 2005. –70, №2. – С. 246 – 264.
2. Bligh E.G. A rapid method of total lipids extraction and purification / E.G. Bligh, W.I. Dyer // Can. J. Biochem. Physiol. – 1959. – V. 37. – P. 911 – 917.
3. Данченко О.О. Вплив А-вітамінної забезпеченості інкубаційних яєць на антиоксидантний статус гусенят / О.О. Данченко, Л.М. Здоровцева, Ю.П. Пащенко // Актуальные Проблемы современного птицеводства. Материалы XII Украинской конференции по птицеводству с международным участием (г. Алушта, АР Крым, 19-22 сентября 2011 г.). – Харьков, 2011. – С. 122 – 126.
4. Данченко О.О. Онтогенетичні особливості змін жирнокислотного складу ліпідів печінки гусей як головного субстрату пероксидації / О.О. Данченко, В.В. Калитка, Д.М. Колесник // Укр. біохім. журн. – 2003. – Т. 75, № 3. – С. 124 – 129.
5. Данченко О.О. Прооксидантно-антиоксидантна рівновага в тканинах мозку і серця гусей в умовах гіпо- і гіпероксії / О.О. Данченко, Л.М. Здоровцева, Ю.П. Пащенко // Наукові доповіді НУБіП України. – 2011. – №4 (26) http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_4/11zlm.pdf
6. Данченко О.О. Тканинна специфічність онтогенетичних змін вмісту ліпідів і продуктів їх пероксидації у гусей / О.О. Данченко, О.М. Петренко, К.І. Проніна, Л.М. Здоровцева // Сучасні проблеми біології, екології та хімії: міжнародна конф., 28 березня -1 квітня 2007р. : зб. матеріалів. – Запоріжжя: ЗДУ, 2007. – С. 534 – 537.
7. Іонов І.А. Фізіологічний статус птиці в ембріогенезі та постнатальному онтогенезі в залежності від її А-, Е- та К-вітамінної забезпеченості: : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. с.-г. наук : 03.00.04 «Біохімія» / І.А. Іонов. –Харків, 1997. – 32 с.
8. Кирилів Б. Я. Ліпідний та жирнокислотний склад тканин курей, ембріонів і добових курчат за різного складу раціону : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук : спец. 03.00.04 «Біохімія» / Б. Я. Кирилів. – Л., 2004.– 17с.
9. Колесніков М.О. Стан процесів переокислення та антиоксидантної системи організму каченят в постнатальному онтогенезі: автореф. дис. на здобуття наук.

- ступеня канд. с.- г. наук: 03.00.04 «Біохімія» / М.О. Колесніков. – К: НАУ, 2003. – 18 с.
10. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика /Ф.З. Меерсон. – М.: Наука, 1981. – 278 с.
11. Мхітарян Л.С. Окислювальний стрес: механізми розвитку і роль в патології / Л.С. Мхітарян, О.Б. Кучменко. – К. : НПУ ім. М.П. Драгоманова, 2004. – 223 с.
12. Наглер Л.Г. Скорость свободнорадикального окисления C₁₈ диеновых и триеновых жирных кислот и эффективность их ингибирования β-каротином в водных мицеллярных растворах / Л.Г. Неглер, В.З. Ланкин, А.И. Козаченко, С.М. Гуревич // Биохимия – 2003. – Т. 68, вып. 2. – С. 243 – 249.
13. Palmer F.B. St. C. The extraction of acidic phospholipids in organic solvent mixtures containing water / F.B. St. C. Palmer // Biochim. Biophys. Acta. : Lipids and Lipid Metabolism – 1971. – V. 231. – № 1. – P. 134 – 144.
14. Speake В.К. Lipid composition, fatty acid profiles and lipid-soluble antioxidants of eggs of the Hermann's Tortoise / В.К. Speake, P.F. Surai, M. Gore // Zoo Biology. – 2001. – V. 20. – P. 75 – 87.

Тканевая специфичность формирования адаптивного ответа на оксидативный стресс у гусей в условиях гипо- и гипероксии

Данченко Е.А., д-р с.-х. наук; Здоровцева Л.Н., Пащенко Ю.П.

Мелитопольский государственный педагогический университет

Установлено специфичность функционирования системы антиоксидантной защиты в тканях мозга и сердца гусей в условиях гипо- и гипероксии при переходе от эмбриогенеза к постнатальному периоду. Доказано, что мобилизация системы антиоксидантной защиты в тканях мозга происходит как за счет повышения уровня согласованности показателей прооксидантно-антиоксидантного равновесия, так и путем сокращения ненасыщенности жирных кислот липидов мозга.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, система антиоксидантной защиты, гипо- и гипероксия, постнатальная адаптация, жирнокислотный состав, уровень ненасыщенности.

Tissue specificity of the formation of adaptive response to oxidative stress in geese in conditions of hypo- and hyperoxia

O. Danchenko, L. Zdorovtseva, U. Pashenko; Melitopol State Pedagogical University

Established the specificity of the system of antioxidant protection in tissues of the brain and heart geese in a hypo- and hyperoxia during the transition from embryogenesis to postnatal period. It is shown that mobilization of antioxidant system in tissues of the brain occurs both by increasing the coherence indicators prooxidant-antioxidant balance, and by reducing unsaturated fatty acids of lipids of the brain.

Key words: lipid peroxidation, antioxidant protection system, hypo- and hyperoxia, postnatal adaptation, fatty acid composition, level of unsaturation.