

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНА РІВНОВАГА В ТКАНИНАХ МОЗКУ І СЕРЦЯ ГУСЕЙ В УМОВАХ ГІПО- І ГІПЕРОКСІЇ

*Л.М. ЗДОРОВЦЕВА, здобувач**

*Ю.П. Пащенко, здобувач**

О.О. ДАНЧЕНКО, доктор сільськогосподарських наук

Мелітопольський державний педагогічний університет

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. Формування адаптивної відповіді на оксидативний стрес в серцевих м'язах відбувається за рахунок активізації глутатіонпероксидази та ресурсів вітаміну Е і β -каротину. Доведено, що попри нижчий рівень супероксиддисмутази і каталази активності та вмісту вітамінів Е, А і β -каротину, коефіцієнт антиоксидантної активності тканин мозку 15-добових ембріонів гусенят перевищує відповідний показник тканин серця. Показано, що мобілізація системи антиоксидантного захисту в тканинах мозку відбувається і за рахунок підвищення рівня узгодженості показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.

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

Обґрунтування механізмів антиоксидантного захисту птиці можливе лише на основі глибокого пізнання молекулярних механізмів обмінних процесів, які детермінують рівень субстратного і кисневого забезпечення організму в умовах переходу від ембріонального до постнатального періоду онтогенезу і надалі під час постнатального розвитку. Відомо, що найсуттєвіші зміни фізіологічних функцій відбуваються після вилуплення птиці у період адаптації до нових умов існування в кисневому середовищі. Важлива роль у підтриманні гомеостазу організму птиці належить системі антиоксидантного захисту (АОЗ). Вона забезпечує інактивацію продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і запобігає їхньому нагромадженню в тканинах [1-2].

В останні роки доведено зв'язок показників енергетичного обміну і стану прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі птиці [3-4]. Проте тканинна специфічність функціонування системи АОЗ у зв'язку зі специфікою енергозабезпечення цих тканин у найскладніші періоди онтогенезу на тлі гіпо- і гіпероксичного стану їх організму досліджено недостатньо.

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

Мозок має низку особливостей, що визначають його чутливість до дії вільних радикалів. Для нього характерний високий вміст головного субстрату ліпопероксидації. Окрім того, він активно забезпечується киснем і містить ферменти, які генерують активні форми кисню (АФО). У багатьох відділах головного мозку виявлено високий вміст негемового феруму, що в поєднанні зі значною кількістю аскорбінової кислоти може відігравати важливу роль в ініціації процесів ПОЛ. Такий перелік односпрямовано діючих факторів передбачає надзвичайно високу активність і мобільність системи АОЗ мозку [5]. Тканини серця характеризуються найвищим рівнем споживання кисню серед усіх м'язових тканин. Головний субстрат біологічного окиснення в серцевих м'язах – жирні кислоти.

Тому метою роботи було з'ясування механізмів підтримки 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: 15 діб – замикання алантоїсу, наявність сформованої печінки, 22 доби – перехід з білкового типу живлення на жовтковий, 28 діб – перенесення ембріонів на виведення. У постнатальному періоді дослідження обмежували 14-добовим віком (ранній постнатальний період онтогенезу) [6-7]. Ембріони і гусенят декапітували згідно зі схемою експерименту. Виділені після декапітації тканини промивали у фізіологічному розчині і гомогенізували в 50 мМ фосфатному буфері (рН = 7,4).

Інтенсивність ПОЛ у тканинах пташенят оцінювали за вмістом продуктів пероксидації, які реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою [8]. Визначення цих продуктів проводили в гомогенатах тканин (ТБКАП) та за ініціації Fe^{2+} ПОЛ (ТБКАП_{інк}).

Активність антиоксидантних ферментів і вміст вітамінів визначали за відомими методиками: СОД-активності (КФ 1.15.1.1.) [9], КАТ-активності (КФ 1.11.1.6) [10], ГПО-активності (КФ 1.11.1.9) [11], а вміст вітамінів А, Е і β -каротину в тканинах – спектрофотометричним методом [12].

Окрім ферментативної активності і вмісту вітамінів, стан системи АОЗ оцінювали за коефіцієнтом антиоксидантної активності – $K_{АОА}$, який визначали як відношення вихідного ПОЛ (без ініціації Fe^{2+}) до індукованого Fe^{2+} ПОЛ.

Рівень узгодженості (W_K , %) біохімічних показників для K -сукупності (K – кількість показників), яка характеризує стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в тканинах птиці, визначався кількістю щільних парних кореляційних зв'язків відносно максимально можливого їх числа:

$$W_K = \frac{N_\Sigma}{N_K} \cdot 100\%, \text{ де } N_\Sigma - \text{загальна}$$

кількість щільних парних кореляційних зв'язків у досліді (прийнято вважати щільними зв'язки, для яких коефіцієнт кореляції $r > 0,50$); N_K – максимально можлива для K -сукупності показників кількість парних кореляційних зв'язків [13-14].

Математичну обробку експериментальних даних здійснювали відомими методами математичної статистики [15], у тому числі кореляційного, регресій-

ного, факторного та дисперсійного аналізів, з використанням пакетів комп'ютерних програм MS Excel 2000 та SPSS-10,0.

Результати досліджень. В тканинах мозку 15-добових ембріонів вміст ТБКАП був на 20,2 % нижчий за міокард (табл.). Упродовж третього тижня ембріогенезу (з 15-ї до 22-ї доби) вміст ТБКАП спадав і досяг мінімального значення. Активізацію процесів ПОЛ спостерігали під час переходу від гіпоксії кінця ембріонального розвитку до гіпероксії постнатального у 28-добових гусенят. Формування адаптивної відповіді на умови постнатального існування супроводжувалось стабілізацією процесів ПОЛ на рівні середнього для цього показника значення. Для тканин мозку, на відміну від серця, ранній постнатальний період характеризувався вищим, але сталішим вмістом ТБКАП і за середнім рівнем ТБКАП тканини мозку тільки на 12,1 % перевищували відповідний показник міокарду.

За високої ненасиченості ЖК ліпідів мозку [14] підтримка прооксидантно-антиоксидантної рівноваги можлива лише при наявності в цих тканинах достатньо розвиненої системи АОЗ і, в першу чергу, антиоксидантних ферментів. Дійсно, в тканинах мозку й серця 15-добових ембріонів гусенят встановлено максимальну СОД-активність. Зниження рівня ПОЛ у мозку на третьому тижні ембріогенезу призводить до компенсаторного зменшення активності цього ферменту на 22,4 %. Під час гіпоксії останнього тижня ембріонального розвитку СОД-активність залишається на низькому рівні і тільки активізація ПОЛ, зумовлена зміною гіпоксії гіпероксією, спричиняє підвищення СОД-активності в 2,15 раза в 1-добових гусенят.

Постнатальна стабілізація процесів ПОЛ у тканинах мозку гусенят супроводжується зниженням активності цього ферменту до мінімального рівня. Порівняльний аналіз СОД-активності мозку і міокарду свідчить, що цей показник визначається надзвичайною узгодженістю в досліджених тканинах як в ембріогенезі, так і на початку постнатального розвитку. За середнім рівнем СОД-активності мозок поступається серцевим м'язам на 12,5 %, а за мінливістю – на 8,9 % перевищує міокард.

Мозок 15-добових ембріонів у 4,71 раза поступався міокарду КАТ-активністю. Зниження рівня ліпопероксидації в тканинах мозку ембріонів з 15-ї до 22-ї доби сприяло активізації цього ферменту до максимального рівня. Подальший розвиток ембріонів в умовах гіпоксії з 22-ї до 28-ї доби супроводжувався зниженням КАТ-активності у 2,24 раза. На такому самому рівні цей показник залишався й під час наступної гіпероксії. І тільки на тлі постнатальної адаптації почалась активізація КАТ мозгу гусенят.

Тканини мозку поступалися міокарду за середнім рівнем ГПО-активності. Якщо компенсаторна активізація цього ферменту в міокарді протікала на тлі гіпоксії з 22-ї до 28-ї доби ембріогенезу, то в мозку перехід ембріонів від гіпо- до гіпероксії відбувався за низького рівня ГПО-активності і тільки після вилуплення гусенят спостерігали підвищення активності ГПО в тканинах мозку.

За вихідним вмістом тканинного біоантиоксиданта вітаміну Е мозок у 2,43 раза поступався міокарду. Зміни цього показника в тканинах мозку і серця характеризувались достатньо високим рівнем узгодженості.

Прооксидантно-антиоксидантна рівновага тканин мозку і серця гусенят; $M \pm m$, $n = 6$

Вік, діб	Вміст ТБКАП, нМоль/г	Активність антиоксидантних ферментів			Вміст вітамінів, мкг/г		Вміст β -каротину, мкг/г
		СОД, ум.од./ $(\text{хв} \cdot \text{г})$	КАТ, нкат/г	ГПО, мМоль/ $(\text{хв} \cdot \text{г})$	Е	А	
Тканини мозку							
- 15	74,83 \pm 3,21	19,13 \pm 0,78	3,02 \pm 0,17	0,31 \pm 0,01	8,03 \pm 0,39	0,84 \pm 0,03	0,98 \pm 0,03
- 8	54,17 \pm 2,07*	14,81 \pm 0,72*	11,22 \pm 0,61**	0,59 \pm 0,02**	18,21 \pm 0,75**	1,57 \pm 0,07**	2,04 \pm 0,09
- 2	77,22 \pm 3,14*	6,62 \pm 0,28**	2,73 \pm 0,10**	0,61 \pm 0,02	29,74 \pm 1,17**	2,17 \pm 0,08*	3,27 \pm 0,12*
0	64,32 \pm 2,93*	13,41 \pm 0,64**	2,24 \pm 0,49	0,57 \pm 0,03	22,85 \pm 1,03*	1,93 \pm 0,09	1,98 \pm 0,14**
14	61,30 \pm 3,01	6,24 \pm 0,27**	9,71 \pm 0,39**	0,98 \pm 0,04**	25,17 \pm 1,19	1,54 \pm 0,07*	2,74 \pm 0,13*
x	66,37	12,04	5,78	0,61	20,80	1,61	2,20
v_с, %	14,4	46,0	74,6	39,1	39,7	31,3	39,3
Тканини серця							
- 15	90,00 \pm 4,63	18,24 \pm 0,95	14,21 \pm 0,68	0,22 \pm 0,01	19,51 \pm 0,94	1,67 \pm 0,73	4,47 \pm 0,23
- 8	52,47 \pm 2,48**	18,13 \pm 0,83	18,63 \pm 0,83*	0,33 \pm 0,01*	33,17 \pm 1,18**	2,93 \pm 0,12*	6,93 \pm 0,31*
- 2	63,56 \pm 2,95*	8,46 \pm 0,42**	1,42 \pm 0,07**	1,01 \pm 0,06**	43,32 \pm 1,95*	4,07 \pm 0,23*	7,54 \pm 0,38
0	28,28 \pm 1,29**	14,82 \pm 0,53*	4,73 \pm 0,03**	1,10 \pm 0,05	26,75 \pm 1,32**	3,12 \pm 0,15*	4,82 \pm 0,21**
14	57,53 \pm 3,02**	8,03 \pm 0,34**	11,54 \pm 0,05**	1,28 \pm 0,06	25,72 \pm 1,41	3,58 \pm 0,17	5,10 \pm 0,23
x	58,37	13,54	10,11	0,79	29,69	3,07	5,77
v_с, %	38,0	37,1	69,2	60,9	30,4	29,3	23,8

Примітка. X – середнє значення показників; v_с – коефіцієнт варіації показників;

* P < 0,05 ; ** P < 0,01 порівняно з попереднім значенням

Тут і надалі на часовій осі онтогенезу позначення «-15», «-8», «-2», «0» відповідають 15-, 22-, 28-добовому віку ембріонів гусенят і моменту їх вилуплення.

Як і в міокарді, в мозку гіпоксичний стан організму гусенят не загальмував накопичення α -токоферолу. Проте інтенсивніше витрачання вітаміну Е міокардом під час гіпероксії початку атмосферного дихання сприяло вирівнюванню цього показника мозку і серцевих м'язів у кінці досліду.

Вихідний вміст вітаміну А в тканинах мозку майже вдвічі поступався відповідному показнику міокарда. Впродовж другої половини ембріогенезу за рахунок транспорту з яєчного жовтка вміст вітаміну А в тканинах мозку підвищився в 2,58 раза, проте так і залишився удвічі нижчим за відповідний показник серцевих м'язів. В постнатальному періоді поступове скорочення вмісту вітаміну А в мозку призвело до збільшення різниці цього показника в досліджуваних тканинах (у 3,31 раза).

За вихідним вмістом β -каротину тканини мозку поступалися міокарду в 4,56 раза і ця різниця зменшувалася (до 1,86 раза) тільки в кінці досліду.

На тлі гіпоксії кінця ембріонального періоду до мозку, навіть з більшою швидкістю порівняно з серцевим м'язом, відбувається транспорт β -каротину яєчного жовтка. Перехід до гіпероксії атмосферного дихання в мозку, як і в міокарді, супроводжується зниженням вмісту β -каротину (на 39,4 % та 41,6 % відповідно). За середнім рівнем цей показник мозку в 2,62 раза поступався перед міокардом, а за мінливістю на 15,5 % перевищував його.

Таким чином, в тканинах мозку 15-добових ембріонів на тлі достовірно нижчої порівняно з міокардом КАТ-активності та вмісту вітамінів Е, А та β -каротину встановлено вищий рівень ТБКАП. Упродовж третього тижня відбувалося вирівнювання вмісту вторинних продуктів ПОЛ у тканинах мозку і міокарда при зниженні СОД-активності мозку. В 28-добових ембріонів критичний рівень парціального тиску O_2 (гіпо- і гіпероксії) зумовлював активізацію процесів пероксидного окиснення, і в тканинах мозку збільшення вмісту ТБКАП відбувалося вдвічі швидше, ніж у міокарді, чому сприяло гальмування ГПО-активності. Початок постнатального розвитку для тканин мозку характеризувався стабілізацією ПОЛ на тлі відновлення КАТ- і ГПО-активності та підвищення вмісту вітаміну Е і β -каротину.

Попри нижчий рівень СОД-, КАТ-активності та вмісту вітамінів Е, А і β -каротину, коефіцієнт антиоксидантної активності тканин мозку 15-добових ембріонів на 44,4 % перевищував відповідний показник міокарда (рис. 1).

Упродовж третього тижня потужність системи АОЗ тканин мозку досягала максимального рівня: з 15-ї до 22-ї доби K_{AOA} цих тканин зростає на 69,3 %, а міокарда – на 72,2 %. Гіпоксія кінця ембріонального періоду і наступна гіпероксія порушують прооксидантно-антиоксидантну рівновагу в тканинах мозку, що позначається підвищенням рівня ТБКАП на тлі різкого зниження СОД- і КАТ-активності і, як наслідок, зменшенням K_{AOA} у 2,0 рази. Формування адаптивної відповіді до умов постнатального існування сприяє відновленню антиоксидантної активності тканин мозку в 14-добових гусенят. У міокарді спостерігали подібні зміни K_{AOA} , але з відставанням у часі. А це означає, що гіпоксія кінця ембріонального періоду значно менше пошкоджує серцевий м'яз. І тільки гіпероксія атмосферного дихання знижує K_{AOA} міокарда на 32,4 %.

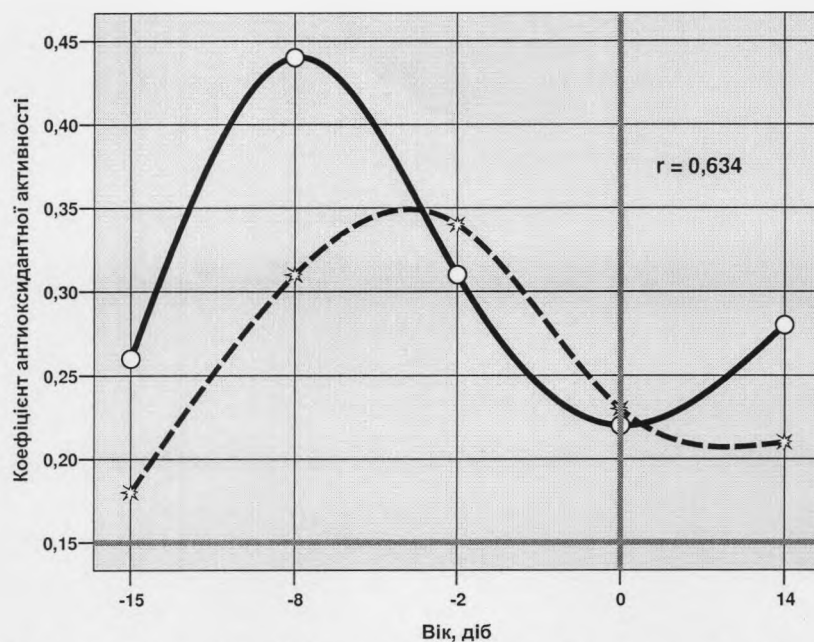


Рис. 1. Динаміка K_{AOA} в досліджених тканинах, $n = 6$:

— — — — — мозку; - - - - - серця

Отже, у тканинах з високим рівнем споживання кисню, якими є тканини мозку і міокарда, з середини ембріонального періоду відбувається генетично запрограмоване підвищення потужності їхньої системи АОЗ.

Кореляційний аналіз динаміки комплексу показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги тканин мозку свідчить, що ступінь їхньої узгодженості в ембріогенезі і ранньому постнатальному періоді має чітко виражену тканинну специфічність. Так, якщо загальний рівень достовірних кореляційних зв'язків досліджених біохімічних показників мозку знаходиться на рівні м'язової тканини серця (50,0 %), то їхня динаміка у часі принципово відрізняється (рис. 2).

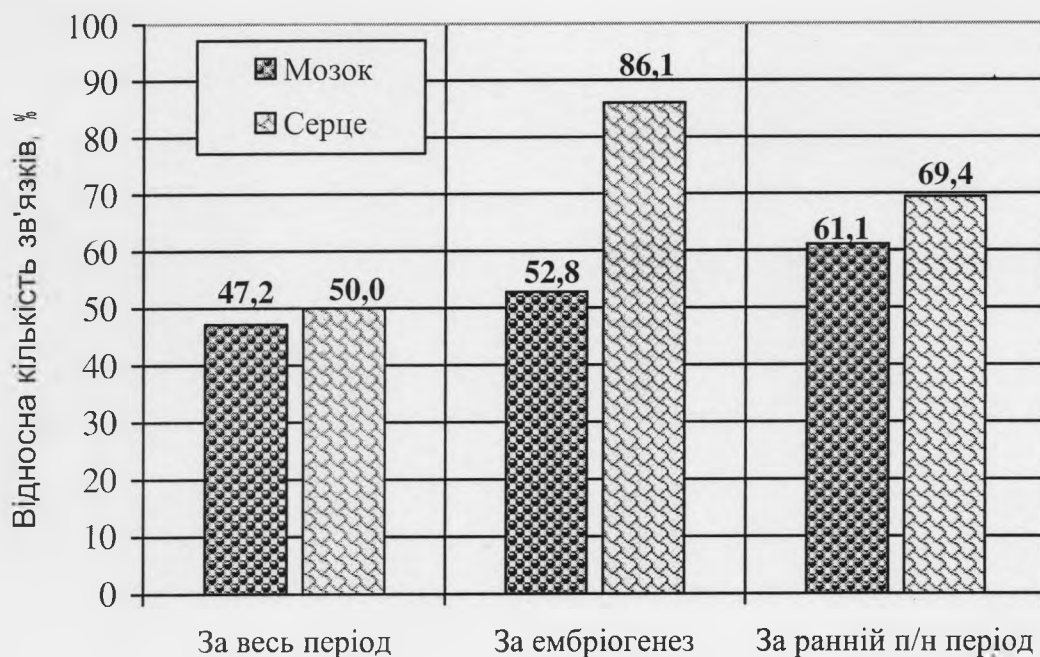


Рис. 2. Відносна кількість кореляційних зв'язків у тканинах мозку і серця

В ембріональному періоді за мінімального впливу факторів зовнішнього середовища узгодженість показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги мозку суттєво (на 38,7 %) поступається міокарду. Проте наступний період постнатальної адаптації, супроводжується формуванням нових пристосувальних механізмів і характеризується значною дезорганізацією системи АОЗ у міокарді (на 19,4 %). Для мозку, навпаки, рівень кореляційних зв'язків у другій половині досліджу підвищився на 15,7 %. Отже, мобілізація системи АОЗ у тканинах мозку відбувалася і за рахунок підвищення рівня узгодженості показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.

Висновки. Вищий рівень споживання кисню на тлі відносно невисокої активності основних антиоксидантів і їхнього слабого впливу на антиоксидантну активність мозку дозволяє припустити, що підтримка прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в цих тканинах в умовах гіпо- і гіпероксії відбувається шляхом запуску нейрогуморальних механізмів, які збільшують ефективність функціонування системи АОЗ за рахунок підвищення узгодженості показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. 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.
 2. Меерсон Ф.З. Адаптація, стресс и профилактика /Ф.З. Меерсон. – М.: Наука, 1981. –278 с.
 3. Андреев А.Ю. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях / А.Ю. Андреев, Ю.Е. Кушнарєва, А.А.Старков // Биохимия. – 2005. –70, №2. – С. 246 – 264.
 4. Антоняк Г.Л. Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин / Г.Л. Антоняк, Н.О.Бабіч, Л.І. Сологуб // Біологія тварин (Львів). – 2000. – Т.2, №.2. – С.34–43.
 5. 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 бер.-1 квіт. 2007р.: зб. матеріалів. – Запоріжжя: ЗДУ, 2007. – С. 534-537.
 6. Довідник птахівника / [М.І. Сахацький, І.І. Івко, І.А. Іонов та ін.].– Харків: Інститут птахівництва УААН, 2001. – 160 с.
 7. Сахацький М.І. Гуси та виробництво перо-пухової сировини / М.І. Сахацький // Сучасне птахівництво.– 2008.– №7–8.– С.6–15.
 8. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков.– М.: Наука, 1972.– 252 с.
 9. Макаревич О.П. Определение активности супероксиддисмутазы / О.П. Мака-
- «Наукові доповіді НУБіП» 2011-4 (26) http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_4/11zlm.pdf

- ревич, П.П. Голиков // Лаб. Дело.– 1983.– №6. – С.24–28.
10. Гаврилова А.Р. Определение активности глутатионпероксидазы эритроцитов / А.Р. Гаврилова, Н.В. Хмара // Лаб. Дело.– 1986.– №12. – С.721–724.
11. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, М.И. Иванова, И.Т. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. Дело.– 1988.– №1. – С.18.
12. Антонов Б.И. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микробиологические / Б.И. Антонов, Т.Ф. Яковлева, В.И. Дерябина. – М.: Агрпромиздат, 1991. – 278с.
13. Данченко О.О. Оцінка антиоксидантного статусу тканин птахів в онтогенезі із застосуванням кореляційного аналізу / О.О. Данченко, В.В. Калитка, Д.М. Колесник // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. –2008. – Т.10, № 4(39). – С.61-67.
14. Ростова Н.С. Изменчивость системы корреляций морфологических признаков. II. Популяции видов рода *Leucanthemum* (Asteraceae) в природе и в условиях культивирования / Н.С. Ростова // Ботан. журн.– 2000.– Т. 85. №1. – С. 46-67.
15. Корн Г. Справочник по математике / Г.Корн, Т.Корн. – М.: Наука, 1973. – 832 с.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЕ РАВНОВЕСИЕ В ТКАНЯХ МОЗГА И СЕРДЦА ГУСЕЙ В УСЛОВИЯХ ГИПО- И ГИПЕРОКСИИ

Л.Н. ЗДОРОВЦЕВА, соискатель

Ю.П. Пащенко, соискатель

Е.А. ДАНЧЕНКО, доктор сельскохозяйственных наук

Мелитопольский государственный педагогический университет

Выявлена специфичность функционирования системы антиоксидантной защиты в тканях мозга и сердца гусей в условиях гипо- и гипероксии во время перехода от эмбриогенеза к постнатальному периоду. Формирование адаптивного ответа на оксидативный стресс в сердечных мышцах происходит за счет активизации глутатионпероксидазы и ресурсов витамина Е и β-каротина. Доказано, что несмотря на меньший уровень супероксиддисмутазной и каталазной активности и содержания витаминов Е, А и β-каротина, коэффициент антиоксидантной активности тканей мозга 15-суточных эмбрионов гусей превышает соответствующий показатель тканей сердца, Установлено, что мобилизация системы антиоксидантной защиты в тканях мозга происходит и за счет повышения уровня согласованности показателей прооксидантно-антиоксидантного равновесия.

Ключевые слова: пероксидное окисление липидов, система антиоксидантной защиты, гипо- и гипероксия, постнатальная адаптация, уровень согласованности.

PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN THE BRAIN AND HEART GEESE IN HYPO- AND HYPEROXIA

L.N. Zdorovtseva, the applicant

Y.P. Pashchenko, the applicant

E.A. Danchenko, Doctor of Agricultural Sciences

Melitopol State Pedagogical University

Revealed the specificity of the functioning of the antioxidant defense system in the brain and heart of geese in hypo-and hyperoxia during the transition from embryogenesis to postnatal period. Formation adapted response to oxidative stress to the heart muscle is due to activation of glutathione and vitamin E, and resources β -carotene. Until it is shown that despite lower levels of catalase and superoksiddismutaznoy-term activity and content of vitamins E, A, and β -carotene, the antioxidant activity coefficient of brain tissue 15-day-old embryos goslings increase compared with the heart tissue, found that the mobilization of the antioxidant defense system in the brain tissue occurs, and by increasing the coherence indicators prooxidant-antioksidanogo balance.

Key Words: *lipid peroxidation, antioxidant protection system, hypo-andHyperoxia, postnatal adaptation, the level of consistency.*