

УДК 636.6.053:611-013

О.П. Мельниченко, асп., І.Л. Якименко, д-р біол. наук

([e-mail:igor@btsau.kiev.ua](mailto:igor@btsau.kiev.ua))

Білоцерківський державний аграрний університет

### ДИНАМІКА АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ТКАНИНАХ ЕМБРІОНІВ ПЕРЕПЕЛІВ ТА КУРЕЙ

*Встановлена відмінність динаміки активності основних ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутази, каталази і глутатіонпероксидази) в тканинах печінки, серця та мозку ембріонів перепелів та курей. Виявлено більш високий рівень активності ферментів антиоксидантного захисту в тканинах ембріонів перепелів в порівнянні з ембріонами курей. Активність досліджених антиоксидантних ферментів в тканинах ембріонів перепелів досягає максимальних значень уже в середині ембріогенезу, чого не спостерігається в тканинах ембріонів курей. Різниця активності ферментів антиоксидантного захисту в тканинах ембріонів птиці цих видів вірогідна в певні періоди ембріонального розвитку. Особливо це виражено в тканинах печінки.*

*К л ю ч о в і с л о в а : супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, церулоплазмін, ліпідні пероксиди, кури, перепела.*

**Вступ.** Специфіка ембріонального розвитку сільськогосподарської птиці полягає в розвитку зародку поза материнським організмом, в зв'язку з чим його трофіка лімітована кількістю поживних речовин яйця. Варто відмітити, що в процесі ембріогенезу спостерігається знижений парціальний тиск кисню в ембріональних тканинах [1], що, імовірно, є одним із захисних механізмів проти перекисного окислення ліпідів, що характеризується високим ступенем ненасиченості [2]. Крім того, значну захисну дію проти ушкоджуючи факторів зовнішнього середовища надає антиоксидантна система ембріонів [3]. До її компонентів входять ферментні системи (супероксиддисмутаза, каталаза і глутатіонпероксидаза), жиророзчинні вітаміни (Е, А, каротиноїди), водорозчинні речовини (аскорбінова кислота).

Проблема підвищення адаптивності організму до умов зовнішнього середовища і регуляції гомеостазу залишається однією з головних в сучасній біології. Вивчення інтенсивності вільнорадикальних процесів в організмі і впливу на них різних факторів свідчить про те, що роль цих процесів знаходить найбільший прояв у тих біологічних системах, де швидкість метаболізму більш висока [2].

Враховуючи біологічні особливості перепелів [1, 3], зокрема, природну стійкість до інфекцій, а також причетність антиоксидантної системи до функціонального стану ключових систем організму [4], у тому числі імунної, дослідження стану антиоксидантної системи у тканинах перепелів і порівняння її з іншими видами птиці вважається перспективним.

**Мета роботи.** Дати порівняльну характеристику активності основних компонентів ферментної ланки антиоксидантної системи в тканинах ембріонів перепелів і курей.

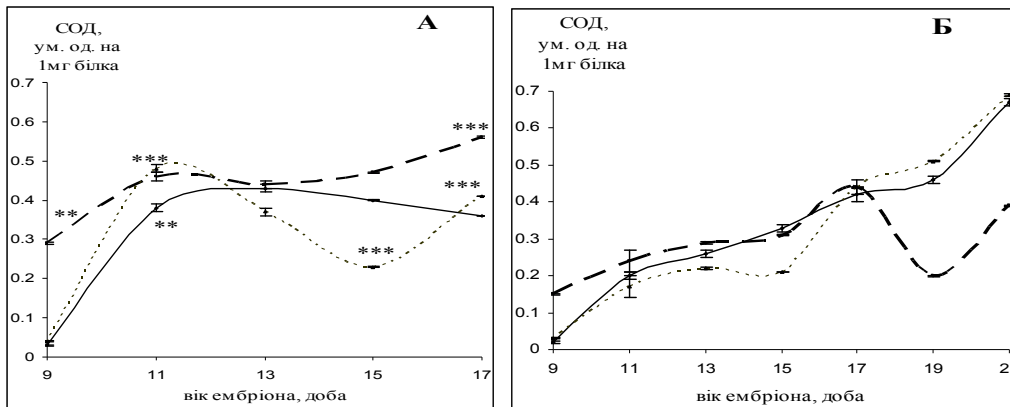
**Матеріали і методи досліджень.** Робота виконана на перепелах м'ясної породи фараон, курях породи Адлер сребристі. Інкубацію яйця здійснювали з дотриманням стандартних вимог до певного виду птиці. Зразки органів (печінка, серце та мозок) ембріонів брали після декапітації на відповідних етапах розвитку: у 9-, 11-, 13-, 15-добових ембріонів перепелів і курей та 17-, 19-добових ембріонів курей, добових перепеленят та курчат. Гомогенати тканин готували у 50 мМ Тріс-НСІ буфері (рН=7,4) із розведенням 1:100.

Враховуючи різні строки ембріонального розвитку перепелів і курей (17-та доба для перепелів та 21-та доба для курей) нами була запропонована відповідність строків ембріонального розвитку для цих видів птиці. Зокрема, за нашою оцінкою 9-та доба ембріонального розвитку перепелів відповідає 11-тій добі ембріонального розвитку курей (замикання алантоїсу), 11-та доба для перепелів – 13-та для курей, 13-та доба для перепелів – 15-та для курей, 15-та доба для перепелів – 19-та для курей (початок прокльову), 17-та доба для перепелів – 21-та для курей (виведення молодняку).

Для дослідження стану антиоксидантної системи в тканинах визначали активність ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази (СОД) [6], каталази [7] та глутатіонпероксидази (ГПО) [8]. Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням критерію Стьюдента [9].

**Результати та обговорення.** При порівняльному аналізі активності антиоксидантних ферментів у органах ембріонів перепелів і курей було виявлено, що у птиці обох видів у тканинах печінки, серця та мозку спостерігається відмінна динаміка рівня цих показників. У тканинах мозку відмічено збільшення активності СОД протягом ембріонального періоду, як у ембріонах курей, так і у перепелів, але в добового молодняку спостерігається різна динаміка активності даного ферменту (Рис. 1). Так, у тканинах мозку добових перепеленят (17 доба) активність СОД нижча на 86%, ніж у добових курчат (21 доба) ( $p < 0,001$ ). Це зумовлено, можливо, підвищенням напруги в системі антиоксидантного захисту, оскільки в тканинах мозку перепела протягом всього ембріонального періоду виявлено більш високий рівень перекисного окислення ліпідів порівняно з куркою. При цьому принагідно зазначити, що супероксиддисмутаза може ушкоджуватися продуктами ПОЛ.

Встановлено, що активність СОД в тканинах печінки ембріонів перепела вдвічі вища, ніж у тканинах печінки ембріонів курки протягом всього ембріонального періоду. Відомо, що супероксиддисмутаза є ферментом, який регулює окислювальний обмін клітини і модулює перебіг фізіологічних процесів, як ембріонального, так і постнатального розвитку організму [5]. Враховуючи й те, що печінка здійснює специфічні захисні, знешкоджувальні ферментативні і видільні функції, спрямовані на підтримання гомеостазу в організмі [1], можна зробити висновок, що ембріон перепела протягом всього періоду розвитку більш захищений від агресивної дії супероксидних аніон-радикалів, ніж ембріон курки.



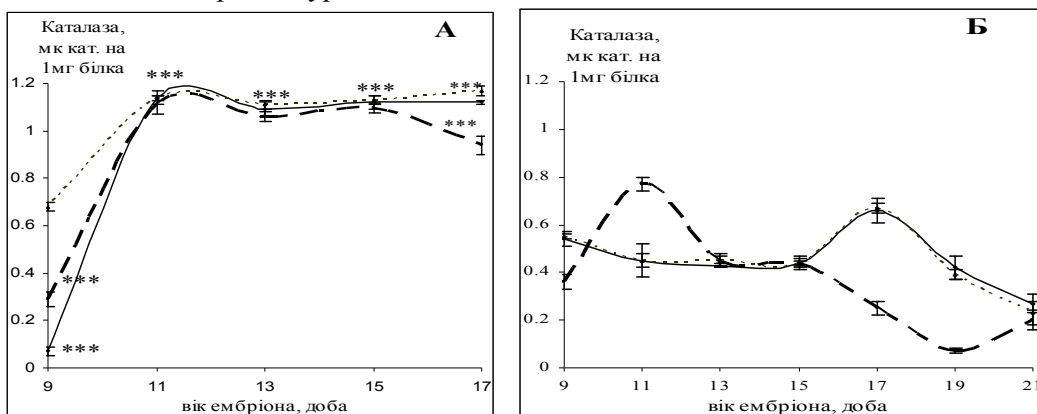
— тканини мозку    - - - - тканини печінки    ..... тканини серця

**Рисунок 1 – Активність супероксиддисмутази у тканинах ембріонів перепелів (А) та курей (Б) ( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; ум. од. на 1мг білка)**

Примітка: –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ , порівняно з тканинами ембріону курей відповідного строку ембріонального розвитку

Дослідження активності каталази у тканинах перепелиних ембріонів виявило тенденцію до зростання активності ферменту протягом інкубації з незначним зниженням після виведення (Рис. 2), яке відбувається на фоні підвищеного рівня перекисного окислення ліпідів. Динаміка активності даного ферменту в тканинах ембріонів курки радикально відрізняється від активності каталази ембріонів перепелів і зазнає постійного зниження, що свідчить про вразливість тканин ембріонів курки до оксидантної дії перекису гідрогену, що утворюється при внутрішньоклітинному диханні.

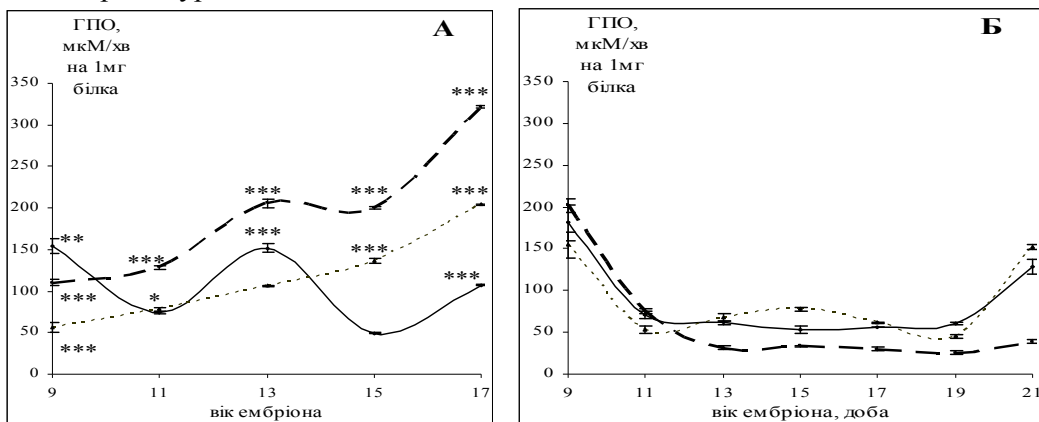
Активність каталази в тканинах печінки, серця та мозку ембріонів перепелів вища в три рази від активності цього ферменту в тканинах ембріонів курки, починаючи з 11-ї доби розвитку. Так як каталаза є ферментом, що забезпечує захист біологічних систем від надлишкової кількості перекису гідрогену, каталізуючи його розклад на воду та молекулярний оксисен [6], можна зробити висновок, що тканини ембріона перепела є більш стійкими до уражень  $H_2O_2$ , ніж тканини ембріона курки.



— тканини мозку    - - - тканини печінки    ..... тканини серця

Рисунок 2 – Активність каталази у тканинах ембріонів перепелів (А) та курей (Б) ( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; мк кат. на 1мг білку)

Активність глутатіонпероксидази в тканинах печінки перепелів збільшується в три рази під час всього ембріонального періоду (Рис. 4). Для курей спостерігається зниження активності цього ферменту з 9-ї до 13-ї доби в чотири рази і після цього залишається стабільним до виведення. Рівень активності ГПО у тканинах серця перепела був вірогідно вищим ( $p < 0,001$ ) в період замикання алантоісу (9-та доба для перепела і 11-та для курки) та добового молодняка. Встановлено різницю активності цього ферменту в тканинах мозку для ембріонів перепелів та курей. Враховуючи те, що глутатіонпероксидаза є основним ферментом, що забезпечує захист біологічних структур від перекисних сполук, у тому числі й від перекисів ліпідів, а також, що рівень цього ферменту в тканинах мозку, серця та печінки ембріону перепела вищий рівня в тканинах цих органів ембріону курки, можна зробити висновок, що ембріон перепела більш захищений від активних форм кисню, ніж ембріон курки.



— тканини мозку    - - - тканини печінки    ..... тканини серця

Рисунок 4 – Активність глутатіонпероксидази у тканинах ембріонів перепелів (А) та курей (Б) ( $M \pm m$ ;  $n=7$ ; мкМ/хв. на 1мг білка)

**ВИСНОВКИ.** Проведений аналіз виявив більш високий рівень активності ферментів антиоксидантного захисту у тканинах ембріонів перепелів порівняно з ембріонами курей. Різниця активності ферментів антиоксидантного захисту в тканинах ембріонів птахів цих видів вірогідна в певні періоди ембріонального розвитку. Особливо це виражено в тканинах печінки.

З огляду на важливість антиоксидантної системи як однієї з ключових метаболічних систем, що має безпосередню причетність до функціонування основних фізіологічних систем, зокрема, імунної, дослідження в цьому напрямі, на нашу думку, є перспективними і потребують продовження.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Baumann R., Meuer H.J. bloods oxygen transport in the early avian embryo // *Physiological Reviews.* – 1992. – V.7. – P.941–965.

2. Surai P. Tissue-specific changes in the activities of antioxidant enzymes during the development of the chicken embryo. // *Biochem. Biophys.* – 1996. – №1304. – P. 1-10.

3. Шаповалов С. О., Ионов И. А. Сравнительная характеристика активности антиоксидантной системы у птиц // *Материалы IV международного симпозиума «Биологические механизмы старения»* – Харьков. – 2000. – С.59.

4. Gregory E. M., Yost F. Y., Fridovich I. Superoxiddismutase: structure and function // *J. Bact.* – 1973. – Vol. 117. – P. 3582–3582.

5. Буртов Ю.З., Владимиров Ю.Н., Голдин Ю.С. Справочник по инкубации яиц. – М.: Колос, 1983. -176 с.

6. Чавари С., Чаба И., Секуй Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // *Лаб. дело.* – 1985. – №11. – С. 678–681.

7. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // *Лаб. дело.* – 1988. – №1. – С.16–19.

8. Моин В.М. Простой и специфичный метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // *Лаб. дело.* – 1986. – №12. – С.724–727.

9. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. – М.: Колос, 1969. – 256 с.

E. Melnishenko, I. Yakimenko

#### THE CHARACTERISTIC OF ANTIOXIDANT ENZYMES AKTIVITI OF QUAIL AND HEN EMBRYOS

##### S u m m a r y

It is shown dynamics of antioxidant enzymes activity of quail and hen embryos of meat breeds in a liver, heart and brain. The results of the present study indicate that different tissues of the embryo display distinct development strategies with regard to the acquisition of antioxidant capacity. It is detected the difference between the antioxidant activity of quail and hen embryos tissues. The level of lipid peroxidation in liver, heart and brain embryos quail and hens is investigated. Authentic differences levels of lipid peroxidation in embryos of a bird of different kinds during the certain periods the embryo developments are established.