

## **Influence of CAFI natural immunomodulating preparation on humoral indices of nonspecific resistance of pigs**

**A. Trofimchuk**

The autor shows and interprets the results of investigation of dynamic bactericidal activity and level common immunoglobuline of serosity blood of pigs the Big white breed and the influence of CAFI preparation on these data.

УДК 636.52/.58:612.014.482/.015.3

**С.І. Цехмістренко, доктор с.-г. наук**

## **ПРОЦЕСИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ В ОРГАНАХ ТРАВЛЕННЯ КУРЕЛ В ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗИ ПРИ ДІЇ РАДІОАКТИВНОГО ЦЕЗІЮ**

Встановлено, що тканини 1-денних курчат характеризуються високим вмістом продуктів пероксидного окиснення ліпідів і високою активністю супероксиддисмутази. Їх кількість у тканинах птиці залежить від вікових особливостей. На процеси пероксидного окиснення ліпідів впливає введення радіоактивного цезію та дія антиоксиданту.

Після аварії на ЧАЕС основними нуклідами, що утворюються, стали ізотопи радіоактивного цезію. Внаслідок катастрофи найбільше виділено із реактора  $^{137}\text{Cs}$  (11,8 кг) [1]. Висока рухомість радіонуклідів по харчовому ланцюгу вимагає заходів, які б знизили і перешкодили надходженню їх у продукцію тваринництва та рослинництва. До сьогодні відсутні чіткі критерії оцінки протипроменевого ефекту. Складність розкриття механізму дії та біологічних наслідків впливу малих доз радіації на організм пояснюється довготривалістю надходження в нього радіонуклідів, а також поєднання цього впливу з іншими факторами забрудненого середовища [2]. Початковою ланкою в розвитку процесів, пов'язаних з дією радіації, є підвищення швидкості утворення радикалів кисню, яким надається основна роль у розвитку променевого ураження [2–5]. Поглинута живою системою енергія радіації ініціює окисні реакції, що якісно не відрізняються від тих, які відбуваються в клітині спонтанно, але в нормальних умовах обмежуються функціонуванням антиоксидантних систем [6]. Рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) є одним із найважливіших тестів для визначення ступеня пошкодження клітин і тканин [2,7]. Вільнорадикальне окиснення контролюється різними ізоформами супероксиддисмутази (СОД), що дезактивує кисневі радикали. Жирнокислотні радикали можуть інактивуватися антиоксидантами, що локалізуються у гідрофобній мембрані та у гідрофільному внутрішньоклітинному середовищі [8]. Тривалий вплив радіації низької інтенсивності за повної дози являє більшу небезпеку для мембран, ніж одноразове опромінення більшої

інтенсивності [9]. Динамічними дослідженнями процесу впливу тривалого опромінення на організм та після нього виявляються істотні зрушення [10].

Шлунково-кишковий тракт є одним із важливих шляхів надходження та виведення радіонуклідів з організму. Крім того, він є своєрідним бар'єром, що перешкоджає надходженню малорозчинних радіонуклідів у кров та внутрішні органи [11]. У літературі є дані щодо впливу радіації на окремі органи травлення ссавців, у той час як відомості відносно нижчих класів хребетних, зокрема птахів, майже відсутні. Метою цієї роботи було комплексне вивчення впливу радіації на показники, що характеризують ПОЛ в органах, які беруть участь у процесах травлення, у курей на початкових етапах онтогенезу.

**Матеріали і методи.** Для досліджень використали 100 курчат адлеровської породи. Було сформовано 3 групи: контрольна – 1, група 2 одержувала орально  $^{137}\text{Cs}$ , починаючи з 15-го дня життя; 3-й групі разом із нуклеотидом вводився антиоксидант дилудин. Введення радіонукліда та антиоксиданту проводилося щоденно протягом 30 діб. Активність  $^{137}\text{Cs}$  становила 3000 Бк на курча. Біохімічні дослідження проводилися в екстрактах печінки, підшлункової залози, дванадцятипалої кишки, починаючи з першої доби до 10 тижнів з інтервалом 2 тижні. Тканинний гомогенат готували на фізіологічному розчині. Гомогенат центрифугували (3000 об./хв, 10 хв). Активність процесів пероксидації в отриманому супернатанті визначали за вмістом у них малонового діальдегіду в реакції з тіобарбітуровою кислотою [12]. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) визначали спектрофотометричним методом за здатністю  $\text{H}_2\text{O}_2$  утворювати стійкий забарвлений комплекс з молібдатом амонію [13]. Визначення гідроперекисів ліпідів проводилося з використанням тіоціанату амонію [14]. Супероксиддисмутазну активність (КФ 1.15.1.1) визначали за допомогою нітросинього тетразолію, який приймає супероксидні радикали, утворені внаслідок взаємодії NADH з феназинметасульфатом [15]. Біометрична обробка результатів проводилася на комп'ютері з урахуванням t-критерію Стьюдента.

**Результати та обговорення.** В результаті проведених дослідів встановлено, що майже у всіх органах, що вивчались, активність СОД найвища у добових курчат. Це підтверджується даними літератури, оскільки тканини новонароджених потребують підвищеної інтенсивності окисно-відновних реакцій та посилення генерації активних форм. Оксидні радикали беруть участь у синтезі цілого ряду біологічно активних речовин, регуляції проникності мембран, чутливості клітинних рецепторів та імунітету. Для встановлення рівноваги між генерацією активних форм кисню та антиоксидантними системами з метою зняття небажаних прооксидантних ефектів у новонароджених відбувається активація антиоксидантних ферментів паралельно із наростанням вмісту продуктів ПОЛ [16].

Із органів, що вивчалися, найвищу активність СОД мають тканини печінки добових курчат (табл.1). Можливо, у процесі онтогенезу запрограмований інтенсивний синтез СОД в органах, які зразу після народження зазнають токсичної дії кисню [17], що зумовлено постнатальною гіпероксією.

Таблиця 1 – Вплив  $^{137}\text{Cs}$  та антиоксиданту на пероксидне окиснення у печінці курчат різного віку ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )

Показник	Група	Вік добові	Вік, тижні				
			2	4	6	8	10
СОД, ум.од./г	1	109,4±25,1	26,5±1,8	26,3±2,4	25,9±4,3	26,4±3,0	23,9±3,0
	2			27,6±3,2	25,1±5,4	19,1±13,8	15,3±0,8*
	3			29,2±5,1	26,7±2,7	10,2±3,0**	31,3±7,5
Каталаза, мккат/г	1	10,3±1,6	–	–	15,7±6,9	49,9±8,4	49,4±7,7
	2			–	19,8±8,1	24,5±7,7	12,3±2,9**
	3			–	17,0±2,0	36,3±8,3	21,6±5,6***
МДА, мкМ/г	1	39,5±4,8	24,0±4,4	8,6±1,0	28,3±4,6	17,4±5,2	27,9±9,3
	2			7,7±1,7	22,1±1,8	12,9±3,2	27,4±6,7
	3			7,2±1,1	10,6±4,2*	35,3±1,2*	38,4±6,2
Гідро- перекиси, ум.од/г	1	42,5±0,9	86,5±3,7	96,7±3,0	30,2±1,1	62,3±1,3	55,5±1,0
	2			95,2±1,7	36,7±5,4	58,2±3,5	56,6±1,5
	3			95,1±3,2	30,0±1,4	56,9±3,0	57,7±1,6

Примітка. \* Тут і далі різниця щодо контролю вірогідна:

\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$

У ході перетворення  $\text{O}_2 + 4\text{e} + 4\text{H}^+ \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$  має місце чотири одноелектронні переходи з утворенням супероксиду, пероксиду водню, гідроксильного радикалу, які здатні пошкоджувати всі класи біомолекул [2]. У 2-тижневої птиці супероксиддисмутазна активність знижується майже у 4 рази і залишається на такому рівні протягом подальших строків дослідження. Після введення радіонукліда активність ферменту дещо підвищується, а починаючи з 8 тижнів – знижується. При додаванні дилудину активність СОД знижується більш як у 2,5 рази ( $p < 0,01$ ). Це можна пояснити радіопротекторною дією антиоксиданту. Простежуючи вікові зміни активності каталази встановлено, що у добових курчат вона відносно невисока, максимальна активність виявлена в печінці 8-тижневої птиці. При введенні  $^{137}\text{Cs}$  активність ферменту дещо підвищується, а потім значно знижується. Навіть після припинення введення радіонукліда активність СОД та каталази була вірогідно нижчою порівняно з контролем ( $p < 0,05$  та  $p < 0,01$ , відповідно). Зниження активності цих ферментів, можливо, компенсується високим рівнем глутатіонової ланки антиоксидантної системи [16]. Вміст кінцевого продукту ПОЛ малонного діальдегіду (МДА) є високим у тканинах печінки добових курчат. Значний вміст продуктів ПОЛ зумовлений зростанням функціональної активності органа при переході до постнатального онтогенезу. У 4-тижневої птиці кількість МДА

найменша за весь період дослідження. У цьому віці виявлений досить високий вміст гідроперекисів ліпідів, що свідчить про від'ємну кореляцію за вмістом цих сполук. З 6-тижневого віку виявлено порушення компенсаторних можливостей печінки, при цьому кількість малонового діальдегіду порівняно з контролем зменшується у 2,6 рази ( $p < 0,05$ ), а у наступний термін дослідження, навпаки, вірогідно збільшується.

В екстракті тканин дванадцятипалої кишки виявлені аналогічні закономірності (табл.2).

Таблиця 2– Вплив  $^{137}\text{Cs}$  та антиоксиданту на пероксидне окиснення у дванадцятипалій кишці курчат різного віку ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )

Показник	Група	Вік добові	Вік, тижні				
			2	4	6	8	10
СОД, ум од/ г	1	79,0±11,5	11,8±1,9	26,6±4,7	6,9±2,4	6,2±0,8	26,7±9,2
	2			35,6 ± 5,5	5,8 ± 1,3	8,8 ± 1,9	22,2 ± 9,0
	3			9,0 ± 0,9**	10,5 ± 4,3	20,6 ± 15,3	28,9 ± 11,0
Каталаза, мккат/г	1	5,0±1,1	–	–	9,6±1,0	10,2±1,1	2,5±0,8
	2		–	–	7,6 ± 2,3	30,0 ± 6,1*	3,5 ± 0,4
	3		–	–	5,1 ± 1,2*	6,5 ± 0,4*	1,5 ± 0,2
МДА, мкМ/г	1	128,3±16,5	4,9±0,7	10,9±1,9	9,9±1,2	1,2±0,3	13,0±3,0
	2			6,2 ± 1,7	5,5 ± 1,3*	6,7±0,5***	11,1 ± 3,5
	3			14,1 ± 1,6	4,3 ± 1,4*	6,5 ± 1,2**	15,8 ± 3,3
Гідро- перекиси, ум.од/г	1	95,7±7,0	61,6±1,2	92,3±2,4	39,7±0,7	67,5±2,4	55,0±2,7
	2			97,4 ± 2,3	40,4 ± 1,0	70,1 ± 2,0	53,6 ± 3,0
	3			98,6 ± 1,9	38,6 ± 1,9	68,0 ± 1,6	56,0 ± 0,7

Активність СОД найвища у добових курчат. Надалі спостерігається значний спад ферментативної активності. Це, можливо, пов'язано з високою стійкістю кишкового до дії радикалів кисню та рівнем фізіологічної активності. Найнижча активність цього ферменту спостерігається у 6–8-тижневої птиці. У цей термін підвищується активність каталази, що є адаптивною реакцією організму до зниження інтенсивності СОД. У 4-тижневої птиці третьої групи активність СОД значно знижується ( $p < 0,01$ ), що пояснюється дією антиоксиданту. Вміст МДА та гідроперекисів ліпідів високий у добових курчат, що також свідчить про потужний антиоксидантний потенціал, який функціонує у кишково-желудковому тракту, і, зокрема, у дванадцятипалій кишці у початковий період постнатального онтогенезу. Зменшення кількості МДА з віком свідчить про зниження процесів ліпопероксидації, і, можливо, зумовлено компенсаторною активацією антиоксидантних систем. Такі адаптивні процеси можна пояснити тим, що за нормальних умов тонкий кишечник має високий ступінь фізіологічної регенерації, а епітелій кишки є високочутливим до дії радіації [18].

Щодо процесів пероксидного окиснення ліпідів у підшлунковій залозі, то тут є певні органічні особливості (табл.3).

Таблиця 3 – Вплив  $^{137}\text{Cs}$  та антиоксиданту на пероксидне окиснення у підшлунковій залозі курчат різного віку ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )

Показник	Група	Вік добові	Вік, тижні				
			2	4	6	8	10
СОД, ум од/г	1	12,0±1,4	15,1±1,9	43,8±5,9	13,6±2,6	17,4±2,4	29,5±1,6
	2			43,6±8,4	33,9±2,5**	13,0±5,2	23,4±6,6
	3			44,7±6,4	33,1±2,1	19,6±3,4	29,6±4,8
Каталаза, мккат/г	1	0,8±0,1			1,5±0,4	8,1±0,6	1,0±0,4
	2				1,4±0,5	7,5±2,3	2,1±0,2*
	3				0,8±0,2	8,2±1,4	2,6±0,4
МДА, мкМ/г	1	9,0±0,8	3,6±0,4	7,8±1,9	8,0±2,2	3,1±0,5	2,2±0,2
	2			8,4±2,1	11,4±3,3	1,2±0,2*	10,6±2,1**
	3			8,8±1,6	11,5±1,4	3,2±0,9	5,7±0,9*
Гідро- перекиси, ум.од/г	1	21,8±0,6	175,2±7,9	129,4±1,1	29,0±2,5	60,1±0,2	55,0±1,8
	2			131,8±2,1	31,3±1,4	71,9±11,0	56,3±0,9
	3			124,6±2,3	30,0±1,0	66,3±5,6	60,6±5,7

Активність СОД та каталази у добових курчат є низькою, на відміну від інших досліджуваних органів. Це дає змогу припустити, що у підшлунковій залозі проходить активація систем гомеостазу шляхом заміни іншими антиоксидантними системами, зокрема, підтримка необхідного рівня відновленого глутатіону, який активно витрачається при захисних реакціях [19]. Після введення радіонукліда активність СОД зовсім не змінюється, і це ще раз підтверджує думку щодо функціонування інших захисних систем. І лише у 6-тижневому віці у механізм захисту включається СОД, при цьому у 2-й групі курчат активність її збільшується майже у 2,5 рази ( $p < 0,01$ ). Вміст МДА у підшлунковій залозі птиці другої та третьої груп був дещо вищим, ніж у контролі, що свідчить про появу первинних біохімічних реакцій, які проходять у період метаболічної адаптації організму, на дію радіації, а також про морфофункціональні особливості підшлункової залози як органа із секреторними та гуморальними функціями.

Отже, за результатами проведених досліджень можна зробити висновок, що у новонароджених курчат відбувається активація антиоксидантних ферментів поряд із наростанням вмісту продуктів ПОЛ. Активність СОД, каталази, вміст МДА та гідропероксидів залежать від віку, функціонального стану та органа. На процеси ПОЛ впливає введення радіонукліда та захисна дія антиоксиданту.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гродзинский Д.М. Биогеохимические превращения радионуклидов // Чернобыльская катастрофа. – К.: Наук. думка, 1995. – С. 241–256.
2. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. – К.: Наук. думка, 1991. – 256 с.
3. Autor A.P. The biology and chemistry of active oxygen // Ed. Bannister. – 1984. – Vol. 14. – P. 139–189.

4. Fridovich J. Superoxide radical and superoxide dismutases // Assays for Superoxide Dismutases.— 1983.— P. 250–272.

5. Robin E.D. Overview: some problems of intervention in the metabolic and genetic consequences of hypoxia // Mol. Physiol.— 1985.— Vol. 8, № 3.— P. 639–645.

6. Autor A.P. Oxygen toxicity in eucariotes // The biology and chemistry of active oxygen.— Ed. Bannister.— 1984.— Vol. 14.— P. 139–189.

7. Beir Y. Health effect of exposure to low levels of ionizing radiation.— Washington: National Acad. Press, 1990.— 421 p.

8. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.— М.: Наука, 1972.— 252 с.

9. Серкиз Я.И. Особенности биологических эффектов радиации низкой эффективности // Чернобыльская катастрофа.— К.: Наук. думка, 1995.— С. 259–263.

10. Барабой В.А., Олійник С.А., Хмелевський Ю.В. Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр. біохім. журнал.— 1994.— Т. 66, № 4.— С. 3–18.

11. Журавлев В.Ф. Токсикология радиоактивных веществ.— М.: Энергоатомиздат, 1990.— 336 с.

12. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии.— М.: Медицина, 1977.— С. 66–68.

13. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук, А.И. Иванова, И.Т. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело.— 1988.— № 1.— С. 16–19.

14. Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония // Современные методы в биохимии.— М.: Медицина, 1977.— С. 64–66.

15. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело.— 1985.— № 11.— С. 678–681.

16. Снітинський В.В., Данчук В.В., Бучко О.М. Активність антиоксидантних ферментів та інтенсивність процесів вільнорадикального окислення в тканинах свиней у період постнатальної адаптації // Укр. біохім. журн.— 1998.— Т. 70, № 2.— С. 130–133.

17. Peng Tong Xu, Moya Andres, Ayala Francisco J. Superoxide radical and superoxide dismutases // Proc. Nat. Acad. Sci. (USA).— 1986.— Vol. 83, № 3.— P. 684–687.

18. Дельцова О.І., Геращенко С.Б., Оришко Я.А. Перебудова структури внутрішніх органів в умовах постійної тривалої дії малих доз радіації // Наукові записки з питань медицини, біології, хімії, аграрії та сучасних технологій навчання: Щорічник.— К., 1997.— Вип. 1, ч. 1.— С. 171–172.

19. Quintiliani M. Sulfur // Cent. React Intermediated Chem. and Biol.— New York, London, 1990.— P. 435–443.

**Процессы перекисного окисления липидов в органах пищеварения кур в постнатальном онтогенезе при действии радиоактивного цезия**

**С.И. Цехмистренко**

Установлено, что ткани 1-дневных цыплят характеризуются высоким содержанием продуктов перекисного окисления липидов и высокой активностью супероксидди-

смутазы. Их количество в тканях птиц имеет возрастные особенности. На процессы перекисного окисления липидов влияет введение радиоактивного цезия и действие антиоксиданта.

### **The peroxidise oxidising of lipids of some digestion organs of chickens in postnatal on thogenesis and under radiocesium influence**

**S. Tshmistrenko**

It was found, that tissues of 1-days chicket age characterized by high contents of products of hydroperoxide lipids and activity of superoxidedismutase. The content of peroxidise oxidising of lipids in chicket tissues has an age peculiarities. The insection of radioactive ceziy acts as an antioxidant and influences the peroxidise oxidisind of lipids.

УДК 636.6:612.015.1

І.Л. Якименко, канд. біол. наук

### **ВИЯВЛЕННЯ ПАРАМАГНІТНИХ КОМПЛЕКСІВ $Mn^{2+}$ У СТРУКТУРАХ ПЕРЕПЕЛИНОГО ЕМБРІОНА**

Методом електронного парамагнітного резонансу при низькотемпературній стабілізації зразків виявлено наявність комплексів  $Mn^{2+}$  у жовтковому мішку та печінці 15-добових ембріонів при відсутності їх у білковій оболонці та жовтку інкубаційного яйця на ранніх стадіях ембріогенезу. Сигнал  $Mn^{2+}$ -комплексів не реєструється у жовтковому мішку інших видів сільськогосподарської птиці. Наявність комплексів  $Mn^{2+}$  встановлена також у жовтку 15-добових ембріонів, отриманих з опромінених червоном лазерним світлом інкубаційних яєць, при відсутності його у жовтку контрольних ембріонів цього строку розвитку.

Використання методу електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) у біологічних дослідженнях дозволяє швидко та ефективно виявляти у біологічних тканинах металокомплекси органічних сполук ендо- та екзогенного походження, що проявляють парамагнітні властивості [1]. До сполук, що дають характерний ЕПР-сигнал і добре детектуються методами радіоспектро-скопічного аналізу, належать комплекси  $Mn^{2+}$ . Як відомо, іони марганцю входять до складу АТФ-аз, протеїніназ, фосфорибозилтрансферази, рибулозодифосфаткарбоксилази та інших ферментів. Зокрема, мітохондріальна супероксиддисмутаза містить марганець на відміну від цитозольного ферменту, що містить  $Cu^{2+}$  та  $Zn^{2+}$  [2].

Раніше нами [3] була виявлена висока концентрацію комплексів марганцю у печінці птиці – набагато більша за таку в печінці ссавців.

Метою даної роботи було дослідження наявності парамагнітних комплексів марганцю у структурах перепелиного ембріона за нормальних умов розвитку та при дії на них червоного лазерного світла невеликих інтенсивностей.

**Матеріали та методи.** Робота виконана на інкубаційному матеріалі перепела японського з віварію Білоцерківського ДАУ. Для дослідів було сформовано дві групи-аналоги свіжого інкубаційного яйця ( $m=10-12$  г). Перша