

КОРЕКЦІЙНА ДІЯ АНТИОКСИДАНТА ДИЛУДИНУ ПРИ ВПЛИВІ РАДІОНУКЛІДУ ЦЕЗІЮ НА ОРГАНІЗМ КУРЕЙ

Досліджували активність супероксиддисмутази, каталази, а також вміст церулоплазміну, малонового діальдегіду, гідропероксидів ліпідів у тканинах залозистого шлунка й 12-палої кишки в ододенних курчат і 2-10 тижневого віку. Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах птахів має вікові особливості.

Постановка проблеми. Після аварії на ЧАЕС (1986 р.) значна частина території України опинилася у зоні з підвищеною радіоактивністю [3,4]. Питання по впливу радіації на птахів, особливо сільськогосподарських, зокрема на їх органи травлення, залишається маловивченим [1,5]. Не одержала належного висвітлення проблема обґрунтування доцільності використання у птахівництві пролонгаторів, особливо антиоксидантів [2]. Подальший розвиток птахівництва вимагає глибоких знань закономірностей механізмів, що забезпечують функціонування організму у нинішніх складних умовах забруднення навколишнього середовища, що допоможе керувати процесами підвищення продуктивності та якості продукції.

Опромінення інкорпорованими радіонуклідами навіть після одноразового надходження в організм може продовжуватися протягом всього життя [7]. У розвитку променевого ураження основна роль належить підвищенню швидкості утворення радикалів кисню [1,13,14,15]. Радикали здатні змінювати фізико-хімічні властивості мембран клітин [16], впливати на ліпопротеїди хроматину [3]. Вони ініціюють пероксидне окиснення ліпідів, і перш за все, залишки поліненасичених жирних кислот [1], сприяючи деструкції клітин.

Важливим компонентом антиоксидантної системи біологічних об'єктів є супероксиддисмутаза (КФ 1.15.1.1), фермент, що знешкоджує супероксидні аніон-радикали шляхом їх дисмутації та переведення у менш реакційноздатні молекули пероксиду водню та триплетного кисню. Подальше знешкодження пероксиду водню здійснюється каталазою (КФ 1.11.1.6), або пероксидазами різної субстратної специфічності. Серед них особлива роль належить церулоплазміну, що разом із СОД інактивує супероксид-аніон-радикали, перетворюючи двовалентне залізо на тривалентне [1]. Про зміну рівня пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) свідчить вміст ранніх продуктів – гідроперексидів ліпідів та дієнових кон'югатів, а також кінцевого продукту – малонового діальдегіду [17].

У науковій літературі є повідомлення про процеси ПОЛ, що протікають в органах травлення ссавців, і досить мало у птахів. Ці відомості є досить актуальними, так як допоможуть дослідити динаміку даного процесу у філогенезі і дати теоретичну основу птахівництву – галузі, яка повинна забезпечити населення високоякісними дієтичними продуктами харчування.

Останнім часом у науковій літературі зустрічаються повідомлення про антиоксидантну дію дилудину – 2,6-диметил-3,5-діетоксикарбоніл-1,4-дигідропіридину, який бере участь у розкладі пероксидів за радикальним механізмом, окислюється в ферментативних реакціях системою пероксидаз, а також є ефективним стабілізатором жиророзчинних вітамінів при термоокиснювальній деструкції, а також вітаміну В₁₂ і холіну [2].

Завдання досліджень. Метою роботи було дослідити інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та активність системи антиоксидантного захисту в деяких органах травлення курей в онтогенезі, при дії радіонуклідів та при протекторному впливі антиоксиданту.

Об'єкти досліджень. Для досліджень використали 100 курчат м'ясного напрямку продуктивності, з яких сформовано 3 групи: 1-контрольна, 2-га група одержувала перорально ¹³⁷Cs, починаючи з 15-го дня життя; 3-я група разом із радіонуклідом вводився антиоксидант дилудин. Дослід проводився протягом 30 діб. Біохімічні дослідження проводилися в екстрактах залозистого шлунку та 12-палої кишки птахів, починаючи з добового віку до 10-тижневого з інтервалом 2 тижні. Готувався тканинний гомогенат на фізіологічному розчині, який потім центрифугували (3000 об/хв., 10 хв). Активність процесів пероксидації в отриманому

супернатанті визначали за вмістом у них МДА в реакції з тіобарбітуровою кислотою [10]. Активність каталази визначали за здатністю H_2O_2 утворювати стійкий забарвлений комплекс з молібдатом амонію [5]. Визначення гідроперекисів ліпідів проводилося з використанням тіоціанату амонію [8]. Супероксиддисмутазну активність визначали за допомогою нітросинього тетразолію, який приймає супероксидні радикали, утворені внаслідок взаємодії NADH з феназинметасульфатом [12]. Кількість дієнових кон'югатів вираховували в гептанізопропановому екстракті із гомогенату тканин [10]. Біометрична обробка результатів проводилась на комп'ютері з урахуванням t-критерію Ст'юдента. Умови утримання та годівлі контрольної та дослідної групи птиці були аналогічні.

Результати досліджень. Одержані дані свідчать, що найвищу активність СОД мають тканини добових курчат. Це пояснюється підвищеною інтенсивністю окисно-відновних реакцій та посиленням генерації активних форм кисню. З переходом до постнатального періоду життя організм зазнає токсичної дії кисню [2]. З метою зменшення прооксидантної дії та встановлення динамічної рівноваги між генерацією активних форм кисню та системами антиоксидантного захисту у новонароджених відбувається активація антиоксидантних ферментів з наростанням вмісту продуктів ПОЛ [9]. За перші два тижні життя в тканинах залозистого шлунку активність СОД знижувалася на третину, а до 4-тижневого віку ферментативна активність становила 40% від рівня добових курчат, в подальші строки досліджень цей показник дещо підвищувався і залишався на рівні 60-50%. Такі зміни пов'язані із морфо-функціональними особливостями даного органу. При дії радіоцезію активність СОД спочатку не змінюється, і тільки у 8-тижневої птиці виявлений спад ферментативної активності, а через наступні 2 тижні, навпаки, підвищення. Введення антиоксиданту сприяло підвищенню активності СОД протягом усіх строків дослідження. Активність каталази у добових курчат в тканинах залозистого шлунку знаходилася на рівні 10-тижневої птиці. Максимальна її активність виявлена у 8-тижневому віці. Через місяць після початку введення антиоксиданту на фоні радіонукліду активність каталази достовірно підвищується ($p < 0,05$). Активність СОД, яка блокує ланцюг вільнорадикального окиснення на стадії ініціації, перебувала у залежності від активності каталази. Вміст церулоплазміну до 4-х тижневого віку зменшувався, потім відбулося збільшення (8 тижнів). При введенні радіонукліду кількість церулоплазміну достовірно зменшувалася, що, напевно, зумовлено посиленням його використання, тобто, інтенсифікація процесів ПОЛ призвела до виснаження даного компоненту антиоксидантної системи.

Вміст ранніх продуктів перексидного окиснення ліпідів максимальний на ранніх етапах постнатального онтогенезу. У цей час ПОЛ виконує важливу фізіологічну роль, як фактор, що забезпечує можливість швидкої структурної перебудови мембран у відповідності до програми вікового розвитку [6]. Вміст дієнових кон'югатів найбільший в тканинах залозистого шлунку 4-х тижневої птиці, що становить 365% від рівня добових курчат, а найменший – у 10-тижневих (21% відповідно). У першу добу життя курчат вміст МДА досить високий. У подальшому кількість цього продукту зменшується, досягаючи мінімального рівня в тканинах 4-х тижневої птиці. І саме в цей період вміст дієнових кон'югатів був найбільший. Зниження вмісту МДА на фоні вказаних змін у кількості первинних продуктів ПОЛ може бути пояснено спряженням процесів (хоча б початкових етапів) і утилізації ліпідів у якості субстратів дихання [4].

В екстракті тканин 12-палої кишки виявлені подібні закономірності. Активність СОД також найвища у добових курчат. За перші дві неділі життя активність її спадає майже на 85%. Вміст як ранніх так і пізніх продуктів перексидного окиснення в тканинах 12-палої кишки добових курчат також високий, що свідчить про потужний антиоксидантний потенціал, що функціонує у кишечнику, і, можливо, пов'язаний із зростанням функціональної активності органу при переході до постнатального онтогенезу. Введення радіонукліду призвело до достовірного підвищення активності каталази у 8-ми тижневому віці та збільшенню кількості церулоплазміну. Активація антиоксидантного захисту після припинення введення ^{137}Cs свідчить про включення адаптаційно-компенсаторних механізмів у клітинах кишечнику. У 6-ти тижневої птиці встановлений значний вміст церулоплазміну, що є адаптованою реакцією до зниження інтенсивності СОД.

Висновки

Таким чином, проведені дослідження дають підставу зробити висновок, що у екстрактах тканин залозистого шлунку та 12-палої кишки добових курчат відбувається поряд з активацією антиоксидантних ферментів збільшення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів. Кількісні показники залежать від органу та віку птиці. Взаємовідношення між окремими компонентами антиоксидантної системи є досить складними і неоднозначними. Введення радіонукліду в невеликих дозах викликає компенсаторну відповідь організму, і, зокрема, органів травлення.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення процесів ПОЛ у організмі птиці в онтогенезі та при дії на організм стрес-факторів має теоретичне і практичне значення. Знання закономірностей обмінних процесів дасть можливість регульовано на них впливати.

Література

1. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление и радиация. – К.: Наук. думка, 1991. – 256 с.
2. Бохински Р. Современные воззрения в биохимии. – М.: Мир. – 1987. – 543 с.
3. Губский Ю.И., Левицкий Е.Л., Волков Г.Л. Жирнокислотный состав фракций хроматина печени крыс в условиях стимуляции пероксидного окиснения липидов // Укр. биохим. журн. – 1991. – т. 63, № 1. – С.87–91.
4. Давлетшина Л.Н., Дмитриев Л.Ф., Иванов И.И. Возможное участие свободно радикального липидного интермедиата в сопряжении окисления и фосфорилирования // Науч. докл. высш. шк. биол. н. – 1984. – № 9. – С.25–30.
5. Королюк М.А., Иванова А.И., Майорова И.Т. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С.16–19.
6. Лемешко В.В., Никитченко Ю.В. Содержание гидроперекисей липидов в сердце и печени крыс различного возраста // Укр. биохим. журн. – 1986. – т. 58, № 6. – С.77–70.
7. Москалев Ю.И. Отдаленные последствия ионизирующих излучений. – М.: Медицина, 1991. – 304 с.
8. Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония / Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 64–66.
9. Снітинський В.В., Данчук В.В., Бучко О.М. Активність антиоксидантних ферментів та інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення в тканинах свиней у період постнатальної адаптації // Укр. биохим. журн. – 1998, т. 70. – № 2. – С. 130–133.
10. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / Современные методы в биохимии. Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64.
11. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
12. 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.
13. Autor A.P. Oxygen toxicity in eukaryotes // The biology and chemistry of active oxygen. – Ed. Bannister. – 1984, Vol. 14. – P. 139–189.
14. Fridowsch J. Superoxide radical and superoxide dismutases // Assays for Superoxide Dismutases. – 1983. – P. 250–272.
15. Robin E.D. Overview: some problems of intervention in the metabolic and genetic consequences of hypoxia // Mol. Physiol. – 1985. – Vol 8, N3. – P. 639–645.
16. Stark G. The effect of ionizing radiation on lipid membranes // Biochim. et Biophys. acta – 1991. – 1071, № 2. – P. 103–122.
17. Stege T.E., Mischke B.S., Lipperer W.C. Levels of lipid peroxidation in hepatocytes isolated from aging rats fed an antioxidant-free diet // Exp. Gerontol. – 1982. – 17, № 4. – P. 273–279.