

УДК 636.6.087.73:612.015

Динаміка пероксидного окиснення ліпідів у нирках перепелів породи фараон за використання препарату “Сел-Плекс”

*С.І. ЦЕХМІСТРЕНКО, доктор сільськогосподарських наук
О.С. ЦЕХМІСТРЕНКО, кандидат сільськогосподарських наук
В.М. ПОЛИЩУК, кандидат сільськогосподарських наук
Білоцерківський національний аграрний університет*

Досліджено вплив препарату “Сел-Плекс” на процеси пероксидного окиснення ліпідів у нирках перепелів. Встановлені зміни вмісту відновленого глутатіону, активності глутатіонзалежних ферментів у нирках перепелів у віковому аспекті та при внесенні препарату у комбікорм.

Перепел, нирки, “Сел-Плекс”



Серед багатьох мікроелементів Селен є унікальним та життєво важливим. Про роль Se як біоелемента свідчать такі факти: у мікрокількостях він міститься практично у всіх тканинах тварин та птиці, за виключенням жирової [12]; профілактична і терапевтична дія його при низці захворювань (некрозі печінки у щурів, ексудативному діатезі курчат, білом'язовій хворобі ягнят, телят і поросят) [1, 6]; стимулюючий ефект на розвиток тварин у біогеохімічних зонах з недостатністю Селену [6]; наявність Se у сітківці ока і його участь у фотохімічних реакціях світлосприйняття; спорідненість Se до добре відомої хімічно активної сполуки α -токоферолу.

У живій природі знайдені різні сполуки Селену, що в основному є похідними селеновмісних амінокислот (селенометіонін і селеноцистеїн) і продуктами метилювання Селену [12]. Зустрічаються також Se-метилселеноцистеїн, Se-метилселенометионінселеноній, диметилселенід, селеногомоцистин та Se-пропе-

нілселеноцистеїнселеноксид [1,11].

Селен підвищує активність ферментів, які беруть участь у синтезі коензиму А, що у свою чергу є одним із каталізаторів обміну жирів, білків і вуглеводів. Крім цього селенід активує деякі функціональні білки та ферменти, зв'язані з окисно-відновними процесами, посилює синтез нуклеїнових кислот у печінці, підтримує нормальне функціонування підшлункової залози [10]. Селен у складі ферментів глутатіонпероксидази та тіоредуксинредуктази, каталізує розщеплення пероксидів, що утворюються із ненасичених жирних кислот, і цим самим стабілізує фізико-хімічну структуру плазматичних мембран клітин, захищає вітамін Е і ліпіди біологічних мембран від окиснювального руйнування [11]. Він регулює засвоєння і витрати вітамінів А, С і К в організмі, підвищує вміст вітаміну В12 у печінці. Селен у сполученні з Кадмієм, Арсенем, Вольфрамом, Меркурієм і Купрумом істотно знижує токсичний ефект,

що спричинюється цими елементами при роздільному їх уведенні. Крім впливу на канцерогенез через імунну систему він виявляє пряму токсичну дію на пухлинні клітини, виконує роль фотопровідника у зоровому відчутті.

Селен впливає на активність неспецифічних фосфатаз та швидкість утворення макроергічних сполук, зокрема АТФ, посилює загальну активність ферментів оксидази, кислоти, активує декарбоксілювання пірувату шляхом каталітичного окиснення ліпоєвої кислоти і тіогруп дегідрогеназ [9].

Дефіцит Селену спричиняє виникнення багатьох захворювань – артритів, аутолізу нирок, енцефаломалачії та ексудативного діатезу у курчат, біломязової хвороби [1, 2], некрозу м'язів, тубулярного нефрозу, гемолізу еритроцитів. Ці хвороби виліковуються препаратами Селену та вітаміну Е [7]. Останній проявляє антиокислювальну дію за допомогою механізмів, що інактивують вільні радикали, в той час як Селен, що входить у склад глута-

тіонпероксидази [3, 11], каталізує відновлення токсичних пероксидів гідрогену [1, 5, 10].

Раніше у птахівництві використовували селеніт натрію. В теперішній час компанія "Оллтек" пропонує препарат "Сел-Плекс" – джерело органічного Селену, що виробляється спеціальними штамми дріжджів, які вирощують у контрольованих умовах на середовищі, збагаченому Селеном і з зниженим вмістом Сульфуру. У таких умовах дріжджі в процесі формування клітинних компонентів, в тому числі білків, використовують замість Сульфуру Селен. Діючими речовинами препарату є селенметіонін (основна форма), селеноцистеїн та інші селеноамінокислоти. Більше 99% Селену знаходиться у органічній формі. Вміст Селену в "Сел-Плексі" – 1000 мкг в 1 г препарату. Препарат характеризується високою біодоступністю, стабільністю, має тривалий строк зберігання (36 місяців). Селеноамінокислоти легко засвоюються організмом і використовуються для синтезу селенопротеїдів. Селенометіонін здатний заміщати метіонін в будь-яких білках організму, завдяки чому створюються резерви Селену в тканинах і яйці.

Використання комбікормів, збагачених вітаміном Е в дозі 100 г/т і препаратом "Сел-Плекс" у дозі 300 г/т сприяє підвищенню інтенсивності несучості, підвищенню інкубаційних якостей яєць, поліпшенню якості сперми і заплідненості яєць, при цьому збільшується об'єм еякуляту півнів на 13,3% та концентрацію сперміїв – на 5,1%, а також підвищується вміст вітаміну Е і Селену в яйцях [7, 11].

Використання препарату "Сел-Плекс" сприяє підвищенню використання основних компонентів корму та його конверсії [11], накопиченню вітаміну Е, каротиноїдів та поліненасичених жирних кислот у жовтку яєць. При додаванні сполук Селену встановлено підвищення заплідненості яєць на 2,9%, а виводимості – на 3,0% [7].

У літературі є дані результатів досліджень, проведених українськими вченими з використання препарату "Сел-Плекс" в годівлі як яєчних, так і м'ясних перепелів [5,6,11]. При цьому були вивчені м'ясні і відтворні якості перепелів. Проте досліджень щодо впливу препарату "Сел-Плекс" на показники пероксидного окиснення ліпідів у нирках перепелів не проводились.

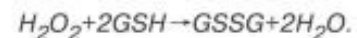
Нирки – орган, що відіграє важливу роль у життєдіяльності організму, підтримці гомеостазу, виділенні токсичних продуктів обміну. У зв'язку з цим, **метою** наших досліджень було дослідити вплив препарату "Сел-Плекс" на показники пероксидного окиснення ліпідів у тканинах нирок перепелів у постнатальному періоді онтогенезу.

Матеріал і методи досліджень. Експериментальні дослідження проведені на перепелах породи фараон, м'ясного напрямку продуктивності 1–70-добового віку, яких утримували в умовах віварію Білоцерківського НАУ. Умови годівлі та утримання птахів відповідали зоотехнічним нормам. Перепелів було розділено на дві групи – по 50 голів у кожній. Птиці обох груп згодовували стандартний комбікорм. Птиці дослідної групи із тридобового віку із кормом додавали препарат "Сел-Плекс" (0,15 мг/кг корму).

Для проведення біохімічних досліджень нирки відбирали у одноденному віці і надалі до 70-денного з інтервалом у 10 днів, в один і той же час для виключення добових коливань фізіолого-біохімічних параметрів. Органи відбирали одразу після декапітації під легким ефірним наркозом. Гомогенати нирок та печінки готували на фізіологічному розчині та центрифугували (3000 об./хв, 10 хв). З метою дослідження інтенсивності процесів ліпопероксидації у гомогенатах нирок визначали вміст відновленого глутатіону та активність глутатіонзалежних ферментів (пероксидази та редуктази) загальних ліпідів (ЗЛ), продуктів пероксидного окиснення

ліпідів за вмістом гідропероксидів ліпідів (ГПЛ). Результати дослідження оброблювались статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень. У знешкодженні пероксиду гідрогену приймає участь глутатіонзалежна система, яка включає ферменти глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу і глутатіон-S-трансферазу, що містять у своєму складі Селен. Центральним метаболітом даної системи є трипептид глутатіон [2]. Основний антиоксидантний ефект відновленого глутатіону реалізується шляхом його участі у функціонуванні ферментативної ланки системи антиоксидантного захисту, разом із тим він, як і інші HS-вмісні сполуки, є інгібітором активних форм Оксигену і стабілізатором клітинних мембран [3]. Глутатіонзалежні ферменти знешкоджують H_2O_2 шляхом відновлення до H_2O , що пов'язано з окисненням відновленого глутатіону [3, 8]:



Глутатіон присутній внутрішньоклітинно в організмі тварин у достатньо високих концентраціях. Його рівень регулюється ферментом ГПО. Ця оксидаза руйнує не тільки пероксид водню, але й інші продукти ліпідної пероксидації, зокрема, холестерин-7-гідропероксид та синтетичні гідропероксиди:



Згідно з даними власних досліджень встановлено, що вміст відновленого глутатіону (GSH) у тканинах нирок добових перепелат (табл. 1) становить 50,31 мкмоль/г тканини. До 30-денного віку вміст трипептиду поступово знижується на 18,0; 23,8 та 24,4% ($P < 0,05$) відповідно кожної декади. У 40-добовому віці рівень глутатіону повертається до рівня добової птиці, перевищуючи його на 3%. На 4-у декаду знов настає зниження вмісту GSH на 45,4% і до кінця

експерименту вміст трипептиду продовжує знижуватись, досягаючи мінімуму у 70-добовому віці, коли його вміст становить лише 43,5% ($P < 0,001$) вмісту глутатіону у добових перепелят.

Додавання препарату "Сел-Плекс" до раціону сприяло незначному підвищенню вмісту відновленого глутатіону на 0,3–16,4%, окрім 30- та 60-добової птиці, де відбулось зниження його на 3,3% та вірогідно – на 6,8%.

Захисний ефект GSH в умовах окиснювального стресу здійснюється також внаслідок мобілізації ліпідів у організмі [2,3]. Основний антиоксидантний ефект глутатіону реалізується у результаті його участі в роботі ферментативних антиоксидантів. Глутатіон є субстратом для глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази та виступає донором атомів Гідрогену для пероксиду гідрогену і ліпідних пероксидів. Разом із ними, глутатіон, як і інші HS-вмісні сполуки, є інгібітором АФО та стабілізатором клітинних мембран [2,7,8].

Поряд із каталазою, детоксикація H_2O_2 забезпечується також глутатіонпероксидазою (ГПО). Даний фермент каталізує реакцію у якій GSH відновлює H_2O_2 та інші органічні гідропероксида до води та гідроксипохідних сполук і в результаті переходить у окиснену дисульфідну форму – GSSG. Активність ГПО (табл. 1) у нирках добових перепелів, у зв'язку з підвищеною інтенсивністю окисно-відновних реакцій та посиленням активності СОД, була досить високою.

ГПО діє лише на гідропероксида вільних жирних кислот, якщо останні естерифіковані у складі ліпідних (фосфоліпідних) молекул у мембранах і ліпопротеїдах крові, ГПО починає на них діяти лише в міру розщеплення фосфоліпазами (ліпазами) до гліцерину, азотистої основи, фосфату та вищих кислот. Каталітична активність ГПО пов'язана із використанням глутатіону (GSH) та його окисненням (у GSSG) [2,9].

Молекула ГПО складається із чотирьох субодиниць, до складу

1. Вміст відновленого глутатіону, активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази в нирках перепелів (M±m, n=5)

| Вік, днів | Відновлений глутатіон, (мкмоль/г) | | Глутатіонпероксидаза, (мкмоль/хвЧг) | | Глутатіонредуктаза, (мкмоль/хвЧг) | |
|-----------|-----------------------------------|--------------|-------------------------------------|--------------|-----------------------------------|------------|
| | група | | | | | |
| | контрольна | дослідника | контрольна | дослідника | контрольна | дослідника |
| 10 | 41,24±2,91 | 44,80±4,50 | 15,66±0,85 | 16,85±1,32 | 6,20±0,58 | 5,77±0,36 |
| 20 | 38,34±2,53 | 44,61±4,34 | 18,91±1,09 | 20,15±1,13 | 5,74±0,61 | 4,92±0,35 |
| 30 | 38,01±1,58 | 35,89±7,49 | 19,73±1,84 | 21,31±0,98 | 8,25±0,25 | 7,85±0,64 |
| 40 | 51,80±1,58 | 51,95±2,09 | 14,54±0,43 | 22,62±0,77** | 8,23±0,25 | 7,86±0,64 |
| 50 | 27,45±0,74 | 21,40±0,39** | 16,81±1,19 | 22,44±1,69* | 5,75±0,61 | 4,92±0,38 |
| 60 | 25,93±0,92 | 27,36±0,43 | 14,52±1,88 | 20,17±1,95 | 6,17±0,58 | 6,03±0,43 |
| 70 | 21,89±2,03 | 25,25±1,33 | 31,33±0,23 | 28,07±1,20* | 6,97±0,52 | 6,32±0,56 |

Примітка: * $P < 0,05$; ** $P < 0,001$

активного центру кожної входить атом Селену. Фермент стійкий до дії азиду і ціаніду, особливо у присутності GSH. В активному центрі ГПО Se міститься у вигляді Se-цистеїну, заміщуючи Сульфур у цій амінокислоті (RSeH замість RSH).

У тканинах нирок перепелів активність ГПО хвилеподібно зростала. Протягом перших трьох декад глутатіонпероксидазна активність зросла у 1,4 ($P < 0,01$); 1,8 ($P < 0,001$) та 2,1 ($P < 0,01$) рази порівняно із рівнем активності добової птиці. На 40-у добу активність ферменту знизилась на 30,2% порівняно із 30-добовими перепелами ($P < 0,05$), після чого відбулося відновлення активності на 15,6% ($P < 0,01$) і повернення активності ГПО на 60-у добу до рівня 4-ї декади. Наприкінці експерименту проходить різке збільшення активності ГПО, встановлюється максимальний її рівень, що перевищує активність у добовому віці у 3,1 рази ($P < 0,001$).

У нирках перепелів активність ГПО при надходженні препарату

"Сел-Плекс" знижується відносно показників інтактних тварин, причому зниження є вірогідним ($P < 0,05$) у 40-, 50- та 70-добовому віці на 30,2%; 49,0 та 15,7%.

Оборотна реакція відновлення $GSSG \rightarrow GSH$ необхідна для підтримання активності ГПО і здійснюється ферментом глутатіонредуктазою.

Активність глутатіонредуктази (ГР) у нирках добових перепелів є найнищою за весь період дослідження і становить $3,84 \pm 0,21$ мкмоль НАДФХ H_2 /хв х г тканини (табл. 1). Під час досліду проходило хвилеподібне збільшення активності ферменту. Вже на 10-й день активність ГР зросла на 61,7% ($P < 0,01$). Після незначного зниження на 20-у добу (на 7,5% від попереднього строку) на 30–40-у добу глутатіонредуктазна активність досягає свого максимуму, рівень якого у 2,1 рази перевищує активність у добових перепелят ($P < 0,001$). Протягом 5-ї декади активність ферменту знижується на 30% відносно максимуму ($P < 0,01$),

переважаючи активність у добової птиці у 1,5 рази ($P < 0,05$). До кінця експерименту активність ГР знову підвищується, досягаючи $6,97 \pm 0,52$ мкмоль НАДФхН₂/хвхг тканини, що переважає рівень добової птиці в 1,8 рази ($P < 0,001$). Подібно до ГПО, глутатіонредуктазна активність при згодовуванні препарату "Сел-Плекс" знижується у порівнянні із контрольними показниками на 2,3–14,4%.

Введення до раціону препарату "Сел-Плекс" на початкових етапах експерименту не впливало на природи живої маси перепелів, а починаючи із 40-ї доби та до кінця експерименту жива маса птиці у дослідній групі переважала контроль на 32 г. Середня маса перепелів у 70-добовому віці у дослідній групі зросла на 13,6% відносно інтактної птиці.

Встановлено, що додавання препарату "Сел-Плекс" дещо збільшує масу яєць, яка у контрольній групі складала $11,38 \pm 0,35$ г, а в дослідній – $12,45 \pm 0,51$ г. Застосування препарату "Сел-Плекс" у складі комбікорму позитивно впливало на збереженість поголів'я перепелів, яка збільшилась відносно контролю на 8%. Рентабельність вирощування перепелів при додаванні препарату "Сел-Плекс" підвищується на 16,92%.

Таким чином, використання сполук Селену у складі комбікормів при вирощуванні перепелів є надзвичайно бажаними і економічно обґрунтованими не тільки завдяки своїй біологічній дії, а також із огляду на низьку необхідну кількість сполук і незначні витрати на їх закупівлю.

Висновки

1. Активність глутатіонзалежних ферментів у нирках добових перепелят є мінімальною, однак з віком зростає. Додавання до раціону перепелів препарату "Сел-Плекс" спричинило зниження вмісту відновленого глутатіону та активності глутатіонредуктази у нирках птиці дослідної групи порівняно із контроль-

ною та зростання активності глутатіонпероксидази.

2. Додаток до комбікорму препарату "Сел-Плекс" сприяло підвищенню збереженості поголів'я на 8%.

Исследовано влияние препарата "Сел-Плекс" на процессы перекисного окисления липидов в почках перепелов. Установлены изменения содержания восстановленного глутатиона, активности глутатионзависимых ферментов в почках

Література

1. Авцын А.П. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А.П.Авцын, А.А.Жаворонков, М.А.Риш, Л.С.Строчкова – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
2. Барабой В.А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы / В.А.Барабой. – Киев: Фитосоцицентр, 2006. – 424 с.
3. Бородай В.П. Влияние препарата "Сел-Плекс" на морфологичні показники яєць перепелів / В.П.Бородай, А.С.Курінна, С.В.Володкевич // Теоретичні та практичні аспекти оології в сучасній зоології: Мат. ІУ Міжнародної наук.-практ. конф. – К.: Фітосоціоцентр, 2011. – 380 с.
4. Бородай В.П. Підвищення продуктивності перепелів різних порід за використання препарату "Сел-Плекс": рекомендації для птахівничих господарств України, які спеціалізуються на виробництві продукції перепелівництва / В.П.Бородай, Ю.Є.Петров, В.В.Мельник та ін. – К.: ТОВ "Аграр Медіа Груп", 2011. – 14 с.
5. Васильева А.В. Влияние алиментарного микроэлемента на активность глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы / А.В.Васильева, В.И.Ивахненко, С.А.Хитимченко, В.В.Корж // Биомед. химия. – 2008, Вып. 54, № 2. – С. 236–243.
6. Ветеринарна клінічна біохімія / В.І.Левченко, В.В.Влізло, І.П.Кондрахін [та ін.] За ред. В.І.Левченка і В.Л.Галяса. – Біла

перепелов в возрастном аспекте и при внесении препарата в комбикорм.

Перепел, нирки, "Сел-Плекс"

"Sel-Plex" influence for processes of lipid peroxidation in quail's kidney are investigated. Changing of glutathione content, glutathionedependent ferments activity in kidneys in age aspect and under condition of preparation adding in food stuff is shown.

Quail, kidney, "Sel-Plex"

Церква, 2002. – 400 с.

7. Егоров И.А. Обогащение яиц кур селеном и витамином Е / И.А.Егоров, Г.В.Ивахник, Т.Т.Папаян // Птица и птицепродукты. – 2006. – №2. – С. 42–44.

8. Мельник В.В. Влияние препарата "Сел-Плекс" на продуктивность перепелів породи фараон / В.В.Мельник, С.В.Володкевич // Сучасне птахівництво. – 2009. – №11-12. – С.29-31.

9. Ткачева Е.Н. Влияние эмбриоспецифических факторов на энергетическое состояние печени при при гипотермическом хранении / Е.Н.Ткачева, Д.В.Черкашина, А.Ю.Петренко, О.А.Семенченко // Матеріали ІХ біохімічного з'їзду. – Харків, 2005. – Т.1. – С.185–186.

10. El-Sayed W.M. Effect of selenium containing compounds of hepatic chemoprotective enzymes in mice / W.M.El-Sayed, T.Abail-Fade, J.G.Lamb // Toxicology. – 2006. – V. 220, №2–3. – P. 179–188.

11. Holovskb K. Antioxidant enzyme activities in liver tissue of chickens fed diets supplemented with various forms and amounts of selenium / K.Holovskb, Jr. K.Holovskb, K.Boldiřbrovб // J.of Animal and Feed Sciences. – 2003. – V. 12. – P. 143–152.

12. Lobanov A.V. Evolutionary dynamics of eukaryotic selenoproteomes: large selenoproteomes may associate with aquatic life and small with terrestrial life / A.V.Lobanov, D.E.Fomenko, Y.Zhang // Genome Biology. – 2007. – V. 8, № 9. – P. 198.