

ДОСЛІДЖЕННЯ СУБКЛІТИННОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У ПЕЧІНЦІ ПЕРЕПЕЛІВ

Т. С. Яремчук, С. І. Цехмістренко, Н. В. Пономаренко

Білоцерківський національний аграрний університет

Досліджено онтогенетичні особливості функціонування системи антиоксидантного захисту в субклітинних структурах клітин печінки перепелів. Встановлено динаміку активності ферментів антиоксидантної системи в цитоплазмі та мітохондріях гепатоцитів у пренатальному та постнатальному періодах онтогенезу. У результаті досліджень виявлено, що процес виведення птиці та період інтенсивного росту супроводжується зростанням активності каталази та супероксиддисмутази в субклітинних структурах печінки перепелів.

У сучасному птахівництві перепелівництво займає вагомe місце по виробництву високоякісного м'яса та яєць [4]. Перепела — перспективний вид сільськогосподарської птиці, оскільки завдяки своїм фізіологічним особливостям легко адаптується до технологічних умов вирощування. Даний вид птиці характеризується коротким терміном інкубації, швидким ростом, раннім початком яйцекладки та невибагливістю до умов утримання [1]. Крім того, перепела є зручною моделлю для лабораторних досліджень, оскільки їхній організм характеризується швидким метаболізмом [5, 6].

У процесі росту та розвитку будь-якого організму важливу роль відіграє формування ефективної системи антиоксидантного захисту в тканинах внутрішніх органів [7]. Антирадикальний захист клітин є важливим елементом при відповіді організму на дію стрес-факторів та хвороботворних чинників [6, 8]. У літературних джерелах описані особливості процесів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у печінці, але не вказано про їх локалізацію на клітинному рівні [4, 6, 7].

СОД і каталаза — основні ферменти антиоксидантного захисту клітин, що беруть участь у нейтралізації супероксиданіон-радикалу та пероксиду гідрогену, які утворюються у результаті переходу неподільного електрону з мітохондріального ланцюга переносу електронів [6, 8]. З'ясування субклітинної локалізації антиоксидантних ферментів у процесі росту та розвитку птиці дає комплексне уявлення про формування адаптаційних механізмів та розкриває нові можливості у вивченні впливу різноманітних чинників на клітинному рівні [4, 5].

Мета роботи — дослідити субклітинну локалізацію та особливості активності системи антиоксидантного захисту в цитоплазмі та мітохондріях клітин печінки перепелів у період пренатального та постнатального онтогенезу.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на перепелах породи фараон (*Coturnix Coturnix*) м'ясного напрямку продуктивності. В експерименті були використанні ембріони та птиця до 70 діб вирощування. Для біохімічних досліджень використовували цитоплазматичну та мітохондріальну фракції печінки. Мітохондрії і цитоплазму виділяли методом диференційного центрифугування [2]. У період інкубації відбір зразків тканини печінки ембріонів проводили у критичні дні інкубації (9, 11, 13, 15-й дні), а також у день вилуплення [1]. Відбір зразків печінки після виведення птиці проводили від 1- до 70-го дня життя з інтервалом 10 днів. У цитоплазмі та мітохондріях визначали активність каталази за загальноприйнятою методикою, в основу якої покладено здатність ферменту розкладати пероксид гідрогену і утворювати стійкий комплекс з молібдатом амонію. Активність

супероксиддисмутази (СОД, КФ 1.15.1.1) визначали за швидкістю гальмування реакції утворення супероксиданіонрадикалу в системі НАДН — феназинметасульфат нітросиній тетразолій [3].

Результати та обговорення. Результати досліджень з динаміки показників стану системи антиоксидантного захисту в субклітинних структурах печінки перепелів свідчать, що активність цитоплазматичної каталази в ембріонах печінки перепелів перевищує активність мітохондріальної у 5,7 раза (рис. 1).

На 9-ту добу інкубації відмічено в цитоплазмі найвищу активність каталази порівняно з наступними днями інкубації. Відомо, що на 9-ту добу в ембріонах перепелів відбувається замикання алантоїсу.

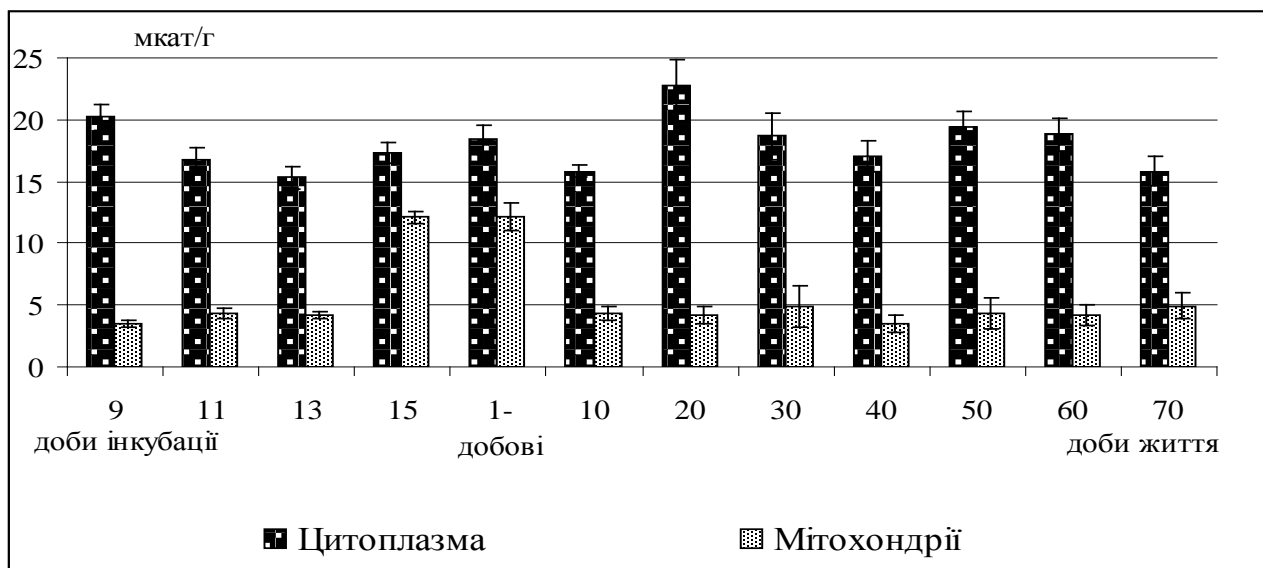


Рис. 1. Активність каталази в субклітинних структурах печінки перепелів в онтогенезі (мкат/г, $M \pm m$; $n = 5$)

На 11-ту добу інкубації активність даного ферменту вірогідно знизилась. Протягом всього інкубаційного періоду активність каталази порівняно з однодобовими перепелятами вірогідно не змінювалась, що свідчить про сталу активність системи антиоксидантного захисту в печінці перепелів у пренатальному періоді онтогенезу. У постнатальному періоді активність даного ферменту відносно однодобових перепелят вірогідно зросла на 20-ту добу життя (на 23,7 %, $p < 0,001$).

У мітохондріях печінки ембріонів на 9-ту добу інкубації активність каталази була на 71,1 % нижчою, ніж у мітохондріях гепатоцитів однодобових перепелят ($p < 0,001$). Надалі відмічалось зростання активності даного ферменту, але різниця залишалась вірогідно нижчою за відношенням до однодобових пташенят. В клітинах печінки однодобових перепелят співвідношення активності цитоплазматичної та мітохондріальної каталази становило 1,5. Починаючи з 10- по 30-ту добу утримання птиці відмічалось вірогідне зниження активності каталази порівняно з однодобовими перепелятами. З 50- по 70-ту доби виявлено стрибкоподібні коливання цього ферменту в цитоплазмі. На 50-й день життя активність каталази зросла на 17,9 % ($p < 0,05$), а на 60-ту добу — знизилась на 27,3 % ($p < 0,01$) порівняно з однодобовою птицею. У 70-добовому віці активність цього ферменту вірогідно зросла (на 34,5 %) порівняно з однодобовими та вдвічі порівняно з попереднім віком. На 70-ту добу життя співвідношення активності цитоплазматичної та мітохондріальної каталази було найнижчим (0,97) за весь дослідний період. Це вказує на те, що в клітинах печінки статевозрілих перепелів процеси знешкодження пероксиду гідрогену каталазою відбуваються майже рівноцінно як в цитоплазмі, так і в мітохондріях.

Активність СОД у цитоплазмі та мітохондріях ембріонів перепелів коливалась. Співвідношення цитоплазматичної та мітохондріальної форми ферменту на 9-й день інкубації становило 1,72, на 11-й — 2,25, 13-й — 1,02, 15-й — 1,58, а в однодобових — 1,29 (табл. 1).

Таблиця 1

Активність СОД у субклітинних структурах печінки перепелів в онтогенезі (ум. од./г, $M \pm m$; $n = 5$)

Дні інкубації/життя	Цитоплазма	Мітохондрії	К ц/м
Ембріони: 9-добові	2,17±0,19*	1,26±0,11**	1,72
11-добові	2,25±0,19*	1,00±0,05***	2,25
13-добові	1,10±0,10***^^^	1,08±0,09***	1,02
15-добові	2,55±0,21^^^	1,61±0,09*^^	1,58
Перепела: 1-денні	2,79±0,12	2,17±0,18^	1,29
10-денні	0,90±0,05***^^^	0,86±0,06***^^^	1,05
20-денні	0,94±0,08***	0,92±0,07***	1,02
30-денні	1,07±0,03***	2,59±0,26^^^	0,41
40-денні	1,63±0,06***^^^	0,86±0,08***^^^	1,90
50-денні	4,26±0,13***^^	2,95±0,26*^^^	1,44
60-денні	2,47±0,22^^^	1,09±0,08***^^^	2,27
70-денні	2,09±0,11**	1,95±0,36^	1,07

Примітка: різниця достовірна відносно попереднього віку/дня інкубації при: ^ — $p < 0,05$; ^^ — $p < 0,01$; ^^ — $p < 0,001$; різниця достовірна відносно одноденних перепелят при: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

Активність цитоплазматичної СОД на 9- та 11-ту доби інкубації була вірогідно нижчою порівняно з однодобовими перепелятами. У 13-добових ембріонів відмічалось зниження активності даного ферменту на 51,2 % ($p < 0,001$) порівняно з попереднім віком та на 60,1 % ($p < 0,001$) порівняно з однодобовими. У першій декаді життя перепелів відмічалось вірогідне зниження активності цитоплазматичної СОД порівняно з однодобовими (на 66,3 %), а починаючи із 30-ї доби життя — зростання. У цитоплазмі печінки 40-добових перепелів виявлено найвищу активність СОД. Вона була в 1,5 раза вищою порівняно з однодобовими ($p < 0,001$) та у 2,6 раза порівняно з попереднім віком ($p < 0,001$). Починаючи із 60-ї доби, активність ферменту вірогідно знизилась.

У мітохондріях печінки ембріонів перепелів відмічалась подібна динаміка активності СОД. На 15-ту добу інкубації виявлено вірогідне зростання активності даного ферменту відносно попереднього терміну досліду, але його активність була на 26,1 % нижчою порівняно з однодобовими перепелятами ($p < 0,01$). У період після вилуплення у мітохондріях до 20-ї доби відмічалось вірогідне зниження активності СОД, а починаючи із 30-го дня активність даного ферменту зросла у 2,8 раза порівняно з попереднім віком. У 40-добовому віці рівень СОД знизився на 66,8 % ($p < 0,001$) порівняно з попереднім віком, а на 50-ту добу — знову зросла у 3,4 раза ($p < 0,001$). На 70-й день життя активність СОД знизилась та не була вірогідною порівняно з однодобовими перепелятами. Такі стрибкоподібні коливання активності даного ферменту в період постнатального онтогенезу можна пояснити фізіологічними змінами в організмі перепелів, зокрема інтенсивним ростом та яйцекладкою.

Аналізуючи дані досліджень активності ферментів системи антиоксидантного захисту, можна сказати, що СОД і каталаза мали високу активність у субклітинних структурах печінки перепелів у день вилуплення. Це обумовлено тим, що дані ферменти є головними складовими системи антиоксидантного захисту клітин. СОД і каталаза є першим і головним етапом в процесі знешкодження вільних радикалів, активна продукція яких виникає внаслідок фізіологічного процесу переходу організму птиці на легеневий тип дихання.

ВИСНОВКИ

Встановлено онтогенетичні особливості активності ферментів системи антиоксидантного захисту в субклітинних структурах печінки перепелів. Виявлено високу активність СОД і каталази у цитоплазмі та мітохондріях печінки ембріонів, щойно вилуплених пташенят, а також у періоди інтенсивного росту, розвитку перепелів та яйцекладки. Вивчено клітинну локалізацію ферментів антиоксидантного захисту в гепатоцитах перепелів у пренатальному та постнатальному періодах онтогенезу та виявлено, що активність каталази та СОД у цитоплазмі були відмінними від її активності у мітохондріях гепатоцитів на різних етапах росту та розвитку перепелів.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження онтогенетичних особливостей функціонування системи антиоксидантного захисту в субклітинних структурах клітин інших життєво важливих органах перепелів, а також за дії різних фізико-хімічних факторів.

RESEARCH OF SUBCELLULAR LOCALIZATION OF ANTYOKSYDANT ENZYMES IN THE LIVER OF QUAIL

T. S. Yaremchuk, S. I. Tsekhmistrenko, N. V. Ponomarenko

S U M M A R Y

The ontogenetic features of functioning of the system of antyoksydant defence are explored in the subcellular structures of cages of liver of quail. The dynamics of activity of enzymes of the antyoksydant system is set in a cytoplasm and in a cytoplasm and mitochondrias in the prenatal and postnatal periods of ontogenesis. It is exposed as a result of researches, that the process of destroying of bird and period of intensive growth is accompanied by growth of activity of katalasa and superoxiddismutasa in the subcellular structures of liver of quail.

ИССЛЕДОВАНИЕ СУБКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ПЕЧЕНИ ПЕРЕПЕЛОВ

T. S. Яремчук, С. И. Цехмистренко, Н. В. Пономаренко

А Н Н О Т А Ц И Я

Исследованы онтогенетические особенности функционирования системы антиоксидантной защиты в субклеточных структурах клеток печени перепелов. Изучена динамика активности ферментов антиоксидантной системы в цитоплазме и митохондриях гепатоцитов в пренатальном и постнатальном периодах онтогенеза. В результате исследований установлено, что процесс выведения птенцов и период интенсивного роста сопровождается повышением активности каталазы и супероксиддисмутазы в субклеточных структурах печени перепелов.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Бондаренко С. П.* Содержание перепелов / С. П. Бондаренко. — М. : ООО «Издательство АСТ», 2004. — С. 3–11.
2. *Прохорова М. И.* Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) : учеб. пособие / М. И. Прохорова. — Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. — 272 с.

3. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. — М. : Медицина, 1977. — С. 49–52.
4. *Цехмістренко С. І.* Антиоксидантний статус деяких органів травлення перепела в ранньому постнатальному онтогенезі : матеріали I Міжнародної науково-практичної конференції. / С. І. Цехмістренко О. М Чубар, Н. В. Пономаренко. — Біла Церква, 2005. — С. 32–34.
5. *Цехмістренко С. І.* Енергетичний обмін та антиоксидантний статус тканин птиці : мат. X Українського біохімічного з'їзду / С. І. Цехмістренко, Т. С. Яремчук, О. С. Цехмістренко та ін. — Одеса, 2010. — Т. 84, № 4. — С. 256–257.
6. *Цехмістренко С. І.* Вікові особливості функціонування системи антиоксидантного захисту крові страусів / С. І. Цехмістренко, В. М. Поліщук // Укр. біохім. журн. — 2010. — Т. 82, № 5. — С. 92–97.
7. *Чубар О. М.* Особливості антиоксидантного гомеостазу печінки перепела в ранньому постнатальному періоді онтогенезу / О. М Чубар // Проблеми екології ветеринарної медицини Житомирщини. — Житомир : Полісся, 2005. — С. 55–59.
8. *Kononskiy O.* Antioxidant status of poultry and tissues in postnatal ontogenesis period and under the influence of stress factors / O. Kononskiy, S. Tsehmistrenko, M. Simonenko, [et al.] // Укр. біохім. журн. — 2005. — Т. 77, № 5. — С. 166.

Рецензент: доктор сільськогосподарських наук, професор Дяченко Л. С., Білоцерківський національний аграрний університет