

ФІЗІОЛОГІЯ ТВАРИН

УДК 636.4:612.8

ДАНЧУК О. В., канд. вет. наук

КАРПОВСЬКИЙ В. І., д-р вет. наук

Національний університет біоресурсів і природокористування України
olexdan@ukr.net

ЗБАЛАНСОВАНІСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ОРГАНІЗМІ СВИНЕЙ ЗА ДІЇ СТРЕСОВОГО ФАКТОРА

Показано інформативність інтегральних показників та індексів активності системи антиоксидантного захисту у свиней за дії технологічних стресів. Доведено доцільність розрахунку окремих індексів та інтегральних показників для оцінки стану системи антиоксидантного захисту та інтенсивності пероксидації ліпідів. Встановлено дисбаланс системи антиоксидантного захисту у організмі свиней за технологічного стресу, на що вказує зниження індексів супероксиддисмутаза/глутатіонпероксидаза та супероксиддисмутаза/каталаза (на 5–11 %). Під час технологічного стресу встановлено порушення збалансованості утворення та знешкодження вільних радикалів, що впливає із зниження коефіцієнта антиоксидантного захисту на 30–50 %. Найбільш інформативним показником взаємовідношень у системі пероксидне окиснення ліпідів – система антиоксидантного захисту є інтегральний показник – ПОЛ/АОЗ, зокрема за відлучення та переформування дослідних груп встановлено зростання показника ПОЛ/АОЗ у 23–24 рази, що вказує на виключну чутливість цього показника порівняно із попередніми.

Ключові слова: інтегральні показники, індекси, пероксидне окиснення ліпідів, система антиоксидантного захисту, свині, технологічний стрес.

Постановка проблеми. Однією із безумовних умов існування живого організму є забезпечення фізіологічної рівноваги внутрішнього середовища, зокрема, збалансованість утворення вільних радикалів та їх утилізація [1]. В умовах технологічного стресу проходить зростання інтенсивності радикалоутворення, що призводить до інтенсифікації пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [2]. Інтенсивність вільнорадикального окиснення визначається не лише швидкістю утворення вільних радикалів, але й функціональним станом системи антиоксидантного захисту (АОЗ) [3, 4].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. На сьогодні для оцінки інтенсивності вільнорадикального окиснення, стану системи антиоксидантної системи і збалансованість інтенсивності ПОЛ та активності системи АОЗ визначають ряд розрахункових показників, зокрема, індекс збалансованості САЗ, інтегральний показник – ПОЛ/АОЗ, фактор антиоксидантного стану та ряд інших [5–8]. Однак, їх інформативність у порівняльному аспекті практично не висвітлена, а їх інтерпретація у різних авторів дещо різниться [5–9].

Мета дослідження – дослідити інформативність розрахункових показників активності системи антиоксидантного захисту в організмі свиней за дії технологічних стресів.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження проводили на свинофермі ТОВ СП «Нібулон» філія «Мрія» с. Сокіл Кам'янець-Подільського району Хмельницької області. Для проведення експерименту було підібрано 20 поросят великої білої породи 60-денного віку. До двомісячного віку поросят утримували під свиноматками у типових приміщеннях. Було сформовано 2 групи тварин, по 10 голів у кожній. Тварини контрольної групи у 60-денному віці відлучені від свиноматок, проведено вакцинацію проти бешихи та сформовано групи на дорощування. У 90-добовому віці проведено ревакцинацію і на 180-ту добу життя тварин переводили в літній табір та проводили перерозподіл груп. Натомість тварини контрольної групи у ці періоди онтогенезу перебували у стадії фізіологічного спокою. Тварин у сформованих групах утримували на сухому концентратному типі годівлі, доступ до води – вільний. Годували свиней вволю.

У 60-, 61-, 65-, 90-, 91-, 95-, 180-, 181-, 185- та 210-добовому віці у всіх тварин брали кров шляхом пункції передньої порожнистої вени (до 3-місячного віку) та вушної вени (після 6-місячного віку).

У еритроцитах крові поросят визначали: активність супероксиддисмутази (СОД) за методом описаним Дубініною Є.Є.; каталази за здатністю перекису водню утворювати із солями молібдену стійкий кольоровий комплекс; глутатіонредуктази, що базується на принципі коли фермент, за участі відновлених форм піридиннуклеотидів, переводить окислену форму глутатіону у відновлену, за ступенем зростання якого в середовищі інкубації розраховується активність ферменту; глутатіонпероксидази за методом Моїна В.М.; вміст ТБК-активних продуктів спектрофотометричним методом за реакцією з тіобарбітуровою кислотою; дієнових кон'югантів та кетодієнів за принципом, що процес пероксидного окиснення поліненасичених жирних кислот супроводжується перегрупуванням подвійних зв'язків і виникненням системи сполучених дієнових структур, які мають максимум поглинання за 232–234 нм з плечем в області 260–280 нм, відповідним кетодієнам. У плазмі крові визначали вміст основ Шиффа, що базується на вимірюванні інтенсивності флуоресценції даних сполук, отриманих ліпідними розчинниками з біологічного матеріалу; вміст загальних ліпідів гравіметричним методом [10].

Після отримання результатів досліджень проводили розрахунок інтегральних показників та індексів системи АОЗ. Індеси активності системи АОЗ:СОД/КАТ та СОД/ГП – індекс збалансованості САЗ; ГП/ГР – індекс збалансованості глутатіонової ланки САЗ. Інтегральні показники інтенсивності ПОЛ та системи АОЗ:ПОЛ/АОЗ – відношення суми показників ПОЛ до суми показників ферментативної системи АОЗ (антиоксидантно-прооксидантний індекс), розраховували за формулою:

$$\text{ПОЛ/АОЗ} = ((\text{МДАк/МДАд}) * (\text{ДКк/ДКд}) * (\text{КДк/КДд}) * (\text{ШОк/ШОд})) / ((\text{СОДк/СОДд}) * (\text{КАТк/КАТд}) * (\text{ГПк/ГПд}) * (\text{ГРк/ГРд}))$$

ФАОС – фактор антиоксидантного стану (фактор антиоксидантної системи) обраховували за формулою:

$$\text{ФАОС} = \frac{\text{СОД} * \text{КАТ}}{\text{МДА}}$$

ГПО/ДК – інтегральний показник (коефіцієнт) антиоксидантного захисту.

Для зручності аналізу результатів всі розрахункові показники тварин дослідної групи виражали у відсотках до контрольної групи тварин.

Основні результати досліджень. Показник співвідношення активності СОД та каталази свідчить про внутрішній дисбаланс ферментативної антиоксидантної системи та зниження загального антиоксидантного потенціалу органа чи організму в цілому [7].

Зниження активності ферментативної системи антиоксидантного захисту у разі стресу проходить через порушення структури молекули ферменту радикалами Оксигену та продуктами ПОЛ [3]. Деструкція різних ферментних систем за активізації ПОЛ виражена різною мірою, зокрема, активність каталази та ГП знижується дещо більше ніж СОД, що пояснює вірогідне зниження індексів СОД/ГП та СОД/КАТ за стресу на 5–11 % (рис. 1). Індеси СОД/ГП та СОД/КАТ мають високі кореляційні зв'язки ($r=0,84$; $p<0,01$).

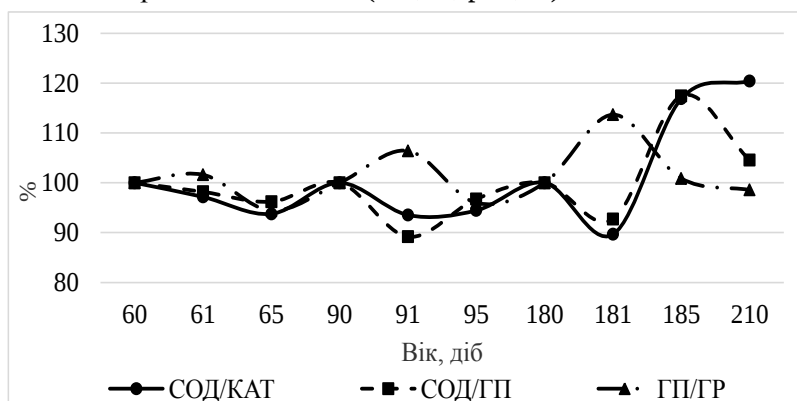


Рис. 1. Індеси ферментативної системи АОЗ у свиней за технологічного стресу (n=5; %).

У системі антиоксидантного захисту важливу роль відіграє глутатіонова ланка (відновлений глутатіон, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза), яка сприяє збереженню антиоксидантного гомеостазу [3]. Проведені дослідження свідчать, що активізація ПОЛ під час технологічного стресу істотно впливає на активність глутатіонової ланки системи АОЗ.

Після відлучення поросят індекс ГП/ГР протягом першої доби вірогідно не змінюється, не зважаючи на зниження активності ферментів в середньому на 15–16 %; ($p < 0,05$). Однак, до 5-ї доби після відлучення проходило зниження цього показника на 7 % за рахунок зростання активності ГР.

Технологічний стрес від переведення тварин у літній табір та переформування груп мав дещо інакший вплив на індекс ГП/ГР, зокрема, протягом першої доби цей показник вірогідно зростає на 14 % за рахунок більшого зниження активності ГР (на 24 %; $p < 0,001$) ніж ГП (на 17 %; $p < 0,01$). Тобто даний стресовий фактор зумовлює дисбаланс у системі глутатіонової ланки АОЗ.

Ступінь окисдаційного стресу визначається не тільки рівнем утворення вільних радикалів, а й швидкістю їх утилізації, тому для визначення ступеня окисдаційного стресу розроблено ряд інтегральних показників відношення вмісту продуктів ПОЛ до активності системи АОЗ.

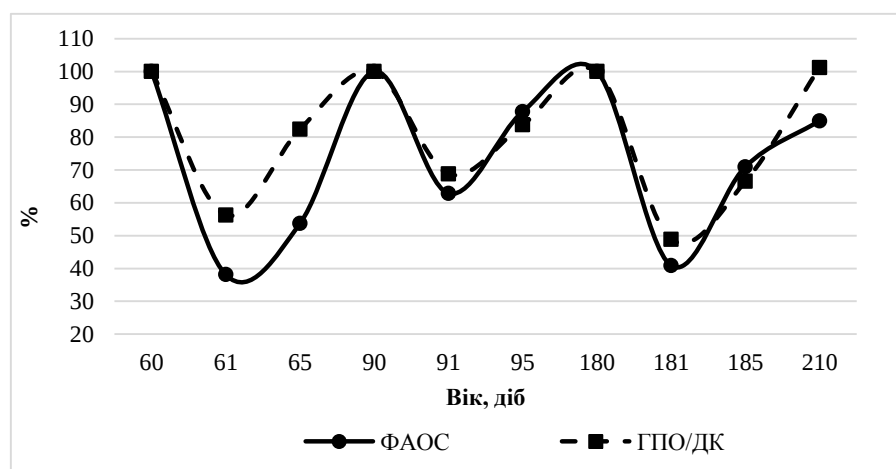


Рис. 2. Інтегральні показники ПОЛ та АОЗ у свиней за технологічного стресу ($n=5$; %).

Найбільш простим з технічного боку є визначення інтегрального показника ГПО/ДК, який деякі дослідники визначають як коефіцієнт антиоксидантного захисту. Під час технологічного стресу цей показник знижується на 30–50 % ($p < 0,001$) протягом першої доби, що вказує на значний дисбаланс між інтенсивністю ПОЛ та активністю ферментативної ланки САЗ. Однак, до 5-ї доби після дії стресового фактора цей показник зростає в середньому у 1,2 раза ($p < 0,01$), що свідчить про адаптацію організму до дії стресового фактора.

Інтегральний показник – фактор антиоксидантного стану [2], або як його ще називають фактор антиоксидантного захисту [11] попри високу кореляцію із показником ГПО/ДК ($r=0,9$; $p < 0,001$) є більш чутливим щодо врівноваженості системи ПОЛ-АОЗ. Незалежно від причини технологічного стресу показник ФАОС був вірогідно на нижчому рівні від показника ГПО/ДК на 7–21 % ($p < 0,05$ – $0,001$).

Значну роль у підтриманні ПОЛ на високому рівні відіграє декомпенсація механізмів адаптації. Слід відзначити негативні кореляційні зв'язки показників ГПО/ДК та ФАОС із індексом Шиффутворення ($r=-0,7$; $p < 0,05$), очевидно, що за нормальних фізіологічних умов при технологічних стресах попри зростання інтенсивності ПОЛ та зниження активності системи АОЗ зростає інтенсивність знешкодження кінцевих продуктів пероксидації із накопиченням основ Шиффа (рис. 3).

Найбільш інформативним показником взаємовідношень у системі ПОЛ-АОЗ є інтегральний показник – ПОЛ/АОЗ (відношення суми показників ПОЛ до суми показників АОЗ).

Як видно із даних рисунка 3, стрес за відлучення тварин супроводжується значним зростанням інтенсивності пероксидації ліпідів та зниженням ферментативної ланки САЗ (показник ПОЛ/АОЗ зростає у 23 рази; $p < 0,001$), що вказує на виключну чутливість цього показника порівняно із попередніми. Технологічний стрес за вакцинації тварин супроводжувався зростанням

у 4,8 рази ($p < 0,001$), а переведення тварин у літній табір та переформування груп на дорощування сприяло зростанню показника у 24 рази ($p < 0,001$).

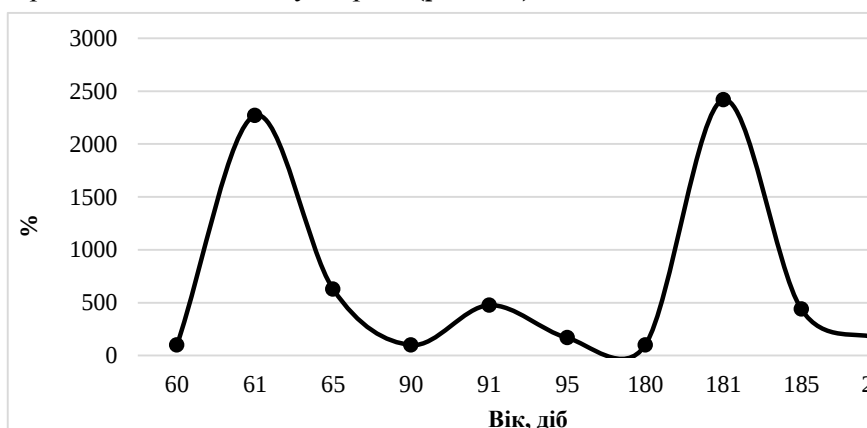


Рис. 3. Інтегральний показник ПОЛ/АОС у свиней за технологічного стресу (n=5; %).

Також слід відмітити високі від'ємні кореляційні зв'язки показника ПОЛ/АОС із показниками ГПО/ДК і ФАОС ($r = -0,9$; $p < 0,01$) та позитивні із показниками ГП/ГР ($r = 0,63$) і МДА/ліпіди ($r = 0,88$; $p < 0,015$).

Висновки. Встановлено дисбаланс в системі антиоксидантного захисту у організмі свиней за технологічного стресу, на що вказує зниження індексів СОД/ГП та СОД/КАТ на 5–11 %. Під час технологічного стресу встановлено зниження коефіцієнта антиоксидантного захисту на 30–50 %, що вказує на значний дисбаланс між інтенсивністю ПОЛ та активністю ферментативної ланки САЗ. Найбільш інформативним показником взаємовідношень у системі ПОЛ-АОЗ є інтегральний показник – ПОЛ/АОЗ (відношення суми показників ПОЛ до суми показників АОЗ). Відлучення тварин супроводжується значним зростанням інтенсивності пероксидації ліпідів та зниженням ферментативної ланки САЗ (показник ПОЛ/АОС зростає у 23 рази), що вказує на виключну чутливість цього показника порівняно із попередніми.

Перспективи подальших досліджень полягають у встановленні індексів активності й збалансованості системи антиоксидантного захисту та інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів у свиней різних типів вищої нервової діяльності.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
2. Вплив пробіотичних препаратів БПС-44 та БПС-Л на окисно-відновну рівновагу у крові телят / В.О. Агеев, Г.М. Дяченко, С.В. Дерев'янко, Л.В. Божок // Мікробіол. журн. – 2010. – Т. 72, № 1. – С. 24–28.
3. Данчук В.В. Оксидативний стрес – патологія чи адаптація? / В.В. Данчук, О.В. Данчук, Н.Л. Цепко // Тваринництво України. – 2004. – № 4. – С. 21–23.
4. Генис Р. Биомембраны: молекулярная структура и функции / Р. Генис. – М.: Мир, 1997. – 622 с.
5. Данчук О.В. Индексы интенсивности пероксидного окиснения липидов у свиней за дії стресового фактора / О.В. Данчук, В.І. Карповський, В.В. Данчук // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. – 2016. – Т. 18, № 1 (65), ч. 2. – С. 48–52.
6. Гончар О.О. Вплив різних режимів інтервального гіпоксичного тренування на про- та антиоксидантний статус м'язової тканини щурів при адаптації до гіпоксії навантаження / О.О. Гончар, Б.Л. Гавенаускас, І.М. Маньковська // Експерим. та клін. біохімія. – 2005. – Т. 29, № 1. – С. 7–15.
7. Ясінська О.В. Особливості фотоперіодичних змін прооксидантних процесів, антиоксидантної системи та надниркових залоз за умов екзогенної гіпоксії: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.03 / О.В. Ясінська. – Чернівці, 2006. – 200 с.
8. Сосін І.К. Вплив озонотерапії на процеси вільнорадикального окиснення при лікуванні алкогольного абстинентного синдрому / І.К. Сосін // Укр. вісн. психоневрології. – 2014. – № 22, вип. 4. – С. 111–114.
9. Замазій А.А. Процеси перекисного окиснення ліпідів в організмі корів-породиль за умов народження телят у стані гіпоксії [Електронний ресурс] / А.А. Замазій, М.Д. Камбур. – 2011. – Режим доступу: <http://www.pdaa.edu.ua/sites/default/files/nppdaa-vet/2011/1/15.pdf>.
10. Лабораторна діагностика у ветеринарній медицині / [Влізко В.В., Максимович І.А., Галас В.Л., Леньо М.І.]. – Львів: Б. в., 2008. – 112 с.
11. Лісничук Н.Є. Фактор антиоксидантного захисту – ефективний показник оцінки про- та антиоксидантних процесів в умовах експериментального канцерогенезу та його сорбційна корекція / Н.Є. Лісничук, І.Я. Демків, О.В. Чихира // Здобутки клін. і експерим. медицини. – 2013. – № 2. – С. 124–126.

REFERENCES

1. Vladimirov Ju.A. Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskikh membranah / Ju.A. Vladimirov, A.I. Archakov. – M.: Nauka, 1972. – 252 s.
2. Vplyv probiotychnykh preparativ BPS-44 ta BPS-L na oksyno-vidnovnu rovnovagu u krovі teljat / V.O. Agejev, G.M. Djachenko, S.V. Derev'janko, L.V. Bozhok // Mikrobiol. zhurn. – 2010. – T. 72, № 1. – S. 24–28.
3. Danchuk V.V. Oksydacijnyj stres – patologija chy adaptacija? / V.V. Danchuk, O.V. Danchuk, N.L. Cepko // Tvarynnystvo Ukraїny. – 2004. – № 4. – S. 21–23.
4. Genis R. Biomembrany: molekularnaja struktura i funkcii / R. Genis. – M.: Mir, 1997. – 622 s.
5. Danchuk O.V. Indeksy intensyvnosti peroksydnogo oksynennja lipidiv u svynej za dii' stresovogo faktora / O.V. Danchuk, V.I. Karpovskij, V.V. Danchuk // Naukovyj visnyk LNUVMBT imeni S.Z. G'zhyc'kogo. – 2016. – T. 18, № 1 (65), ch. 2. – S. 48–52.
6. Gonchar O.O. Vplyv riznykh rezhymiv interval'nogo gipoksychnogo trenuvannja na pro- ta antyoksydantnyj status m'jazovoi' tkanysh shhuriv pry adaptacii' do gipoksii' navantazhennja / O.O. Gonchar, B.L. Gavenauskas, I.M. Man'kovsk'ka // Eksperyment. ta klin. biohimija. – 2005. – T. 29, № 1. – S. 7–15.
7. Jasins'ka O.V. Osoblyvosti fotoperiodychnykh zmin prooksydantnykh procesiv, antyoksydantnoi' systemy ta nadnyrkovykh zaloz za umov ekzogennoi' gipoksii': dys. ... kand. med. nauk: 14.03.03 / O.V. Jasins'ka. – Chernivci, 2006. – 200 s.
8. Sosin I.K. Vplyv ozonoterapii' na procesy vil'noradykal'nogo oksylennja pry likuvanni alkogol'nogo abstynentnogo syndromu / I.K. Sosin // Ukr. visn. psyhonevrologii'. – 2014. – № 22, vyp. 4. – S. 111–114.
9. Zamazij A.A. Procesy perekysnogo oksynennja lipidiv v organizmi koriv-porodil' za umov narodzhennja teljat u stani gipoksii' [Elektronnyj resurs] / A.A. Zamazij, M.D. Kambur. – 2011. – Rezhym dostupu: <http://www.pdaa.edu.ua/sites/default/files/nppdaa-vet/2011/1/15.pdf>.
10. Laboratorna diagnostyka u veterynarnij medycyni / [Vlizlo V.V., Maksymovych I.A., Galjas V.L., Len'o M.I.]. – L'viv: B. v., 2008. – 112 s.
11. Lisnychuk N.Je. Faktor antyoksydantnogo zahystu – efektyvnyj pokaznyk ocinky pro- ta antyoksydantnykh procesiv v umovah eksperymental'nogo kancerogenezu ta jogo sorbcijna korekcija / N.Je. Lisnychuk, I.Ja. Demkiv, O.V. Chyhyra // Zdobutky klin. i eksperyment. medycyny. – 2013. – № 2. – S. 124–126.

Сбалансированность ферментативной системы антиоксидантной защиты в организме свиней под влиянием стрессового фактора

А. В. Данчук, В. И. Карповский

Показано информативность интегральных показателей и индексов активности системы антиоксидантной защиты у свиней при действии технологических стрессов. Доказана целесообразность расчета отдельных индексов и интегральных показателей для оценки состояния системы антиоксидантной защиты и интенсивности ПОЛ. Установлено дисбаланс системы антиоксидантной защиты в организме свиней при технологическом стрессе, на что указывает снижение индексов супероксиддисмутаза/глутатионпероксидаза и супероксиддисмутаза/каталаза (на 5–11 %). Во время технологического стресса установлены нарушения сбалансированности образования и обезвреживания свободных радикалов, что следует по снижению коэффициента антиоксидантной защиты на 30–50 %. Наиболее информативным показателем взаимоотношений в системе перекисное окисление липидов-система антиоксидантной защиты является интегральный показатель – ПОЛ/АОЗ, в частности при отъеме и переформировании исследовательских групп установлено рост показателя ПОЛ/АОЗ в 23–24 раза, что указывает на исключительную чувствительность данного показателя по сравнению с предыдущими.

Ключевые слова: интегральные показатели, индексы, перекисное окисление липидов, система антиоксидантной защиты, свиньи, технологический стресс.

Balance enzymatic antioxidant defense system in pigs under the influence of stress factors

O. Danchuk, V. Karpovskiy

The work is devoted to research estimates informative activity of the antioxidant in the body of pigs on the technological stress.

Reduced activity of enzymatic antioxidant defense system is under stress due to violation of the structure of the enzyme molecule oxygen radicals and lipid peroxidation products. The destruction of various enzyme systems in the activation of lipid peroxidation expressed in varying degrees, including catalase and glutathione peroxidase activity decreased slightly more than superoxide dismutase, explaining the possible decline of indices superoxide dismutase / glutathione peroxidase and superoxide dismutase / catalase under stress for 5–11 %. Ratio of superoxide dismutase and catalase activity indicates internal imbalance enzymatic antioxidant system and reducing the total antioxidant capacity of the body or the whole body. Indices superoxide dismutase / glutathione peroxidase and superoxide dismutase / catalase have high correlation ($r = 0.84$).

In the antioxidant defense system plays an important role glutathione link (glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase), which promotes the preservation of antioxidant homeostasis. Our studies indicate that activation of lipid peroxidation in the process of stress significantly affects the activity glutathione level of antioxidant protection.

After weaning piglets index glutathione / glutathione reductase during the first day does not change significantly despite the lowering enzyme activity an average of 15–16 %. However, the 5 th day after weaning took place decrease of this index by 7 % due to increased activity of glutathione reductase. Technological stress of transfer in the summer camp and re-forming groups had slightly different effect on the index glutathione / glutathione reductase, particularly during the first day this figure significantly increased by 14 % due to a greater decrease in activity of glutathione reductase (24 %) than glutathione (17 %). That is now stress factor causes an imbalance in the system of glutathione level of antioxidant protection.

Oxidative degree of stress depends not only on the level of formation of free radicals, but the speed of recovery, therefore, to determine the degree of stress oxidative developed a number of integrated indicators related content products of lipid peroxidation activation of antioxidant protection. The easiest part is the technical definition of the integral index glutathione /

diene conjugates, which some researchers define as the ratio of antioxidant protection. During the process of stress, this figure is reduced by 30–50 % during the first day, indicating a significant imbalance between the intensity of lipid peroxidation and enzyme activity level of antioxidant protection. However, the 5th day after exposure to stressors this figure growing by an average of 1.2 times, indicating that the adaptation to the action of stress factor.

The integral index a factor of antioxidant status, or as it is called antioxidant factor despite high correlation with the index glutathione / diene conjugates ($r = 0,9$) are more sensitive about the balance of the education system and neutralize radicals. Regardless of the cause of technological stress factor indicator of antioxidant status was significantly lower level of the index glutathione / diene conjugates at 7–21 %.

Stress at weaning accompanied by a significant increase in the intensity of lipid peroxidation and decrease enzymatic antioxidant defense system level (a measure of the ratio of indices of lipid peroxidation indices to total antioxidant activity of the growing 23 times), which indicates exceptional sensitivity of this indicator compared to previous ones. Technological stress vaccination of animals accompanied by growth of 4.8 times, and transfer the animals to summer camp and reforming groups in the rearing boosted the index 24 times.

Established imbalance in the antioxidant defense system in the body of pigs, the technological stress reduction as indicated by the index superoxide dismutase / glutathione peroxidase and superoxide dismutase / catalase under stress at 5.11 %. During the process of stress reduction coefficient established antioxidant 30–50 %, indicating a significant imbalance between the intensity of lipid peroxidation and enzyme activity level of antioxidant protection. The most informative indicator of relationships in the antioxidant defense system is integrated indicator – ADS (antioxidant defense system) / LP (lipid peroxidation). Weaning is accompanied by a significant increase in the intensity of lipid peroxidation and reduced antioxidant enzyme system level (indicator ADS / LP increases 23 times), which indicates exceptional sensitivity of this indicator compared to previous ones.

Prospects for future research is to establish indices of activity and balanced antioxidant defense system and the intensity of lipid peroxidation in pigs of different types of higher nervous activity.

Key words: integrated indicators, indices, lipid peroxidation, antioxidant defense system, pigs, technological stress.

Надійшла 02.06.2016 р.