

УДК 636.6.087.74:612.3

**НІЩЕМЕНКО М.П.**, д-р вет. наук  
**СТОВБЕЦЬКА Л.С., ПОРОШИНСЬКА О.А.,**  
**ШМАЮН С.С.**, кандидати вет. наук

*Білоцерківський національний аграрний університет*

### **АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ ТА КАТАЛАЗИ ТКАНИНИ ЯЄЧНИКІВ ПЕРЕПІЛОК ЗА ВПЛИВУ КОМПЛЕКСУ НЕЗАМІННИХ АМІНОКИСЛОТ В ПОЄДНАННІ З ВІТАМІНОМ Е**

Висвітлено дані щодо впливу лізину, метіоніну і треоніну в поєднанні з вітаміном Е на ферментативну активність тканини яєчників перепілок. У ході дослідження було встановлено, що збільшення Е-вітамінної забезпеченості перепілок викликає зміни в активності антиоксидантних ферментів. Зокрема, відмічено зростання активності супероксиддисмутази у тканині яєчників перепілок дослідних груп на 14,2 %, порівняно з контролем, каталази – на 23,0–31,9 %. Це підтверджує позитивний вплив застосованої дози вітаміну Е в поєднанні з лізином, метіоніном, треоніном на систему антиоксидантного захисту в напружений період яйцекладки. Крім того, аналізуючи зміни активності супероксиддисмутази та каталази тканини яєчників у всіх групах птиці за час експерименту відмічено їх зростання, що пов'язано з посиленням обміну речовин в організмі несучок під час яйцекладки.

**Ключові слова:** перепели, лізин, метіонін, треонін, вітамін Е, антиоксидантний захист, супероксиддисмутаза, каталаза.

**Постановка проблеми.** Внутрішньомолекулярне окиснення біологічних субстратів (біологічне окиснення) є основним молекулярним механізмом, за рахунок якого забезпечуються енергетичні потреби функціонування живих організмів. Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) зумовлюється вільними радикалами хімічних речовин, які з'являються в результаті обміну речовин. Інтенсифікація пероксидного окиснення ліпідів сприяє зниженню внутрішньоклітинного вмісту антиоксидантів, таких як токоферол, ретинол, глутатіон, Селен та ін. [1].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** До ферментних систем захисту біологічних мембран від ушкодження внаслідок ПОЛ належать ферменти супероксиддисмутази та каталаза. Супероксиддисмутаза (СОД) є ферментом, що захищає організм від токсичних продуктів, які постійно утворюються під час обміну речовин. Під впливом цього ферменту супероксидні радикали перетворюються в менш активні окисники – пероксид Гідрогену та Оксигену [2].

Роль каталази полягає в запобіганні накопиченню гідрогену, який утворюється за дисмутації супероксидного аніону під час анаеробного окиснення відновлених флавопротеїдів. У результаті таких реакцій утворюється вода та молекулярний Оксиген, які використовуються надалі організмом для фізіологічних потреб [3, 4].

Одним із природних антиоксидантів є вітамін Е, дефіцит якого в раціонах тварин призводить до змін ультраструктури клітинних мембран та посилення деструктивної дії вільних радикалів на клітинні мембрани та органели [5].

Метіонін є попередником усіх сульфуровмісних сполук в організмі і джерелом сульфуру в процесах детоксикації [6, 7]. Метильні групи метіоніну можуть брати участь у синтезі поліамінів (пропіламінів), які відіграють важливу роль в антиоксидантному захисті тканин [8]. Крім того, встановлено, що метіонін може використовуватися для побудови іншої сульфуровмісної амінокислоти – цистину, який теж є в складі глутатіону. Глутатіон бере активну участь у окисно-відновних процесах, захищаючи SH-групи ферментів та інших білків від окиснення, відновлюючи  $H_2O_2$  та забезпечуючи транспорт амінокислот через мембрану клітин [9]. За даними літератури [10], з цистеїну утворюються інші біологічно активні речовини, зокрема ацетилцистеїн, який має антиоксидантні, антитоксичні та імуномодулювальні властивості.

**Мета роботи** – дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту тканини яєчників перепілок за впливу лізину, метіоніну, треоніну в поєднанні з вітаміном Е.

**Матеріал і методи дослідження.** Експерименти проводили в умовах віварію Білоцерківського НАУ на перепілках японської породи. За методом аналогів було відібрано 100 перепілок віком 45 діб, з яких було сформовано 4 групи по 25 у кожній. Перша група була контрольною, а 2, 3 та 4 – дослідними. Про умови експерименту ми повідомляли раніше [11].

Визначення активності супероксиддисмутази в тканині яєчників проводили за допомогою нітросинього тетразолію, каталази – з використанням пероксиду гідрогену та амонію молібда-

ту [12]. Всі отримані дані оброблені статистично з визначенням рівня вірогідності за критерієм Стьюдента.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Супероксиддисмутаза є ключовим компонентом антиоксидантної системи організму. Зміни активності СОД тканини яєчників у птиці контрольної та дослідних груп представлені в таблиці 1.

Таблиця 1 – Активність СОД тканини яєчників перепілок, ум. од./мг білка (M ± m, n = 4)

Доба дослідю	Контроль	2 група	3 група	4 група
до експерименту	30,4 ± 1,66	29,0 ± 1,77	31,6 ± 0,16	28,3 ± 0,88
15-та	31,6 ± 1,27	34,0 ± 1,31	32,7 ± 0,63	30,1 ± 1,01
30-та	36,0 ± 1,81	43,3 ± 1,12**	41,2 ± 1,01*	39,0 ± 1,30
45-та	41,3 ± 1,22	46,3 ± 1,00*	45,5 ± 1,41*	47,2 ± 2,32

**Примітка.** \*p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001 – порівняно з контролем.

До проведення дослідю активність супероксиддисмутази у тканині яєчників перепілок усіх груп була в межах 28,3–31,6 ум. од./мг. На 15-ту добу експерименту у перепілок дослідних груп спостерігалась тенденція до збільшення активності ферменту. Зокрема, у 2-й групі зростання становило 14,8 %, а у 3-й активність СОД була вища, ніж у контролі, на 10,4 %. Водночас, у 4-й групі активність ферменту не змінилась.

На 30-ту добу досліджень активність СОД у 2 та 3-й групах була вірогідно більшою, порівняно з контролем, на 20,3 та 14,4 % відповідно (p<0,01; p<0,05), на 45-ту збільшення активності СОД спостерігали у всіх дослідних групах відповідно на 12,1, 10,1 та 14,2 %.

Якщо простежити динаміку змін активності СОД в яєчниках птиці 2- та 3-ї груп, то вірогідне її зростання спостерігалось протягом експерименту, що може свідчити про зменшення в них концентрації H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> і продуктів ПОЛ. Активність досліджуваного ферменту поступово зростала зі збільшенням інтенсивності яйцекладки. Можна висловити припущення, що зростання активності СОД є відповіддю на посилення утворення продуктів ПОЛ з початку яйцекладки до її максимального збільшення. Збагачення раціонів перепілок дослідних груп вітаміном Е протягом експерименту викликало модуляцію активності антиоксидантних ферментів та привело до активації СОД, про що свідчить зростання цього показника особливо у птиці 2- та 3-ї груп порівняно з контролем. Найвищий показник зростання серед дослідних груп птиці був у 2-й групі, що свідчить, на нашу думку, про посилення процесів ПОЛ у період яйцекладки, яка була найбільшою у цій групі, а також про фізіологічну забезпеченість вітаміном Е раціону перепілок.

Є окремі повідомлення [5], що у птиці стійкість до процесів ПОЛ супроводжується зниженням активності СОД, однак, у нашому досліді встановлено, що упродовж експерименту активність СОД поступово зростала як у перепілок дослідних, так і контрольної груп. Різниця лише полягала у тому, що у птиці дослідних груп, які отримували як добавку до раціону незамінні амінокислоти та вітамін Е, зростання було суттєвішим.

Отже, додавання до раціону перепілок певної кількості вітаміну Е сприяє зростанню активності СОД, порівняно з контрольною групою, впродовж усього періоду досліджень. Можна висловити припущення, що вітамін Е, взаємодіючи з залишковим Оксисеном, нейтралізує його, тим самим підвищуючи захист організму від продуктів ПОЛ.

Активність каталази певною мірою пов'язана з активністю СОД під час онтогенетичного розвитку організму тварин. Активність її в тканині яєчників перепілок представлена у таблиці 2.

До експерименту активність каталази у тканині яєчників перепілок усіх груп коливалась від 10,9 до 12,3 мкмоль/мг×хв. З початком яйцекладки, на 15-ту добу, активність каталази вірогідно зросла у перепілок контрольної групи на 11,8 %, а в дослідних – 14,6–28,6 %. На 30-ту добу дослідю у перепілок другої групи активність каталази була вірогідно більшою, порівняно з контрольною, на 26,3 %, у 3- та 4-й відповідно на 18,8 і 11,5 %, проте це збільшення активності не було вірогідним.

Таблиця 2 – Активність каталази у тканині яєчників перепілок, мкмоль/мг×хв (M ± m, n = 4)

Доба дослідю	Група птиці			
	контрольна	2-а дослідна	3-я дослідна	4-а дослідна
до експерименту	11,6±1,02	12,1 ± 1,11	12,3 ± 1,06	10,9 ± 0,91
15-та	13,0±1,10	13,9±0,40	14,6±0,98	14,0±1,50

30-та	14,8±1,20	18,7±1,05*	17,5±0,80	16,5±0,80
45-та	18,0±0,80	23,7±1,22**	22,2±1,33*	21,2±1,99

**Примітка.** \*p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001 – порівняно з контролем.

На 45-ту добу експерименту активність каталази у другій та третій дослідних групах вірогідно зросла до 23,7±1,22 і 22,1±1,33 мкмоль/мг×хв і була більшою, ніж у контролі, на 31,9 та 23,0 % відповідно. У четвертій групі активність КАТ вірогідно не змінилась.

Аналізуючи зміни активності каталази тканини яєчників за час експерименту слід відмітити її зростання у перепелів всіх груп. На нашу думку, це спричинено початком яйцекладки та адаптативною реакцією організму несучки на зростання інтенсивності метаболічних процесів, які забезпечують посилення овогенезу в перепілок та підвищенням надходженням поживних речовин до яєчників перепілок.

Зі становленням статевої зрілості та початком яйцекладки активність досліджуваного ферменту у перепілок всіх груп зростала поступово, а добавка до раціону перепілок амінокислот і вітаміну Е позитивно вплинула на активність каталази і перебіг процесів ПОЛ.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** 1. Додавання до раціону комплексу незамінних амінокислот у поєднанні з вітаміном Е сприяло вірогідному зростанню активності супероксиддисмутази та каталази у тканині яєчників перепілок дослідної групи порівняно з контролем.

2. Зміни активності ферментів відображають активізацію обміну речовин в організмі несучок дослідних груп та посилення пероксидного окиснення ліпідів, які пов'язані з початком яйцекладки.

Необхідне подальше вивчення антиоксидантного впливу лізину, метіоніну, треоніну в поєднанні з вітаміном Е на ферментативну активність тканини печінки перепелів під час інтенсивної яйцекладки.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антиоксидантна система захисту організму / [Беленічев І.Ф., Левицький Є.Л., Губський Ю.Л. та ін.] // *Современные проблемы токсикологии.* – 2002. – №3. – С. 24–31.
2. Дубинина Е.Е. Характеристика внеклеточной супероксиддисмутазы / Е.Е. Дубинина // *Вопр. мед. химии.* – 1995. – Вып. 6, № 41. – С. 8–12.
3. Quantitative alterations in the products of lipid peroxidation under stress / [Koshoridze N.I., Menabde K.O., Kuchukashvili Z.T. et al.] // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry.* – 2010. – Vol. 6 – № 2. – P. 4–9.
4. Волчегорский И.А. Индекс массы тела и содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови как взаимосвязанные маркеры состояния нейтрофилов и уровня иммуноглобулинов / И.А. Волчегорский, А.Ю. Васильков, Е.В. Павлов // *Российский физиологический журнал.* – 2003. – Т. 89, № 5. – С. 551–556.
5. Effect of dietary grape pomace and vitamin E on growth performance, nutrient digestibility, and susceptibility to meat lipid oxidation in chickens / [Goñi I., Brenes A., Centeno C. et al.] // *Poult Sci.* 2007. – Vol. 86, № 3. – P. 508–516.
6. Campbell C.G. Efficiency of DL-methionine utilization by growing steers / C.G. Campbell, E.C. Titgemeyer, G.S. Jean // *J. of Animal Science.* – 1996. – Vol. 74. – № 10. – P. 2482–2487.
7. Ларин В. Лизин и метионин в качестве детоксиканта кадмия / В. Ларин // *Птицеводство.* – № 12. – 2008. – С. 30.
8. Equilibrium unfolding studies of the rat liver methionine adenosyltransferase, a dimeric enzyme with intersubunit active sites / [Gasset M., Alfonso C., Neira J. et al] // *Biochem. J.* – 2002. – Vol. 361. – P. 307–315.
9. Methionine and selenium yeast supplementation of the maternal diets affects antioxidant activity of breeding eggs / Z.G. Wang, X.J. Pan, W.Q. Zhang [et al] // *Poultry Science.* – 2010. – Vol. 89. – P. 931–937.
10. Бражко О.А. L-цистеїн – речовина для створення біологічно активних речовин / О.А. Brazhko // *Актуальні питання біології, екології та хімії.* – 2009. – № 1. – С. 4–15.
11. Стовбецька Л.С. Вплив комплексу амінокислот та вітаміну Е на продуктивність та морфологічний склад яєць перепілок японської породи / Л.С. Стовбецька, М.П. Ніщененко, О.А. Порошинська // *Птахівництво.* – 2013. – Вып. 69. – С. 239–243.
12. Довідник загальних і спеціальних методів дослідження крові сільськогосподарської птиці [Текст] / [Данчук В.В., Ніщененко М.П., Пеленьо Р.А. та ін.]; за ред. В.О. Ушкалова. – Львів: СПОЛОМ, 2013. – 248 с.

#### REFERENCES

1. Antioxidant defense system of the organism / I. Blanche, E. Levitsky, Y. Gubskiy // *Modern problems of toxicology.* – 2002. – № 3. – P. 24–31.
2. Dubinina E. E. Characterization of the extracellular superoxide dismutase / E.E. Dubinina // *Problems med. chemistry.* – 1995. – Vol. 6, № 41. – P. 8–12.
3. Quantitative alterations in the products of lipid peroxidation under stress / N. I. Koshoridze, K. O. Menabde, Z. T. Kuchukashvili et al. // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry.* – 2010. – Vol. 6 – № 2. – P. 4–9.
4. Volchegorsky I. The body mass index and the content of products of peroxide oxidation of lipids in the blood as markers of interrelated state of neutrophils and the level of immunoglobulin / I. Volchegorsky, A. Vasilkov, E. Pavlov // *Russian physiological journal.* – 2003. – Vol. 89, № 5. – P. 551–556.

5. Effect of dietary grape pomace and vitamin E on growth performance, nutrient digestibility, and susceptibility to meat lipid oxidation in chickens / Goñi I., Brenes A., Centeno C. et al. // *Poult Sci.* 2007. – Vol. 86, № 3. – P. 508–516.
6. Campbell C.G. Efficiency of DL-methionine utilization by growing steers / C.G. Campbell, E.C. Titgemeyer, G.S. Jean // *J. of Animal Science.* – 1996. – Vol. 74. – № 10. – P. 2482–2487.
7. Larin V. Lysine and methionine as a detoxifier of cadmium / V. Larin // *Poultry.* – № 12. – 2008. – P. 30.
8. Equilibrium unfolding studies of the rat liver methionine adenosyltransferase, a dimeric enzyme with intersubunit active sites / M. Gasset, C. Alfonso, J. Neira [et al.] // *Biochem. J.* – 2002. – Vol. 361. – P. 307–315.
9. Methionine and selenium yeast supplementation of the maternal diets affects antioxidant activity of breeding eggs / Z. G. Wang, X. J. Pan, W. Q. Zhang [et al.] // *Poultry Science.* – 2010. – Vol. 89. – P. 931–937.
10. Brazhko O. A. L-cysteine is a substance for creating biologically active substances / O. A. Brajko // *Actual problems of biology, ecology and chemistry.* – 2009. – №. 1. – P. 4–15.
11. Stovbetska L. Effect of complex amino acids and vitamin E on performance and morphological composition of quail eggs Japanese / L.S. Stovbetska, M.P. Nischemenko, O.A. Poroshynska // *Poultry.* – 2013. – Vol. 69. – P. 239–243.
12. Guide for general and special methods of research of blood of poultry [Text] / V.V. Danchuk, M. P. Nischemenko, G. A. Pelenio [et al]. – Lviv: SPLOM, 2013. – 248 p.

**Активность супероксиддисмутазы и каталазы ткани яичников перепелок под влиянием комплекса незаменимых аминокислот в сочетании с витамином E**

**Н.Н. Нищенко, Л.С. Стовбецкая, О.А. Порошинская, С.С. Шмаюн**

Приведены данные о влиянии лизина, метионина и треонина в сочетании с витамином E на ферментативную активность ткани яичников перепелок. В ходе исследования было установлено, что увеличение E-витаминной обеспеченности перепелов вызывает изменения в активности антиоксидантных ферментов. В частности, отмечено возрастание активности супероксиддисмутазы в ткани яичников перепелок подопытных групп на 14,2 % по сравнению с контролем, а каталазы – на 23,0-31,9 %. Это подтверждает положительное влияние витамина E в сочетании с лизином, метионином, треонином на систему антиоксидантной защиты в напряженный период яйцекладки. Анализируя изменения активности супероксиддисмутазы и каталазы ткани яичников за время эксперимента, следует отметить ее возрастание во всех группах птицы, что связано с усилением обмена веществ в организме несушек во время яйцекладки.

**Ключевые слова:** перепела, лизин, метионин, треонин, витамин E, антиоксидантная защита, супероксиддисмутаза, каталаза.

**Quail ovarian tissue Superoxide dismutase and catalase under the influence of a complex of essential amino acids in combination with vitamin E**

**N. Nischemenko, L. Stovbetskay, O. Poroshinskay, S. Shmayun**

Intramolecular oxidation of biological substrates (biological oxidation) is the main molecular mechanism by which energy needs are provided with the functioning of living organisms. The intensity of lipid peroxidation is conditioned by free radical chemicals that occur as a result of metabolism. Intensification of lipid peroxidation contribute to reducing the intracellular content of antioxidants such as tocopherol, retinol, glutathione, selenium and other.

By enzyme systems of biological membranes from damage due to lipid peroxidation include enzymes catalase and superoxide dismutase. Superoxide dismutase is an enzyme that protects the body from toxic products that are constantly generated during metabolism. Under the influence of this enzyme superoxide radicals are converted to less active oxidants – hydrogen peroxide and oxygen. The role of catalase is to prevent the accumulation of hydrogen peroxide, which is formed by dismutation of superoxide anion in anaerobic oxidation flavoproteydiv restored. As a result of such reactions produced water and molecular oxygen, which are used for further physiological needs of the body. One of the natural antioxidants are vitamin E, its deficiency in the diets of animals leads to changes in ultrastructure of cell membranes and enhance the destructive effects of free radicals on cell membranes and organelles. Methionine is precursor all sulfur compounds in the body and a source of sulfur in detoxification processes. Methionine (methyl groups) can participate in the synthesis of polyamines (propylamine), which play an important role in the antioxidant protection of tissues. In addition, it was found that methionine can be used to build other sulfur-containing amino acids – cysteine, which is also part of glutathione. Glutathione is actively involved in redox processes, protecting SH-groups of enzymes and other proteins from oxidation, restoring H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and ensuring transport of amino acids across the membrane of cells. According to with cysteine also can form other biologically active substances, such as acetylcysteine, which has antioxidant, anti-toxic and immune-modulating properties.

Prior to the experiment superoxidizedismutase activity in ovarian tissue of quails all groups was within 28,3–31,6 mind. units/mg. On the 15th day of the experiment the tendency to increase the activity of this enzyme in the experimental groups. In particular, in group 2, the growth was 14,8 % and in the 3rd, activity was greater than in the control to 10,4 %, while in the 4th group of the enzyme activity remained unchanged. On the 30th day of research activity superoxidizedismutase of in the 2nd and 3rd group was significantly higher compared with control 20,3 and 14,4 %, respectively, and in group 4 activity increase was only 8,0 % compared with the control, that it was not likely. On the 45th day of the experiment likely increase in SOD activity was observed in all experimental groups and accounted for 12,1, 10,1 and 14,2 %. If we trace the dynamics of changes in superoxidizedismutase activity in the ovaries poultry 2nd and 3rd group, growth observed during the experiment, which in our opinion could indicate a decrease in the concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and lipid peroxidation products in these organs. Investigational enzyme activity gradually increased with increasing intensity oviposition. We can assume that the increased activity of SOD is a reflex response to the formation of lipid peroxidation products gain since the beginning of oviposition to maximize it. Enrichment of dietary quail study groups during the experiment vitamin E causes modulation of antioxidant enzymes and led to the activation lipid peroxidation, as evidenced by the growth of this indicator especially in poultry in 2nd and 3rd group compared with the control. The highest growth among the research groups of birds were in group 2, which shows in our opinion, the strengthening of lipid peroxidation during oviposition, which was the largest in the group, as well as a good supply of vitamin E diet of quail. There are anecdotal reports that bird resistance lipid peroxidation accompanied by decreased activity, however, in our experiment found that during the experiment superoxidizedismutase activity increased gradually as quails in research and in the control group. The only difference is that in bird research groups who received dietary supplements essential amino acids and vitamin E, growth

was more significant. Thus, the addition to the diet of a certain amount of vitamin E contributes superoxidizedismutase activity compared to control during the whole period of research. You can suggest that vitamin E interacting with residual oxygen neutralizes it, thereby increasing the body's defense against lipid peroxidation products. catalase activity to some extent related to the activity of superoxidizedismutase and during ontogenetic development of animals.

The experiment catalase activity in ovarian tissue quails all groups ranged from 10.88 to 12.30 mmol/min×mg. Since the beginning of oviposition, the 15th day, significantly increased catalase activity of quail in the control group by 11.8 %, while the experimental groups on average 14,6–28,6 %. On the 30th day of the experiment, the activity of catalase in the second group was significantly higher compared to the control group to 26,3 % in the 3-th and 4-th group it grew by 18,8–11,5 %, that is increased activity was not likely. On the 45th day of the experiment catalase activity in the second and third experimental groups significantly increased to 23,74±1,22-22,14±1,33 mmol/min×mg or was greater than the control at 31,9–23,0 % respectively. In the fourth group of catalase activity was 21,18±1,99 mmol/min×mg and was higher compared with the control 17,7 %, but this increase was not likely. Analyzing changes in ovarian tissue catalase activity during the experiment should note its growth in all groups of birds. In our view, these changes reflect the catalase activity increased metabolism in the body hens, which explains the beginning of oviposition. Such changes catalase activity is adaptive reaction laying hens to increase the intensity of metabolic processes that ensure strengthening oogenesis in quails, and increased flow of nutrients to the ovaries quails. With the emergence of puberty and the start of oviposition investigational enzyme activity in all groups of quails grew gradually, and dietary supplements quails amino acids and vitamin E had a positive impact on the activity of catalase and course lipid peroxidation. The diet complex essential amino acids combined with vitamin E contributed to the significant increase of superoxide dismutase and catalase activity in ovarian tissue quails of experimental group compared with the control. Changes enzyme activity reflects activation of metabolism in hens research groups and enhancing lipid peroxidation associated with the start of oviposition.

**Key words:** quail, lysine, methionine, threonine, vitamin E, antioxidant protection, superoxide dismutase, catalase.

*Надійшло 28.10.2015 р.*