

УДК 598. 221:577.121.7:591.11

**ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ СИСТЕМИ  
АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ КРОВІ СТРАУСІВ**

С. І. ЦЕХМІСТРЕНКО, В. М. ПОЛІЩУК

*Білоцерківський національний аграрний університет, Україна;  
e-mail: vitnik2007@ukr.net*

Вперше досліджено інтенсивність пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ), активність деяких ензимів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази, каталази, глутатіон-пероксидази, глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази, вміст відновленого глутатіону та церулоплазміну в сироватці крові страусів у період з 6- до 60-місячного віку. Зростання концентрації продуктів ліпопероксидації супроводжується зниженням вмісту загальних ліпідів у сироватці крові страусів. Кожен період життєвого циклу страусів має властиві йому показники функціонування антиоксидантної системи та інтенсивність накопичення проміжних продуктів ПОЛ. Період статевого дозрівання та інтенсивного яйцевідкладення характеризується збільшенням вмісту продуктів ПОЛ і зниженням активності антиоксидантних ензимів, що може свідчити про виснаження ензиматичної ланки антиоксидантного захисту.

*Ключові слова:* страус (*Struthio camelus*), кров, пероксидне окислення ліпідів, ензими антиоксидантної системи.

Останнім часом дослідники надають великого значення вивченню процесів вільнорадикального окислення ліпідів в умовах різного фізіологічного стану організму, рівню продуктивності тварин і птиці, періоду онтогенезу [1, 2]. Антиоксидантна система в наш час розглядається як ланка метаболізму, що характеризується універсальним механізмом відповіді на будь-який вплив ендо- чи екзогенного походження. За дії різноманітних чинників в організмі відбуваються адаптивні зміни, які супроводжуються активацією ензимів системи антиоксидантного захисту, що пов'язано зі збільшенням концентрації токсичних метаболітів. Накопичення цих сполук може призвести до розвитку оксидативного стресу внаслідок порушення балансу між оксидантною та антиоксидантними системами [3]. Це, у свою чергу, активує процеси ліпопероксидації, окислювальної модифікації протеїнів, нуклеїнових кислот, вуглеводів, які зумовлюють глибокі порушення окисно-відновних процесів, метаболізму основних енергетичних і пластичних хімічних сполук (протеїнів, вуглеводів, ліпідів), біоенергетичних процесів [4]. Однак, розгляд впливу реакційноздатних форм кисню тільки як негативного, пошкоджуючого фактора, унеможливує всебічне розуміння їхнього значення у біологічних системах. Результати досліджень останніх років сприяли більш глибокому розумінню позитивної дії реакційноздатних форм кисню у процесах пролі-

ферації та диференціації клітин, синтезу біологічно активних речовин, окремих гормонів, фагоцитозу та апоптозу [5, 6]

У літературі є багато даних щодо дослідження функціонального стану антиоксидантної системи птиці різних видів [1, 2], проте зовсім відсутні відомості, які б характеризували стан системи антиоксидантного захисту в організмі страусів. Функціонування антиоксидантної системи визначає рівень компенсаторної та адаптивної відповіді організму в умовах можливого розвитку оксидативного стресу під час транспортування, профілактичних обробок, перегрупування тварин і птиці. Особливо актуальним це є для страусів, оскільки умови їхнього утримання істотно відрізняються від природних. Продукція страусівництва – м'ясо та яйця користуються широким попитом у багатьох країнах світу. Ці продукти, порівняно з іншими видами м'яса тварин і птиці, мають низький вміст ліпідів і холестеролу, що особливо важливо для людей із серцево-судинними захворюваннями [7, 8]. Отже, з точки зору користі для здоров'я, м'ясо страусів є цінним і необхідним дієтичним продуктом.

У зв'язку з цим метою цієї роботи було з'ясування особливостей інтенсивності пероксидного окислення ліпідів і функціонування ензиматичної ланки антиоксидантного захисту крові страусів (*Struthio camelus*, підклас безкільових – *Ratitae*, родина – *Struthionidae*) різного віку.

## Матеріали і методи

Експериментальну частину роботи проводили на африканських страусах (*Struthio camelus*), яких утримували у СВАТ «Гайсинське підприємство із племінної справи у тваринництві», м. Гайсин Вінницької області. Всі страуси були здоровими, птицю годували повнораціонними комбікормами, доступ до корму та води був вільним. Птицю утримували у приміщеннях на долівці з підстилкою і вигулом у світлий час доби [7, 8]. За віком, статтю, живую масою птицю поділили на 5 вікових груп (по п'ять голів у кожній): перша – 6-місячні (молоді), друга – 9-місячні (молоді), третя – 18-місячні (період статевого дозрівання), четверта – 24-місячні (період початку яйцевідкладення) та п'ята – 60-місячні (період інтенсивного яйцевідкладення). Кров у страусів відбирали шляхом пункції головної вени плеча. Для одержання сироватки пробірки з цільною кров'ю витримували протягом однієї години у термостаті за температури 37 °С, після цього центрифугували при 3000 об./хв протягом 15 хв [9].

Біохімічні дослідження сироватки крові страусів здійснювали на базі міжфакультетської науково-дослідної лабораторії біохімічних і гістохімічних методів досліджень Білоцерківського національного аграрного університету. Вміст ліпідів визначали за допомогою стандартних наборів реактивів для визначення загальних ліпідів [10]. Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) у сироватці крові визначали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) [11], які утворюються на початкових етапах ПОЛ, гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) – із використанням тіоціанату амонію [12] та продуктів, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП) [13]. Стан антиоксидантної системи (АОС) оцінювали за рівнем актив-

ності ензимів: супероксиддисмутази (СОД; 1.15.1.1) – за допомогою тетразолію нітросинього в системі NADH-феназинметасульфат [14]; каталази (КАТ; 1.11.1.6) – за здатністю пероксиду гідрогену утворювати комплекс із молібдатом амонію [15]; глутатіонпероксидази (ГПО; 1.11.1.9) – за швидкістю окислення глутатіону у присутності гідропероксиду третинного бутілу [16], глутатіонредуктази (ГР; 1.6.4.2) – за швидкістю окислення NADP·H<sub>2</sub>, що реєструється за зменшенням поглинання відновленої форми NADP·H [17], глутатіон-S-трансферази (Г-S-T; 2.5.1.18) – за взаємодією ензиму з 1-хлор-2,4-динітробензолом у присутності відновленого глутатіону (ВГ) [18], кількість ВГ визначали за реакцією з 5,5-дитіобіс-(2-нітробензойною) кислотою [19], кількість церулоплазміну (ЦП; 1.16.3.1) – за реакцією з *n*-фенілен-діаміндігідрохлоридом [20]. У роботі використовували реактиви фірм Реагент, Сімко, Синбіас (Україна) кваліфікації хч та чда. Результати дослідження опрацьовано статистично з використанням *t*-критерію Стьюдента.

## Результати та обговорення

Механізми регуляції ліпідної рівноваги та стан окисних процесів організму тісно взаємопов'язані. У разі активації ПОЛ виникають зміни функціональної активності ліпідних компонентів. Інгібування процесів вільнорадикального окислення залежить від активності ензимів АОС, значну роль в якій відіграє СОД, оскільки вона забезпечує ензиматичну дисмутацію попередника активних форм кисню – супероксидного радикала [4].

Встановлено, що супероксиддисмутазна активність у сироватці крові страусів змінюється протягом проведених досліджень. Кров 6-місячного молодняка має високу ак-

Таблиця 1. Активність ензимів системи антиоксидантного захисту та вміст церулоплазміну в сироватці крові страусів ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ )

Показники	Вік, місяці				
	6	9	18	24	60
Супероксиддисмутаза, ум. од./мл	6,61 ± 0,36	4,57 ± 0,29*	7,38 ± 0,65*	4,91 ± 0,31*	5,21 ± 0,45
Каталаза, мкат/мл	551,40 ± 20,12	557,35 ± 42,17	330,13 ± 26,71*	668,62 ± 57,55*	473,11 ± 24,40*
Церулоплазмін, мкг/мл	780,52 ± 28,12	536,13 ± 19,53*	655,75 ± 50,46	661,24 ± 55,24	985,26 ± 77,18*

Тут і в табл. 2, 3: \* різниця вірогідна порівняно з попереднім строком дослідження,  $P < 0,05$

тивність СОД (табл. 1). У цей період відмічено високу концентрацію ДК та ТБК-АП. Ці зміни, певною мірою, можна пояснити значною кількістю загальних ліпідів у сироватці крові, які є головним субстратом ліпопероксидації (рисунок). Висока активність ензиму обумовлена компенсаторною реакцією організму на підвищення вмісту первинних і вторинних продуктів ПОЛ. У подальшому (до 9-місячного віку) активність ензиму знижується на 30,9%. Така динаміка активності СОД, ймовірно, зумовлена її взаємодією з вільними радикалами, що супроводжується вірогідним зниженням вмісту продуктів ліпопероксидації.

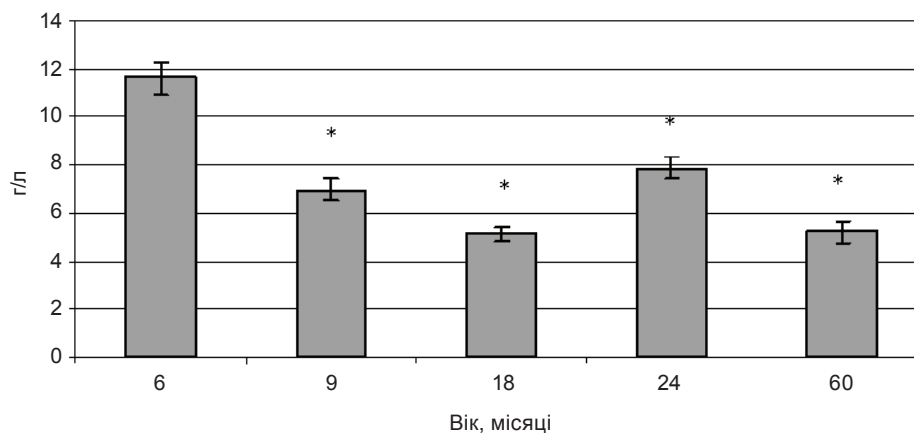
Максимальну активність СОД зареєстровано в період статевого дозрівання страусів (18 місяців). Це може свідчити про активацію метаболічних процесів, зокрема підвищеною потребою  $O_2$ , і зв'язно посиленням генерації активних форм кисню, що спричиняє зростання активності СОД.

Динаміка активності каталази в сироватці крові страусів у віковому аспекті відрізняється від динаміки активності СОД, що передбачає нерівнозначну роль окремих компонентів АОС на різних стадіях розвитку. Активність КАТ у сироватці крові 9-місячного молодняка практично не змінюється порівняно з попереднім терміном дослідження. Такі зміни, можливо, відбуваються за рахунок включення в механізми антиоксидантної відповіді інших компонентів АОС. Підтвердженням цього є зростання активності ГПО та Г-S-T у сироватці крові страусів. Відновлюючи органічні гідропероксидази, ГПО запобігає накопиченню токсичних продуктів ліпопероксидації, але не забезпечує їхнього знешкодження. Цю функцію виконує

інший ензим глутатіонзалежної системи – глутатіонтрансфераза, яка також використовує внутрішньоклітинний ВГ як субстрат [21]. Зниження активності КАТ в сироватці крові страусів 18-місячного віку компенсується зростанням активності ГПО. При цьому активність Г-S-T вірогідно знижується, що може свідчити про конкуренцію двох глутатіонзалежних ензимів за ВГ в умовах зниження його вмісту. Одержані дані вказують, що у період статевого дозрівання страусів ВГ інтенсивно використовується ГПО для нейтралізації пероксиду водню та органічних гідропероксидів. Проте через зниження глутатіонтрансферазної активності можуть накопичуватися вторинні токсичні продукти реакції вільнорадикального окислення ліпідів і зростати вміст протеїнів з окисленими SH-групами.

Одним із основних антиоксидантів плазми крові є ЦП. Встановлено, що, починаючи з 9-місячного віку до періоду інтенсивного яйцевідкладення, концентрація ЦП зростає, досягаючи максимальних значень у пік яйцевідкладення. Збільшення кількості ЦП в цей період, вочевидь, можна пов'язати з його здатністю транспортувати  $Cu^{2+}$  в яйцепровід для формування жовтка яйця. Відносно стабільний вміст ЦП у сироватці крові страусів протягом дослідженого періоду обумовлено високою стійкістю цього специфічного протеїну до токсичної дії активних форм кисню, що дозволяє йому зберігати біологічну активність в умовах їхньої інтенсивної генерації.

Показано, що в 18-місячному віці інтенсифікується ПОЛ, зростає вміст ТБК-АП (табл. 2). Період статевого дозрівання супроводжується активним перебігом анаболічних



Вміст загальних ліпідів сироватки крові страусів. \* Зміни показника стосовно попереднього етапу дослідження вірогідні,  $P < 0,05$  ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Таблиця 2. Вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів у сироватці крові страусів ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ )

Показники	Вік, місяці				
	6	9	18	24	60
Гідропероксиди ліпідів, ум. од./мл	11,09 ± 0,17	11,20 ± 0,70	11,14 ± 0,23	9,70 ± 0,43*	11,17 ± 0,34*
Дієнові кон'югати, ум. од./мл	2,85 ± 0,25	2,10 ± 0,12*	2,04 ± 0,10	1,90 ± 0,14	3,23 ± 0,27*
ТБК-активні продукти, нмоль МДА/мл	13,42 ± 0,63	10,21 ± 0,27*	25,86 ± 1,53*	14,20 ± 0,59*	12,35 ± 0,67

процесів, ліпогенезом, що, ймовірно, спричиняє накопичення продуктів ПОЛ, які зумовлюють зниження активності ензимів АОС у цей період розвитку страусів.

Активіація процесів ліпопероксидації у сироватці крові страусів 60-місячного віку, вочевидь, зумовлена фізіологічним станом (період інтенсивного яйцевідкладення), під час якого відбувається максимальна мобілізація метаболічних процесів, спрямованих на синтез складових компонентів яйця. Зростання рівня ГПЛ та ДК на фоні зниження вмісту ТБК-АП свідчить про порушення перетворення первинних продуктів ПОЛ.

Концентрація пероксидних радикалів у тканинах значною мірою залежить від вмісту ВГ та активності залежних від нього ензимів (табл. 3). У період із 6- до 18-місячного віку вміст ВГ у сироватці крові знижується у 2 рази. Зменшення вмісту ВГ може свідчити про активацію компенсаторних механізмів, спрямованих на відновлення та детоксикацію ор-

ганічних пероксидів, які активно утворюються в реакціях вільнорадикального окислення ліпідів. Головною мішенню в таких реакціях є ненасичені жирні кислоти мембранних фосфоліпідів [22]. Перетворення ліпідних пероксидів на нейтральні сполуки за участю глутатіону каталізується ГПО. Висока спорідненість ГПО до  $H_2O_2$  і значна доступність цього субстрату в умовах оксидативної стресу зумовлює вірогідне зростання (на 27,7%) активності цього ензиму в період статевого дозрівання, натомість каталазна активність у цей період найнижча. У період інтенсивного яйцевідкладення активність ГПО вірогідно знижується порівняно з початком цього періоду. Зростання активності глутатіонзалежних ензимів на початку яйцекладки сприяє зниженню вмісту органічних гідропероксидів та вторинних продуктів ПОЛ і спрямовано на попередження інтенсифікації ліпопероксидації [4]. Зниження вмісту ТБК-АП на фоні підвищення активності ензимів антиоксидантного захисту свідчать, що сироватка

Таблиця 3. Вміст відновленого глутатіону та активність глутатіонзалежних ензимів у сироватці крові страусів ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ )

Показники	Вік, місяці				
	6	9	18	24	60
Відновлений глутатіон, мкмоль/мл	32,98 ± 2,14	26,70 ± 1,67*	16,66 ± 1,41*	44,03 ± 3,68*	78,20 ± 4,72*
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв на 1 мг протеїну	6,26 ± 0,42	6,49 ± 0,50	8,29 ± 0,58*	12,31 ± 0,77*	9,55 ± 0,75*
Глутатіон-S-трансфераза, пмоль кон'югату/хв на 1 мг протеїну	2,24 ± 0,12	4,52 ± 0,26*	3,61 ± 0,22*	8,37 ± 0,27*	6,51 ± 0,52*
Глутатіонредуктаза, нмоль $NADPH_2$ /хв на 1 мг протеїну	4,74 ± 0,25	5,25 ± 0,47	4,27 ± 0,19	5,64 ± 0,43*	6,17 ± 0,43

крові страусів у період яйцевідкладення характеризується високим рівнем антиоксидантного захисту.

Впродовж репродуктивного періоду зростає вміст ВГ (в 2,6 і 1,7 раза відповідно на початку і в пік яйцевідкладення), а також підвищується активність ГР (на 32,1 і 9,4%) порівняно із попереднім терміном дослідження. Пригнічення глутатіонредуктазної активності під час статевого дозрівання на фоні підвищення активності ГПО свідчить про те, що відновлювальна потужність ГР є недостатньою, щоб перевищити швидкість утилізації ВГ, тому в цей період спостерігається зміщення рівноваги в окисно-відновному циклі глутатіону в бік зростання внутрішньоклітинного вмісту окисленого глутатіону. Низька концентрація ВГ у сироватці крові страусів 18-місячного віку обумовлена активним залученням глутатіону до антирадикальних та антипероксидних реакцій захисту. У цілому резервна потужність глутатіонзалежної антиоксидантної системи сироватки крові є достатньою, щоб запобігти значному і тривалому зниженню вмісту ВГ. Тому виявлене на початку репродуктивного періоду підвищення рівня Г-S-T та глутатіонредуктазної активності слід оцінювати як компенсаторну відповідь організму, спрямовану на відновлення вмісту глутатіону в сироватці крові. Однак встановлено, що з віком активність Г-S-T та ГПО у сироватці крові страусів знижується. Це, ймовірно, пов'язано з виснаженням антиоксидантної системи, що є характерним і для інших видів тварин і птиці.

Одержані дані свідчать про наявність тісного корелятивного зв'язку між інтенсивністю ПОЛ і активністю ензимів системи антиоксидантного захисту. Протягом періоду, що досліджувався, встановлено від'ємні корелятивні зв'язки між вмістом ГПЛ і активністю ГПО ( $r = -0,83$ ), ГПЛ і Г-S-T ( $r = -0,74$ ), ГПЛ і КАТ ( $r = -0,78$ ), ТБК-АП і ГР ( $r = -0,79$ ), ТБК-АП і КАТ ( $r = -0,74$ ). При цьому відмічено високу корелятивну залежність між вмістом ДК та ВГ ( $r = 0,71$ ), ДК і ЦП ( $r = 0,90$ ), ТБК-АП і СОД ( $r = 0,82$ ). Отже, інтенсифікація процесів ліпопероксидації супроводжується компенсаторним зростанням активності супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та вмісту церулоплазміну. Зафіксовано зниження вмісту ВГ і пригнічення активності каталази та глутатіон-S-трансферази.

Одержані нами результати дозволяють дійти висновку, що вміст загальних ліпідів

знаходиться у тісному взаємозв'язку із процесами ПОЛ і активністю ензимів антиоксидантної системи. Зростання концентрації продуктів ліпопероксидації супроводжується зниженням вмісту загальних ліпідів у сироватці крові страусів. Кожен період життєвого циклу страусів характеризується властивими йому показниками функціонування антиоксидантної системи та інтенсивністю накопичення проміжних продуктів ПОЛ. У період статевого дозрівання та інтенсивного яйцевідкладення збільшується вміст продуктів ПОЛ і знижується активність антиоксидантних ензимів, що може свідчити про виснаження захисних можливостей ензиматичної ланки антиоксидантного захисту.

### ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ КРОВИ СТРАУСОВ

С. И. Цехмистренко, В. Н. Полищук

Белоцерковский национальный  
аграрный университет, Украина;  
e-mail: vitnik2007@ukr.net

Впервые исследованы интенсивность пероксидного окисления липидов (ПОЛ), активность энзимов антиоксидантной защиты — супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы, а также установлено количество восстановленного глутатиона и церулоплазмина в сыворотке крови страусов в период с 6- до 60-месячного возраста. Показано, что увеличение концентрации продуктов липопероксидации сопровождается снижением количества общих липидов в сыворотке крови страусов. Каждый период жизненного цикла страусов имеет характерные показатели функционирования антиоксидантной системы и интенсивность накопления промежуточных продуктов ПОЛ. Период полового созревания и интенсивной яйцекладки характеризуется увеличением концентрации продуктов ПОЛ и снижением активности антиоксидантных энзимов, что может свидетельствовать об истощении энзиматического звена антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: страус (*Struthio camelus*), кровь, пероксидное окисление липидов, энзимы антиоксидантной системы.

## AGE-RELATED PECULIARITIES OF ANTIOXIDANT SYSTEM FUNCTIONING IN THE BLOOD OF OSTRICHES

S. I. Tsekhmistrenko, V. N. Polischuk

Bila Tserkva National Agrarian University, Ukraine;  
e-mail: vitnik2007@ukr.net

### Summary

The intensity of lipid peroxidation, activity of some enzymes antioxidant system – superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase, amount of recovered glutathione and ceruloplasmin in the blood serum of ostriches in a period from 6- to 60-month age were first investigated. The increase of concentration of lipid peroxidation products is accompanied by the decline of amount of general lipids in the ostriches blood. Every life cycle period of ostriches is characterized by the indexes of functioning of the antioxidant system and intensity of accumulation intermediate lipid peroxidation products inherent in it. The pubescence period and intensive oviposition are characterized by the increase of products lipid peroxidation concentration and decrease of antioxidant enzymes activity, which can testify to the exhaustion of protective possibilities of enzymatic link of antioxidant defence.

**Key words:** ostrich (*Struthio camelus*), blood, lipid peroxidation, enzymes of the antioxidant system.

1. Лысенко В. И., Малько С. В. // Бранта. – 2001. – № 4. – С. 11–17.
2. Данченко О. О., Калитка В. В. // Укр. біохім. журн. – 2002. – 74, № 2. – С. 69–72.
3. Halliwell B. // Free Radic Biol. Med. – 2009. – 46. – Р. 531–542.
4. Барабой В. А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы. К.: Фитосоциоцентр, 2006. – 424 с.
5. Naito Y., Kato Y., Nagai R. et al. // Anti-Aging Medicine. – 2010. – 7(5). – Р. 36–44.
6. Ren J. G., Xia H. L., T. Just, Y. R. Dai // FEBS lett. – 2001. – 488(3). – Р. 123–132.
7. Horbaczuk J. O. The ostrich. Warszawa, 2002. – 182 p.
8. Снітинський В. В., Кружель Б. Б., Вовк С. О. Біологія страуса і технології виробництва страусиної продукції. Львів: ВЦ ЛДАУ, 2006. – 288 с.
9. Лабораторные методы исследования в клинике / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая и др.; под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
10. Колб В. Г., Камышников В. С. Клиническая биохимия (пособие для врачей-лаборантов). – Минск: Беларусь, 1976. – С. 150–154.
11. Романова Л. А., Стальная И. Д. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 64–66.
12. Стальная И. Д. // Там же. – С. 63–64.
13. Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А. // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–44.
14. Чевари С., Чаба И., Секей Й. // Там же. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
15. Королюк М. А., Иванова А. И., Майорова И. Т., Токарев В. Е. // Там же. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
16. Моин В. М. // Там же. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
17. Юсупова Л. Б. // Там же. – 1990. – № 8. – С. 19–21.
18. Habig W. H., Pabst M. J., Jacoby W. B. // J. Biol. Chem. 1974. – 249. – Р. 7130–7139.
19. Горячковский О. М. / Клиническая биохимия. – Одесса: Астропринт, 1998. – С. 370–372.
20. Ravin H. A. // J. Lab. Clin. Med. – 1961. – 58. – Р. 161–168.
21. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. // Успехи совр. биол. – 1993. – 113, № 1. – С. 107–122.
22. Афонина Г. Б., Куон Л. А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. К.: НАН Украины, 2000. – 258 с.

Отримано 21.06.2010