

УДК 636.52/. 58.087:612.74:577.124

Приходченко В.О. ©*Харківська державна зооветеринарна академія,
Харків, Україна***ОНТОГЕНЕТИЧНІ ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ЦИКЛУ
КРЕБСА В МІТОХОНДРІЯХ М'ЯЗІВ КУРЧАТ-БРОЙЛЕРІВ**

Досліджено вікові зміни активності дегідрогеназ циклу Кребса (α-кетоглутаратдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази, малатдегідрогенази) в мітохондріях білих та червоних м'язів курчат-бройлерів в процесі розвитку до 45-добового віку.

Установлено, що в процесі розвитку бройлерів активність ферментів ЦТК поступово знижується. Це може бути пов'язано з інтенсивністю приросту маси і зниженням інтенсивності анаболічних процесів.

Активність ферментів в червоних м'язах вище, ніж у білих, що обумовлено різною функціональною активністю м'язових волокон та інтенсивністю окисно-відновних процесів.

Ключові слова: дегідрогенази циклу Кребса, м'язи, курчата-бройлери.

УДК 636.52/. 58.087:612.74:577.124

Приходченко В.А.*Харьковская государственная зооветеринарная академия,
Харьков, Украина***ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ
ФЕРМЕНТОВ ЦИКЛА КРЕБСА В МИТОХОНДРИЯХ МЫШЦ ЦЫПЛЯТ-
БРОЙЛЕРОВ**

Исследованы возрастные изменения активности дегидрогеназ цикла Кребса (α-кетоглутаратдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы) в митохондриях белых и красных мышц цыплят-бройлеров в процессе развития до 45-дневного возраста.

В работе установлено, что в процессе развития бройлеров активность ферментов ЦТК постепенно снижается. Это может быть связано с интенсивностью прироста массы и снижением интенсивности анаболических процессов.

Активность ферментов в красных мышцах выше, чем в белых, что обусловлено разной функциональной активностью мышечных волокон и интенсивностью окислительно-восстановительных процессов.

Ключевые слова: дегидрогеназы цикла Кребса, мышцы, цыплята-бройлери.

UDC 636.52/. 58.087:612.74:577.124

Prikhodchenko V.A.*Kharkov State Veterinary Academy, Kharkov, Ukraine***ONTOGENETIC CHANGES THE CYCLE KREBS
DEHYDROGENASES ACTIVITY IN MITOCHONDRIA MUSCLE BROILER
CHICKENS**

The growth changes in activity of the mitochondria dehydrogenases (α -ketoglutaratdehydrogenases, suktsinatdehydrogenases, malatdehydrogenases) in the white and red chicken muscles in process of development up to 45 day have been studied.

It has been found that activity of the enzymes goes down gradually in process of development of the broilers. It can be related to decrease of anabolism intensity and weight gain.

Activity of the enzymes in the red muscles is higher, than in the white muscles.

Key words: *dehydrogenases of Krebs cycle, muscles, broilers.*

Вступ. Енергетичний обмін є одною із ключових ланок метаболізму в організмі та особливо в м'язовій тканині. З'ясування онтогенетичних особливостей біоенергетики у тварин і птиці є актуальним питанням біохімії. Особливе практичне значення ця проблема має для сільського господарства, а саме для однієї з прогресивних у наш час галузі тваринництва – птахівництва. Енергетичний метаболізм у сільськогосподарської птиці вивчається вже досить тривалий час і деякі успіхи досягнуті при дослідженні видових та вікових особливостей біоенергетики [1,2,3,4]. Також встановлені різноманітні зв'язки продуктивності з енергетичними процесами в органах і тканинах, але досі не існує цілісного уявлення про становлення, розвиток і згасання енергетичних реакцій.

Мета досліджень. Приймаючи до уваги, що зниження продуктивності птахів супроводжується зменшенням рівню окиснювально-відновних процесів у тканинах і органах [4], було доцільним виявити особливості зміни активності дегідрогеназ циклу Кребса м'язів бройлерів в процесі розвитку.

Об'єкт і методи дослідження. Досліди проводили на бройлерах кросу „Кобб-500”. Умови утримання, годівлі птиці та технологічні вимоги відповідали нормам та рекомендаціям УНДП [5]. Забої птиці для біохімічних досліджень проводили на 9, 25, 35, 45 добу.

Вивчали динаміку активності дегідрогеназ циклу Кребса в процесі розвитку, а саме: α -кетоглутаратдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази та малатдегідрогенази.

Об'єктом вивчення активності ферментів в даній роботі служили мітохондрії білих (літальних) та червоних (стегових) м'язів, виділених методом диференційного центрифугування у середовищі, що містить 5 Ммоль $MgCl_2$; 50 Ммоль трис- HCl ; 100 Ммоль KCl ; 1 Ммоль ЕДТА.

Активність ферментів визначали по методу Путіліної та Єщенко [6], з деякими модифікаціями.

Визначення активності дегідрогеназ полягає в тому, що при додаванні в реакційне середовище субстратів окиснення – сукцинату, α -кетоглутарату, малату і активаторів ферментів (іони Mg^{2+} , Mn^{2+}) відбувається окиснення названих субстратів шляхом зміни окиснювально-відновного потенціалу в мітохондріях, що в свою чергу змінює забарвлення специфічного барвника – тетразолія синього (ТС). Останній перетворюється на водонерозчинний луг, що розчиняється в ацетоні. В систему додають феназинметасульфат, який діє як проміжний переносник електронів між дегідрогеназою і тетразолієм.

Виклад основного матеріалу. Усі процеси, що лежать в основі м'язового скорочення та розслаблення залежать від надходження енергії. Її джерелом є АТФ, яка утворюється у результаті дегідрогеназних реакцій за рахунок тканинного дихання.

Аналізуючи дані, показані на рисунку 1, слід відмітити, що активність α -кетоглутаратдегідрогенази (α -КГДГ) циклу Кребса була найвищою в 9-добовому віці, як у червоних так і в білих м'язах і складала 94,5 і 87,7 нмоль ТС \times мг білка $^{-1}\times$ хв $^{-1}$ відповідно.

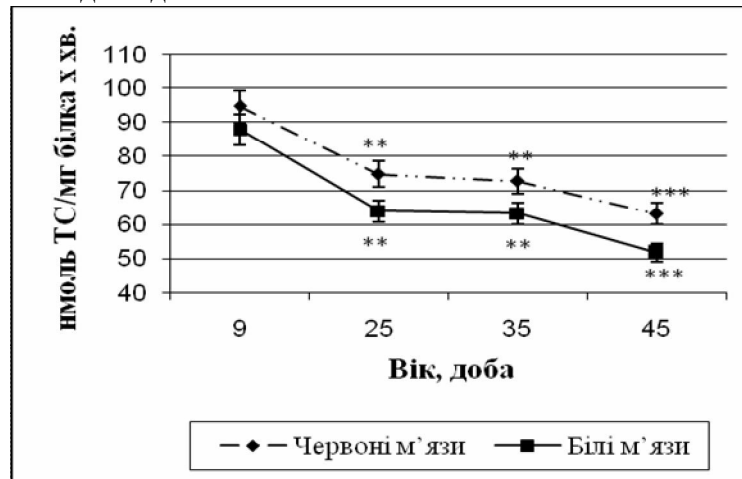


Рис. 1. Динаміка активності α -кетоглутаратдегідрогенази в мітохондріях м'язів курчат-бройлерів в процесі розвитку

У наступні вікові періоди спостерігалось поступове зниження активності досліджуваного ферменту в тканинах, що вивчалися, до 45 доби включно. Порівняно з 9 добою вирощування активність ферменту була нижчою на 33,3 % у червоних м'язах та на 41,0 % в білих.

За результатами вище наведених даних можна припустити, що вміст субстратів у м'язовій тканині змінюється залежно від віку птиці. З віком знижується споживання кисню м'язом, на що вказує зменшення активності ферментів циклу Кребса.

Наростаючі гіпоксичні зміни, що призводять до підвищення швидкості анаеробного гліколізу, ведуть за собою зменшення активності дегідрогеназ, що

пов'язано зі зменшенням рівня коферментних форм вітамінів в організмі в процесі розвитку. Ці результати можуть бути пов'язані з більшою активністю вітамін-метаболізуючих систем у молодих тварин [7].

Енергетичний обмін у м'язах характеризується високою інтенсивністю продукції і утилізації енергії. Одними з ключових ферментів циклу Кребса є α -кетоглутаратдегідрогеназа (α -КГДГ) та сукцинатдегідрогеназа (СДГ). Останніми роками в літературі з'явився ряд публікацій, в яких розглядається інтенсифікація аеробного етапу енергетичного обміну з підвищенням активності ферментів циклу трикарбонових кислот [8,9], тому вивчення зміни активності даних ферментів у різні періоди вирощування курчат-бройлерів є перспективним.

Активність СДГ показана на рисунку 2.

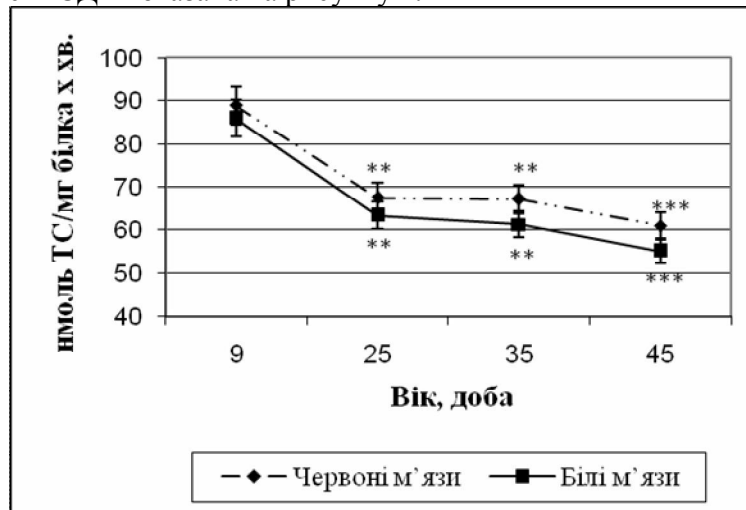


Рис.2. Динаміка активності сукцинатдегідрогенази в мітохондріях м'язів курчат-бройлерів в процесі розвитку

Аналізуючи дані, слід відмітити, що активність СДГ у процесі вирощування бройлерів має таку ж направленість, що і α -КГДГ. Активність є найвищою в обох тканинах у 9-добовому віці курчат. Потім спостерігається зниження активності ферменту до кінця вирощування птиці. На 45-ту добу розвитку активність СДГ у червоних м'язах складала $61,0 \text{ нмоль ТС} \times \text{мг білка}^{-1} \times \text{хв}^{-1}$, а в білих м'язах $55,2 \text{ нмоль ТС} \times \text{мг білка}^{-1} \times \text{хв}^{-1}$. Активність ферменту була вищою в червоних м'язах, ніж у білих на 9,5 %, що обумовлено генетично. Порівняно з 9 добою вирощування активність СДГ в кінці досліду (45 діб) була нижчою на 45,6 % у червоних м'язах та на 35,7 % у білих.

За даними автора [3,9], гіпоксія тканин супроводжується гальмуванням деяких НАД-залежних дегідрогеназних реакцій з активацією окиснення в мітохондріях м'язів, у тому числі СДГ-азного комплексу з наступним його інгібуванням. Це відбувається внаслідок стійкого зниження в крові рівня ендогенних попередників сукцинату, таких як глутамат та α -кетоглутарат, що корелює зі зниженням вмісту глюкози.

Високий рівень глюкози в крові дорослих тварин обумовлений послабленням здатності печінки затримувати цей моносахарид. З віком відмічається підвищена активність флавінових окиснювальних ферментів у мітохондріях м'язів, серця, печінки [8].

Динаміка активності МДГ під час досліджень показана на рисунку 3. Найвищою активність МДГ була на 9-ту добу експерименту. Потім спостерігалось вірогідне зниження активності досліджуваного ферменту до 45-добового віку на 42,3 % в червоних м'язах і на 47,0 % в білих. Активність ферменту на цей період розвитку відповідно складала 3,9 нмоль ТС×мг білка⁻¹×хв⁻¹ та 2,6 нмоль ТС×мг білка⁻¹×хв⁻¹. Ферментна активність наприкінці вирощування курчат була на 49,0 % вищою в червоних м'язах ніж у білих.

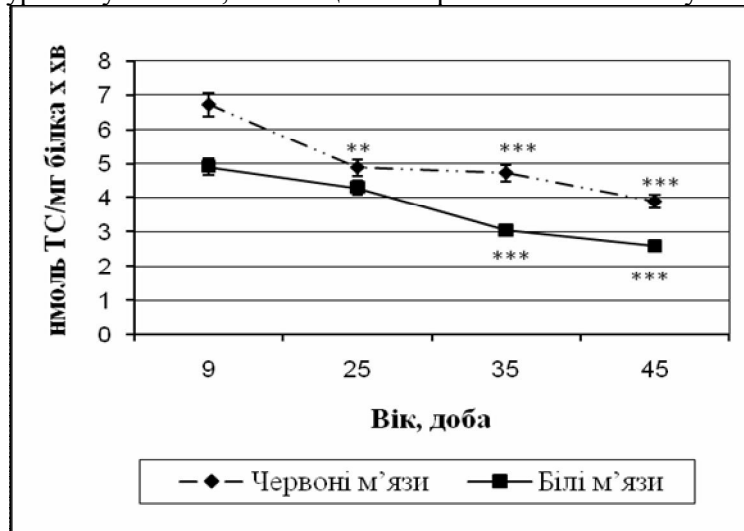


Рис. 3. Динаміка активності малатдегідрогенази в мітохондріях м'язів курчат-бройлерів в процесі розвитку

Показники активності МДГ на всіх етапах наших досліджень були нижчими ніж показники α -КГДГ та СДГ.

Таким чином, ферментна активність дегідрогеназ циклу трикарбонових кислот у м'язах курчат-бройлерів була високою протягом перших днів життя, що співпадає з даними інших авторів [1,2,4], які спостерігали аналогічну закономірність і пояснювали це наявністю певного запасу ендогенних субстратів циклу трикарбонових кислот у ранньому постембріогенезі птиці. За нашими даними, характерним саме для курчат-бройлерів, є поступове вірогідне зниження активності дегідрогеназ ЦТК в мітохондріях білих та червоних м'язів у процесі розвитку птиці.

При інгібуванні реакцій циклу трикарбонових кислот зменшується енергія, що утворилася в процесі катаболізму. При порушенні нормального перебігу гліколітичних процесів організм позбавляється здатності адаптуватися до гіпоксії, що особливо відображається на функціонуванні м'язової тканини. Ослаблення гліколітичних процесів гальмує метаболічне використання вуглеводів, веде до гіперглікемії, перемикання біоенергетики на ліпідні і білкові

субстрати, до пригнічення циклу трикарбонових кислот у результаті нестачі оксало-оцтової кислоти [3].

Висновки.

1. В процесі розвитку бройлерів активність ферментів ЦТК поступово знижується. Це може бути пов'язано зі зниженням інтенсивності приросту маси, зниженням анаболічних процесів, що було показано раніше [1].

2. Активність ферментів в червоних м'язах вище, ніж в білих, що обумовлено різною функціональною активністю м'язових волокон і пов'язано з інтенсивністю окиснювально-відновних процесів.

Таким чином, встановлено закономірність змін активності дегідрогеназ циклу Кребса в мітохондріях м'язів бройлерів в процесі розвитку, що є важливим для розуміння молекулярних механізмів удосконалення енергетичного обміну у птиці. Перспективним є в подальших дослідженнях з'ясування особливостей функціонування ферментів дихального ланцюга мітохондрій бройлерів в процесі розвитку.

Література

1. Влияние биологически активных веществ на энергетический обмен у цыплят / В. А. Лукичева, Р. Х. Кармолиев, В. М. Севастьянова [та ін.] // Вопр. физ.-хим. Биологии в ветеринарии. – М., 1997. – С. 25-28.

2. Батоев Ц. Ж. Окислительная активность ферментов панкреатического сока домашней птицы в связи с возрастом / Ц. Ж. Батоев // Тр. Бурят. гос. с.-х. акад. – 1999. – Вып. 40, ч. 1. – С. 79–85.

3. Котляр А. В. Механизм функционирования сукцинатдегидрогеназы митохондрий: дис. ... канд. биол. наук : 03.00.04 / Алексей Васильевич Котляр – М.: МГУ, 1985. – 122 с.

4. Иванченко И. М. Активность некоторых ферментов тканевого дыхания и энергетические процессы в печени мясных кур и цыплят в связи с возрастом и факторами питания: дис.... канд. биол. наук : 03.00.04 / Ирина Михайловна Иванченко. – Х., 1994. – 175 с.

5. Каравашенко В. Ф. Рекомендації з нормування годівлі сільськогосподарської птиці / В. Ф. Каравашенко, Ю. М. Батюжевский, М. М. Лемешева. – Борки, 1998. – 111 с.

6. Кальницкий Б. Д. Методические указания по изучению минерального обмена у с.-х. животных / Б. Д. Кальницкий, С. Г. Кузнецов, А. П. Батаева. – Боровск, 1988. – 139 с.

7. Вальдман А. Р. Витамины в питании животных / А. Р. Вальдман, П. Ф. Сурай, И. А. Ионов. — Харьков, 1993. — 422 с.

8. Григоренко Е. В. Возрастная модуляция окисления янтарной кислоты / Е. В. Григоренко // Молекулярные и функциональные механизмы онтогенеза : Тез. докл. Всесоюз. симп. – Харьков, 1987. – С. 58–59.

9. Снитинский В. В. Изменение активности некоторых ферментов углеводного обмена в печени и скелетных мышцах свиней в онтогенезе / В. В. Снитинский, В. В. Данчук, О. М. Бучко // Укр. биохим. журнал. – 1998. – Т. 53, № 6. – С. 45–49.

Рецензент – д.вет.н., професор Гуфрій Д.Ф.