

МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ УКРАЇНИ  
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

# ВІСНИК

## БІЛОЦЕРКІВСЬКОГО ДЕРЖАВНОГО АГРАРНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

*Збірник наукових праць*

**Випуск 60**

Частина 1

Біла Церква

2009

## ВМІСТ ПРОДУКТІВ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У НИРКАХ ПЕРЕПЕЛІВ

Досліджено вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах нирок перепелів. Встановлено, що підтримуючи у нормі високу швидкість окислювальних процесів, клітина стає адаптованою, менш вразливою до дії зовнішніх факторів, що індукують АФК. Проведене дослідження дозволяє зробити висновок, що терапевтичне втручання має проводитися з урахуванням співвідношення рівня прооксидантів і антиоксидантів у організмі.

**Постановка проблеми.** Відповідь організму на умови зовнішнього середовища, що постійно змінюються, оснований на його здатності активувати потужні системи захисту з метою підтримки постійності структури і функції – гомеостазу та енантіостазу [1]. Окрім швидко реалізованої компенсаторної відповіді, за наявності сигналу, що перевищує миттєві захисні можливості клітини, процес подовжується у часі і йде іншими метаболічними шляхами з тією ж метою, що може бути досягнута на новому рівні функціонування, або зовсім не реалізуватися [3, 4, 11]. В останньому випадку розвивається та чи інша патологія, що в цілому можна охарактеризувати як неможливість досягнення метаболічного балансу [2, 7, 10].

Радикали, що потрапляють у клітини, атакують бокові ланцюги ненасичених жирних кислот із відщепленням переходять в органічні радикали Оксигену ( $\text{LOO}^{\bullet}$ ) – пероксильні радикали [3, 8]. Вони, у свою чергу, Гідрогену і утворенням ліпідного радикалу ( $\text{L}^{\bullet}$ ), які за присутності Оксигену забирають Гідроген від жирнокислотних ланцюгів фосфоліпідів з утворенням гідропероксидів ліпідів ( $\text{LOOH}$ ) [3, 4]. При цьому з'являються нові ліпідні радикали, які можуть вступати у реакційний цикл [2, 3, 11]. У результаті вільнорадикального окиснення жирнокислотних залишків фосфоліпідів утворюються продукти, які є джерелами різних біологічно активних сполук [2, 9]. Полієнові жирні ацили до вільнорадикального окиснення можуть бути попередньо відщеплені від фосфоліпідів за допомогою гідролізу їх фосфоліпазою. Тоді у результаті дії ліпоксигенази, у процесі окиснення жирних кислот утворюються лейкотрієни, тромбосани і простагліцини [3]. Під час окиснення жирнокислотних ацилів без відщеплення їх із складу фосфоліпідів утворюються дієнові кон'югати, гідропероксиди ліпідів, потім газоподібні продукти та карбонільні продукти типу альдегідів і, нарешті, шифові основи, тобто первинні, вторинні і кінцеві продукти пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [5].

Таким чином, **метою** нашого дослідження було встановити вміст продуктів ПОЛ у нирках перепелів, які є важливим органом виділення, що підтримують сталість внутрішнього середовища всього організму.

**Матеріал і методи досліджень.** Експериментальні дослідження проведені на перепелах породи фараон м'ясного напрямку продуктивності 1–70-добового віку, яких утримували в умовах віварію Білоцерківського НАУ. Умови годівлі та утримання птиці відповідали зоотехнічним нормам. Перепелам згодовували стандартний комбікорм. Для досліду було використано 100 голів птиці. Для проведення біохімічних досліджень використовували перепелів, починаючи від одностаттєвого до 70-денного віку з інтервалом у 10 днів. Органи відбирали одразу після декапітації птиці під легким етерним наркозом. Тканини подрібнювали в гомогенаторі Поттера-Ельвегейма з тефлоновим товчачиком. До 100 мг гомогенату нирок додавали 6 мл фізіологічного розчину. Отриману фракцію гомогенату центрифугували (3000 об/хв.). З метою дослідження інтенсивності процесів ліпопероксидації у гомогенатах нирок визначали вміст загальних ліпідів та продуктів ПОЛ: гідропероксидів ліпідів, ТБК-активних продуктів, дієнових кон'югатів, сполук із ізольованими подвійними зв'язками, кетодієнів та спряжених трієнів. Результати дослідження обробляли статистично з використанням t-критерію Стюдента.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Оптимальним субстратом процесів ПОЛ є ненасичені жирні кислоти, а безпосередньою мішенню атаки окиснювальних радикалів – подвійні зв'язки в молекулах цих кислот.

**Загальні ліпіди (ЗЛ).** Тканини нирок перепелів характеризуються високим вмістом загальних ліпідів (табл. 1), які є головним субстратом ПОЛ. Вміст ЗЛ у нирках перепелів протягом досліджуваного періоду коливається. Так, їх вміст підвищується у 10-денних пташенят у 2,12 рази ( $p < 0,001$ ), у 20-денних дещо знижується, переважаючи рівень добових пташенят у 1,42 рази

( $p < 0,05$ ). У 30- та 40-денної птиці рівень ЗЛ у нирках знову підвищується у 2,09 ( $p < 0,001$ ) і 2,53 ( $p < 0,001$ ) рази порівняно із 1-денним молодняком.

Максимальний рівень загальних ліпідів спостерігався у 70-денному віці птиці (у 2,76 рази,  $p < 0,001$ ), якому передувало деяке зниження рівня показника у 50- та 60-денної птиці (на 24,5 та 14,7 %) від попереднього строку дослідження ( $p < 0,05$  і  $p < 0,001$  відповідно).

Таблиця 1 – Вміст загальних ліпідів та продуктів ПОЛ у нирках перепелів, ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Вік, дні	Загальні ліпіди, мг/г	Гідропероксиди ліпідів, ум од/г	ТБК-активні продукти, ммоль/г
1	46,99±4,10	27,12±1,75	2,22±0,35
10	99,89±4,48***^^^	59,43±1,83***^^^	3,00±0,23
20	67,16±4,79*^^	46,16±2,09***^	3,85±0,16***^
30	98,56±2,06***^^^	49,70±1,60***	5,46±0,36***^^
40	119,24±10,46***	47,08±1,60***	7,18±0,52***^
50	90,05±4,35***^	59,65±2,39***^	5,61±0,42***^
60	76,87±3,11***^	62,19±3,80***	4,06±0,23***^
70	130,81±6,09***^^^	54,53±1,17***	4,17±0,59*

**Примітка.** тут і надалі різниця вірогідна: проти добової птиці при \* –  $p \leq 0,05$ ; \*\* –  $p \leq 0,01$ ; \*\*\* –  $p \leq 0,001$  та відносно попереднього віку при ^ –  $p \leq 0,05$ ; ^^ –  $p \leq 0,01$ ; ^^ –  $p \leq 0,001$ .

*Гідропероксиди ліпідів (ГПЛ).* Внаслідок високої концентрації Оксигену у клітинах зростає реакційна здатність ліпідних радикалів до перетворення на ліпопероксидні радикали, які у свою чергу реагують із новими молекулами поліненасичених жирних кислот із утворенням ліпідних гідропероксидів.

Вміст ГПЛ за перші 10 днів життя збільшується у 2,19 рази ( $p < 0,001$ ). Протягом наступних трьох декад розвитку знижується на 23 % порівняно із 10-денними пташенятами ( $p < 0,001$ ). У 50-денному віці вміст ГПЛ повертається до рівня 10-денної птиці і залишається на такому рівні до кінця експерименту, незначно змінюючись. Протягом всього експерименту вміст гідропероксидів ліпідів у нирках достовірно переважав вміст показника у молодій птиці ( $p < 0,001$ ).

*ТБК-активні продукти.* Вміст ТБК-активних продуктів найнижчий у гомогенатах нирок добових перепелят. З віком цей показник має тенденцію до зростання, достовірні коливання показника відзначаються, починаючи із 20-денного віку. До 40-денного віку вміст ТБК-активних продуктів зростав у 1,34–3,23 рази ( $p < 0,001$ ), виявивши на цьому етапі максимальний вміст. Після зниження вмісту ТБК-активних продуктів на 21,9% протягом 5-ї декади ( $p < 0,05$ ) і на 27,7% протягом 6-ї ( $p < 0,05$ ) порівняно з попереднім строком дослідження спостерігається незначне зростання вмісту наприкінці досліду (7-а декада ( $p < 0,05$ ) проти добових перепелят). Такі зміни можуть бути пояснені спряженістю процесів (хоча б на початкових етапах) і утилізацією ліпідів як субстрату дихання.

На сьогодні у клінічних та експериментальних дослідженнях велике значення приділяється спектрофотометричному визначенню таких молекулярних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), як дієнові кон'югати гідропероксидів, кетодієни і спряжені трієни [6]. Продукти ПОЛ, що містять карбонільні групи, здатні взаємодіяти з вільними аміногрупами різних речовин (фосфоліпідів, амінокислот, білків тощо) з утворенням сполук типу шифових основ. Остання група сполук є структурною основою ліпофусцинів (короїда), що являють собою неметаболізовані маркери дистрофічних процесів у клітині.

*Дієнові кон'югати (ДК).* Вміст продуктів ПОЛ найнижчий у нирках ододенних перепелів (табл. 2). У 10-денному віці вміст ДК збільшується у 2,5 рази ( $p < 0,001$ ) і залишається на цьому рівні з незначними коливаннями до кінця досліду. У цей час ПОЛ виконує важливу фізіологічну роль як фактор, що забезпечує можливість швидкої перебудови мембран відповідно до „програми вікового розвитку”. Гіпероксія тканин спричиняє окиснення ненасичених жирних кислот за місцем подвійних зв'язків з утворенням молекул із спряженнями подвійними зв'язками – дієнових кон'югатів [1, 7].

Таблиця 2 – Вміст продуктів ПОЛ у нирках перепелів ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Вік, дні	Сполуки з ізольованими подвійними зв'язками, ум.од/г	Дієнові кон'югати, ум.од/г	Кетодієни та спряжені трієни, ум.од/г
1	5,15±0,57	13,51±1,01	6,94±0,67
10	10,21±0,34***^^^	33,65±2,20***^^^	12,52±1,39***^
20	11,59±1,14***	33,63±2,13***	17,28±1,52***^
30	11,66±1,25**	32,30±1,55***	17,19±1,48***

40	11,57±0,96***	30,76±2,18***	17,21±1,55***
50	12,93±1,12***	33,76±2,28***	19,64±2,08***
60	13,65±1,32***	35,34±2,28***	16,16±1,32***
70	12,75±1,26***	33,54±2,20***	17,24±1,57***

*Кетодієни і спряжені трієни (КіСТ).* Вміст КіСТ має тенденцію до зростання. Так, протягом першої та другої декад їх кількість збільшилась на 80 ( $p<0,01$ ) і 148% ( $p<0,001$ ) відносно добової птиці. До 40-го дня вміст КіСТ не змінювався. 5-а декада характеризувалася максимальним показником (збільшення у 2,82 рази порівняно із добовим молодняком,  $p<0,001$ ), після чого на 6-й декаді відбулось зниження показника на 17,7 % (порівняно з максимумом). Рівень показника у 70-денному віці відновився (збільшення на 6 % відносно 60-денного), зрівнявшись із рівнем 2–4 декад.

*Сполуки з ізольованими подвійними зв'язками (СЗП).* Динаміка вмісту СЗП подібна до динаміки вмісту КіСТ. Збільшившись у 1,98 ( $p<0,01$ ) і 2,24 ( $p<0,001$ ) рази протягом 1-ї та 2-ї декад, вміст СЗП залишався з незначними коливаннями на рівні 2-ї декади до 40-го дня. Після цього спостерігали підвищення рівня показника на 26,33 і 40,32 % ( $p<0,001$ ) відносно добової птиці у 50- та 60-денному віці відповідно і незначне зниження вмісту СЗП у 70-денному віці на 6,6 % відносно 6-ї декади.

Утворення дієнових кон'югатів та гідропероксидів ліпідів у мембранах клітин сприяє формуванню в гідрофобному ліпідному бішарі гідрофільних кластерів, у які може проникати вода та низькомолекулярні комплекси Феруму ( $Fe^{2+}$ ), що призводить до "розпушення" мембран й індукції процесів ПОЛ [10, 11]. Особливість перебігу ланцюгового окиснення у біологічних мембранах полягає в тому, що воно не відбувається за відсутності металів змінної валентності.

У перепелів на фоні майже незмінного вмісту сполук з ізольованими подвійними зв'язкам (субстратів ПОЛ) відбувалася стимуляція ПОЛ з накопиченням дієнових кон'югатів, кетодієнів і спряжених трієнів та загальних гідропероксидів ліпідів. Підвищення рівня гідропероксидів ліпідів відбувається як внаслідок активації процесів вільнорадикального окиснення ліпідів, так і індукції ліпоксигеназного шляху окиснення арахідонової кислоти, продуктом якого є гідроперокси [2]. Відомо, що для активації ліпоксигенази необхідна незначна кількість гідропероксидів [8]. Збільшення концентрації гідропероксидів ліпідів за рахунок посилення пероксидних процесів спричинює активацію ліпоксигенази і збільшення кількості лейкотрієнів. Зменшення кількості трієнових сполук відбувається, можливо, за рахунок подальшого збільшення вмісту гідропероксидів, які діють як інгібітори ліпоксигенази за їх високої концентрації. У результаті пероксидації ліпідів утворюються сполуки, які відіграють важливу роль у сигнальній трансдукції, пов'язаній з регуляцією структури та функцій біомембран, регуляції метаболізму арахідонової кислоти [4].

Існує думка, що зниження вмісту продуктів ПОЛ є несприятливою прогностичною ознакою, оскільки вона відображає тенденцію до розвитку декомпенсованих процесів, а також тому, що продукти ПОЛ за різких змін їхньої концентрації в біологічних рідинах і тканинах можуть ініціювати низку адаптаційних метаболічних перетворень [3, 9].

#### **Висновки і перспективи подальших досліджень**

1. Встановлено, що нирки перепелів характеризуються високим вмістом загальних ліпідів, який протягом досліджуваного періоду достовірно змінюється як відносно вмісту у добових пташенят, так і щодо попередніх вікових груп.

2. Нирки одноденних перепелів характеризуються низьким вмістом усіх досліджуваних проміжних продуктів ПОЛ, що становлять мінімальне значення протягом всього експерименту. Проте вже у 10-денної птиці вміст продуктів ПОЛ (за винятком ТБК-активних продуктів) достовірно збільшується і зазнає вірогідних змін із віком.

3. У подальшому планується проведення досліджень щодо встановлення вмісту продуктів ПОЛ у нирках перепелів за умов впливу важких металів, зокрема кадмію, та корекції патологічних станів сполуками селену.

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Абрамова Ж.И., Оксенгендлер Г.И. Человек и противокислительные вещества. – Л.: Наука, 1985. – 230 с.
2. Афонина А.Б., Куянов Л.А. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ. – К.: НМУ, 2000. – 287 с.
3. Барабой В.А. Биоантиоксиданты. – К.: Книга плюс, 2006. – 462 с.
4. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К.: Наукова думка, 1997. – 419 с.
5. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. – М.: Медицина, 1989. – 398 с.

6. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопросы мед. химии. – 1989, № 6. – С.127–131.
7. Гонський Я.І, Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 744 с.
8. Дубініна О.Ю. Окислювальний стрес і окислювальна модифікація білків // Мед. хімія. – 2001. – Т.3, № 2. – С. 5–12.
9. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – № 3. – С. 2–18.
10. Evaluation of zinc against salinomycin toxicity in broilers / K. Kamashi, A.G. Reddy, K.S. Reddy, V.R. Reddy // Indian J. Physiol. Pharmacol. – 2004. – 48(1). – P. 89–95.
11. Stohs S., Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions // Free Radic. Biol. Med. – 1995. – V.18, № 2. – P. 321–336.

#### **Содержание продуктов перекисного окисления липидов в почках перепелов**

**О.С. Цехмистренко, А.И. Кононский**

Исследовано содержание продуктов пероксидного окисления липидов в тканях почек перепелов. Установлено, что, поддерживая в норме высокую скорость окислительных процессов, клетка становится адаптированной, менее чувствительной к действию внешних факторов, которые индуцируют активные формы кислорода. Проведенное исследование позволяет сделать вывод, что терапевтическое вмешательство должно проводиться с учетом соотношения уровня прооксидантов и антиоксидантов в организме.

#### **Lipid peroxidation products influence in quails kidney**

**O. Tsekhmistrenko, A. Kononski**

Lipid peroxidation products content in kidney's tissues is studied. It's shown, that cells, which supports high speed of peroxidation processes as norm, becomes adopted and less sensitive for factors, which formed active forms of oxygen. Our research let make a conclusion, that therapy intervene must be done, using relation levels between prooxidants and antioxidants in organism.