

УДК:577.158:636.52/.58:612.35:612.015.6

Костюк І. О.¹, к. с-г. н., в.о. доцента © (inna_kostyuk@live.ru)**Іонов І. А.**, д. с-г. н., член-кор. НААН,

Інститут тваринництва НААН України, м. Харків

Жукова І. О.¹, д. вет. н., зав. каф. нормальної та патологічної фізіології,¹Харківська державна зооветеринарна академія

ОСОБЛИВОСТІ БІОЛОГІЧНОГО ОКИСНЕННЯ В ПЕЧІНЦІ КУРЧАТ ПІД ВПЛИВОМ ВИСОКИХ ДОЗ ВІТАМІНІВ А І Е В РАЦІОНІ КУРЕЙ

Представлено результати дослідження процесів тканинного дихання і окиснювального фосфорилування в печінці курчат за умов збагачення раціону курей вітамінами А і Е. Наведено дані щодо накопичення цих вітамінів у яєчному жовтку і організмі отриманих курчат, а також змін процесів біологічного окиснення у потомства.

Ключові слова: біологічне окиснення, вітамін А, вітамін Е, курчата, мітохондрії, окиснювальне фосфорилування, печінка, тканинне дихання.

Вступ. Жиророзчинні вітаміни А і Е здатні до накопичення в значних кількостях в організмі птиці [1; 2]. Короткочасне застосування підвищених доз вітамінів А і Е на початку продуктивного періоду сприяє створенню запасів цих вітамінів в печінці курей-несучок, забезпечує підвищення продуктивних та відтворювальних здатностей птиці, поліпшення якості яєчної продукції.

Відомо, що вітамін Е переходить з яєчного жовтка в ембріональні тканини відповідно до його концентрації в жовтку [3]. Добавки вітамінів А і Е в раціонах птиці широко застосовують з метою профілактики гіповітамінозів [4]. У зв'язку з цим, актуальним є вивчення дії цих мембранотропних речовин, вітаміну А (ретинолу) і вітаміну Е (альфа-токоферолу) на процеси тканинного дихання і окиснювального фосфорилування [5; 6; 7]. Практичний інтерес становить дослідження енергетичних процесів в печінці потомства залежно від споживання вітамінів А і Е курками-несучками.

Методика і методи. Експерименти проводили на курках породи род-айленд віком 180, 220 і 330 днів курчатах 1-, 6- та 10-добового віку. Птицю утримували у виробничих умовах дослідного господарства Інституту птахівництва НААН. В раціон курей маточного поголів'я додатково вводили вітаміни А і Е (ретинілпальмітат і токоферилацетат), в кількості, яка перевищує рекомендовані дози [8; 9] у 10, 20, 40 разів. Перша група курей була контрольною, добавка вітаміну А – 10 тис.МО/кг корму, вітаміну Е – 10 мг/кг.

В період інтенсивної яйцекладки, у віці курей 220 днів, проводили відбір яєць для інкубації. Було сформовано сім груп курчат, одержаних від експериментального поголів'я курей-несучок, які споживали вітамінізований корм впродовж 35 днів.

Проводили полярографічні дослідження тканинного дихання в мітохондріях печінки, які одержували методом диференційного

центрифугування у середовищі, що містить: сахарозу (0,25 М), трис-НСL (5 мМ), ЕДТА (1 мМ), при рН=7,2. Сукцинат і 2-оксоглутарат використовували як субстрати окиснення, а 2,4-динітрофенол – як роз'єднувач процесів дихання і фосфорилування. Швидкість поглинання кисню визначали за допомогою закритого кисневого електрода Кларка. Розраховували швидкості дихання (V_2 , V_3 , V_4 , $V_{\text{днф}}$) інтенсивність фосфорилування (ІФ), коефіцієнт дихального контролю за Ларді (ДК) та ефективність фосфорилування АДФ/О [10].

Визначали показники дихання та окиснювального фосфорилування в мітохондріях печінки курчат, порівнюючи їх з динамікою накопичення ретинолу і α -токоферолу в яєчному жовтку і печінці. Концентрацію вітамінів А і Е в печінці та яєчному жовтку визначали методом ТШХ [10; 11].

Результати дослідження. В ході експерименту встановлене підвищення концентрації вітамінів А і Е в жовтку при додатковому введенні в раціон препаратів ретинолу (100 і 400 тис. МО/кг корма) і альфа-токоферолу (100 і 200 мг/кг), що узгоджується з даними літератури про вплив забезпеченості організму птиці вітамінами А і Е на їх вміст в жовтку [12; 13].

На початку досліду до застосування добавок в раціонах курей-несучок концентрація вітамінів А і Е в яєчному жовтку складала 7,0 мкг/г і 66,4 мкг/г, відповідно. Пік концентрації вітамінів А і Е в яєчному жовтку в групах курей, які отримували добавки цих вітамінів, встановлено на 35-й день досліду. Так, у цей період концентрація вітаміну Е в жовтку, при застосуванні 10-кратної дози (100 мг/кг корму), перевищувала контроль більше ніж у 7 разів (табл. 1.).

Таблиця 1

Вплив споживання вітамінів А і Е курками-несучками на вміст цих вітамінів в яєчному жовтку і печінці курчат, $M \pm m$, (n=15)

Групи	Добавка вітамінів до раціону курей		Концентрація вітамінів в яєчному жовтку		Концентрація вітамінів в печінці добових курчат	
	А, тис.МО/кг	Е, мг/кг	А, мкг/г	Е, мкг/г	А, мкг/г	Е, мкг/г
1	10	10	7,01 $\pm 0,92$	80,82 $\pm 7,55$	31,10 $\pm 0,92$	253,11 $\pm 5,04$
2	0	10	4,05 $\pm 0,33^*$	92,03 $\pm 8,39$	14,90 $\pm 2,13^*$	245,30 $\pm 4,40$
3	100	10	20,51 $\pm 1,56^{**}$	50,40 $\pm 4,25^*$	64,01 $\pm 3,20^*$	155,72 $\pm 14,51^{**}$
4	400	10	85,02 $\pm 6,44^{**}$	24,81 $\pm 1,36^{**}$	200,5 $\pm 4,61^{**}$	94,60 $\pm 9,17^*$
5	10	0	8,00 $\pm 1,83$	64,80 $\pm 3,42$	34,09 $\pm 4,32$	233,31 $\pm 18,04^*$
6	10	100	11,01 $\pm 1,07^{**}$	600,03 $\pm 45,98^{**}$	29,81 $\pm 2,31^*$	860,00 $\pm 46,32^{**}$
7	10	200	10,63 $\pm 0,98$	1016,00 $\pm 103,86^*$	32,42 $\pm 0,70$	4730,02 $\pm 276,26^{**}$

Примітка. *- $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ - різниця достовірна порівняно з показниками 1-ї групи.

Концентрація вітаміну А збільшувалась в печінці добових курчат при високому вмісті вітаміну А в раціоні курей-несучок, але концентрація вітаміну Е значно знижувалась за таких умов. Це узгоджується з даними щодо

негативного впливу вітаміну А на депонування вітаміну Е і зниження антиоксидантного статусу потомства при його значному споживанні птицею [14]. В результаті даного експерименту встановлено, що найбільше концентрація вітаміну А в печінці добових курчат підвищується в 6,4 раза при застосуванні 40-кратної його дози в раціоні курей-несучок 4-ї групи. Концентрація вітаміну Е в печінці курчат підвищується в 18,6 разів при застосуванні 20-кратної дози вітаміну Е в раціоні курей 7-ї групи.

В табл. 2 показані швидкості окиснення субстратів у мітохондріях печінки добових курчат.

Таблиця 2

Вплив споживання вітамінів А і Е курками-несучками на дихальну активність мітохондрій печінки добових курчат, $M \pm m$, (n=5)

Показники окиснення субстратів	Групи курчат						
	1	2	3	4	5	6	7
Окиснення 2-оксоглутарату							
V_2 , нмоль O_2 /хв×мг	17,15 ±0,60	5,74 ±0,14	26,71 ±0,01*	7,35 ±0,24	9,20 ±0,52	16,21 ±0,03	16,08 ±0,02
V_3 , нмоль O_2 /хв×мг	41,93 ±1,73	28,69 ±3,75	46,45 ±1,44*	14,69 ±0,07	25,59 ±1,49	41,28 ±1,23	22,74 ±1,37
V_4 , нмоль O_2 /хв×мг	25,88 ±0,28	18,65 ±0,29	34,84 ±4,43	11,02 ±0,99	9,88 ±0,15*	21,41 ±2,03	13,87 ±2,04
$V_{диф}$, нмоль O_2 /хв×мг	39,04 ±0,26	22,48 ±2,87	65,03 ±0,84*	25,72 ±2,05	14,02 ±2,17	20,86 ±3,07	29,40 ±0,79
ДК за Ларді (V_3/V_2)	2,44 ±0,03	5,01 ±0,30*	1,74 ±0,15**	2,00 ±0,10*	2,78 ±0,09	2,55 ±0,09	1,41 ±0,06*
Окиснення сукцинату							
V_2 , нмоль O_2 /хв×мг	23,03 ±3,21	10,52 ±0,03*	8,71 ±0,72*	19,69 ±0,44	13,65 ±0,32	16,60 ±0,20	23,16 ±0,02
V_3 , нмоль O_2 /хв×мг	59,86 ±5,14	47,83 ±1,05	13,94 ±0,07*	49,36 ±2,79	48,89 ±1,48	57,18 ±0,61	89,47 ±0,67*
V_4 , нмоль O_2 /хв×мг	32,89 ±2,19	30,61 ±1,29	11,10 ±6,08	26,51 ±0,78	16,51 ±0,11*	21,52 ±0,10*	78,95 ±1,01*
$V_{диф}$, нмоль O_2 /хв×мг	64,50 ±2,85	78,91 ±2,17	44,71 ±2,16	62,47 ±0,54*	31,46 ±3,50	42,73 ±0,13	98,48 ±4,33
ДК за Ларді (V_3/V_2)	2,60 ±0,35	4,55 ±0,44*	1,60 ±0,14**	2,51 ±0,19*	3,58 ±0,03	3,46 ±0,05	3,86 ±0,06

Примітка. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ - різниця достовірна порівняно з показниками 1-ї групи.

Отже, при окисненні 2-оксоглутарату мітохондріями печінки швидкість V_2 значно підвищувалася, на 36,8 %, в 3-й групі курчат, при споживанні курами вітаміну А в дозі 100 тис. МО/кг. Це відображає стимулюючий вплив вітаміну А на дихальну активність мітохондрій печінки курчат. Концентрація вітаміну А в печінці курчат цієї групи була на 105,8 % ($p < 0,05$) вищою за контрольний

показник, а концентрація вітаміну Е навпаки - знижувалась на 48,5 %. За цих умов у курчат 3-ї групи підвищувалася швидкість окиснення 2-оксоглутарату порівняно з контролем у всіх метаболічних станах мітохондрій, але знижувався ДК за Ларді, що характеризує посилення вільного окиснення в печінці курчат під дією вітаміну А. Найнижчі показники V_2 , V_3 і V_4 при окисненні 2-оксоглутарату відмічені у курчат 4-ї групи, на фоні найвищої, в даному досліді, концентрації вітаміну А і низької концентрації вітаміну Е в печінці курчат добового віку. Слід зазначити, що зниження інтенсивності окиснення 2-оксоглутарату мітохондріями печінки курчат 4-ї групи супроводжувалось роз'єднанням процесів дихання і окиснювального фосфорилування, що виявляється зниженням ДК.

У курчат 7-ї групи вміст вітаміну Е в печінці був максимальним в даному досліді, але інтенсивність окиснення 2-оксоглутарату знижувалася у всіх метаболічних станах мітохондрій, що супроводжувалося зменшенням ДК за Ларді на 42,4 % ($p < 0,05$).

Протилежні зміни дихальної активності відбувались при окисненні сукцинату у курчат 7-ї групи при найвищій концентрації вітаміну Е в печінці. Так, швидкість V_3 перевищувала показник контрольної групи на 49,5 % ($p < 0,05$), а швидкість V_4 збільшувалася в 2,4 рази.

Важливо відзначити, що в 7-й групі швидкість окиснення в роз'єднаному стані, $V_{\text{днф}}$, була найвищою в даному досліді, при цьому ДК за Ларді збільшувався на 48,5 %. Показник ДК за Ларді відображає реакцію мітохондрій на екзогенний АДФ і, ймовірно, необхідність в АТФ.

У віці 10 днів у 4-й і 7-й групах відбувалось зниження інтенсивності окиснення мітохондріями 2-оксоглутарату і сукцинату (рис.1., рис.2.), тобто у віці 10 днів швидкості окиснення сукцинату були нижчі, ніж в 6-денному віці і наближалися до показників добового віку.

У віці 6 і 10 днів у курчат 4-ї групи (доза вітаміну А в раціоні курей – 400 тис. МО/кг) збільшувались швидкості окиснення 2-оксоглутарату мітохондріями печінки в різних метаболічних станах. Особливо слід зазначити, що у цих курчат швидкість окиснення в роз'єднаному стані $V_{\text{днф}}$ підвищувалася в 6-денному віці на 97,2 % порівняно з показником у віці 1 доба, а в 10 днів – зростала більше ніж у 3 рази. Подібні зміни були відмічені при окисненні сукцинату мітохондріями печінки курчат 4-ї групи. Проте в 10-денному віці значно зростали швидкості окиснення V_4 і $V_{\text{днф}}$, порівняно з показниками в добовому віці. Отже, у курчат 4-ї групи протягом перших 10 днів життя під дією вітаміну А відбувалося посилення вільного окиснення субстратів тканинного дихання в печінці.

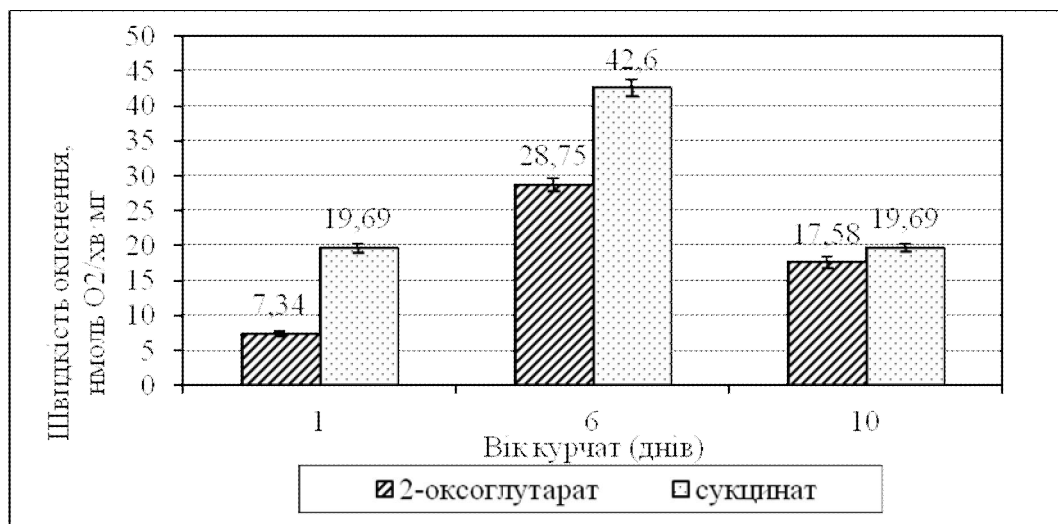


Рис. 1. Динаміка швидкості окиснення субстратів (V_2) в печінці курчат 4-ї групи (доза вітаміну А в раціоні курей – 400 тис. МО/кг)



Рис. 2. Динаміка швидкості окиснення субстратів (V_2) в печінці курчат 7-ї групи (доза вітаміну Е в раціоні курей - 200 мг/кг)

У курчат 7-ї групи при окисненні сукцинату в 10-денному віці на графіку поглинання кисню не зареєстровано "точку вичерпання АДФ", тобто не було відмічено чіткого переходу у відрегульований стан мітохондрій *in vitro*, що є показником роз'єднання реакцій дихання і синтезу АТФ.

Ефективність окиснювального фосфорилування, АДФ/О, також змінювалася у зв'язку з різною концентрацією вітамінів А і Е в печінці курчат добового віку (рис. 3).



Рис. 3. Ефективність фосфорилування в мітохондріях печінки добових курчат

При окисненні 2-оксоглутарату значні зміни відмічені в 4-й і 7-й групах курчат. Так в 4-й групі курчат при збільшенні концентрації вітаміну А в печінці в 6,4 рази, показник АДФ/О знижувався порівняно з контролем на 47,1 % ($p < 0,05$).

Інтенсивність фосфорилування (ІФ) при окисненні 2-оксоглутарату в печінці курчат добового віку змінювалася подібно показнику АДФ/О у всіх досліджуваних групах, тобто при зниженні АДФ/О знижувалася і інтенсивність фосфорилування.

В цілому, у курчат добового віку встановлено, що при підвищеному вмісті вітаміну А в їх печінці, в результаті застосування курям-несучкам добавки ретинілпальмітату – 400 тис. МО/кг корма, знижуються показники АДФ/О і ІФ. Вплив вітаміну Е при високому накопиченні його в печінці курчат здійснюється в підвищенні інтенсивності і ефективності процесів окиснювального фосфорилування при окисненні 2-оксоглутарату і зниженні АДФ/О при окисненні сукцинату.

У віці курчат 6 і 10 днів показник АДФ/О змінювався залежно від субстрату, що окислюється. Так, при окисненні 2-оксоглутарату в 6-денному віці АДФ/О значно знижувався в 7-й групі, на 46,4 %, порівняно з цим показником в добовому віці. Надалі, до 10-денного віку у курчат 7-ї групи встановлено порушення «вичерпання АДФ» і, у зв'язку з цим, показники АДФ/О і ІФ не визначені. При окисненні сукцинату мітохондріями печінки у курчат 7-ї групи не встановлено значних змін у віці 6 і 10 днів. Отже, підвищення концентрації вітаміну Е в печінці добових курчат 7-ї групи, призводить до роз'єднання процесів дихання і окиснювального фосфорилування, а також - до порушення синтезу АТФ при окисненні 2-оксоглутарату в 6-10-денному віці.

У курчат 4-ї групи АДФ/О і ІФ при окисненні 2-оксоглутарату і сукцинату збільшувалися у віці 6 днів порівняно з цими показниками в добовому віці, а

потім знижувалися у віці 10 днів. Слід зазначити, що у курчат 4-ї групи АДФ/О і ІФ при окисненні 2-оксоглутарату навіть у віці 10 днів були нижчими ніж показники добових курчат контрольної групи. Вірогідно, що це відображає несприятливі зміни в процесах окиснювального фосфорилування в печінці курчат на початку їх росту, які виникають під впливом високої концентрації вітаміну А при зниженні концентрації вітаміну Е більше ніж у два рази.

На підставі результатів даного експерименту можна зробити підсумок, що вміст вітамінів А і Е в раціоні курей-несучок впливає на концентрацію цих вітамінів в яєчному в жовтку і в печінці курчат добового віку, одержаних від цього поголів'я птиці. У зв'язку з різним вмістом вітамінів А і Е в печінці курчат змінюються інтенсивність тканинного дихання та ступінь сполучення реакцій дихання і окиснювального фосфорилування. Під впливом вітаміну А у курчат знижуються показники синтезу АТФ та активізуються процеси вільного окиснення і сукцинату, і 2-оксоглутарату. За накопичення вітаміну Е переважає окиснення мітохондріями печінки сукцинату, ФАД-залежного енергетичного субстрату, та порушується використання 2-оксоглутарату НАД-залежного субстрату тканинного дихання.

Висновки:

1. Збагачення раціону курей вітаміном А в дозах 100 і 400 тис. МО/кг корма і вітаміном Е (100 і 200 мг/кг) призводить до значного підвищення концентрації цих вітамінів в яєчному жовтку та в печінці отриманих курчат.

2. Найбільші зміни інтенсивності окиснення субстратів мітохондріями печінки курчат під впливом депонованих вітамінів А і Е відбуваються в 6-денному віці. Ймовірно, це пов'язано з формуванням адаптаційних механізмів регуляції енергетичного обміну у курчат на початку постнатального онтогенезу.

3. Накопичення вітамінів А і Е в печінці курчат внаслідок тривалого (35-40 днів) споживання їх курками-несучками у підвищених дозах (вітамін А – 400 тис. МО/кг, вітамін Е – 200 мг/кг) спричиняє негативний вплив на енергетичні процеси у потомства, впродовж перших десяти днів життя, що є несприятливим чинником на початку росту птиці.

Література

1. Іонов І. А. Фізіологічний статус птиці в ембріогенезі та постнатальному онтогенезі залежно від її А-, Е- та К-вітамінного забезпечення : автореф. дис. ... докт. с.-г. наук: спец. 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин» / І. А. Іонов. — Х., 1997. — 32 с.

2. Іонов І. А. Обогащение яиц и мяса птицы витамином Е / И. А. Ионов // Вісник аграрної науки. — 1997. — № 10. — С. 48-51.

3. Effect of supplementing the hen's diet with vitamin A on the accumulation of vitamins A and E, ascorbic acid and carotenoids in the egg yolk and in the embryonic liver / P. F. Surai, I. A. Ionov, T. V. Kuklenko [at all.] // British Poultry Sci. — 1998. — V. 39. — P. 257-263.

4. Водолажченко С. Кормовые факторы вызывают заболевания птицы / С. Водолажченко // Комбикорма. - 2010. - № 7. - С. 86-87.

5. Ham A. J. Vitamin E oxidation in rat liver mitochondria / A. J. Ham,

- D. C. Liebler // Biochemistry. — 1995. — V. 37, № 17. — P. 5754–5761.
6. Higdon J. Vitamin E [Electronic Resource] / J. Higdon, V. J. Drake, M. G. Traber // Linus Pauling Institute Micronutrient Information Center, Oregon State University. — Copyright 2008. — Mode of access : URL : <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/vitaminE/>. - Title from the screen.
7. Vitamin A [Electronic Resource] / J. Higdon, V. J. Drake, J. Mayer [at all.] // Linus Pauling Institute, Oregon State University, Micronutrient Information Center. — Copyright 2009. — Mode of access : URL : <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/vitaminA/>. - Title from the screen.
8. Рекомендації з нормування годівлі сільськогосподарської птиці / наук. ред. В. Ф. Караващенко [та ін.]. — Борки : Інститут птахівництва УААН, 1998. — С. 29–37.
9. Лемешева М. М. Кормление сельскохозяйственной птицы / М. М. Лемешева. — Сумы : Слобожанщина, 2003. — 152 с.
10. Биохимические методы контроля метаболизма в органах и тканях птиц и их витаминной обеспеченности (научно-методические рекомендации) / П. Ф. Сурай, И. А. Ионов. — Харьков : Юж. Отд. ВАСХНИЛ УНИИП, 1990. — 138 с.
11. Критерии и методы контроля метаболизма в организме животных и птиц / И.А. Ионов, С.О. Шаповалов, Е.В. Руденко, М.Н. Долгая, А.В. Ахтырский, Ю.А. Зозуля, Т.Е. Комисова, И.А. Костюк – Харьков: Институт животноводства НААН, 2011 – 376 с.
12. Витамины в питании животных / А. Р. Вальдман, П. Ф. Сурай, И. А. Ионов, Н. И. Сахацкий. — Харьков : РИП Оригинал, 1993. — 423 с.
13. Konno T. The effect of some fat-soluble substances on contents of vitamin A and E in egg yolk / T. Konno, T. Asada, T. Katsuo // Japanese J. of Zootec. Sci. — 1985. — V. 56. — P. 414–416.
14. Surai P. F. Vitamin E and avian reproduction / P. F. Surai // Poultry and avian biology reviews. — 1999. — V. 10, № 1. — P. 3–60.

Summary

Kostyuk I. A., Ionov I. A., Zhukova I. A.

FEATURES OF BIOLOGICAL OXIDATION IN THE LIVER OF CHICKENS BY THE ACTION OF HIGH DOSES OF VITAMINS A AND E IN HENS RATION

In the article the presented results of research of processes of the tissues respiration and oxidative phosphorylation are in the liver of chickens at the terms of enriching hen ration of the vitamins A and E. The obtained data allow extend relation to the accumulation of these vitamins in egg yolk and organism of the chickens, and also violation of processes of biological oxidation in posterities.

Key words: *biological oxidation, liver, mitochondria, oxidative phosphorylation, tissues respiration, vitamin A, vitamin E.*

Рецензент – д.с.-г.н., професор, чл.-кор. НААНУ Кирилів Я.І.