

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

Костюк І. О., к.с.-г.н., **Жукова І.О.,** д.вет.н., доцент ©

E-mail:inna_kostyuk@live.ru

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків, Україна

ВИКОРИСТАННЯ БУРШТИНОВОЇ КИСЛОТИ ЯК ЕНЕРГЕТИЧНОГО СУБСТРАТУ ТКАНИННОГО ДИХАННЯ ЗА УМОВ НАКОПИЧЕННЯ ВІТАМІНУ А В ПЕЧІНЦІ КУРЕЙ

Застосування бурштинової кислоти (сукцинату) як фактора метаболічної корекції в раціонах тварин та у ветеринарній медицині спрямоване на активізацію енергетичного обміну і пластичних процесів в організмі. Актуальним є дослідження особливостей використання цієї речовини як енергетичного субстрату тканинного дихання. Встановлено, що вітамін А, як мембранотропний фактор, стимулює окиснення сукцинату мітохондріями печінки курей. При тривалому застосуванні (40–60 днів) підвищених доз вітаміну А в раціонах курей треба враховувати можливе порушення процесів окиснювального фосфорилування у курчат.

У курчат добового віку негативний вплив високих доз вітаміну А на функціональний стан мітохондрій печінки значно більше виражений ніж у курей, від яких отримане потомство. У разі застосування в раціоні курей вітаміну А в дозі 400 тис. МО/кг відбувається активізація вільного окиснення сукцинату, роз'єднання реакцій дихання і фосфорилування в мітохондріях печінки курчат.

Одноразове пероральне введення добовим курчатам 10-кратної дози вітаміну А спричиняє активізацію окиснення сукцинату в роз'єданому стані мітохондрій.

Ключові слова: бурштинова кислота, вітамін А, мітохондрії, курчата, окиснювальне фосфорилування, печінка, сукцинат, тканинне дихання.

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

Костюк І. А., к. с.-х. н., **Жукова І.А.,** д.вет.н., доцент*Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ КАК ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО СУБСТРАТА ТКАНЕВОГО ДЫХАНИЯ В УСЛОВИЯХ НАКОПЛЕНИЯ ВИТАМИНА А В ПЕЧЕНИ КУР

Применение янтарной кислоты (сукцината) в качестве фактора метаболической коррекции в рационах животных и в ветеринарной медицине направлено на активизацию энергетического обмена и пластических процессов в организме. В связи с этим актуально изучение особенностей использования этого вещества как энергетического субстрата тканевого дыхания. Установлено, что витамин А, как мембранотропный фактор, влияет на окисление сукцината митохондриями печени. При длительном применении

повышенных доз витамина А в рационе кур, следует учитывать возможность нарушения окислительного фосфорилирования у цыплят.

У цыплят суточного возраста негативное влияние высоких доз витамина А на функциональное состояние митохондрий печени значительно более выражено чем у кур, от которых получено потомство. В случае применения в рационе кур витамина А в дозе 400 тыс. МЕ / кг происходит активизация свободного окисления сукцината, разъединение реакций дыхания и фосфорилирования в митохондриях печени цыплят. Однократное пероральное введение суточным цыплятам 10-кратной дозы витамина А вызывает активизацию окисления сукцината в разобленном состоянии митохондрий.

Ключевые слова: биологическое окисление, витамин А, куры, митохондрии, окислительное фосфорилирование, печень, сукцинат, тканевое дыхание, янтарная кислота.

UDC:577.158:636.52/58:612.35:612.015.6

Kostyuk I. A., candidate of agricultural science

Zhukova I.A., doctor of veterinary science

Kharkiv state zooveterinary academy, Kharkiv, Ukraine

THE USE OF SUCCINATE AS AN ENERGETIC SUBSTRATE OF TISSUE RESPIRATION WHEN VITAMIN A IS ACCUMULATED IN LIVER OF POULTRY

The study of the peculiarities of the use of succinate as an energetic substrate of the tissue respiration is actual in connection with the use of the above acid (succinate) in the ration of animals and in veterinary medicine as one of the factors of metabolic correction. The investigation of the effect of membranotropic substances, namely vitamin A, on the oxidation of succinate by liver metochondria is important for the effective use of metabolic correction. The stimulation of oxidation of succinate in liver mitochondria under the influence of high doses of vitamin A in the ration of hens has been shown. At the application (40–60 days) of the increased doses of vitamin A in the rations of hens it is necessary to take destructive changes in the cells of liver and violation of biological oxidation in chickens.

At the age of chickens daily negative effect of high doses of vitamin A on the functional state of liver mitochondria is much more pronounced than in chickens from which the resulting offspring. In the case of chickens in the diet of vitamin A in a dose of 400 thousand IU / kg of growing free oxidation of succinate, dissociation reactions of respiration and phosphorylation in liver mitochondria of chickens. A single oral administration of day-old chicks 10 times the dose of vitamin A leads to activation of succinate oxidation in mitochondria disconnected state.

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

Вступ. Бурштинова кислота, завдяки своїм антиоксидантним властивостям і участі у ключових енергетичних процесах в клітині [6], активно використовується в медицині [7], сільському господарстві [8], ветеринарній практиці з метою корекції обміну речовин [1; 5]. Згідно сучасної медичної концепції, що формується, традиційні лікувально-профілактичні раціони

харчування, функціональні харчові продукти, нутрицевтики і фармаконутрієнти відносяться до метаболічної терапії. Так, бурштинова кислота застосовується в якості протистресового засобу, має імуномодельюючу дію, а також відома своїми антигіпоксичними властивостями [1]. У птиці сукцинат окислюється активніше порівняно з іншими субстратами тканинного дихання, в 1,5-2 рази швидше ніж 2-оксоглутарат.

Фермент СДГ (КФ.1.3.5.1.) є одним із структурних компонентів дихального ланцюга і зв'язаний з внутрішньою мембраною мітохондрій. Цей фермент має великий запас каталітичної активності, яка може бути реалізована як у фізіологічних, так і екстремальних станах організму. СДГ, будучи одночасно ферментом ЦТК і дихального ланцюга, виконує регуляторні функції в системі енергетичного метаболізму клітини. Відомо, що сукцинат окислюється в екстремальних умовах, при яких використання НАД-залежних субстратів неможливе [6].

Важливо, що сукцинат і вітамін А – це речовини органічного походження, природні життєво необхідні компоненти клітин. Сукцинат, як проміжний продукт ЦТК і субстрат клітинного дихання, а також ретинол, як мембранотропний фактор [9], можуть бути цілком впевнено зараховані до енерготропних речовин. Енерготропні препарати, в силу своєї здатності впливати на функцію мітохондрій, є патогенетично обґрунтованими при різних станах, що призводять до розвитку первинних і вторинних мітохондріальних порушень [7]. Отже, корекція метаболізму на рівні енергетичних процесів у мітохондріях за допомогою субстратних або мембранотропних речовин може здійснюватись природним шляхом. У зв'язку з цим, актуальним є дослідження впливу ретинолу на процеси використання сукцинату у мітохондріях, якщо ці речовини додатково вводять в організм у вигляді лікувальних і профілактичних препаратів, або добавок в складі раціону.

Метою роботи є дослідження особливостей окиснення сукцинату в мітохондріях печінки курей під дією підвищених доз вітаміну А.

Матеріал і методи. В експерименті використовували курей-несучок віком 180 днів, яким впродовж 40 і 60 днів додавали до раціону вітамін А (олійний розчин ретиніл-пальмітату). Було сформовано 4 групи птиці: I – стандартний раціон, рекомендована доза вітаміну А складала 10 тис. МО/кг [4]. ; II група – не отримувала добавки; III група – доза вітаміну А 100 тис. МО/кг; IV група – доза вітаміну А 400 тис. МО/кг. Групи курчат віком 1 доба були сформовані відповідно до груп курей-несучок. Курчата одержували стандартний корм. У наступному досліді курчатам добового віку одноразово перорально вводили 700 МО вітаміну А, що відповідає 10-кратній дозі [3;4].

Проводили полярографічні дослідження дихання мітохондрій 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 використовували як субстрат окиснення, а 2,4-динітрофенол – як роз'єднувач процесів дихання і фосфорилування. Розраховували швидкості дихання (V_2 , V_3 , V_4 , $V_{днф}$), інтенсивність фосфорилування (ІФ), коефіцієнт дихального контролю (ДК) та ефективність фосфорилування АДФ/О.

Концентрацію вітаміну А визначали за допомогою ТШХ. Активність ферменту СДГ (КФ.1.3.5.1.) досліджували за методом Ф.Є. Путіліної і Н.Д. Єщенко з модифікаціями [2; 3]. Математичне опрацювання результатів проведено з використанням комп'ютерних таблиць Excel.

Результати дослідження. Застосування підвищених доз вітаміну А в раціоні курей впродовж 40 днів привело до накопичення його в печінці курей, яєчному жовтку і печінці отриманих курчат (табл. 1). Швидкості окиснення сукцинату мітохондріями печінки курей збільшувались у всіх метаболічних станах мітохондрій. Так швидкість окиснення V_3 , в стані активного фосфорилування, зросла на 48,4% в 4 групі курей (доза вітаміну А – 400 тис. МО/кг). Накопичення вітаміну А в печінці впродовж 60 днів, навпаки, спричиняло зниження інтенсивності дихання у всіх метаболічних станах мітохондрій, як в 3, так і в 4 групах курей. Зростала активність СДГ під дією різних доз вітаміну А. Так, у курей 3 і 4 груп, які одержували з кормом добавки вітаміну А, 100 і 400 тис. МО/кг відповідно, встановлене підвищення активності СДГ на 20,8 % та 21,2 % ($p < 0,05$), відповідно.

Таблиця 1

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

Групи	Добавка вітаміну А, тис. МО/кг	Концентрація вітаміну А в печінці курей, мкг/г	Концентрація вітаміну А в печінці курчат, мкг/г
1	10	508,0±12,6	31,10±0,92
2	0	476,2±24,6	14,90±2,13*
3	100	760,0±22,1*	64,01± 3,20*
4	400	1140,1±69,6**	200,5±4,61**

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

Після згодовування добавок вітаміну А куркам-несучкам в дозах - 100 і 400 тис. МО/кг корму, концентрація вітаміну А в печінці курчат 3 і 4 груп підвищувалася, відповідно в 2,06 і 6,45 разів, порівняно з контрольною групою.

Дихальна активність мітохондрій печінки добових курчат при окисненні сукцинату змінювалась (табл. 2). Швидкість окиснення сукцинату мітохондріями печінки у курчат 3 групи (10-кратна доза в раціоні курей) знизилася в 2,6 разів, що супроводжувалося зниженням ДК за Ларді на 38,5 % ($p < 0,01$). Отже у курчат 3 групи під дією значних кількості вітаміну А в печінці сповільнюється окиснення сукцинату, знижується ступінь сполучення дихання і фосфорилування. Вірогідно, ці зміни відбуваються в результаті порушення роботи I і III комплексів дихального ланцюга, тобто на етапі відновлення КоQ.

Показники фосфорилування змінювались залежно від концентрації вітаміну А в печінці, так в 3 групі курчат АДФ/О знижувався, але ІФ перевищувала контроль. Але, в 4 групі зниження АДФ/О порівняно з контролем склало 35,0%, що супроводжувалося зниженням ІФ на 45,4 %.

Таблиця 2.

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

Показники окиснення (нмоль O_2 /хв×мг)	Групи курчат			
	1	2	3	4
V_2	23,03 ±3,21	10,52±0,03*	8,71 ±0,72*	19,69 ±0,44
V_3	59,86 ±5,14	47,83 ±1,05	13,94±0,07*	49,36±2,79
V_4	32,89±2,19	30,61±1,29	11,10±6,08	26,51±0,78
$V_{днф}$	64,50 ±2,85	78,91 ±2,17	44,71 ±2,16	62,47±0,54*
ДК (V_3/V_2), од.	2,60 ±0,35	4,55 ±0,44*	1,60±0,14**	2,51±0,19*

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

Після одноразового введення вітаміну А курчатам, відбувалась стимуляція окиснення сукцинату у процесі дихання мітохондрій. Так, через 4 години після введення вітаміну А підвищувались швидкості окиснення сукцинату зокрема – V_3 зростає на 108,6 % ($p < 0,05$). Значно збільшилась швидкість $V_{днф}$, в стані роз'єднання дихання і фосфорилування, але коефіцієнт АДФ/О знизився, що свідчить про активізацію вільного окиснення сукцинату під дією 10-кратної дози вітаміну А.

Висновки. Інтенсивність окиснення сукцинату в мітохондріях печінки курей змінюється залежно від дози і терміну накопичення вітаміну А в організмі.

1. При застосуванні впродовж 40 днів високих доз вітаміну А в раціоні курей-несучок відбувається активізація окиснення сукцинату у мітохондріях печінки у вигляді загального зростання дихальної активності мітохондрій.

2. Тривале (60 днів) надходження вітаміну А в організм курей у високих дозах спричиняє пролонговану дію навіть через 3 місяці після зняття добавок: вітамін А викликає пригнічення синтезу АТФ, зменшення показників АДФ/О та інтенсивності фосфорилування (у дозах 100 та 400 тис. МО/кг).

3. У курчат добового віку негативний вплив високих доз вітаміну А на функціональний стан мітохондрій печінки значно більше виражений ніж у курей, від яких отримане потомство. У разі застосування в раціоні курей вітаміну А в дозі 400 тис. МО/кг відбувається активізація вільного окиснення сукцинату, роз'єднання реакцій дихання і фосфорилування в мітохондріях печінки курчат.

4. Одноразове пероральне введення добовим курчатам 10-кратної дози вітаміну А спричиняє активізацію окиснення сукцинату в роз'єднаному стані мітохондрій.

Перспективи подальших досліджень. В зв'язку з мембранотропною та функцією вітаміну А необхідне подальше вивчення його впливу на енергетичні процеси в печінці за умов введення у раціон тварин екзогенних субстратів тканинного дихання. При одночасному застосуванні сукцинату і вітаміну А у раціоні птиці важливо дослідити їх дозозалежні ефекти на реакції біологічного окиснення. Такі розробки сприятимуть ефективному проведенню заходів метаболічної корекції та метаболічної терапії.

Література

1. Басанкин А.В. Фармако-токсикологическое обоснование применения янтарной кислоты в животноводстве и ветеринарии: дисс.... кандидата вет. наук: спец. 16.00.04 «Ветеринарная фармакология с токсикологией» / Алексей Вадимович Басанкин. – Казань, 2007-142 с.

2. 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.

3. Критерии и методы контроля метаболизма в организме животных и птиц / И. А. Ионов, С. О. Шаповалов, Е. В. Руденко и др. – Харьков: Институт животноводства НААН, 2011 – 376 с.

4. Лемешева М. М. Кормление сельскохозяйственной птицы / М. М. Лемешева. — Сумы: Слобожанщина, 2003. — 152 с.

5. Московцева О. М. Влияние янтарной кислоты и ее производных на состояние свободнорадикальных процессов экспериментальных животных: дисс. ... кандидата биол. наук: спец. 03.00.00 «Биологические науки» / Ольга Михайловна Московцева. – Нижний Новгород, 2006. – 160 с.

6. Саакян И. Р. Активация и ингибирование сукцинатзависимого транспорта Ca^{2+} в митохондриях печени при развитии адаптационных реакций / И. Р. Саакян, С. Г. Саакян, М. Н. Кондрашова // Биохимия. — 2001. — Т. 66, вып. 7. — С. 976–984.

7. Современные аспекты метаболической коррекции / И.С. Чекман, В.С. Сухоруков, И.В. Леонтьева, С.О. Ключников // Здоров'я України. — 2007. — № 7. — С. 12.

8. Трунов М. А. Действие и применение препарата ЯК-85 в птицеводстве: дисс. ... кандидата вет. наук: спец. 16.00.03, 16.00.04 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология и иммунология» / Михаил Анатольевич Трунов. — Краснодар, 2000 — 156 с.

9. Vitamin A [Electronic Resource] / J. Higdon, V. J. Drake, J. Mayer [at all.] // Linus Pauling Institute, Oregon State University, Micronutrient Information Center. — Copyright 2000-2014. — Mode of access : URL : <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/vitaminA/>. – Title from the screen (дата обращения: 29.01.2014).

Рецензент – д.вет.н., профессор Головач П.І.