

УДК 636.52/58:591.134.1

ИЗМЕНЕНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СПЕРМИНА

Т. В. МЕТРЕВЕЛИ, М. П. СИЛАЕВ, К. С. ЗАБЛОЦКАЯ

(Кафедра физиологии и биохимии с.-х. животных)

Эксперимент был поставлен на цыплятах кросса Бройлер-6 с применением биогенного стимулятора — спермина — в дозе 2 мг на 1 кг живой массы. Изучена динамика показателей энергетического обмена. Проведены гистологические исследования щитовидной железы.

Обнаружен эффект быстрой утилизации {5-липопротеидов, общих липидов, гексоз и макроэргических нуклеотидов в первые 6 ч после введения препарата. Об интенсивности катаболических процессов судили по изменению активности лактатдегидрогеназы и аланинаминотрансферазы печени. Установлено усиление активности аэробных изозимов лактатдегидрогеназы в печени к 24 ч после инъекции препарата. Выявлено увеличение функциональной активности щитовидной железы в первые 6 ч у цыплят опытной группы.

В целях увеличения продуктивности сельскохозяйственных животных и птицы широко используются различные по своему воздействию биологически активные вещества. Особого внимания заслуживают такие биологические стимуляторы, которые не накапливаются в тканях и в минимальных количествах способствуют повышению естественной резистентности, интенсивности роста и продуктивности животных. К числу таких стимуляторов относятся полиамины (ПА) — биологически активные соединения, образующиеся в тканях при декарбоксилировании аминокислот. Основными разновидностями ПА применительно к животным являются путресцин, спермидин и спермин, которые образуются в тканях при декарбоксилировании орнитина [2—6]. Отмечается активизирующая роль ПА в отдельных ферментных системах, связанных с синтезом белка в тканях [7—9]. ПА оказывают влияние на проницаемость клеточных мембран *in vitro* [3, 7, 8, 10, 11] и секреторную функцию ряда эндокринных органов [3, 12].

Таким образом, у ПА широкий спектр воздействия на животный организм, и было бы интересно использовать их как стимуляторы роста сельскохозяйственных животных и птицы. В связи с этим мы поставили перед собой задачу выявить возможные пути включения в обменные процессы эндогенных ПА и изучить их воздействие на организм мясной птицы. В качестве полиаминного препарата использовали спермин.

Методика

Опыт проводили на цыплятах-бройлерах кросса Бройлер-6. Спермин вводили птице в возрасте 35 дней внутримышечно в количестве 2 мг на 1 кг живой массы (опытная группа). Цыплятам контрольной группы препарат не вводили. Биологический материал для исследований (кровь, печень, мышцы, щитовидную железу и надпочечники у 3 цыплят из каждой группы) брали через 3, 6, 24 ч и 5 сут после введения препарата. В цельной крови определяли содержание гексоз по реакции с о-толуидином, макроэргических нуклеотидов — по реакции Биала, общих липидов

в сыворотке крови — с помощью тест-набора (производство ЧССР), (5-липопротеидов — турбиметрическим методом, количество лактата в мышцах — спектрофотометрически, активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в печени — спектрофотометрически. Для гистологических исследований пробы фиксировали в 5% нейтральном формалине. Для оценки функционального состояния щитовидной железы парафиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином и реактивом Шиффа.

Результаты

В течение 6 ч после введения спермина уровень гексоз, макроэргических нуклеотидов, р-липопротеидов и общих липидов в крови уменьшился по сравнению с контролем (рис. 1—3). Так, например, количество общих липидов в крови цыплят опытной группы резко снижалось начиная с 3 ч, а затем постепенно увеличивалось и к концу опыта достигало контрольного уровня (рис. 1). Аналогично изменялось и содержание р-липопротеидов, хотя процесс их утилизации начинался раньше. Представляет интерес динамика концентрации в крови гексоз и макроэргических нуклеотидов. После максимального поглощения гексоз в тканях к 6 ч происходит дополнительный выброс их в кровь из пече-

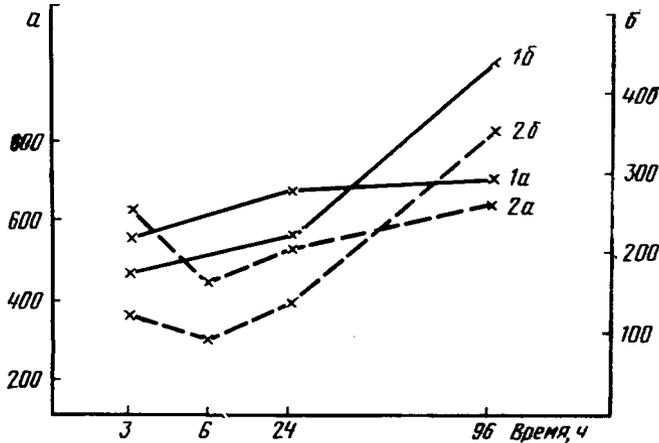


Рис. 1. Содержание общих липидов (а) и р-липопротеидов (б) в сыворотке крови (мг %).

1 — контроль; 2 — опытная группа.

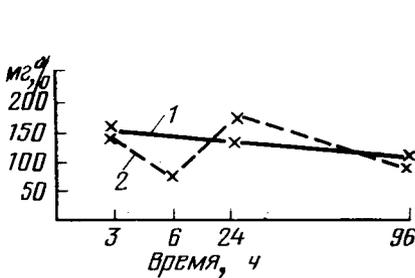


Рис. 2. Количество гексоз в крови цыплят контрольной (1) и опытной (2) групп.

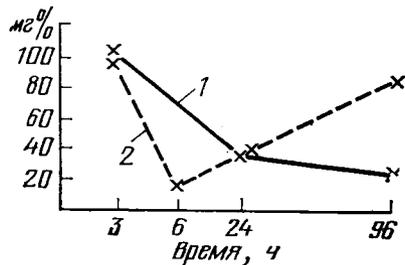


Рис. 3. Количество АТФ в крови цыплят контрольной (1) и опытной (2) групп.

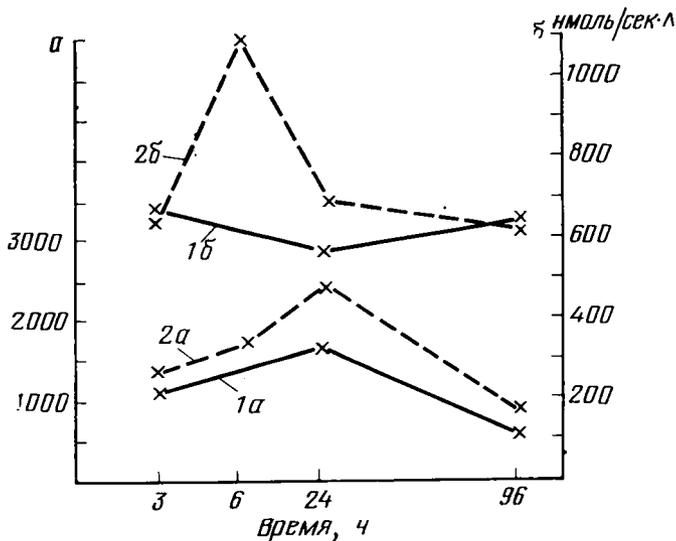


Рис. 4. Активность ЛДГ в печени (а) и сыворотке крови (б) цыплят контрольной (1) и опытной (2) групп.

ни к 24 ч, но они также быстро утилизируются и к 5-м суткам уровень их достигает контрольного. Количество макроэргических нуклеотидов к концу опыта увеличивалось (рис. 3). На основании полученных данных можно предположительно судить о быстром потреблении кислорода тканями в первые 6 ч. Для обеспечения возросших энергетических потребностей необходимо привлечение дополнительных резервных механизмов, и возможно, за счет пула свободных аминокислот. Чтобы убедиться в этом, мы исследовали изменение активности ферментов ЛДГ и АЛТ.

Повышение активности ЛДГ в сыворотке крови свидетельствует о возникновении анаэробных процессов в тканях и снижении интенсивности биологического окисления. Увеличение активности данного фермента в сыворотке крови в первые 6 ч и ее снижение к 24 ч после инъекции ПА (рис. 4), по-видимому, можно объяснить активизацией в тканях процессов, благодаря которым усиливаются образование и утилизация лактата. Это приводит к увеличению уровня лактата (рис. 5) в мышцах, что характерно для активно функционирующей мышечной ткани. Что же касается печени, то общая активность ЛДГ в ней к 6 ч постепенно увеличивается и достигает максимума к 24 ч после введения препарата (рис. 4).

Изоферментный спектр ЛДГ представлен 5 изоформами, соотношение которых с течением времени меняется. В раннем возрасте в печени преимущественно возрастает активность ЛДГ-1 и ЛДГ-2, а в более зрелом периоде — ЛДГ-4 и ЛДГ-5. Последние способны образовывать лактат в большем количестве, чем пируват.

Определение содержания изофермента ЛДГ печени методом ингибирования мочевиной показало, что количество аэробных форм ЛДГ к 6 ч в опытной группе составило 59,2 %, в контроле — 51,8, к 24 ч — соответственно 75,4 и 54,2, к 5 сут — 46,2 и 52,1 %. Поскольку аэробные изозимы хорошо приспособлены для лактатоксидазной функции, то увеличение активности таких изозимов будет обеспечивать высокую степень утилизации лактата до пирувата и в результате активизацию аэробных путей окисления в печени. Наблюдаемые нами изменения в соотношении изозимов ЛДГ, возможно, вызваны изменением буферных свойств цитозоля печени, которые могли повлиять на активность ЛДГ. В литературе указывается на наличие Na-независимой транспортной системы для поступления ПА внутрь клетки [5]. Кроме того, известно, что эта система обеспечивает также транспорт свободных аминокислот. Таким образом, спермин как поликатион наряду с другими ос-



Рис. 5. Количество лактата в мышцах цыплят контрольной (1) и опытной (2) групп.

У опытной группы цыплят тот орган имеет типичное фолликулярное строение. Преобладают макрофолликулы, выстланные низким кубическим эпителием. Коллоид плотный, гомогенно окрашенный, резорбционные вакуоли немногочисленны. Через 3 ч после инъекции у большинства фолликулов возрастает высота эпителия (рис. 7). Средний диаметр фолликулов уменьшается: усиливается резорбция коллоида (рис. 8). Та же закономерность сохраняется и через 6 ч. Тиреоидный эпителий высокий, кубической формы, в цитоплазме тиреоцитов обнаруживаются многочисленные вакуоли (рис. 9 и 10). Через сутки изменения становятся менее выраженными, а через 5 сут структура органа не отличается от контроля. Таким образом, функциональная активность тиреоцитов в первые 6 ч после инъекции препарата возрастает. Поскольку в первые 6 ч кислород усиленно потребляется тканями на окислительные процессы (увеличение активности ЛДГ в тканях и сыворотке крови; снижение активности этого фермента в крови к 24 ч), можно предположить следующее включение механизмов, обеспечивающих дальнейшее снабжение тканей кислородом и усиление основного обмена за счет дополнительного поступления тиреоидных гормонов в кровь. В последующем это привело к увеличению синтеза аэробных форм ЛДГ, скорости поступления пирувата в ЦТК и синтезу АТФ (см. рис. 3).

Так как пируват в печени образуется не только за счет гликолитического процесса, но и за счет гликогенных аминокислот, мы решили

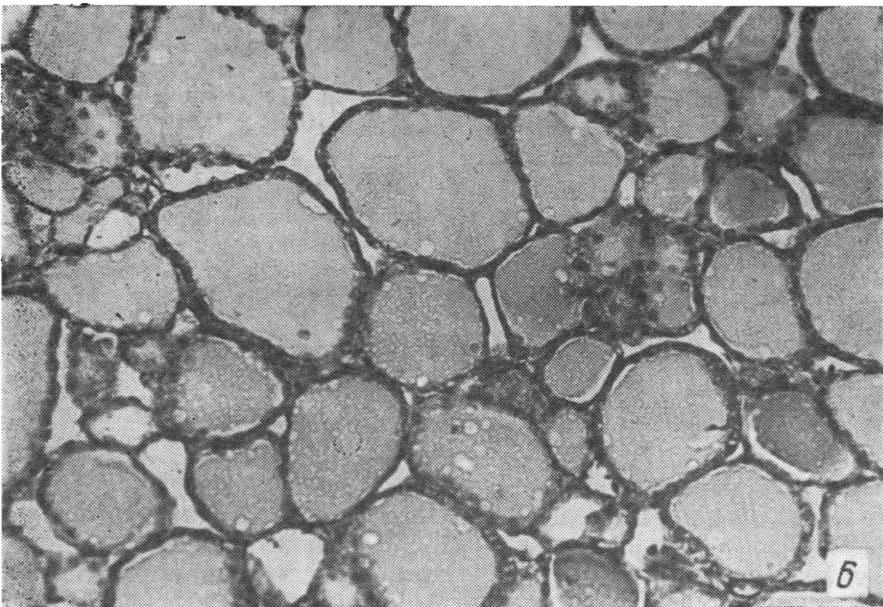


Рис. 6. Щитовидная железа цыпленка в контроле (окрашивание гематоксилин-эозином — Г-Э, X256).

молитами, например аминокислотами, мог бы привести к изменению каталитических свойств ЛДГ.

Проявление каталитических свойств отдельных изоформ ЛДГ находится в тесной связи с доступностью кислорода в тканях.

Ввиду того что тиреоидные гормоны влияют на процессы дыхания и окислительного фосфорилирования, мы провели гистологические исследования срезов щитовидной железы.

Установлены различия в функциональном состоянии железы птицы контрольной и опытной групп (рис. 6). У контрольной и опытной групп (рис. 6). У контрольной и опытной групп (рис. 6).

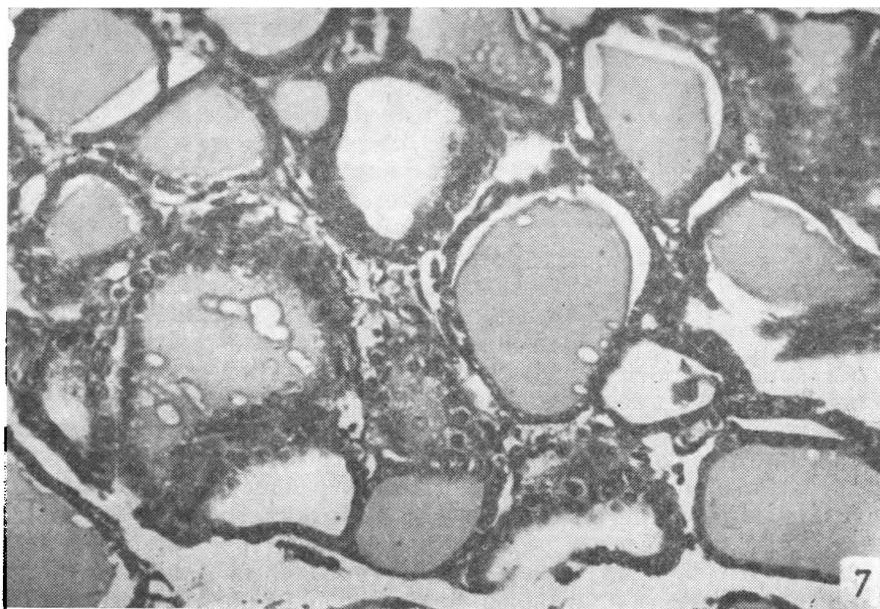


Рис. 7. Активация тиреоидного эпителия в щитовидной железе цыпленка через 3 ч после введения препарата (окрашивание Г-Э, X256).

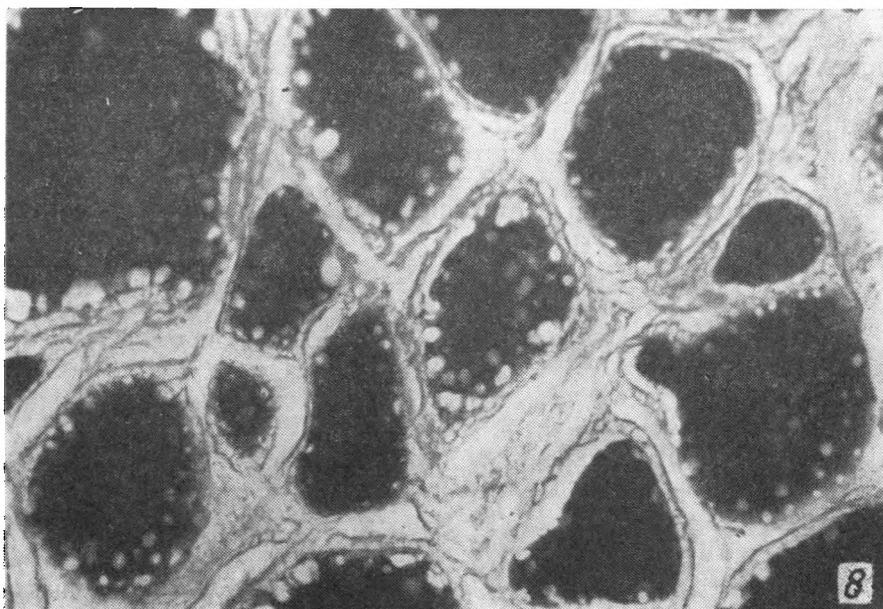


Рис. 8. Обилие резорбционных вакуолей в составе коллоида в щитовидной железе цыпленка через 3 ч после введения препарата (X256).

исследовать также изменение активности АЛТ в печени как фермента, обеспечивающего включение продуктов белкового катаболизма через стадию образования пирувата в ЦТК и глюконеогенез. Активность АЛТ резко возрастала к 3 ч после инъекции, в последующем она снижалась и была минимальной к 5 сут (рис. 11). По-видимому, вскоре после инъекции внутри клетки повысился аминокислотный пул, который обеспечил высокий уровень активности АЛТ в печени. Поскольку к 24 ч уровень глюкозы увеличился почти в 1,5 раза по сравнению с контролем,

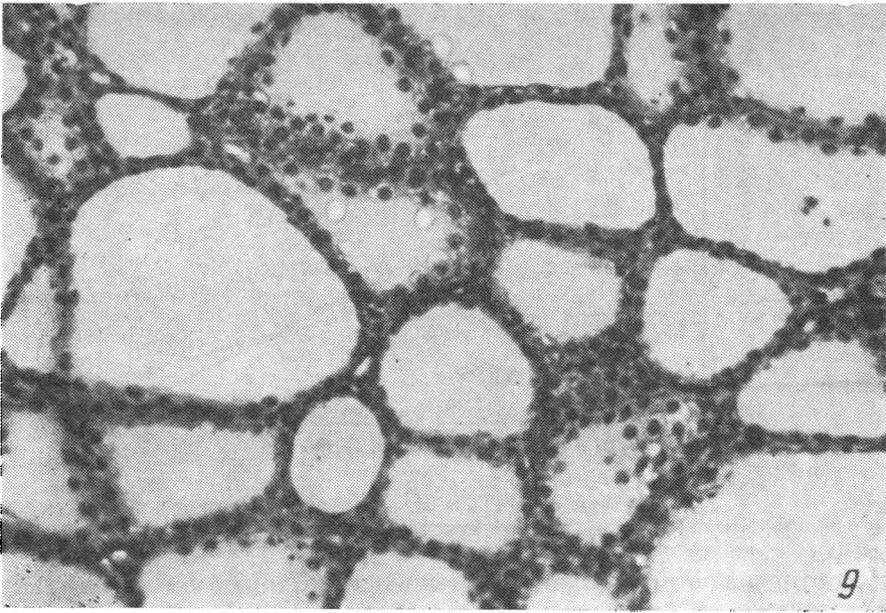


Рис. 9. Активация и пролиферация тиреоидного эпителия, мелкие вакуоли в цитоплазме клеток в щитовидной железе цыпленка после введения препарата (окрашивание Г-Э, X256).

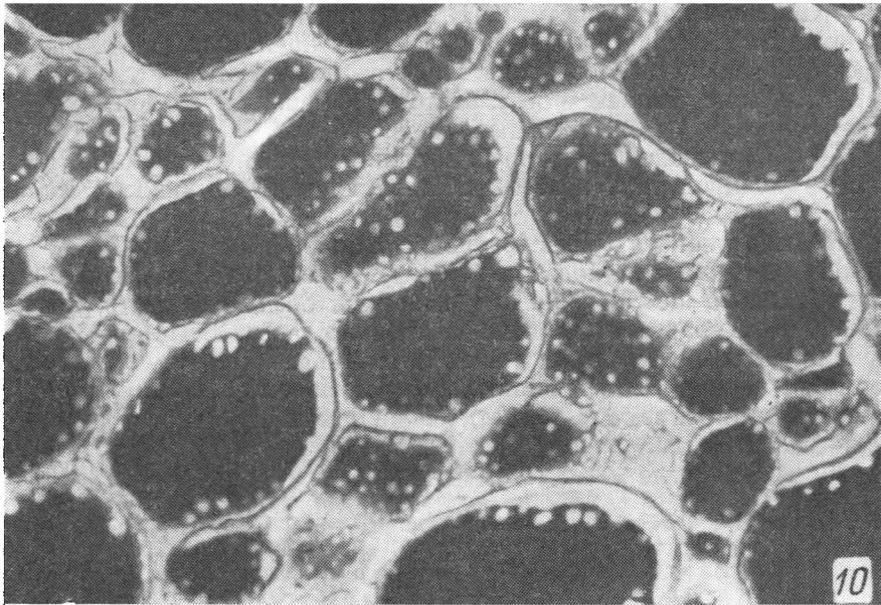


Рис. 10. Многочисленные резорбционные вакуоли в фолликулах разного размера в щитовидной железе через 6 ч после введения препарата (X256).

а уровень АТФ возрос к концу опыта, можно предположить возможность вовлечения аминокислотного пула в процессы энергообразования. Известно, что этот процесс регулируется кортикоидными гормонами. Однако при гистологических исследованиях надпочечников не было выявлено существенных изменений функционального состояния надпочечников. Наблюдаемый нами эффект глюконеогенеза (увеличение уровня глюкозы и активности АЛТ в крови), возможно, является результатом влияния спермина либо на стероидсвязывающую способность цитозоль-

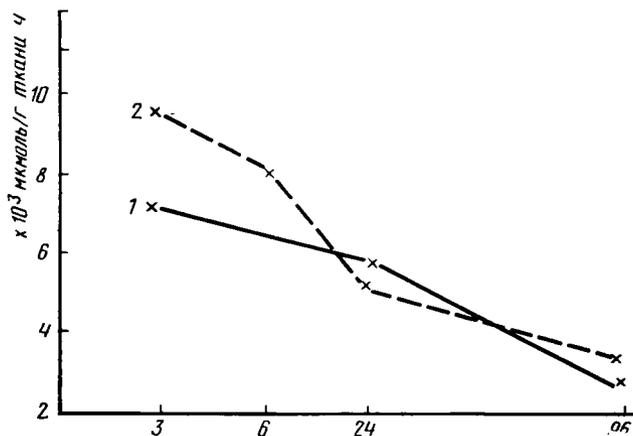


Рис. 11. Активность АЛТ в печени цыплят контрольной (1) и опытной (2) групп.

ных кортикорцепторов, либо на стероидсекреторную активность кортико-костероидных клеток еще до 3 ч у цыплят опытной группы.

Выводы

1. Внутримышечное введение спермина в организм цыплят привело к увеличению утилизации энергоресурсов в тканях.

2. Снижение активности ЛДГ в сыворотке крови и увеличение ее активности в печени к 24 ч после инъекции препарата свидетельствуют об усилении процессов, связанных с потреблением кислорода. Такой эффект, возможно, является результатом изменения буферных свойств цитозоля печени у цыплят опытной группы.

3. К 24 ч после инъекции препарата в печени возрастает способность утилизировать лактат за счет увеличения активности аэробных форм ЛДГ.

4. Перестройка в морфологии щитовидной железы в ранние сроки (3 и 6 ч) указывает на повышение ее функциональной активности, которое направлено на усиление интенсивности обмена веществ, в итоге в печени увеличивается содержание аэробных форм ЛДГ.

5. Повышение активности АЛТ печени в первые 6 ч после введения препарата можно рассматривать как результат вовлечения продуктов белкового катаболизма в энергетический обмен.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хочачка П., Дж. Сомеро. Биохимическая адаптация. — М.: Мир, 1988.
2. Hougaard D. M., Nielsen J. H., Larsson L. J. et al. — *Biochem. J.*, 1986, vol. 238, p. 43—47.
3. Hougaard D. M. — *Med. Boil. Hellsinky*, 1986, vol. 64, N 2/3, p. 89—94.
4. Hougaard D. M., Larsson L. L. et al. — *Histochemistry*, 1982, vol. 76, p. 247—259.
5. Feige J. J., Madani C., Chambaz E. M. et al. *Endocrinology*, 1986, vol. 118, N 3.
6. Kelly M. P. P., McCann, Schindler J. — *Dev. Biol.*, 1985, vol. III, N 2, p. 521—514.
7. Lought. — *J. Exp. cell Res.* 1984, vol. 150, p. 23—28.
8. Spaulding S. W. — *Endocrinology*, 1977, vol. 100, p. 1039.
9. Ohki Shipli, Jolia Duax., BBA, 1986, vol. 861, N 1, p. 177—186.
10. Op den Kamp J. A. — *Ann. Rev. Bioch.* 1979, vol. 48, p. 47—71.
11. Schuber F., Hong K., Düzgünes N. et al. — *Biochemistry*, 1983, vol. 22, p. 6134—6140.
12. Spa Ulding S. W. — *Endocrinology*, 1977, vol. 100, p. 1039.

Статья поступила 4 января 1989 г.

SUMMARY

The experiment was conducted on Broiler-6 cross chickens with application of biogenous stimulator — spermine (2 mg per 1 kg of live weight). Intramuscular ad-

ministration of spermine resulted in higher utilization of energy resources in chickens tissues. Lower activity of dehydrogenase lactate in blood serum and its higher activity in liver in 24 hours after administration of the preparation show higher intensiveness of the processes connected with oxygen absorption. In 24 hours after administration liver can better utilize the preparation because of higher activity of aerobic forms of dehydrogenase lactate. Morphological reconstruction in thyroid gland in short time (3 and 6 hours) shows its higher functional activity which intensifies metabolism, and as a result the content of aerobic forms of LDG in liver increases.