

ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (ONCORHYNCHUS MYKISS) ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ IPNV

Л. П. ДРАГАН

Институт рыбного хозяйства Национальной академии аграрных наук,
г. Киев, Украина, 03164

(Поступила в редакцию 01.02.2015)

Введение. Инфекционный панкреатический некроз (IPN) относится к одному из самых распространенных заболеваний, которое приносит большой ущерб рыбоводству. Возбудитель этого заболевания – вирус инфекционного панкреатического некроза (IPNV), который принадлежит к роду Aquabirnavirus семьи Birnaviridae [1, 2]. Естественным хозяином вируса IPN являются лососевые рыбы. Вирус распространен по всему миру, он может вызывать эпизоотии, результатом которых являются огромные расходы в инкубаторах мальков лососевых рыб. Вирус способствует некротическому поражению поджелудочной железы, а также провоцирует оксидативный стресс, усиливая тем самым процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Анализ источников. Известно, что баланс образования и расходы перекисей и других продуктов окисления может нарушаться при развитии патологического процесса, а метаболиты перекисей накапливаются в тканях и биологических жидкостях. Это приводит к существенным изменениям в первую очередь в биологических мембранах. Следствием активизации ПОЛ может быть изменение физико-химических свойств мембранных белков и липидов, изменение активности мембранно-связанных ферментов, нарушение проницаемости мембран, уменьшение электрической стабильности липидного слоя.

Изучение закономерностей развития реакций перекисного окисления липидов и изменений в системе антиоксидантной защиты, призванной ограничивать интенсивность процессов ПОЛ, имеет важное диагностическое и прогностическое значение [3, 4].

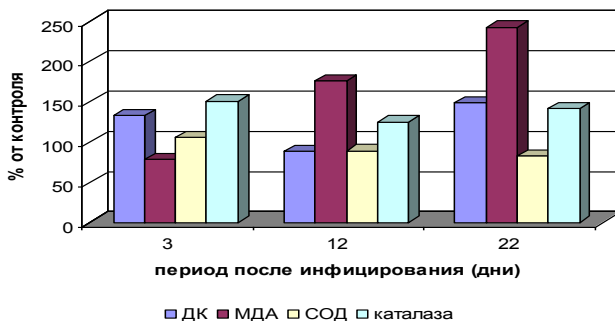
Данные научной литературы о состоянии антиоксидантной системы и интенсивности ПОЛ в организме лососевых рыб при вирусных инфекциях практически отсутствуют, отдельные работы не дают полного представления о влиянии вируса инфекционного некроза подже-

лудочной железы на особенности перекисного окисления липидов и активность антирадикальной защиты в органах и тканях рыб.

Цель работы – исследовать биохимические изменения в организме сеголетки радужной форели в динамике развития инфекционного панкреатического некроза. Полученные результаты являются актуальными и необходимыми для оценки состояния здоровья рыб.

Материалы и методика исследований. Для исследований использовали сеголеток радужной форели. Опыты по искусственному инфицированию рыб исследовали в лабораторных условиях в емкостях объемом 40 дм³ при температуре воды 12 °С. Для биопробы были сформированы две группы сеголеток радужной форели (*O. mykiss*) – опытная и контрольная – в количестве 10 экз. в каждой массой до 15 г. Заражение вирусом IPN проводили методом внутрибрюшинной инъекции. Для биохимических исследований использовали сыворотку крови рыб. Кровь брали с хвостовой вены рыбы на 3-й, 12-й и 22-й день после инфицирования вирусом. В сыворотке крови определяли состояние перекисного окисления липидов (ПОЛ) по уровню диеновых конъюгатов (ДК) [5] и малонового диальдегида (МДА) [6]. Состояние антиоксидантной защиты (АО) определяли по активности АО ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) [7] и каталазы [8]. Полученные результаты статистически обрабатывали с помощью компьютерных программ «Statistica» для Windows.

Результаты исследований и их обсуждение. Проведенные экспериментальные исследования свидетельствуют, что по содержанию диеновых конъюгатов в сыворотке крови исследуемого вида рыб обнаружены существенные изменения (рисунок).



Р и с. Содержание биохимических показателей ПОЛ в сыворотке крови сеголеток радужной форели, инфицированных IPNV, (контроль – 100 %); достоверно относительно контроля; $P \leq 0,05$.

Так, в начальный период заболевания установлено увеличение ДК на 33 % относительно контроля. В середине инфекционного периода выявлено снижение ДК на 12 % а в конце – повышение на 49 % относительно контрольных значений. Следует отметить, что в начальный период вирусного поражения в сыворотке крови рыб установлено снижение МДА на 22 % относительно контрольного показателя, и в отличие от показателей диеновых конъюгатов, в дальнейшем повышение содержания малонового диальдегида происходило более интенсивно. В частности, в середине инфекционного периода на 76 %, а в конце на 2,4 раза соответственно относительно контрольных показателей. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей, показавших изменение (повышение и понижение) отдельных ферментов у рыб, обитающих в условиях антропогенной нагрузки и в опытах [4, 9]. Накопление избытка одного из конечных молекулярных продуктов перекисного образования (МДА) указывает на то, что длительное воздействие вируса IPN приводит к сдвигу окислительно-восстановительного баланса, нарушению регуляции процессов перекисного окисления липидов и окислительному стрессу, свидетельствуя об ответной защитной реакции организма на физиолого-биохимическом уровне на действие стрессорного неспецифического для организма фактора.

В антиоксидантной системе защиты, которая контролирует и блокирует все этапы свободнорадикальных реакций, начиная от их инициации и заканчивая образованием гидроперекисей и малонового диальдегида, также относят ферменты: антиоксидантной защиты: СОД, каталазу, глутатионредуктазу, глутатионпероксидазу и глутатионтрансферазу, а также низко- и высокомолекулярные соединения, которые содержат тиольные- и селеногруппы, в частности цистеин, цистин, глутатион витамины Е, С и другие. [10, 11].

СОД является важным регулятором окислительного гомеостаза клетки, одним из компонентов физиологической антиоксидантной системы защиты организма, роль которой становится значимой при различных свободнорадикальных патологических состояниях [12, 13]. Фермент катализирует реакцию обезвреживания супероксидных радикалов (O_2^{\bullet}) путем их дисмутации с образованием менее реакционно способных молекул перекиси водорода и синглетного кислорода [12, 14]. СОД единственная среди наиболее активных антиоксидантных ферментов непосредственно обеспечивает блокировку цепей оксиген-зависимых свободнорадикальных реакций в клетках.

Учитывая современные представления о ведущей роли СОД, в метаболизме активных форм кислорода и существенный вклад супероксидных радикалов в индукцию и развитие оксидативного стресса, нами проводились исследования активности цитоплазматической – СОД в сыворотке крови инфицированной вирусом IPN сеголеток радужной форели.

В условиях нашего эксперимента в сыворотке крови исследуемого вида рыб, инфицированных вирусом IPN, был установлен рост супероксиддисмутазной активности в начале вирусного поражения рыб на 6 % по сравнению с контрольным показателем, свидетельствующий об эффективности энзиматической системы защиты для поддержания окислительно – антиоксидантного гомеостаза в ответ на усиленную генерацию активных форм кислорода. Полученные результаты коррелируют с результатами соответствующих исследователей, установивших закономерности изменений в активности данного фермента в крови клинически здоровых двухлеток карпа и их аналогов, пораженных ассоциированной формой краснухи [13, 15].

Данные повышения активности СОД на начальном этапе инфицирования можно расценивать как реакцию антиоксидантной системы в ответ на увеличение в клетках концентрации супероксидного анион радикала, поскольку известно, что изменение активности СОД тесно связано с содержанием O_2^- .

Известно, что биосинтез внутриклеточных ферментов антиоксидантной системы является генетически детерминированным, а обусловленное действием стрессового фактора рост концентрации активных форм кислорода приводит к прямому нарушению структурной организации молекулы ДНК и, как следствие, к активации транскрипции ряда генов, среди которых и гены отдельных компонентов антиоксидантной системы. Подобный принцип регуляции наиболее детально исследован на бактериальных клетках [14].

Определение активности СОД в сыворотке крови форели в середине и конце инфекционного периода показало снижение активности СОД на 11 и 17 % соответственно относительно контрольных значений.

Подобная динамика активности СОД в условиях нашего эксперимента может быть объяснена регуляторными эффекторами проявления активности этого фермента. Регуляция активности СОД осуществляется всей многокомпонентной редокс-системой клетки. Интермедиаты окислительно-восстановительного метаболизма (NADPH-зависимые редокс-цепи митохондрий, эндоплазматического ретикулума), которые

являются генераторами $O_2^{\cdot -}$, могут выполнять двойную роль: активировать синтез энзима в условиях роста концентрации доноров электронов или подавлять его активность в случае накопления акцепторов [12, 14].

Таким образом, полученные результаты указывают, что при действии вируса инфекционного панкреатического некроза IPN сеголеток радужной форели происходит нарушение в функционировании фермента супероксиддисмутазы – важного звена антиоксидантной защиты организма, которое обеспечивает регуляцию свободнорадикальных процессов клеточного метаболизма. Снижение активности СОД в сыворотке крови исследуемого вида рыб можно рассматривать как проявление определенного истощения антиоксидантной системы защиты организма вследствие постепенного повреждения ее компонентов свободными радикалами и продуктами ПОЛ [12].

Ведущая роль в защите клеток от окислительной нагрузки принадлежит каталазе, которая утилизирует перекись водорода (H_2O_2), а ее активность указывает на значимый вклад в развитие перекисных процессов в организме. Исследование активности каталазы в сыворотке крови сеголеток радужной форели в условиях инфицирования вирусом IPN показали существенные отличия от контрольных значений. Так, установлено повышение ферментативной активности каталазы в сыворотке крови форели – в начальный период на 4 % от контрольных значений, в середине инфицированного периода на 5 %, а в конце активность фермента была выше контрольного показателя на 24 %, что свидетельствует об интенсификации процесса образования в сыворотке крови перекиси водорода, чрезмерную активацию свободнорадикальных реакций, связанную с накоплением перекисных продуктов.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при развитии вирусной инфекции происходит накопление продуктов перекисации в сыворотке крови радужной форели и, как следствие, увеличивается содержание свободнорадикальных соединений, что в свою очередь приводит к стрессу и развитию патологического процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Б а р а б о й, В. А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы / В. А. Барабой – К: Фитоцентр, – 2006. – 424 с.
2. Б е л е н і ч е в, І. Ф. Антиоксидантна система захисту організму / І. Ф. Беленічев, Е. Л. Левицький, Ю. Л. Губський // Сучасні проблеми токсикології – 2002. – № 3. – С. 25–30.
3. В л а д и м и р о в, Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М.: Наука, – 1972. – 252 с.

4. Головина, Н. А. Ихтиопатология / Н. А. Головина, О. Н. Бауер. – М: Мир, – 2007. – 448 с.
5. Драган, Л. П. Влияние вируса инфекционного панкреатического некроза на процессы перекисного окисления липидов в печени рыб / Л. П. Драган // Материалы Международной конференции «Актуальные вопросы рыбного хозяйства и аквакультуры бассейнов южных морей России» Ростов на Дону, – 2014. – С. 28–31.
6. Драган, Л. П. Состояние антиоксидантной системы карпа (*Cyprinus carpio*) при инфицировании вирусом весенней виремии / Л. П. Драган, Н. Н. Матвиенко // Международный научно-исследовательский журнал. – Екатеринбург, – 2014. – № 6 (25). – Ч. 1. – С. 26–27.
7. Дубинина, Е. Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов / Е. Е. Дубинина, Л. Ф. Сальникова // Лабораторное дело. – 1983. – № 10 – С. 30–33.
8. Зенков, Н. К. Окислительный стресс. Биохимический и патологический аспекты / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньшикова. – М.: МАИК, – 2001. – 343 с.
9. Корабейникова, С. Н. Модификация выделения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с ТБК / С. Н. Корабейникова // Лабораторное дело. – 1989. – № 7. – С. 8–9.
10. Королюк, М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаборное дело. – 1988. – № 1 – С. 16–18.
11. Петрова, Г. В. Витамин Е и апоптоз / Г. В. Петрова, А. А. Капралов, Г. В. Доценко // Укр. біохім.журн. – 2003. – Т. 75. – № 6. – С. 25–34.
12. Рецкий, М. И. Значение антиоксидантного статуса в адаптивной гетерогенности и иммунологической резистентности животных / М. И. Рецкий, В. С. Бузлама, А. Г. Шахов // Ветеринарная патология. – 2003. – № 2. – С. 63–65.
13. Стальная, И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, – 1977. – С. 63–64.
14. Тушницька, Н. Й. Імунний статус коропа при захворюванні асоційованою формою краснухи / Н. Й. Тушницька, Н. М. Матвієнко, В. Г. Янович // Біологія тварин. – 2006. – Т. 8. – № 1–2. – С. 251–254.
15. Ahne, W. Studies on the transmission of infectious pancreatic necrosis virus via eyed eggs and sexual products of salmonid fish / W. Ahne, R. D. Negele // In: Ellis, A.E. (Ed.), Fish and Shellfish Pathology. London: Academic Press, – 1985. – P. 262–270.

УДК 636.087.7:636.087.416

СТИМУЛЯЦИЯ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ РЕМОНТНОГО МОЛОДНЯКА КУР ПРИРОДНОЙ АМИНОКИСЛОТОЙ

И. Б. ИЗМАЙЛОВИЧ

УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Горки, Могилевская обл., Республика Беларусь, 213407

М. В. ЛИС

«Университет сельского хозяйства в Кракове»,
г. Краков, Польша, 30-059

(Поступила в редакцию 31.01.2015)