

ОЦЕНКА РОЛИ АМИНОТРАНСФЕРАЗ В ФОРМИРОВАНИИ ПРОДУКТИВНОСТИ У КУР-НЕСУШЕК

Т.И. СЕРЕДА, М.А. ДЕРХО

Известно, что с участием ферментных систем реализуется наследственная информация в онтогенезе, поддерживается гомеостаз, обеспечивается регуляция роста и развития, формирование продуктивных качеств. Однако исследования ферментов в тканях и органах сельскохозяйственной птицы немногочисленны. Наиболее перспективными для оценки физиологического состояния особи и яичной продуктивности представляются системы аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспаргатаминотрансферазы (АсАТ). В доступной нам литературе мы не нашли сведений об особенностях влияния возраста, срока продуктивного использования и яичной продуктивности на соотношение активности АсАТ и АлАТ в крови и тканях разных органов у кур. В этой связи мы изучили динамику активности аминотрансфераз в крови и клетках печени, сердца и почек у кур-несушек кросса Ломан белый из промышленного стада (ОАО «Челябинская птицефабрика», 2011 год) в течение периода яйцекладки. Установлено, что изменения показателей активности аминотрансфераз и их соотношения в тканях и органах даже в пределах физиологической нормы представляют собой следствие метаболических сдвигов в обменных процессах. При этом каталитическая активность АлАТ, АсАТ и ее соотношение в сыворотке крови несушек, во-первых, взаимосвязаны с внутриклеточным содержанием ферментов в печени, сердце и почках, во-вторых, отражают интенсивность и направленность превращений аминокислот в клетках организма, в-третьих, характеризуют скорость выхода ферментов из клеток в кровь и, в-четвертых, сопряжены с величиной яичной продуктивности. Содержание АсАТ и АлАТ в гепатоцитах и скорость выхода аминотрансфераз из клеток в кровь при физиологической регенерации в наибольшей степени влияют на содержание ферментов в крови кур и, как следствие, на метаболические превращения аминокислот в организме птицы, что сказывается на ее яичной продуктивности.

Ключевые слова: аминотрансферазы, кровь, органы, куры, продуктивность.

Ферментные системы играют важную роль в регуляции и интеграции процессов жизнедеятельности у животных и птиц. С участием ферментных систем реализуется наследственная информация в онтогенезе, поддерживается гомеостаз, обеспечивается регуляция роста и развития, формирования продуктивных качеств. Поэтому показатели функциональной активности ферментных систем используют для оценки хозяйственно полезных признаков и прогнозирования продуктивности животных, характеристики состояния обмена веществ, механизмов адаптации к действию эндогенных и экзогенных факторов (1-8). Однако эти сведения в основном получены для различных пород крупного и мелкого рогатого скота, свиней. Работ же, в которых исследовались бы ферментные системы тканей и органов у сельскохозяйственной птицы, очень мало. Исключение составляют данные об использовании ферментов крови в оценке пищевых качеств яиц (6), скорости роста и сохранности цыплят (1, 4, 5).

Из ферментов крови наиболее перспективными для оценки физиологического состояния и яичной продуктивности птицы представляются аспаргатаминотрансфераза (КФ.2.6.1.1; L-аспартат:2-оксоглутарат аминотрансфераза, АсАТ) и аланинаминотрансфераза (КФ.2.6.1.2; L-аланин:2-оксоглутарат аминотрансфераза, АлАТ), катализирующие реакции переаминирования (взаимное превращение аминокислот и α -кетокислот посредством переноса аминогруппы) (9, 10). Активность названных ферментов у птицы определяется не только влиянием факторов внешней и внутренней среды клетки (рН, концентрация субстратов, наличие активаторов и ингибиторов, изменение проницаемости мембран, скорость биосинтеза и деградации ферментного белка и др.), но и степенью влияния биологических и технологических факторов (возраст, кросс птиц, тип кормления, репродук-

тивные периоды и др.). Однако в доступной нам литературе мы не нашли сведений об особенностях влияния возраста, срока репродуктивного периода и яичной продуктивности на соотношение АсАТ и АлАТ в крови и тканях разных органов у кур.

В связи с этим целью нашей работы стало изучение активности ферментов переаминирования в крови и органах у кур в зависимости от яйценоскости и периода продуктивного использования.

Методика. Объектом исследований в научно-производственном опыте (ОАО «Челябинская птицефабрика», Челябинская обл., 2011 год) были куры-несушки из промышленного стада (кросс Ломанн белый), в течение периода яйцекладки, которых содержали в основных производственных корпусах, оборудованных клеточными батареями. Условия кормления (полнорационные кормосмеси, изготавливаемые в кормоцехе предприятия) и содержания (поддержание микроклимата в помещениях) соответствовали рекомендациям по работе с указанным кроссом. Из аминокислот в составе кормосмеси нормировали содержание следующих аминокислот (в расчете на 100 г комбикорма): лизин — 0,88, метионин + цистин — 0,65 и треонин — 0,63 г (для 26-недельных несушек); лизин — 0,70 г, метионин + цистин — 0,63 г и треонин — 0,60 г (для 52-недельных); лизин — 0,70 г, метионин + цистин — 0,55 г и треонин — 0,53 г (для 80-недельных несушек). На базе промышленного стада по принципу приближенных аналогов сформировали опытную группу. Из нее на 26-ю, 52-ю и 80-ю нед яйцекладки отбирали по 6 особей, от которых после декапитации брали биологический материал для определения биохимических показателей.

После декапитации кровь собирали в пробирки, подвергали центрифугированию при 3000 об/мин в течение 15 мин и получали сыворотку, в которой определяли общий белок, мочевины, активность АсАТ и АлАТ с помощью наборов реактивов «Клини-тест» («ЭкоСервис», Россия). Извлеченные органы (печень, сердце, почки) помещали в охлажденную льдом фарфоровую чашку, отмывали от крови физиологическим раствором и тщательно измельчали. К 1 г ткани медленно при перемешивании добавляли охлажденную среду выделения (0,005 н. Трис-НСl, 0,1 н. КСl, рН 7,4): для сердца и почек — в соотношении 1:50, для печени — 1:100. Полученную суспензию центрифугировали при 4500 об/мин 10 мин при 3-4 °С. В супернатанте определяли активность АсАТ и АлАТ при помощи стандартных наборов реактивов «Клини-тест» (в ряде случаев показатели выражали в расчете на 1 г ткани).

Для оценки взаимосвязи между активностью аминотрансфераз в крови и клетках органов определяли соотношение между показателями по формуле: $KФР = (\Phi_{\text{крови}}/\Phi_{\text{органа}}) \cdot 100$, где КФР — коэффициент физиологической регенерации, усл. ед.; $\Phi_{\text{крови}}$ — активность ферментов в сыворотке крови, $\text{мкмоль} \cdot \text{ч}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$; $\Phi_{\text{органа}}$ — активность ферментов в расчете на 1 г ткани органа, $\text{мкмоль} \cdot \text{ч}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{г}^{-1}$; 100 — нормализующий коэффициент.

Продуктивность кур рассчитывали как процент в целом по промышленному стаду за 1 нед, соответствующую исследованию образцов крови и органов (26-я, 52-я и 80-я нед).

Экспериментальный цифровой материал был подвергнут статистической обработке с использованием программы Microsoft Excel. Достоверность различий между группами оценивали с учетом *t*-критерия Стьюдента в соответствии с общепринятой методикой (11).

Результаты. Мы установили, что яичная продуктивность несушек в период использования постепенно снижалась — с 97 % (26-я нед) до 82 % (80-я нед). Это сопровождалось постепенным увеличением концентрации

мочевины в сыворотке крови кур на фоне недостоверного колебания концентрации общего белка. В то же время величина соотношения общий белок/мочевина постоянно уменьшалась — с $13,47 \pm 0,62$ усл. ед. на 26-ю нед репродуктивного периода до $9,85 \pm 0,64$ усл. ед. на 80-ю нед. Следовательно, в течение продуктивного использования в белковом обмене у кур постепенно начинают превалировать катаболические процессы, что снижает степень усвоения азота свободных аминокислот и, соответственно, отражается на активности и соотношении ферментов переаминирования и показателей яйценоскости (табл. 1).

1. Биохимические показатели крови у кур-несушек кросса Ломани белый в период продуктивного использования ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, $n = 6$, ОАО «Челябинская птицефабрика», Челябинская обл., 2011 год)

Показатель	26-я нед	52-я нед	80-я нед
Общий белок, г/л	$37,20 \pm 4,63$	$42,00 \pm 4,38$	$39,60 \pm 4,57$
Мочевина, ммоль/л	$2,76 \pm 0,18$	$3,35 \pm 0,31$	$4,03 \pm 0,11^*$
Общий белок/мочевина, усл. ед.	$13,47 \pm 0,62$	$12,53 \pm 0,71$	$9,85 \pm 0,64^*$
АлАТ, мкмоль · ч ⁻¹ · мл ⁻¹	$0,09 \pm 0,02$	$0,06 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,01^*$
АсАТ, мкмоль · ч ⁻¹ · мл ⁻¹	$1,06 \pm 0,04$	$0,92 \pm 0,04$	$0,76 \pm 0,08^*$
Коэффициент де Ритиса	$11,78 \pm 0,23$	$15,16 \pm 0,44$	$19,75 \pm 0,28^*$
Продуктивность по стаду, %	97,0	95,0	82,0

Примечание. АлАТ — аланинаминотрансфераза, АсАТ — аспартатаминотрансфераза.

* $p < 0,05$ по отношению к 26-й нед.

Так, в течение репродуктивного периода активность аминотрансфераз в сыворотке крови постепенно снижалась. Однако во все исследованные сроки у АсАТ она была выше, чем у АлАТ в десятки раз, о чем свидетельствовали значения коэффициента де Ритиса (табл. 1). Можно предположить, что, во-первых, реакции переаминирования с участием аланина, катализируемые АлАТ, в обмене аминокислот у кур играют менее важную роль, чем протекающие с участием АсАТ. На наш взгляд, это не случайно. Фермент АсАТ занимает центральное место в метаболизме, обеспечивая субстратами цикл трикарбоновых кислот, и, соответственно, участвует в регуляции образования энергии в процессах окислительного фосфорилирования (9, 10, 12). Иными словами, АсАТ служит маркером интенсивности катаболического вектора в обмене веществ. Во-вторых, преобладание активности АсАТ над АлАТ максимально проявлялось в конце периода яйцекладки, что подтверждает ранее сделанный нами вывод о том, что к 80-й нед репродуктивного периода в аминокислотном обмене у несушек преобладает катаболический тип, с чем, вероятно, связано снижение яичной продуктивности.

При оценке сопряженности между активностью аминотрансфераз в органах (печень, почки, сердце) и в крови мы установили следующие особенности (табл. 2). Во-первых, в образцах ткани печени и почек преобладала активность АлАТ, сердца — АсАТ. Во-вторых, максимальное количество аминотрансфераз обнаружили в печени, поскольку этот орган у несушек, как и других сельскохозяйственных животных, занимает центральное место в обмене веществ, особенно в продуктивный период. В печени синтезируются белковые компоненты, которые поступают в кровь, а затем используются при формировании химической структуры яйца. В-третьих, активность АлАТ в клетках печени и почек изменялась волнообразно с максимумом на 52-ю нед яйцекладки, сердца — возрастала от начала к концу репродуктивного периода. Активность АсАТ независимо от органа в течение периода яйцекладки постоянно (хотя и недостоверно) снижалась, что влияло на значения коэффициента де Ритиса. При этом максимальные показатели соответствовали 26-й и 52-й нед репродуктивного перио-

да, когда яйценоскость кур была наивысшей (табл. 2).

2. Активность аминотрансфераз ($\text{мкмоль} \cdot \text{ч}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{г}^{-1}$) в органах у кур-несушек кросса Ломанн белый в период продуктивного использования ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$, $n = 6$, ОАО «Челябинская птицефабрика», Челябинская обл., 2011 год)

Орган	Показатель	26-я нед	52-я нед	80-я нед
Печень	АлАТ	23,40±0,38	26,10±0,20	19,00±0,29*
	АсАТ	8,80±0,17	8,20±0,34	7,52±0,33*
	Коэффициент де Ритиса	0,38±0,04	0,31±0,04*	0,40±0,03
Сердце	АлАТ	0,82±0,02	0,86±0,09*	1,18±0,05*
	АсАТ	2,20±0,28	2,02±0,15	1,92±0,12
	Коэффициент де Ритиса	2,68±0,17	2,35±0,19	1,62±0,17*
Почки	АлАТ	3,80±0,35	4,28±0,16*	3,80±0,35
	АсАТ	3,20±0,23	3,00±0,20	2,71±0,29
	Коэффициент де Ритиса	0,84±0,05	0,70±0,03	0,71±0,03

Примечание. АлАТ — аланинаминотрансфераза, АсАТ — аспаратаминотрансфераза (активность определяли в супернатанте тканевой суспензии и выражали в расчете на 1 г образца ткани).

* $p < 0,05$ по отношению к 26-й нед.

Следовательно, снижение активности аминотрансфераз в сыворотке крови несушек в течение репродуктивного периода происходило из-за изменения их содержания в клетках исследованных органов, что сказалось на интенсивности внутриклеточного обмена аминокислот и белков, а также на яичной продуктивности. При этом в клетках печени к концу периода яйцекладки формировался катаболический тип обмена белков, тогда как в клетках сердца и почек — анаболический. Об этом свидетельствовала динамика значений коэффициентов де Ритиса. Можно заключить, что состоянии обменных процессов в гепатоцитах в наибольшей степени определяет направленность биохимических превращений аминокислот в организме и, в конечном счете, влияет на яичную продуктивность.

Для того чтобы проверить подобный вывод, мы попытались оценить характер взаимосвязи между активностью аминотрансфераз в клетках печени, сердца, почек и в сыворотке крови у кур-несушек в течение периода продуктивного использования. При этом мы исходили из того, что АсАТ и АлАТ появляются в крови в результате физиологической регенерации клеток в органах и тканях (9, 13-16), активность которой оценивали с помощью КФР, отражающего соотношение между активностью аминотрансфераз в крови и клетках органов и характеризующего скорость выхода ферментов в кровь в процессе регенерации (табл. 3).

3. Динамика значений коэффициента физиологической регенерации у кур-несушек кросса Ломанн белый в период продуктивного использования ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$, $n = 6$, ОАО «Челябинская птицефабрика», Челябинская обл., 2011 год)

Орган	Фермент	26-я	52-я	80-я
Печень	АлАТ	0,38±0,03	0,22±0,03*	0,21±0,03*
	АсАТ	12,04±0,30	10,21±0,41	10,11±0,36
Сердце	АлАТ	10,97±0,38	6,97±0,23*	3,38±0,26*
	АсАТ	48,18±0,32	45,54±1,25	39,58±0,53
Почки	АлАТ	2,36±0,17	1,40±0,15*	1,05±0,04*
	АсАТ	33,12±0,28	30,67±0,26	28,04±0,61

Примечание. Коэффициент физиологической регенерации рассчитывали на основании соотношения активности ферментов в крови и в тканях исследуемых органов. АлАТ — аланинаминотрансфераза, АсАТ — аспаратаминотрансфераза.

* $p < 0,05$ по отношению к 26-й нед.

Анализ значений КФР позволил выявить следующие закономерности. Наибольшие значения КФР для печени, сердца и почек отмечали в начале яйцекладки (26-я нед), наименьшие — в конце (80-я нед). Значит, в начале репродуктивного периода на фоне наивысшей яйценоскости мак-

симильная активность аминотрансфераз в сыворотке крови поддерживалась за счет большей скорости физиологической регенерации клеток. В конце периода продуктивного использования снижение ферментативной активности в сыворотке крови сопровождалось уменьшением скорости физиологической регенерации клеток. Следовательно, продуктивность несушек в период интенсивной яйцекладки (26-я и 52-я нед) обеспечивается высокой активностью белкового обмена (в первую очередь, в клетках печени), имеющего преимущественно анаболический профиль. Это возможно благодаря большому количеству митохондрий в клетках органов (4, 5), содержащих аминотрансферазы, что и определяет активность последних в супернатантах суспензий, полученных из тканей печени, сердца и почек. В этих условиях клетки органов и находящиеся в них каталитические белки имеют более короткий период полужизни.

К концу репродуктивного периода скорость физиологической регенерации клеток в органах уменьшается, что сопровождается изменением не только клеточной активности и соотношения аминотрансфераз, но и скорости их высвобождения в кровь. Возможно, одной из причин служит удлинение времени жизни каталитических белков за счет более длительной деполимеризации белковых молекул (10).

Минимальное соотношение между активностью ферментов в клетках органов и в крови было характерно для печени. Следовательно, печень служит основным источником пополнения пула аминотрансфераз в крови у кур-несушек. Каталитическая активность и соотношение ферментов в гепатоцитах определяет интенсивность превращений аминокислот не только в органе, но и в организме птицы в целом, что сказывается на ее яичной продуктивности.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что у кур-несушек изменение активности и соотношения аминотрансфераз в тканях и органах даже в пределах физиологической нормы происходит вследствие метаболических сдвигов в обменных процессах. При этом каталитическая активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и их соотношение в сыворотке крови, во-первых, взаимосвязаны с внутриклеточным содержанием ферментов в печени, сердце и почках; во-вторых, отражают интенсивность и направленность превращений аминокислот в клетках; в-третьих, характеризуют скорость выхода ферментов из клеток органов в кровь; в-четвертых, сопряжены с яичной продуктивностью. Содержание в гепатоцитах АсАТ и АлАТ и скорость их выхода из клеток в кровь при физиологической регенерации в наибольшей степени влияют на активность этих ферментов в крови кур, а также на интенсивность и направленность превращений аминокислот в организме птицы, что сказывается на яичной продуктивности.

ФГБОУ ВПО Уральская государственная академия ветеринарной медицины,
457105 Россия, Челябинская обл., г. Троицк, ул. Гагарина, 13,
e-mail: tvj_t@mail.ru

Поступила в редакцию
12 марта 2013 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2014, № 2, pp. 72-77

THE ROLE OF AMINOTRASFERASE ACTIVITY IN HEN PRODUCTIVITY

T.I. Sereda, M.A. Derkho

Ural State Academy of Veterinary Medicine, 13, ul. Gagarina, Troitsk, Chelyabinsk Province, 457105 Russia, e-mail tvj_t@mail.ru
Received March 12, 2013

doi: 10.15389/agrobiology.2014.2.72eng

Abstract

Enzymes are known to play the significant role in gene expression during ontogenesis, in maintenance of homeostasis and regulation of growth and development, and in productive traits. To estimate the physiological conditions and egg productivity in hens, the alanine and aspartate aminotransferases (AlAT and AsAT) activity is considered as the most adequate. Nevertheless, the investigations of fermentative status in tissues and organs of hens are limited, and particularly, the information on specific effects of the age, the stage of the oviposition period, and the egg productivity to AlAT and AsAT activity in hen blood and tissues was not found in the accessible literature. We studied the dynamics of AlAT and AsAT activity in blood, liver, heart and kidneys during egg laying (26, 52 and 80 weeks) in Lohmann White hens from commercial farm. It was shown the changes of activities and the ratio of AlAT and AsAT, even if the physiological variability is not exceeded, occur due to metabolic changes. There is the relationship between the catalytic activity of AlAT, AsAT, AlAT/AsAT ratio in blood serum and in liver, heart and kidneys cells. The functional parameters of AlAT and AsAT reflect both the intensiveness and specificity of amino acids metabolism in cells, and the rate of enzymes output from cells to blood, and also correlate with egg productivity. Thus, the amount of AlAT and AsAT in hepatocytes and the rate of aminotransferases output to blood during the physiological regeneration the mostly affect the AlAT and AsAT concentrations, ratio and activity in blood, which, in turn, determine the character of biochemical changes of amino acids in hens and, as a result, affect the egg production.

Keywords: aminotransferase, blood, organs, chickens, hens, productivity.

REFERENCES

1. Kolesnik E.A., Derkho M.A. *Agrarnyi vestnik Urala*, 2011, 3(82): 27-29.
2. Kochish I.I., Petrash M.G., Smirnov S.B. *Ptitsevodstvo*, 2010, 4: 34-35.
3. Kudrin A.G. *Fermenty krovi i prognozirovanie produktivnosti molochnogo skota* скота [Blood enzymes and productivity prediction in dairy cattle]. Michurinsk, 2006.
4. Mosyagin V.V. *Vliyaniye vozrasta i fiziologicheskogo sostoyaniya na aktivnost' fermentnykh sistem kletok, tkanei i organov zhivotnykh. Avtoreferat doktorskoi dissertatsii* [Influence of age and physiological status of animals on enzymatic activity in cells, tissues and organs. PhD Thesis]. Moscow, 2011.
5. Mosyagin V.V., Furman Yu.V., Maksimov V.I. *Biokhimiya aktivnogo transporta, metabolizma belka i energii v organizme ptits* [Biochemistry of active transport, protein metabolism, and energy in birds]. Kursk, 2009.
6. Nadinskaya M.Yu. *Gastroenterologiya*, 2006, 1: 12-16.
7. Nguen Tkhi Fyok Nuan. *Belki i aktivnost' aspartataminotferazy, shchelochnoi i kisloi fosfataz v syvorotke krovi kur raznykh linii krossa Belarus' 9 v ontogeneze. Kandidatskaya dissertatsiya* [Peptides and activity of acid aspartate aminotransferase, alkaline and acid phosphatases in blood serum of Belarus 9 cross hens during ontogenesis. PhD Thesis]. Moscow, 1984: 112-119.
8. Usha B.V., Belyakov I.M., Pushkarev R.P. *Klinicheskaya diagnostika vnutrennikh nezaraznykh boleznei zhivotnykh* [Clinical diagnostics of internal non-contagious diseases in animals]. Moscow, 2004.
9. Berezov T.T., Korovkin B.F. *Biologicheskaya khimiya* [Biochemistry]. Moscow, 2008.
10. Nagradova N.K., Muronets V.I. *Itogi nauki i tekhniki. Ser. Biol. khimiya. Tom 38* [The results of science and technologies. Ser. Biological chemistry. Vol. 38]. Moscow, 1991.
11. Rebrova O.Yu. *Statisticheskii analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA* [Statistical analysis in medicine. STATISTICA application package]. Moscow, 2002.
12. Khiggins K. *Rasshifrovka klinicheskikh laboratornykh analizov* /Pod red. V.L. Emmanuelya [Deciphering clinical analyzes. V.L. Emmanuel (ed.)]. Moscow, 2006.
13. Lazareva L.V. *Fundamental'nye issledovaniya*, 2007, 9: 72-74.
14. Lazareva L.V. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, 2003, 5: 40-42.
15. Saprunov D.A., Kvochko A.N., Krivoruchko A.Yu. *Agrarnyi vestnik Urala*, 2010, 2(68): 65-66.
16. Asmarian S., Rajaian H., Mortazavi P., Nazifi S., Ansari Lari M., Mehdinejad B., Hosseini R., Ashrafi A. Salinomycin toxicity in chickens: biochemical changes and treatment with hypertonic dextrose. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2010, 4(11): 5683-5688.