Аграрный вестник Урала, 2020, №4, P. 64-70
Published: April 1, 2020

Активность ферментов в тканях скелетных мышц у морских свинок под функциональной нагрузкой

Наталия Валерьевна Мардарьева
Кандидат биологических наук, доцент кафедры биотехнологий и переработки сельскохозяйственной продукции Чувашской государственной сельскохозяйственной академии. Чебоксары. Россия. ORCID 0000-0001-7863-7245. AuthorlD 377861; + 7 927 841-12-21, volga480@yandex.ru
Геннадий Анатольевич Ларионов
Доктор биологических наук, профессор кафедры биотехнологий и переработки сельскохозяйственной продукции Чувашской государственной сельскохозяйственной академии. Чебоксары. Россия. ORCID 0000-0001-6414-5995. AuthorlD 774230
Майя Генриховна Терентьева
Кандидат биологических наук, доцент кафедры биотехнологий и переработки сельскохозяйственной продукции. ORCID 0000-0001-5767-6720. AuthorlD 899208

Abstract

Исследование направлено на выявление характера и интенсивности возрастных изменений активности ферментов АсАТ и АлАТ в условиях прозериновой нагрузки в тканях трехглавой мышцы плеча, большой грудной мышцы, прямой мышцы живота, ягодичной и икроножной мышц у морских свинок, выращенных в условиях УНПЦ «Студенческий» ФГБОУ ВО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия». Методология и методы. Активность ферментов АсАТ и АлАТ определяли универсальным методом С. Рейтмана и С. Френкеля (1957) в модификации В. В. Меньшикова (1977) спектрофотометрическим методом в научной лаборатории Чувашской ТСХА. Статистическую достоверность определяли критерием Стьюдента по Р. Х. Тукшаитову (2001). Результаты и область применения: анализ изменений активности ферментов аспартат- и аланинаминотрансфераз свидетельствует о том. что при нагрузке путем введения прозерина в тканях скелетных мышц обнаруживаются закономерные изменения всех изучаемых показателей с определенными особенностями в зависимости от возраста животного и вида скелетной мышцы. Согласованность изменений изучаемых показателей у разновозрастных морских свинок проявляется в том. что в экспериментальных условиях выявляются увеличение в тканях скелетных мышц активности ферментов аланин- и аспартатаминотрансфераз. Научная новизна исследования заключается в том. что в условиях функциональной нагрузки

выявлено, что изменения активности данных ферментов связаны с ростом и развитием мышц в постнатальный период, в том числе и различными сменяющимися фазами совершенствования структурно-функциональной организации органов и организма в целом.

Keywords: аланинаминотрансфераза, «Прозерин», ягодичная и икроножная мышцы, морские свинки, аспартатаминотрансфераза, большая грудная мышца, трехглавая мышца плеча, прямая мышца живота

Постановка проблемы (Introduction)

Глубокие сдвиги в метаболизме и других функциях в организме, наступающие в течение его индивидуального развития, связаны с уровнем активности ферментных систем. В связи с этим изучение закономерностей становления и совершенствования ферментных систем и определение специфических путей обмена веществ становятся весьма актуальными [1, с. 2169], [2, с. 164].

Синтез ферментов подчинен генетическому контролю, и их уровень в организме контролируется наследственностью. Вместе с тем на уровень ферментов в крови и тканях органов животных влияют и многочисленные внешние факторы, в том числе особенности технологии выращивания. Ферменты являются наиболее информативным показателем здоровья животных. Количество ферментов свидетельствует о целостности клеток тканей организма в целом. Структурно-химическая перестройка мышц и их дифференцировка и специализация сопровождаются большими изменениями активности различных ферментов.

В научной литературе реже встречается одновременное изучение возрастных изменений активности ферментов мышц, чем таковое в тканях внутренних органов [3, с. 50], [4, с. 82], [5, с. 55], [6, с. 12], [7, с. 67], [8, с. 1226], [9, с. 7002], [10, с. 2], [11, с. 30], [12, с. 32].

По данным некоторых литературных источников можно сделать вывод, что изучения биохимического развития и структурно-функционального совершенствования мышц в постнатальный период у морских свинок очень малочисленны. Сведения о таких внутриклеточных ферментах, как аспартатаминотрансфераза (АсАТ) и аланинаминотрансфераза (АлАТ), в тканях скелетных мышц у морских свинок в постнатальном системогенезе под функциональной нагрузкой нами не выявлены.

Методология и методы исследования (Methods)

Исследования проведены на лабораторных морских свинках. Морские свинки содержались в условиях вивария УНПЦ «Студенческий» Чувашской ЧГСХА согласно всем

зоогигиеническим требованиям звероводческих ферм. Тип кормления лабораторных животных – комбинированный, с основными питательным веществами, витаминами, макро- и микроэлементами в соответствии рекомендуемым нормам, при соблюдении соответствующих зоотехнических и ветеринарных требований [13, с. 44], [14]. Животных разделили на две группы – контрольную и подопытную. Нами изучались активности ферментов АсАТ и АлАТ в тканях трехглавой мышцы плеча, большой грудной мышцы, прямой мышцы живота, ягодичной и икроножной мышц [10, с. 9], [15, с. 456], [16, с. 225], [17, с. 4706].

Функциональную нагрузку у новорожденных и физиологически зрелых животных проводили препаратом «Прозерин» для определения потенциальных возможностей функциональных систем организма. Опыты проводили по схеме: контрольным животным (6 голов в каждом возрастном сроке) вводили физиологический раствор в зависимости от возраста и массы, подопытным – «Прозерин» в дозе 0,5 мг на 1 кг массы животного. Для получения тканей мышц осуществляли убой через полчаса. При такой дозировке «Прозерина» можно пронаблюдать клиническую картину действия препарата. В каждом периоде функциональной нагрузки (30, 180 и 360 минут после введения «Прозерина») проводили убой животных по 6 голов. Все манипуляции, в том числе и эвтаназию, выполняли с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных [18]. Мышцы извлекали, очищали, промывали холодным физиологическим раствором, пробы замораживали в жидком азоте для дальнейших исследований. В гомогенатах тканей скелетных мышц определяли активности АсАТ и АлАТ колометрированием (КФК-2) и одновременно спектрофотометрированием (UV-1800) в научной лаборатории Чувашской ГСХА с использованием набора реагентов компании ОАО «Витал Девелопмен Корпорэйшн» (г. Санкт-Петербург) по общепринятым методикам.

Результаты (Results)

Нами определены активность ферментов АсАТ и АлАТ под функциональной нагрузкой (путем введения подкожно «Прозерина») в тканях вышеназванных мышц у новорожденных и физиологически зрелых морских свинок. Результаты исследований представлены в диаграммах.

В тканях трехглавой мышцы плеча (рис. 1) изменения активности ферментов в условиях прозериновой нагрузки у 6-суточных морских свинок наблюдается в 360-минутном периоде исследований (активность АлАТ повышается на 19,3 %, $p < 0,05$). Достоверное изменение активности АсАТ обнаруживается и во втором, и в третьем периодах (увеличиваются на 24,7 % и на 23,6 % соответственно, $p < 0,01$). Аналогичные изменения в таких же условиях происходят и у физиологически зрелых морских свинок (возраст – 2 месяца): активность АсАТ и АлАТ возрастает на 18,6 % и на 16,6 %, $p < 0,05$.

В тканях большой грудной мышцы (рис. 2) у 6-суточных морских свинок достоверные изменения активности изучаемых ферментов наблюдаются во всех трех периодах исследований. Активность АсАТ в 30 и 180 минут исследования повышается на 14,2 % ($p < 0,01$) и на 47,4 % ($p < 0,001$) соответственно, а в 360 минут изменения незначительны – на 26,2 % ($p < 0,001$). Аналогичные изменения активности АлАТ наблюдаются после всех периодов функциональной нагрузки: поднимается на 13,6 % после 30 минут действия препарата ($p < 0,05$), после 180- и 360-минутного действия – на 22,8 % ($p < 0,01$) и на 21,4 %, ($p < 0,01$) соответственно.

По сравнению молодыми у физиологически зрелых морских свинок (60 суток) значительные изменения под функциональной нагрузкой наблюдаются в первом периоде (после 30 минут действия препарата): активность АсАТ повышается на 32,0 % ($p < 0,001$). Во втором периоде (180 минут) достоверно возрастает активность АлАТ на 13,1 % ($p < 0,05$), активность АсАТ повышается на 25,4 % ($p < 0,01$). В третьем периоде опыта (360 минут) изменение данных показателей недостоверное.

Достоверные изменения активности АлАТ и АсАТ наблюдаются в тканях ягодичной мышцы (рис. 3) у 6-суточных молодых морских свинок только в последнем, 360-минутном, периоде исследований: увеличивается активность АлАТ на 14,8 % ($p < 0,05$), активность АсАТ – на 26,6 % ($p < 0,001$). Достоверное повышение АсАТ наблюдается и в 180-минутном периоде опыта, на 14,1 % ($p < 0,05$), но не существенно по сравнению с вторым периодом. У физиологически зрелых морских свинок (60 суток) достоверное увеличение изучаемых показателей определяется, наоборот, в начальном периоде исследований (30 минут после введения «Прозерина»): активность АсАТ – на 25,2 % ($p < 0,001$), активность АлАТ – на 16,8 % ($p < 0,05$). А в последующие

периоды исследований (180 и 360 минут) показатели активности данных ферментов приближаются к контрольному.

По сравнению с другими тканями исследуемых скелетных мышц в тканях икроножной мышцы (рис. 4) у молодых (6 суток) морских свинок активность ферментов достоверно повышаются только в 180-минутном периоде опыта: активность АсАТ – на 30,2 % ($p < 0,01$), активность АлАТ – на 22,5 % ($p < 0,01$). К концу опыта данные показатели доходят до контрольной позиции.

У физиологически зрелых морских свинок (60 суток) активность АсАТ и АлАТ находится в значимой степени и достоверно повышается лишь в 30-минутном действии препарата: на 26,1 % ($p < 0,05$) и на 18,8 % ($p < 0,05$) соответственно. К 360-минутному действию «Прозерина» активность данных ферментов приравниваются контрольным величинам.

В тканях прямой мышцы живота (рис. 5) в начальный и конечный периоды действия препарата у 6-суточных морских свинок активность фермента АсАТ в условиях нагрузки «Прозерином» достоверно возрастает на 14,1 % ($p < 0,05$) и на 31,6 % ($p < 0,001$) соответственно. Такое же повышение активности данного фермента наблюдается и у 60-суточных морских свинок в первом и во втором периодах опыта на 16,9 % ($p < 0,05$) и на 17,7 % ($p < 0,05$).

По сравнению с активностью АсАТ активность фермента АлАТ у 6-суточных морских свинок достоверно поднимается во втором периоде опыта (180 минут) на 15,7 % ($p < 0,05$) и более выраженно – в третьем периоде (360 минут) – на 23,8 % ($p < 0,01$). У физиологически зрелых морских свинок активность АлАТ достоверно возрастает в 30-минутном и 180-минутном действии препарата на 14,8 % ($p < 0,05$) и на 15,5 % ($p < 0,05$) соответственно. Третий период опыта показывает активность ферментов на контрольном уровне.

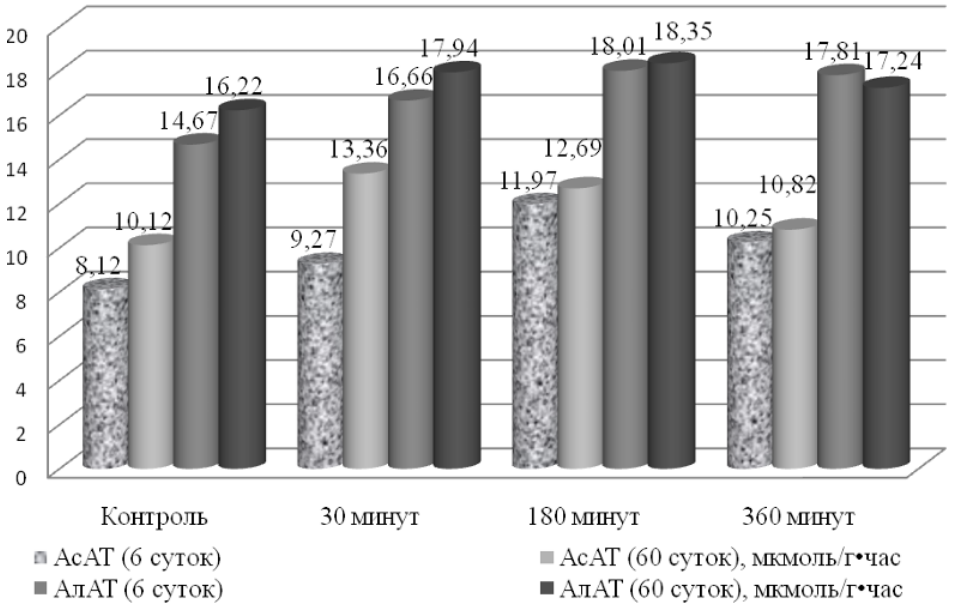

Рис. 1. Активность ферментов АсАТ и АлАТ в тканях большой грудной мышцы у 6- и 60-суточных морских свинок при введении «Прозерина»

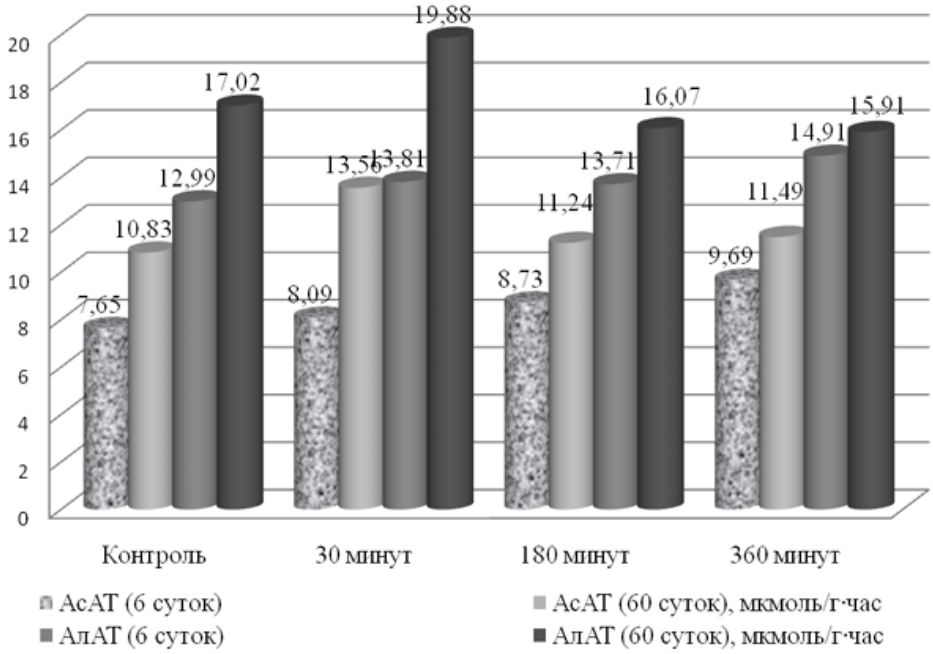

Рис. 2. Активность ферментов АсАТ и АлАТ в тканях ягодичной мышцы у 6- и 60-суточных морских свинок при введении «Прозерина»

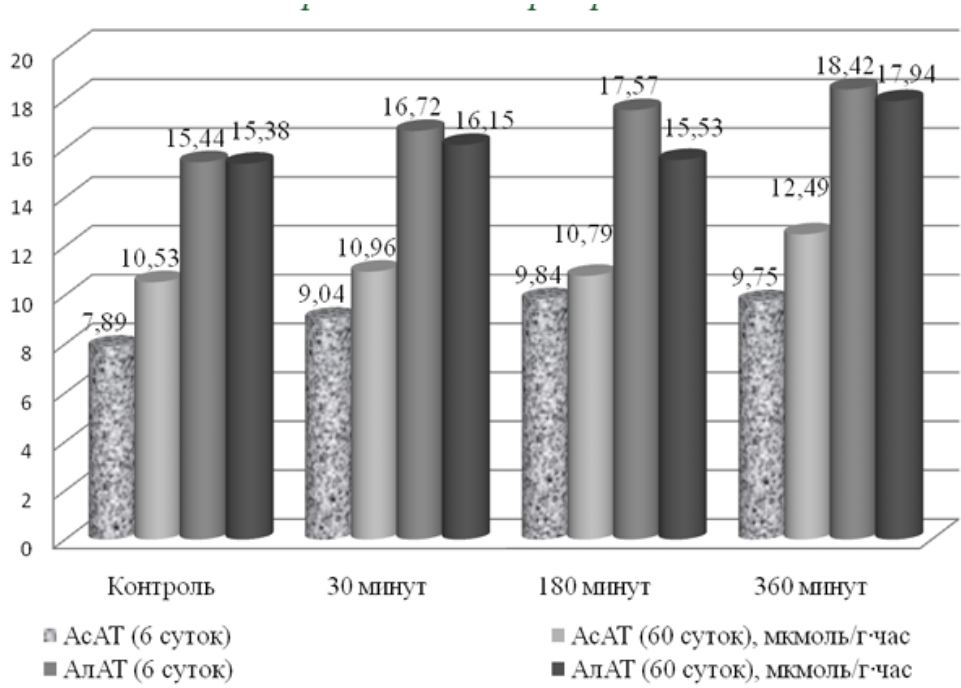

Рис. 3. Активность ферментов АсАТ и АлАТ в тканях трехглавой мышцы плеча у 6- и 60-суточных морских свинок при введении «Прозерина»

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Изучаемые показатели у молодых и взрослых морских свинок в условиях прозериновой нагрузки в разных скелетных мышцах имеют разные значения. Различия изменений проявляются в неодинаковой скорости развития, степени выражения и продолжительности реакции. У молодых (6 суток) морских свинок под прозеринивой нагрузкой показатели активности ферментов АсАТ и АлАТ в тканях исследуемых мышц увеличиваются со временем, достигая максимальных величин к концу опыта.

У физиологически зрелых (60 суток) морских свинок после нагрузки препаратом в тканях скелетных мышц значительные изменения активности ферментов АсАТ и АлАТ наблюдаются уже первый период (30 минут), после происходит возобновление со временем до контрольного уровня исходных величин. В некоторых скелетных мышцах выявляются отдельные

особенности в реакциях тканей (ферментов) на введение «Прозерина». Выраженные изменения активности ферментов наблюдаются в тканях большой грудной мышцы и прямой мышцы живота, а менее – в тканях ягодичной и икроножной мышц. Но характер и степень изменений активности ферментов в тканях трехглавой мышцы плеча у 6- и 60-суточных морских свинок в условиях нагрузки имеют одинаковые значения.

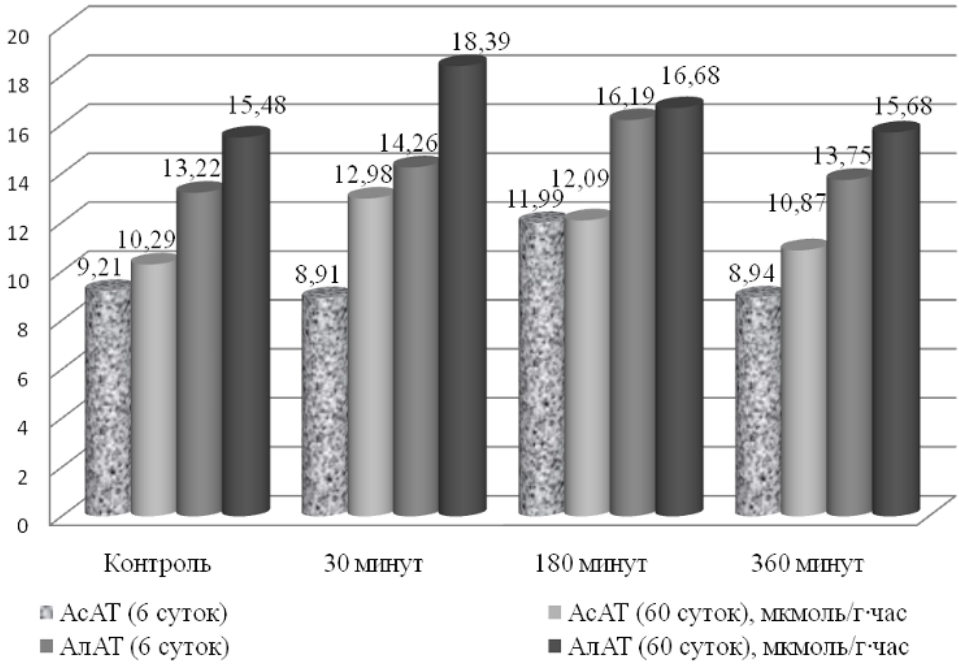

Рис. 4. Активность ферментов АсАТ и АлАТ в тканях икроножной мышцы у 6- и 60-суточных морских свинок при введении «Прозерина»

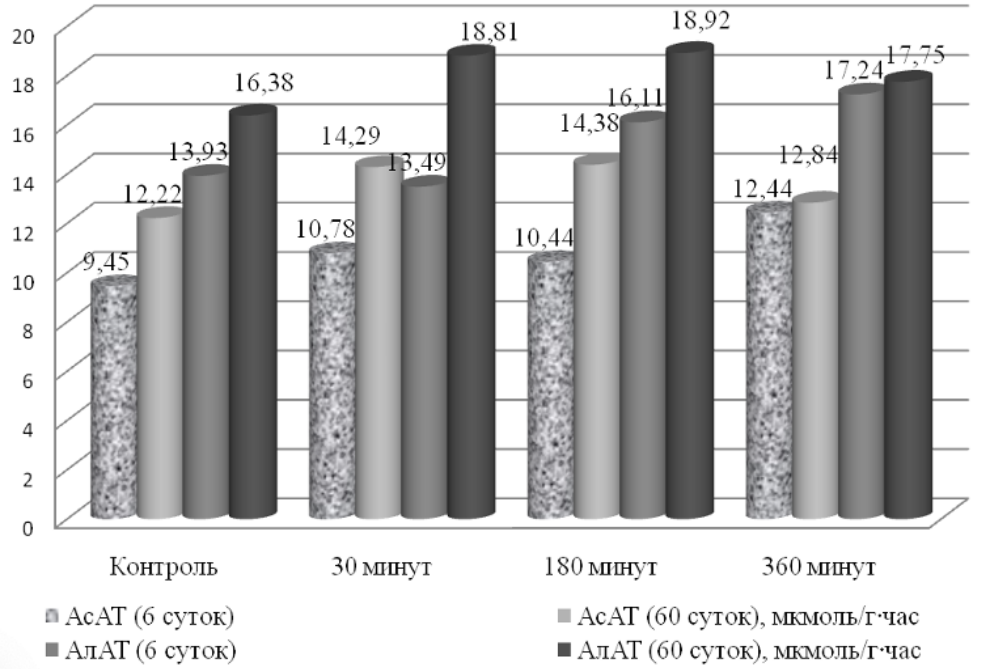

Рис. 5. Активность ферментов АсАТ и АлАТ в тканях прямой мышцы живота у 6- и 60-суточных морских свинок при введении «Прозерина»

Наши исследования подтверждают теорию системогенеза П. К. Анохина о том, что к моменту рождения функциональная система несовершенна и имеет более низкие функциональные возможности. Поэтапное совершенствование уже сформированных и действующих компонентов системы идет в процессе постнатального развития. Все приведенные данные настоящего исследования приводят к выводу о необходимости разностороннего подхода к использованию различных лекарственных препаратов, стимуляторов, модуляторов. Они обосновывают требования о необходимости учета функционального состояния отдельных тканей, органов и систем организма, а также возрастных особенностей животного.

Библиографический список

1. Судаков К. В. Развитие теории функциональных систем в научной школе П. К. Анохина // Вестник Международной академии наук. Русская секция. 2011. № 1. С. 1-5.

2. Крейк А. И. Ключевая идея теории функциональных систем П. К. Анохина // Материалы и методы инновационных исследований и разработок: сборник международной научно-практической конференции. Уфа. 2016. С. 164-166.
3. Силюкова А. Н.. Игнатьев Н. Г.. Ефремова Г. М. Фосфатазы и а-амилаза в тканях печени у крольчат в переходную и растительную фазы питания // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2016. № 1 (33). С. 50-55.
4. Игнатьев Н. Г.. Иванова А. Н. Активность фосфатаз и амилазы в тканях печени у крольчат при введении этанола // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. 2015. Т. 221. № 1. С. 82-85.
5. Игнатьев Н. Г.. Иванова А. И. Уровень трансфераз в тканях печени у разновозрастных крольчат при этаноловой нагрузке // Современное общество: проблемы, идеи, инновации. 2015. № 4. С. 55-59.
6. Игнатьев И. Г.. Терентьева М. Г. Активность гамма-глутамил трансферазы в тканях желудка у поросят // Аграрный вестник Урала. 2011. № 9 (88). С. 12-13.
7. Терентьева М. Г. Аминотрансферазы и фосфатазы прямой кишки у разновозрастных поросят // Аграрный вестник Урала. 2010. № 5 (71). С. 67-68.
8. Фисинин В. И.. Егоров И. А.. Вертипрахов В. Г.. Грозина А. А.. Ленкова Т. И.. Манукян В. А.. Егорова Т. А. Активность пищеварительных ферментов в дуоденальном химусе и плазме крови у исходных линий и гибридов мясных кур при использовании биологически активных добавок в рационе // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 6. С. 1226-1233. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.6.1226 rus.
9. Chamberlin W. G.. Middleton J. R.. Spain J. N.. Johnson G. C.. Ellersieck. Pithua P. Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows // Journal of Dairy Science American [Dairy Science Association]. Pp. 7002-7011. DOI: 10.3168/jds.2013-6901.
10. Bilski J.. Mazur-Bialy A.. Wojcik D.. Zahradnik-Bilska J.. Brzozowski B.. Magierowski M.. Mach T.. Magierowska K.. Brzozowski T. The Role of Intestinal Alkaline Phosphatase in

Inflammatory Disorders of Gastrointestinal Tract // Mediators of Inflammation. Pp. 1-9. DOI: 10.1155/2017/9074601.

11. Нестерова О. П.. Прокопьева М. В. Изменение активности аминотрансфераз в тканях желудка кроликов в онтогенезе // Естественные и технические науки. 2018. № 5 (119). С. 30-31.
12. Игнатьев И. Постнатальный период онтогенеза у свиней // Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2016. № 8. С. 32-36.
13. Ларионов Г. А.. Чеченешкина О. Ю.. Мардарьева И. В.. Щипцова И. В. // Российский журнал. Проблемы ветеринарной санитарии. гигиены и экологии. 2019. № 1 (29). С. 44-49. DOI: 10.25725/vet.san.hyg.ecol.201901007.
14. Гигиена содержания животных: учебник / А. Ф. Кузнецов. В. Г. Тюрин. В. Г. Семенов. В. Г. Софронов ; под ред. А. Ф. Кузнецова. Санкт-Петербург: Лань. 2017. 380 с.
15. Mardaryev A. N.. Mardaryeva N. V.. Larionov G. A.. Gordova V. S. Dynamics of Cbx7 Expression in the Epidermis after Wounding of the Skin // Russian Journal of Physiology. No. 4. Pp. 456-464. DOI: 10.1134/S0869813919040034.
16. Fawley J.. Gourlay D. M. Intestinal alkaline phosphatase: a summary of its role in clinical disease // Journal of Surgical Research. Pp. 225-234. DOI: 10.1016/j.jss.2015.12.008.
17. Schwartz-Zimmermann H. E.. Fruhmann P. Dänicke S.. Wiesenberger G. Caha S.. Weber J. Metabolism of Deoxynivalenol and Deepoxy-Deoxynivalenol in Broiler Chickens. Roosters and Turkeys // Toxins. 2015. Pp. 4706-4729. DOI: 10.3390/toxins7114706.
18. Правила проведения работе использованием экспериментальных животных: Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР № 775 от 12.03.1977 [Электронный ресурс] // Консорциум кодекс. Электронный фонд правовой и нормативно-технической документации. URL: http://docs.cntd.ru/document/456016716.