

УДК 591.1:636.92

**АКТИВНОСТЬ α -АМИЛАЗЫ И ФОСФАТАЗ
В ТКАНЯХ РАЗНЫХ ДОЛЕЙ ЛЕГКИХ У КРОЛЬЧАТ**

**ACTIVITY OF α -AMYLASE AND PHOSPHATASES
IN DIFFERENT PARTS OF LUNG TISSUES AT RABBITS**

Е. Б. Чеплашкина

E. B. Cheplashkina

*ФГБОУ ВПО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Чебоксары*

Аннотация. Проведены исследования по изучению характера и интенсивности возрастных изменений в тканях разных долей легких α -амилазы, кислой и щелочной фосфатаз у разновозрастных крольчат. Установлен фазный характер возрастных изменений активности ферментов в тканях разных долей легких. Выяснено, что наиболее интенсивные изменения активности изучаемых ферментов происходят в течение первого месяца жизни крольчат.

Abstract. The study on the nature and intensity of age-related changes of α -amylase, acid & alkaline phosphatases in different parts of lung tissues at the rabbits of various ages is carried out. The phase nature of age-related changes of enzyme activity in different tissues of lungs is determined. It has been revealed that the most intense activity of enzyme changes occur during the first month of life of the rabbits.

Ключевые слова: *активность ферментов, α -амилаза, кислая фосфатаза, кролики, легкие, щелочная фосфатаза.*

Keywords: *activity of enzymes, α -amylase, acid phosphatase, rabbits, lungs, alkaline phosphatase.*

Актуальность исследуемой проблемы. Крольчата рождаются с несовершенными по структуре и функциям легкими. После рождения детеныши усиленно растут и развиваются, одновременно с высокими темпами формируются и их легкие [3]. Вместе с тем каждая доля легких к моменту рождения крольчат по структурно-функциональному развитию неодинаковая. С возрастом у животных структура легких усложняется, функции органа меняются, что отражается на активности ферментов. По уровню ферментов определяют состояния обменных процессов в клетках и тканях, интенсивность формирования органов. В этой связи становится актуальной работа, раскрывающая функциональное состояние и функциональные возможности формирующихся органов крольчат при исследовании активности ферментов.

Каждый вид животного отличается своими особенностями возрастных изменений активности ферментов в тканях различных органов [4, 7]. Однако работы, посвященные изучению онтогенетических параметров ферментов в тканях легких, единичны [2].

Цель настоящего исследования – установление гомеостатических параметров ферментов α -амилазы, кислой и щелочной фосфатаз в долях легких разновозрастных крольчат породы серый великан, выращенных в естественных условиях фермерского хозяйства.

Материал и методика исследований. Для исследований использовали крольчат породы серый великан в возрасте 30, 45, 60, 90 и 120 суток по 5 голов в каждом возрасте, выращенных в обычных условиях фермерского хозяйства. Физиологические параметры крольчат отвечали параметрам соответствующего возраста. Для определения активности ферментов использовали набор реагентов ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн СПб.». Исследования проводились по инструкциям, разработанным этой компанией для каждого фермента. Крольчат натошак вводили в состояние общего наркоза. Эвтаназию и все манипуляции выполняли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» [6]. Вскрытие животных проводили по методу Шора [1]. Легкие взвешивали, из каждой доли легкого брали пробы тканей и для дальнейших исследований замораживали в жидком азоте. Цифровой материал исследований обработали методом вариационной статистики [8] с использованием программного комплекта «Microsoft Excel – 2007».

Результаты исследований и их обсуждение. Ферменты – это биокатализаторы обменных процессов в клетках и тканях органов. Ферментами, отражающими интенсивность обменных процессов в клетках и тканях органов, являются α -амилаза и фосфатазы. Фермент α -амилаза гидролизует α -1-4-гликозидные связи крахмала, гликогена и других углеводов. Он синтезируется у животных в слюнных и поджелудочных железах, с током крови распространяется в другие органы и обеспечивает в них амилолитические процессы. Фосфатазы – кислая (КФ) и щелочная (ЩФ) – катализируют реакцию расщепления сложноэфирных связей в моноэфирах фосфорной кислоты с образованием свободного ортофосфата. Они играют важную роль в клеточном метаболизме, участвуя в обмене углеводов, нуклеотидов и фосфолипидов.

У 30-суточных крольчат активность α -амилазы (мкмоль/г*ч) в тканях правой верхушечной доли легких определяется на уровне $13,3 \pm 0,14$. К 45-суточному возрасту она повышается в 2 раза ($p < 0,001$) – до $25,4 \pm 0,27$ – и в последующем держится на таком же уровне. В тканях правой сердечной доли активность исследуемого фермента составляет $16,7 \pm 0,35$. Через последующие пятнадцать суток жизни крольчат активность фермента увеличивается весьма существенно – на 32,4 % ($p < 0,001$) – и, дойдя до $22,1 \pm 0,84$, стабилизируется, как и в тканях правой верхушечной доли с 45-суточного возраста.

Подобные возрастные изменения активности α -амилазы происходят и в тканях других долей легких у изучаемых крольчат. В тканях правой диафрагменной доли у 30-суточных животных уровень α -амилазы определяется минимальной величиной – $17,1 \pm 0,24$. Через две недели жизни крольчат активность α -амилазы возрастает до $21,1 \pm 0,85$, т. е. на 23,3 % ($p < 0,01$). В тканях правой добавочной и левой сердечной долей легких у месячных животных активность фермента α -амилазы также самая минимальная: $12,0 \pm 0,16$ – у правой и $14,1 \pm 0,76$ – у левой. Через 15 последующих суток жизни крольчат она повышается в 2 ($p < 0,001$) и 1,6 раза ($p < 0,01$) соответственно и стабилизируется. В тканях левой диафрагменной доли, в отличие от тканей других долей легких, α -амилаза с возрастом крольчат достоверно не изменяется и колеблется от $28,4 \pm 0,96$ до $29,5 \pm 2,38$.

Следовательно, существенные и достоверные возрастные изменения активности α -амилазы в тканях разных долей легких у крольчат выявляются с 30-х по 45-е сутки их жизни, в фазу перехода от молочного типа питания на растительный тип. Это связано с изменением состава поступающей пищи и преобладанием в ней крахмала. В последующие сроки жизни крольчат, в фазу растительного типа питания, в тканях исследуемых долей легких α -амилаза стабилизируется. Судя по стабилизации возрастных величин ис-

следуемого фермента, активность α -амилазы, достигнув соответствующего стабильного уровня, обеспечивает необходимую скорость расщепления растительных углеводов у крольчат с 45-суточного возраста.

Полученные результаты исследований приведены в табл. 1.

Таблица 1

Активность ферментов (мкмоль/г*ч) в тканях разных долей легких у крольчат

Доли легких	Правая верхушечная	Правая сердечная	Правая диафрагменная	Правая добавочная	Левая сердечная	Левая диафрагменная	
α-амилаза							
Возраст, сутки	30	13,3±0,14	16,7±0,35	17,1±0,24	12,0±0,16	14,1±0,76	28,4±1,96
	45	25,4±0,27***	22,1±0,84***	21,1±0,85	24,4±0,64***	24,0±2,51***	29,5±2,38
	60	25,4±1,37	23,3±1,28	23,2±0,75	24,4±0,88	25,8±0,93	28,8±1,63
	90	26,1±2,39	25,6±1,14	19,6±1,49	22,6±1,37	28,4±1,74	28,9±2,27
	120	23,5±2,58	26,9±1,36	22,0±1,13	22,0±0,81	28,4±0,84***	28,5±1,97*
Щелочная фосфатаза							
Возраст, сутки	30	32,8±2,32	47,8±2,26	59,1±3,38	29,1±0,29	42,1±2,15	49,0±2,25
	45	62,1±3,54***	60,8±4,33**	64,9±3,17	61,1±3,53***	39,5±3,17	56,4±3,23
	60	59,4±2,37	55,5±3,35	59,8±2,22	57,9±2,32	41,6±3,47	51,0±2,32
	90	102,4±5,58***	97,3±5,35***	91,1±5,27***	98,6±5,38***	108,0±6,14	100,1±5,25***
	120	98,8±6,27	112,8±7,15	95,0±4,71	93,8±4,25	115,6±5,43	155,6±8,22***
Кислая фосфатаза							
Возраст, сутки	30	44,2 ±2,32	66,7±4,25	38,5±1,27	44,2±2,15	40,3±1,19	93,1±5,26
	45	72,3±3,13***	77,5±4,26	72,4±3,47***	58,1±2,25***	77,1±4,14***	96,3±4,66
	60	80,0±3,05	78,3±3,36	104,4±5,22***	59,8±3,14	73,2±3,53	71,1±3,26**
	90	80,8±4,23	79,1±2,27	98,8±4,56	52,5±1,36	71,5±4,28	72,4±2,11
	120	249,1±9,64***	187,2±9,25***	237,1±10,16***	179,5±7,84***	197,5±9,36***	190,4±10,3***

p<0,05*, p<0,01**, p<0,001*** – достоверность между возрастaми.

Вместе с тем интенсивность возрастных изменений активности α -амилазы в период с 30- по 45-суточный возраст жизни крольчат в тканях разных долей легких неодинаковая. Она наибольшая в тканях правой добавочной (100,0 %) и правой верхушечной (99,9 %) долей. Интенсивность возрастных изменений активности фермента в переходную фазу питания крольчат менее выражена в тканях правой сердечной (32,3 %) и правой диафрагменной (23,5 %) долей. Она наименьшая в тканях левой диафрагменной доли (3,8 %).

Активность ЩФ (мкмоль/г*ч) у месячных крольчат определяется на уровне 32,8±2,32. После 45 суток жизни крольчат данный фермент в тканях правой верхушечной доли легких повышается и достигает 62,1±3,54, что выше предыдущего возраста в

2,0 раза ($p < 0,001$), и до двухмесячного возраста не изменяется. Через 90 суток активность фермента с $59,4 \pm 2,37$ увеличивается в 5 раз ($p < 0,001$) и определяется величиной $102,4 \pm 5,58$. С трехмесячного возраста крольчат активность ЩФ в тканях правой верхушечной доли стабилизируется на относительно высоком уровне. Примерно такой же характер возрастных изменений ЩФ выявляется и в тканях правой сердечной доли: у месячных крольчат она определяется на уровне $47,8 \pm 2,26$; у 45-суточных уровень фермента поднимается до $60,8 \pm 4,33$, что выше предыдущего возраста в 1,3 раза ($p < 0,01$); к 60-суточному возрасту величина фермента снижается до $55,5 \pm 3,35$, т. е. на 8,9 % ($p > 0,05$); к 90-суточному возрасту активность фермента увеличивается в 2 раза ($p < 0,001$) и достигает $97,3 \pm 5,35$. Примерно на таком же уровне активность фермента сохраняется и у 120-суточных крольчат – $112,8 \pm 7,15$. В тканях правой диафрагмальной доли у 30-, 45- и 60-суточных крольчат активность фермента находится примерно на одинаковом уровне – соответственно $59,1 \pm 3,38$, $64,9 \pm 3,17$ и $50,8 \pm 2,22$. К трехмесячному возрасту активность ЩФ возрастает в 2 раза и стабилизируется. В тканях правой добавочной доли, так же как и в тканях правой верхушечной, активность ЩФ у месячных крольчат относительно невысокая и составляет $29,1 \pm 0,29$. К 45-суточному возрасту она существенно – в 2,1 раза ($p < 0,001$) – увеличивается и определяется на уровне $61,1 \pm 0,53$ и до двухмесячного возраста не изменяется. У 90-суточных крольчат активность α -амилазы выше, чем у крольчат предыдущих возрастов, в 2 раза ($p < 0,001$) и колеблется на уровне $98,6 \pm 5,38$. На таком же уровне активность фермента определяется и у 120-суточных крольчат. В тканях левой сердечной доли активность исследуемого фермента в течение двух месяцев жизни крольчат сохраняется на одинаковом уровне и колеблется от $39,5 \pm 3,17$ до $42,1 \pm 2,15$. К 90-суточному возрасту она увеличивается в 2,5 раза ($p < 0,001$) и достигает $108,0 \pm 6,14$ и в последующие 30 суток жизни крольчат не изменяется. Такая же закономерность возрастных изменений активности ЩФ, как и в тканях левой сердечной доли, выявляется и в тканях левой диафрагменной доли легкого. Она относительно невысокая и стабильная с 30-х по 60-е сутки жизни (колеблется от $49,0 \pm 2,25$ до $56,4 \pm 3,23$) и резко, более чем в 2 раза, повышается у трех- и четырехмесячных крольчат.

По полученным в ходе исследований результатам можно судить о том, что активность ЩФ в тканях долей легких у крольчат с 30- по 45-суточный возраст с переходом на растительный тип питания увеличивается. В течение последующих пятнадцати суток жизни крольчат до двухмесячного возраста, в фазу усиленного формирования внутренних органов и повышенной кислотности в тканях легких, активность ЩФ либо снижается, либо остается неизменной. У 90- и 120-суточных крольчат в фазу активного роста и развития в связи с преобладанием в тканях легких кислой среды активность ЩФ стабилизируется.

Наибольшая интенсивность возрастных изменений активности ЩФ наблюдается с 30- по 45-суточный возраст в тканях правой добавочной (109,9 %) и правой верхушечной (89,3 %) долей, с 90- по 120-суточный возраст она высокая в тканях левой сердечной доли (159,6 %) и левой диафрагменной доли (96,3 %). Низкая интенсивность возрастных изменений активности фермента выявляется в тканях правой диафрагменной доли с 30-х по 45-е сутки (9,8 %) и с 45- по 60-суточный возраст в тканях правой верхушечной (9,5 %), правой сердечной (9,1 %), правой диафрагменной (9,2 %), левой диафрагменной (9,6 %) долей. Наименьшая интенсивность возрастных изменений активности ЩФ отмечается в тканях правой диафрагменной (4,3 %) и правой добавочной (4,9 %) долей с 90-х по 120-е сутки жизни крольчат.

Активность КФ (мкмоль/г*ч) в тканях правой верхушечной доли легких у месячных крольчат находится на уровне ниже, чем у всех изучаемых возрастов – $44,2 \pm 2,32$. К 45-суточному возрасту она увеличивается в 1,8 раза ($p < 0,001$) и обозначается как $72,3 \pm 3,13$. Через 15 суток жизни крольчат активность фермента продолжает увеличиваться до $80,0 \pm 3,05$ и на таком же уровне определяется и у 90-суточных. К четырехмесячному возрасту активность КФ увеличивается в 3 раза ($p < 0,001$) и достигает максимальной величины – $249,1 \pm 9,64$. В тканях правой диафрагменной доли активность этой фосфатазы с возрастом постепенно увеличивается от $66,7 \pm 4,25$ до $187,2 \pm 9,25$. Активность фермента в тканях правой добавочной доли, так же как и в тканях правой верхушечной доли, в возрасте 30 суток наименьшая – $44,2 \pm 2,15$. Через 15 суток эта активность возрастает в 1,3 раза ($p < 0,001$) и достигает величины $58,1 \pm 2,25$ и в последующие 45 суток жизни крольчат не изменяется. К 120-суточному возрасту активность КФ увеличивается максимально, в 3,4 раза ($p < 0,001$), до $179,5 \pm 7,84$. Такая же закономерность отмечается в тканях левой сердечной доли крольчат. В возрасте 30 суток их жизни активность фермента наименьшая – $44,2 \pm 2,32$. С 45- по 90-суточный возраст она сохраняется на одном уровне. Активность КФ в тканях левой диафрагменной доли в возрасте 30 суток составляет $93,1 \pm 5,26$ и в течение 15 суток не изменяется. К двухмесячному возрасту она уменьшается на 26,2 % ($p < 0,01$) и достигает $71,1 \pm 3,26$ и до трехмесячного возраста остается неизменной. К 120-суточному возрасту активность увеличивается в 1,8 раза ($p < 0,001$) и составляет $190,4 \pm 10,3$.

Анализ полученных данных показывает, что активность КФ относительно низкая у месячных крольчат в тканях правой верхушечной, правой диафрагменной, правой добавочной и левой сердечной долей. Максимальный уровень активности отмечается у 120-суточных крольчат во всех тканях долей легких.

Активность КФ с наибольшей интенсивностью изменяется с 3-х до 4-х месяцев в тканях правой верхушечной (208,3 %), правой добавочной (241,9 %) и левой сердечной (176,0 %) долей легких. Наименьшая интенсивность отмечается в тканях правой сердечной доли с 45- по 60-суточный (1,0 %), с 60- по 90-суточный возраст (1,0 %) и в тканях левой диафрагмальной доли с 60- по 90-суточный возраст (1,8 %).

По-видимому, относительная стабилизация активности ЩФ в тканях изученных долей легких у трех- и четырехмесячных крольчат и значительное повышение активности КФ у крольчат этого возраста определяются возрастным повышением кислотности в тканях легких и повышением роли КФ у взрослых кроликов в обменных процессах органов дыхания.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют, что характер и интенсивность возрастных изменений активности изучаемых ферментов в разных долях легких у растущих крольчат неодинаковые. По-видимому, каждая исследуемая доля легких в определенный возрастной срок включается в разные функциональные системы, конечным результатом которых является приспособление долей легких к обмену газов [5].

Резюме. Установлено, что активность α -амилазы, ЩФ и КФ у месячных крольчат самая минимальная. К 45-суточному возрасту данная активность в тканях всех долей легких увеличивается и с этого возрастного срока стабилизируется. Наибольшая интенсивность возрастных изменений α -амилазы, ЩФ и КФ выявляется с 30- по 45-суточный возраст. В эту фазу развития крольчат наиболее интенсивные возрастные изменения α -амилазы происходят в тканях правой верхушечной, правой добавочной и левой сердечной долей – соответственно на 47,6 %, 100 % и 41,25 %. Наиболее

интенсивные возрастные изменения ЩФ наблюдаются в тканях правой верхушечной (47,2 %), правой сердечной (21,4 %), правой добавочной долей (52,3 %). Активность КФ более интенсивно изменяется в правой верхушечной (38,9 %), правой диафрагменной (46,8 %) и левой сердечной долях (47,7 %).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Вскрытие* и патологоанатомическая диагностика болезней сельскохозяйственных животных / под ред. В. П. Шишкова, А. В. Жарова. – М. : Колос, 1999. – 271 с.
2. *Ефремов, Г. Г.* Влияние блокады аксоглия в блуждающих нервах на активность внутриклеточных ферментов и микроструктуру тканей сердца и легких у кроликов / Г. Г. Ефремов, И. О. Ефимова // Труды ЧГСХА : в 20 т. Т. 17. – Чебоксары, 2002. – С. 17.
3. *Жеденов, В. Н.* Легкие и сердце животных и человека / В. Н. Жеденов. – М. : Советская наука, 1954. – С. 25–104.
4. *Иванова, Н. Н.* Активность α -амилазы и фосфатаз в тканях печени у поросят в ранний постнатальный период / Н. Н. Иванова, Н. Г. Игнатьев // Ученые записки КГАВМ им. Н. Э. Баумана. – 2010. – Т. 204. – С. 103–107.
5. *Карашаев, М. Ф.* К вопросу о функциональной системе дыхания у животных / М. Ф. Карашаев // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 2. – С. 7–10.
6. *Правила* проведения работ с использованием экспериментальных животных // Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12.03.1977 г.
7. *Терентьева, М. Г.* Активность аланин-аспартатамиотрансфераз-амилазы, щелочной и кислой фосфатаз в тканях ободочной кишки у разновозрастных чистопородных поросят / М. Г. Терентьева, Н. Г. Игнатьев // Ученые записки КГАВМ им. Н. Э. Баумана. – 2010. – Т. 204. – С. 283–290.
8. *Тукшаитов, Р. Х.* Основы динамической метрологии и анализа результатов статистической обработки / Р. Х. Тукшаитов. – Казань : Мастер Лайн, 2003. – 284 с.