

УДК 636.4.084+612.015.32

В. В. Снитинский, В. Г. Янович

# АКТИВНОСТЬ НАДФ Н-ГЕНЕРИРУЮЩИХ ДЕГИДРОГЕНАЗ В ПЕЧЕНИ И ЖИРОВОЙ ТКАНИ СВИНЕЙ ПРИ РАЗНОМ СОДЕРЖАНИИ ЖИРА В РАЦИОНЕ

Образование НАДФ Н в печени и жировой ткани животных находится в тесной взаимосвязи с их липогенной функцией. Лимитирующей стадией в синтезе триацилглицеринов в указанных тканях является синтез жирных кислот, который зависит, с одной стороны, от активности ферментов, при участии которых происходит образование ацетил-КоА, а с другой стороны — от активности НАДФ Н-генерирующих дегидрогеназ цикла трикарбоновых кислот и пентозофосфатного пути [6, 19].

Интенсивность липогенеза в печени и жировой ткани животных находится в прямой зависимости от содержания жира в рационе [5, 20, 17]. Это обусловлено ингибирующим действием экзогенных жирных кислот на их синтез *de novo* в тканях животных по принципу механизмов обратной связи. Ингибирующее действие скармливаемых жиров на липогенез в печени и жировой ткани животных разных видов проявляется в неодинаковой степени. В частности, ингибирование синтеза липидов в тканях свиней под влиянием жиров рациона проявляется в значительно меньшей степени, чем в тканях крыс и кур [21]. Добавление жира к рациону свиней в небольшом количестве (1—2 % от сухой массы корма) ингибирует липогенез в их тканях [18].

В связи с этим научный и практический интерес представляет изучение механизмов, при участии которых осуществляется влияние скармливаемых свиньям жиров на синтез липидов в их тканях. С целью изучения этого вопроса мы исследовали влияние добавок подсолнечникового масла к рациону поросят после отъема их от свиноматок на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.49), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.44), НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.40) и изоцитратдегидрогеназы (КФ 1.1.1.42) в их печени и подкожной жировой ткани.

## Методика исследований

Опыты проведены на четырех группах поросят-аналогов 45-дневного возраста крупной белой породы, по 5 голов в каждой. Поросят до 45-дневного возраста выращивали под свиноматками, с 12-дневного возраста их подкармливали предстартером. После отъема поросят I группы получали рацион согласно норм ВИЖа, состоящий из стартерного комбикорма. Поросята II группы получали аналогичный рацион с добавкой подсолнечникового масла в количестве 3 % от общего содержания энергии. Поросята III группы содержали на безжировом рационе, состоящем из картофельного крахмала и сухого снятого молока, а поросят IV группы — на аналогичном рационе, к которому добавляли подсолнечниковое масло в количестве 3 % от общего содержания энергии в рационе. Общее количество липидов в рационе поросят I, II, III и IV групп составляло соответственно 3,9; 5,9; 0,01 и 2,1 %.

Животных забивали в 3-месячном возрасте и полученные от них пробы печени и подкожной жировой ткани использовали для исследований. Ткани гомогенизировали при температуре 0 °С в среде, содержащей 10 ммоль-НСl буфера (рН 7,5), 0,154 ммоль KCl, 5 ммоль ЭДТА, 5 ммоль MgCl<sub>2</sub> и 5 ммоль дитиотреитола. Гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 3000 *g* и полученную надосадочную жидкость использовали для исследований. Активность ферментов определяли спектрофотометрически, регистрируя восстановление НАДФ в стандартной кювете в термостатирующем кюветодержателе при +25 °С. Предварительно экспериментальным путем подбирали оптимальные условия ферментативных реакций. Во всех случаях активность фермента зависела

от концентрации белка в пробе. В двух тканях определяли активности [4], глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [13].

## Результаты

Из приведенных в таблице данных видно, что активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в печени и жировой ткани поросят после отъема от свиноматок была значительно ниже (менее 10 % от активности ферментов в печени поросят I и III групп). В течение опыта содержания поросят в рационе с жиром содержание ферментов в печени и жировой ткани различно отражают зависимость активности дегидрогеназ в печени и жировой ткани поросят от содержания жира в рационе.

Активность исследуемых ферментов в жировой ткани свиней

| Ферменты | I          |
|----------|------------|
|          |            |
| Г-6-ФДГ  | 0,24±0,002 |
| 6-ФДГ    | 0,20±0,007 |
| Изо-ЦДГ  | 2,06±0,020 |
| МДГ      | 0,21±0,001 |
| II       |            |
| Г-6-ФДГ  | 1,13±0,02  |
| 6-ФДГ    | 0,73±0,02  |
| Изо-ЦДГ  | 1,76±0,04  |
| МДГ      | 1,52±0,04  |

Из полученных нами данных видно, что активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ в печени и жировой ткани поросят после отъема от свиноматок была значительно ниже (менее 10 % от активности ферментов в печени поросят I и III групп). В течение опыта содержания поросят в рационе с жиром содержание ферментов в печени и жировой ткани различно отражают зависимость активности дегидрогеназ в печени и жировой ткани поросят от содержания жира в рационе. При более высокой активности дегидрогеназ, за исключением свиней, чем в печени. Это значительно более интенсивно по сравнению с печенью дегидрогеназ, особенно используемого в синтезе

от концентрации белка в пробе и была пропорциональна времени инкубации. В исследуемых тканях определяли активность малатдегидрогеназы [10], изоцитратдегидрогеназы [4], глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы [8], а также количество белка [13]. Полученные данные обрабатывали статистически [1].

### Результаты исследований и их обсуждение

Из приведенных в таблице данных видно, что содержание жира в рационе поросят после отъема от свиноматок оказывает существенное влияние на активность НАДФ Н-генерирующих дегидрогеназ в их печени и жировой ткани. В частности, активность всех исследуемых НАДФ-зависимых дегидрогеназ, особенно малатдегидрогеназы, в печени животных, к рациону которых добавляли жир (II и IV группы), была значительно ниже ( $p < 0,001$ ) по сравнению с активностью ферментов в печени животных, рацион которых не содержал жировых добавок (I и III группы). Наиболее высокая активность НАДФ Н-генерирующих дегидрогеназ выявляется в печени животных III группы, которые в течение опыта получали безжировой рацион. Активность указанных ферментов в печени животных II группы, в рационе которых содержалось максимальное количество липидов, самая низкая. Эти различия отражают зависимость между активностью НАДФ Н-регенерирующих дегидрогеназ в печени свиней и содержанием липидов в их рационе.

Активность исследуемых ферментов в печени и подкожной жировой ткани свиней (мкмоль субстрата/10 мг белка) мин,  $n=5$

| Ферменты                | Группы животных  |                  |                  |                  |
|-------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|                         | I                | II               | III              | IV               |
| Печень                  |                  |                  |                  |                  |
| Г-6-ФДГ                 | $0,24 \pm 0,002$ | $0,15 \pm 0,004$ | $0,28 \pm 0,007$ | $0,19 \pm 0,009$ |
| 6-ФГДГ                  | $0,20 \pm 0,007$ | $0,11 \pm 0,004$ | $0,28 \pm 0,009$ | $0,15 \pm 0,003$ |
| Изо-ЦДГ                 | $2,06 \pm 0,020$ | $1,10 \pm 0,041$ | $2,13 \pm 0,052$ | $1,43 \pm 0,08$  |
| МДГ                     | $0,21 \pm 0,001$ | $0,08 \pm 0,001$ | $0,24 \pm 0,002$ | $0,09 \pm 0,002$ |
| Подкожная жировая ткань |                  |                  |                  |                  |
| Г-6-ФДГ                 | $1,13 \pm 0,02$  | $0,56 \pm 0,02$  | $1,62 \pm 0,08$  | $0,71 \pm 0,03$  |
| 6-ФГДГ                  | $0,73 \pm 0,02$  | $0,45 \pm 0,01$  | $1,17 \pm 0,03$  | $0,19 \pm 0,04$  |
| Изо-ЦДГ                 | $1,76 \pm 0,04$  | $0,72 \pm 0,02$  | $1,39 \pm 0,08$  | $0,64 \pm 0,03$  |
| МДГ                     | $1,52 \pm 0,04$  | $0,91 \pm 0,06$  | $3,63 \pm 0,13$  | $1,63 \pm 0,09$  |

Из полученных нами результатов также заслуживает внимания более высокая активность изоцитратдегидрогеназы в печени животных всех групп, по сравнению с активностью остальных исследуемых НАДФ-зависимых дегидрогеназ, что свидетельствует о важной роли цикла трикарбоновых кислот не только в энергетических, но и в синтетических процессах в указанном органе свиней.

Межгрупповые различия в активности НАДФ Н-генерирующих дегидрогеназ в жировой ткани свиней носят такой же характер, как и в печени. Особенно большие изменения претерпевают активность малатдегидрогеназы в жировой ткани свиней в зависимости от количества жира в их рационе. При этом обращает на себя внимание значительно более высокая активность всех исследуемых НАДФ-зависимых дегидрогеназ, за исключением изоцитратдегидрогеназы, в жировой ткани свиней, чем в печени. Эти результаты согласуются с данными [16] о значительно более интенсивном липогенезе в жировой ткани свиней по сравнению с печенью, а также о важной роли всех исследуемых дегидрогеназ, особенно малатдегидрогеназы, в образовании НАДФ Н, используемого в синтезе жирных кислот в указанной ткани.



Полученные нами результаты свидетельствуют о наличии зависимости между содержанием жира в рационе свиней и активностью НАДФ Н-генерирующих дегидрогеназ в их печени и жировой ткани, о различиях в активности отдельных исследуемых дегидрогеназ в указанных тканях и степени ее изменения в зависимости от количества потребленного ими жира. Ранее аналогичная зависимость была установлена между содержанием жира в рационе свиней, с одной стороны, и активностью АТФ-цитратлиазы и НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы в их жировой ткани, с другой стороны [3, 14, 17]. Это обусловлено особенностями метаболизма оксалоацетата в тканях животных и сопряженностью реакций, обеспечивающих образование ацетил-КоА и НАДФ Н, используемых в синтезе жирных кислот [12].

Анализ полученных нами результатов и данных такого плана, полученных в исследованиях на крысах [20], свидетельствуют о значительно большем изменении активности НАДФ Н-генерирующих дегидрогеназ в печени свиней в зависимости от содержания жира в рационе, чем в указанных тканях крыс. Результаты наших исследований позволяют нам сделать вывод о том, что ингибирующее влияние на активность НАДФ Н-генерирующих дегидрогеназ в печени и жировой ткани свиней растительных жиров, содержащих главным образом полиненасыщенные жирные кислоты, проявляется в большей мере по сравнению с влиянием животных жиров [3, 17], в составе которых преобладают насыщенные жирные кислоты.

Из полученных нами результатов также следует, что отсутствие полиненасыщенных жирных кислот в рационе поросят после отъема не оказывает существенного влияния на их рост. Среднесуточное увеличение живой массы поросят I, II, III и IV групп за период опыта составляло соответственно 380; 390; 410 и 405 г. По-видимому, это обусловлено, с одной стороны, интенсивным синтезом олеиновой кислоты в тканях поросят из глюкозы, аминокислот и ацетата и превращением ее в более ненасыщенные жирные кислоты, а с другой стороны — всасыванием из толстого кишечника полиненасыщенных жирных кислот, в том числе линолевой, синтезируемых населяющей его микрофлорой. Такое предположение вытекает из данных, полученных в исследованиях на крысах, получавших рацион, не содержащий жиров, у которых отмечен интенсивный синтез моно-, три- и пентаеновых жирных кислот в тканях [2], а также из данных о синтезе линолевой кислоты микроорганизмами, обитающими в преджелудках жвачных [9].

Следует отметить, что в интенсивности роста поросят, получавших после отъема безжировой рацион, и поросят, в рационе которых содержалось 2 % жира также не выявлено существенных различий [11]. По-видимому, сложившиеся представления о важном значении полиненасыщенных жирных кислот для роста поросят основаны на данных, полученных в исследованиях на животных, которым сразу после рождения начинали выпаивать снятое молоко. Как известно, новорожденные поросята характеризуются низким относительным содержанием полиненасыщенных жирных кислот в составе липидов тканей [15], а относительное количество микроорганизмов в толстом кишечнике поросят в молочный период невелико [7].

### Выводы

1. Добавление к рациону поросят после отъема от свиноматок подсолнечикового масла в количестве 3 % от энергетической ценности рациона приводит к снижению активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы, 6-фосфоглюконатдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы и малатдегидрогеназы в печени и жировой ткани в 2—2,5 раза.

2. При скормливание поросятам безжирового рациона в их печени и жировой ткани резко повышается активность НАДФ Н-генерирующих дегидрогеназ.

3. Скармливание поросят в течение 1,5 мес не снижает их роста.

1. Ойвин И. А. Статистическая... Патол. физиология и ...
2. Alfin-Slater R. H., Aftergood 1968, 48, N 4, p. 758—784.
3. Allee G. L., Romsos D., Leve lipid biosynthesis and enzymes Med., 1971, 137, N 2, p. 449—4
4. Cleland W. W., Thomson W from pig heart.—Methods Enzy
5. Dupont J., Lewis H. Lipid me and calories.—J. Nutr., 1963, 1
6. Flatt J. P., Ball E. G. The ro acid synthesis in adipose tiss York: Acad. Press, 1963, p. 75
7. Friend D. W., Cunningham H. in the alimentary tract of t p. 170—181.
8. Glock G. E., McLean P. Furth phate dehydrogenase and 6-f J., 1953, 53, p. 400—408.
9. Hagemeister H., Kaufmann I von Milchkühen.—Übers. Tier
10. Hsu R., Lardy A. Malic enz
11. Kass M. L., Pond W. G., W acids in swine.—J. Anim. Sc
12. Kornacker W. S., Lowenstein fat.—Biochem. J., 1965, 94, N
13. Lowry O. H., Rosebrough N. the Folin phenol reagent.—
14. Mersmann H. J., Houk J. M. adipose tissue preparations f p. 1123—1129.
15. Molnar S., Neumann H., Me der lipidfractionen von Leb beim Schwein.—Ztsch. Tierp S. 159—177.
16. O'Hea E. K., Leveille O. A. acid synthesis in the pig ar lipogenesis.—J. Nutr., 1969, 1
17. O'Hea E. K., Leveille G. A adipose tissue as influence N 2, p. 173—175.
18. Patterson A. Effect of stora becon pigs.—Swed. J. Agr. F
19. Shosaku N. Regulation of f 1974, 69, p. 53—96.
20. Taylor C. B., Bailey E., Bart of the rat.—Biochem. J., 196
21. Waterman R. A., Romsos I tallow on growth, plasma Soc. Exp. Biol. Med., 1975, 1

Украинский институт физиолог сельскохозяйственных животны



3. Скармливание пороссятам 45-дневного возраста безжирового рациона в течение 1,5 мес не оказывает существенного влияния на интенсивность их роста.

#### Список литературы

1. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований.— Патол. физиология и эксперим. терапия, 1960, № 4, с. 76—85.
2. Alfin-Slater R. H., Aftergood L. Essential fatty acids reinvestigated.— *Physiol. Rev.*, 1968, 48, N 4, p. 758—784.
3. Allee G. L., Romsos D., Leveille G. A., Baker D. H. Influence of age on in vitro lipid biosynthesis and enzymatic activity in pig adipose tissue.— *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1971, 137, N 2, p. 449—452.
4. Cleland W. W., Thomson W., Barden E. Isocitrate dehydrogenase (TPN-specific) from pig heart.— *Methods Enzymol.*, 1969, N 13, p. 30—33.
5. Dupont J., Lewis H. Lipid metabolism of young female rats fed diets varying in fat and calories.— *J. Nutr.*, 1963, N 4, p. 397—401.
6. Flatt J. P., Ball E. G. The role of reduced coenzymes and oxygen in control of fatty acid synthesis in adipose tissue.— In: the control of lipid metabolism, London; New York: Acad. Press, 1963, p. 75—77.
7. Friend D. W., Cunninham H. M., Nicholson J. W. Volatile fatty acids and lactic acid in the alimentary tract of the young pig.— *Canad. J. Anim. Sci.*, 1963, 45, N 1, p. 170—181.
8. Glock G. E., McLean P. Further studies on the properties and assay of glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase in rat liver.— *Biochem. J.*, 1953, 53, p. 400—408.
9. Hagemeister H., Kaufmann W. Verwendungsmöglichkeit von Fett in der Ernährung von Milchkühen.— *Übers. Tierernährg.*, 1979, N 7, s. 1—30.
10. Hsu R., Lardy A. Malic enzyme.— *Methods Enzymol.*, 1969, 13, p. 230—235.
11. Kass M. L., Pond W. G., Walker E. F. Significance of the synthesis essential fatty acids in swine.— *J. Anim. Sci.*, 1976, 41, N 3, p. 804—808.
12. Kornacker W. S., Lowenstein J. M. Citrate and the conversion of carbohydrate into fat.— *Biochem. J.*, 1965, 94, N 1, p. 209—215.
13. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Furr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent.— *J. Biol. Chem.*, 1951, 193, p. 265—275.
14. Mersmann H. J., Houk J. M., Phinney G., et al. Lipogenesis by in vitro in liver and adipose tissue preparations from neonatal swine.— *Amer. J. Physiol.*, 1973, 224, N 5, p. 1123—1129.
15. Molnar S., Neumann H., Meuten U. Untersuchungen zur Fettsäurezusammensetzung der lipidfraktionen von Leber, Herz und Lunge in prae- und postnatalen Stadien beim Schwein.— *Ztsch. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkunde*, 1971, 27, N 3, S. 159—177.
16. O'Hea E. K., Leveille O. A. Significance of adipose tissue and liver as sites fatty acid synthesis in the pig and the efficiency of utilization of various substrates for lipogenesis.— *J. Nutr.*, 1969, 99, N 3, p. 338—344.
17. O'Hea E. K., Leveille G. A., Sugahara M. Lipogenesis and enzyme activity in pig adipose tissue as influenced by dietary protein and fat.— *Int. J. Biochem.*, 1970, 1, N 2, p. 173—175.
18. Patterson A. Effect of storage on value of feed mixtures containing animal fat for becon pigs.— *Swed. J. Agr. Res.*, 1973, 3, N 1, p. 31—33.
19. Shosaku N. Regulation of fatty acid synthesis in higher animals.— *Ergeb. Physiol.*, 1974, 69, p. 53—96.
20. Taylor C. B., Bailey E., Bartley W. Changes in hepatic lipogenesis during development of the rat.— *Biochem. J.*, 1967, 105, N 2, p. 717—722.
21. Waterman R. A., Romson D. R., Tsai A. C. et al. Influence of dietary safflower oil tallow on growth, plasma lipids and lipogenesis in rats, pigs and chicks.— *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1975, 150, N 2, p. 347—351.

Украинский институт физиологии и биохимии  
сельскохозяйственных животных, Львов

Поступила 04.04.81