

РОЗДІЛ 5. БІООРГАНІЧНА ХІМІЯ ТА БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ СПОЛУКИ

УДК 636.594:575.16

ОСОБЛИВОСТІ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ ОРГАНІЗМУ У ФАЗАНІВ ЗА УМОВ ШТУЧНОГО РОЗВЕДЕННЯ

Іванченко О.А., к.с.-г.н.

Таврійський державний агротехнологічний університет

З'ясовано особливості функціонування антиоксидантної системи організму фазанів при умові штучного розведення. Встановлено, що висока інтенсивність процесів ліпопероксидації в тканинах добових фазанів є причиною недостатньої функціональної активності ферментативної системи антиоксидантного захисту (АОЗ). Швидке вичерпання пулу основних ліпофільних біоантиоксидантів та інгібування ферментативних реакцій АОЗ, призводить до зниження адаптаційної здатності диких птахів за умов штучного розведення.

Ключові слова: фазан (Phasianus colchicus), антиоксидантний захист, процеси пероксидації, антиоксидантні ферменти, вітамін.

Иванченко О.А. ОСОБЕННОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА У ФАЗАНОВ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО РАЗВЕДЕНИЯ / Таврический государственный агротехнологический университет, Украина

Выяснено особенности функционирования антиоксидантной системы организма фазанов в условиях искусственного разведения. В ходе исследования установлено, что высокая интенсивность процессов липопероксидации в тканях суточных фазанят является причиной недостаточной функциональной активности ферментативной системы антиоксидантной защиты (АОЗ). Быстрое использование пулу основных липофильных биоантиоксидантов и ингибирование ферментативных реакций АОЗ, приводит к снижению адаптационной возможности диких птиц в условиях искусственного разведения.

Ключевые слова: фазан (Phasianus colchicus), антиоксидантная защита, процессы пероксидации, антиоксидантные ферменты, витамины.

Ivanchenko O.A. FEATURES ANTIOXIDATIVE OF A GUARD OF AN ORGANISM OF PHEASANTS IN CONDITIONS OF SYNTHETIC DELUTION / Tavria State Agrotechnological University, Ukraine

Thesis of clearing up features and operation of antioxidant system of pheasants organism in conditions of synthetic delution. In a course of a research is established, that the high intensity of LPO in tissues diurnal pheasants is the cause of poor operation of enzymatic antioxidant system activity. The compensative increase of antioxidant enzymes activity, in the early term of postnatal ontogenesis does not promote a fast exhaustion of a pool of the main lipophilic bioantioxidants, that in turn instigates inhibition of enzymatic responses of antioxidant system. It results in to decreases of aduptic abilities of natural birds in conditions of synthetic delution.

Key words: pheasants (Phasianus colchicus), antioxidant desence, lipid peroxidation, antioxidant enzymes, vitamin.

Оксидативний стрес, який виникає в організмі, в результаті порушення про – антиоксидантної рівноваги розглядається останнім часом, як один з ключових факторів загального адаптаційного синдрому [1]. Тому, для оцінки адаптаційних можливостей організму диких птахів за умов штучного розведення важливо знати особливості протікання процесів пероксидації у функціонально важливих органах і тканинах тварин у віковому аспекті. З іншого боку, однією з причин порушення структурно – функціональних властивостей біомембран, модифікації мембранноз'язаних ферментів і DNA – структур є надмірна інтенсифікація вільнорадикальних процесів пероксидації внаслідок серйозного дисбалансу між продукцією вільних радикалів (активних форм кисню, азоту, продуктів окислення ліпідів) і антиоксидантним захистом (АОЗ) [2], представленим системою антиоксидантних ферментів і тканинних біоантиоксидантів.

Нами показано, що для свійських птахів характерні періоди напруги системи АОЗ та інтенсифікації процесів ліпопероксидації, пов'язані з перебудовою фізіологічних функцій організму і дією несприятливих факторів середовища [3-5].

Метою даного дослідження було з'ясувати особливості ферментативної та неферментативної систем АОЗ в тканинах печінки і крові фазанів за постнатального онтогенезу.

Для досягнення поставленої мети було проведено науково – господарський дослід на базі Таврійського державного агротехнологічного університету. Досліди проводили методом груп-аналогів у двох повторностях. Модельним видом служили фазани звичайні, яких утримували на підлозі з глибокою підстилкою і вільним доступом до води та корму [6].

Використовували корми з вмістом обмінної енергії 286,5 ккал в 100г корму (1 – 30 днів), 287,5 ккал (30 – 60 днів) та протеїну 21,8% (1 – 30 днів), 21,9% (30 – 60 днів). У віці 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60 діб птахів (5 – 9 гол.) декапітували під ефірним наркозом, збирали кров (плазму, сироватку) та виділяли печінку. З гепаринізованої крові після центрифугування отримували плазму та еритроцитарну масу [7]. Печінку для визначення ліпідів, інтенсивності процесів пероксидації та вітамінів заморозували в рідкому азоті і зберігали при температурі -20°C . Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) у тканинах печінки та плазмі крові визначали за вмістом продуктів пероксидації, які реагують з 2–тіобарбітуровою кислотою (ТБК – активні продукти (ТБКАП)) [8]. Вміст загальних ліпідів визначали гравіметричним методом після екстрагування їх хлороформом та випарювання розчинника [9]. В тканинах печінки і сироватці крові визначали вміст вітаміну Е за реакцією з залізопіридиловим реактивом, β - каротину – фотометрією гексанового екстракту з тканин при $\lambda=440$ нм, вітаміну А – спектрофотометрично за поглинанням комплексу з трьоххлористою сурмою при $\lambda=590$ нм [10].

Печінку гомогенізували в 50 мМ фосфатному буферному розчині (рН 7,4), до якого додавали 0,154 М розчин хлористого натрію, у співвідношенні 1:9 (маса:об'єм). Активність антиоксидантних ферментів визначали за відомими методиками. Активність каталази (КАТ) (КФ.1.11.1.6) оцінювали за ступенем розкладу каталазою пероксиду водню, залишок якого визначали за реакцією з молібдатом амонію і виражали в нмоль/хв на 1 мг білка (печінка), пмоль/хв на 1 мг білка (кров) [11]. Активність глутатіонпероксидази (ГП) (КФ.1.11.1.9) оцінювали за зменшенням концентрації глутатіону відновленого, який визначали за реакцією з нітропрусидом натрію і виражали в мкмоль/хв на 1 мг білка [12]. Активність супероксиддисмутази (СОД) (КФ.1.15.1.1) оцінювали за ступенем гальмування відновлення нітросинього тетразолію в присутності NADH і феназинметасульфату і виражали в од/хв на 1 мг білка [13]. Вміст білка в досліджуваних тканинах визначали за методом Лоурі [14].

Використовували реактиви фірм „Reanal” (Угорщина), „Реагент” (Україна) та інші реактиви вітчизняного виробництва кваліфікації „ч.д.а.” і „х.ч.”

Результати дослідження опрацьовано статистично з використанням t-критерію Ст'юдента [15].

У досліді встановили, що вміст ТБК-активних продуктів в печінці та крові добових фазанят був найвищим (рис. 1) порівняно з іншими віковими періодами. В подальшому онтогенезі інтенсивність ПОЛ у печінці залишається високою до 10-добового віку і далі після зниження майже у 2 рази у 20-добовому віці стабілізується на досить низькому рівні.

У крові спостерігається значне падіння інтенсивності процесів ліпопероксидації вже в 10-добовому віці з наступними незначними змінами цього показника аж до 60 – добового віку (рис. 2).

Вміст ліпідів у печінці (рис. 3) протягом досліджуваного періоду змінюється адекватно інтенсивності процесів пероксидації, і коефіцієнт кореляції між вмістом ТБК-активних продуктів і ліпідів складає 0,66.

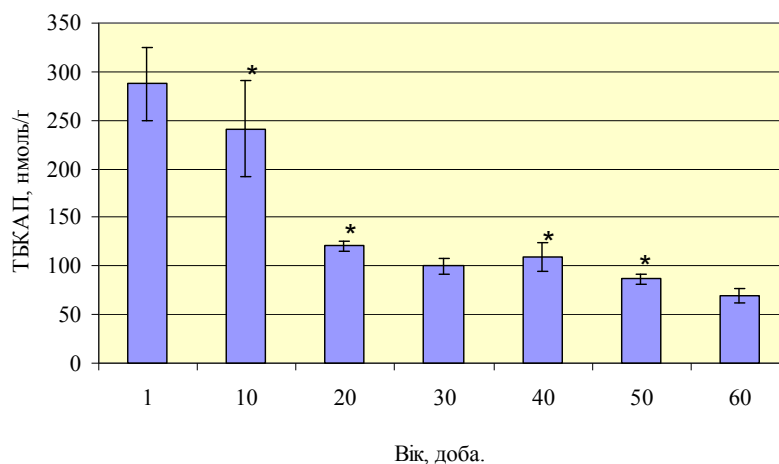


Рис. 1. Вміст ТБКАП в печінці фазанів в онтогенезі, ($M \pm m$, $n=5$).

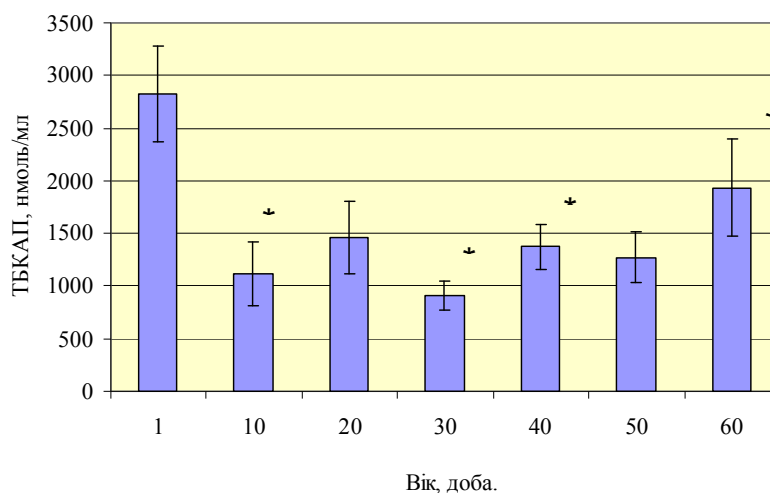


Рис. 2. Вміст ТБКАП в плазмі крові фазанів в онтогенезі, ($M \pm m$, $n=5$).

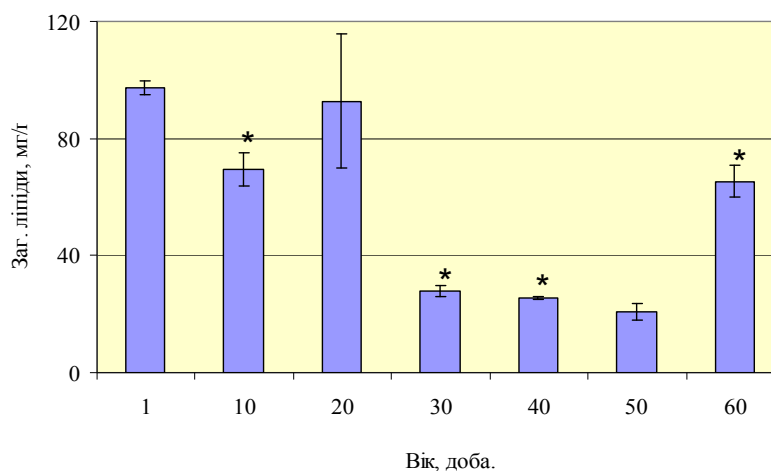


Рис. 3. Вміст загальних ліпідів в печінці фазанів в онтогенезі, ($M \pm m$, $n=5$).

Встановлено відносно низьку активність антиоксидантних ферментів у тканинах добових фазанят, але протягом першої декади онтогенезу відбувається зростання СОД активності в печінці в 1,3 рази, а в еритроцитах - в 2,3 рази (рис. 4), що супроводжується зменшенням вмісту ТБКАП. Ці дані вказують на тісний зв'язок між інтенсивністю ПОЛ і СОД активністю в цей період онтогенезу.

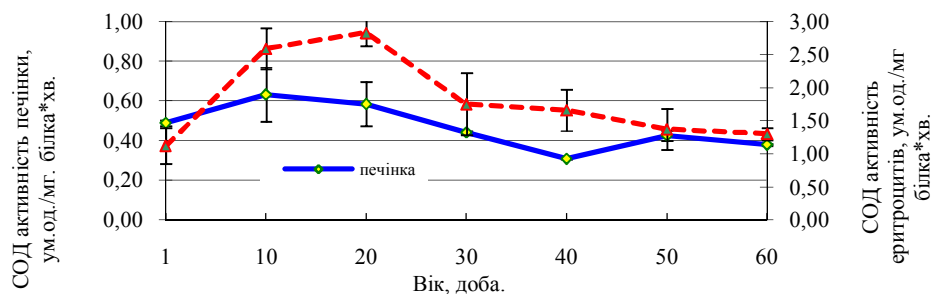


Рис.4. СОД активність тканин фазанів в онтогенезі, ($M \pm m$, $n=5$).

Активність КАТ (рис. 5) в сироватці крові фазанів протягом першої декади підвищується в 1,4 рази, що є відповіддю на високу інтенсивність ліпопероксидації у добових птахів. У той же час в печінці спостерігається зниження її активності в 3 рази. Протягом досліджуваного періоду між СОД та КАТ активностями відмічений позитивний кореляційний зв'язок, який дорівнює 0,75.

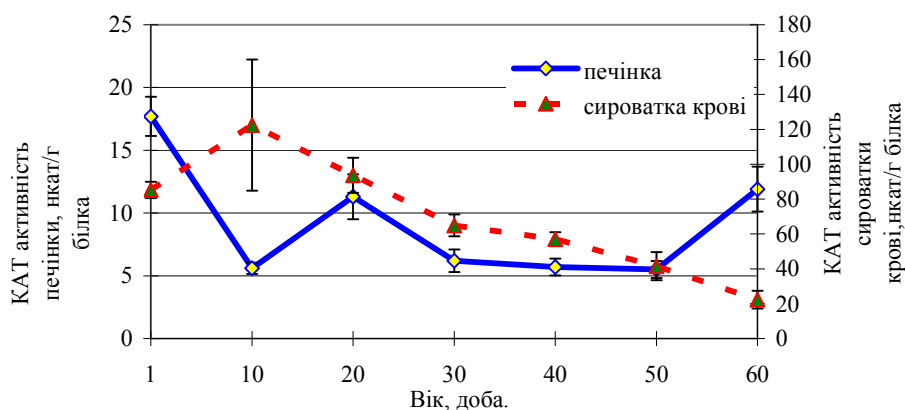


Рис. 5. КАТ активність тканин фазанів в онтогенезі, ($M \pm m$, $n=5$).

ГПО активність (рис. 6) у печінці фазанів протягом першої декади життя вірогідно знижується та зростає до 20-денного віку в печінці та крові. Зменшення СОД і КАТ активності в тканинах фазанів протягом третьої декади дослідження компенсується вірогідним зростанням ГПО активності. Далі в онтогенезі ГПО активність у фазанят знижується.

Деяке зростання СОД активності та ГПО активності в печінці в 50-добовому віці і КАТ активності в 60-добовому є компенсаторною реакцією на фізіологічний стрес, пов'язаний з початком ювенільного линяння у фазанів.

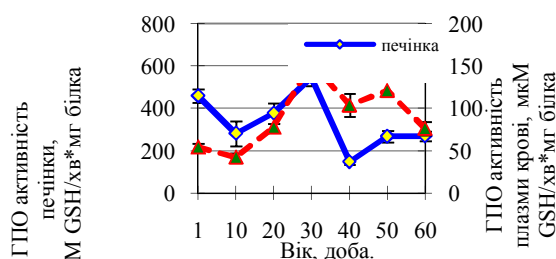


Рис. 6. ГПО активність тканин фазанів в онтогенезі, ($M \pm m$, $n=5$).

Встановлено (рис. 7), що тканини печінки добових фазанят характеризувалися високим вмістом вітамінів-антиоксидантів. Вітамін Е, як головний тканинний антиоксидант, залучається до процесів гальмування ПОЛ, що пояснює швидке зменшення його вмісту в печінці та крові протягом постнатального онтогенезу фазанів.

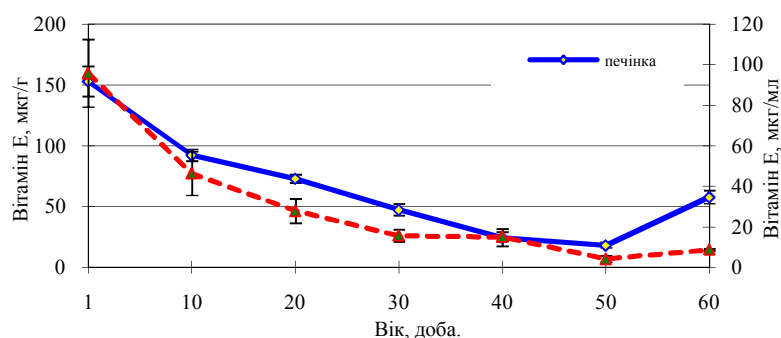


Рис. 7. Динаміка вмісту вітаміну Е в печінці та сироватці крові фазанят за постнатального онтогенезу, ($M \pm m$, $n=5$).

В ході дослідження зафіксовано зменшення вмісту каротиноїдів та зростання вмісту вітаміну А в печінці фазанів (рис. 8,9).

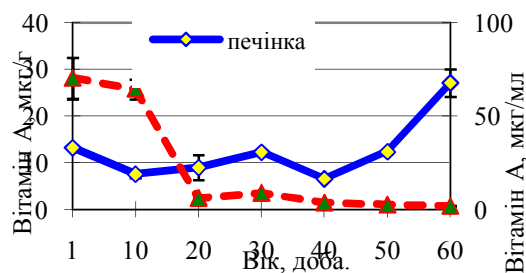


Рис. 8. Динаміка вмісту вітаміну А в печінці та плазмі крові фазанят за постнатального онтогенезу, ($M \pm m$, $n=5$).

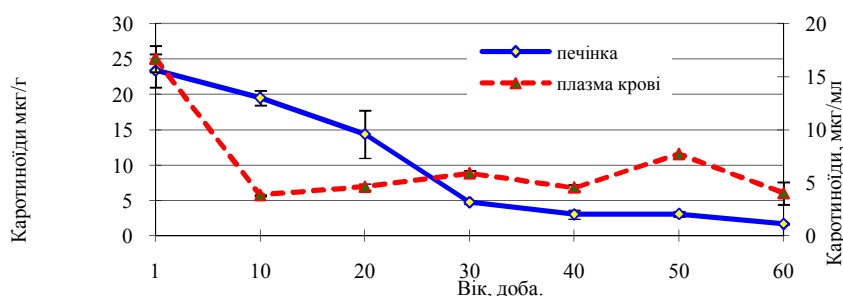


Рис. 9. Динаміка вмісту каротиноїдів в печінці та плазмі крові фазанят за постнатального онтогенезу, ($M \pm m$, $n=5$).

Таким чином, висока інтенсивність процесів ліпопероксидації в тканинах добових фазанів є причиною недостатньої функціональної активності ферментативної системи антиоксидантного захисту, компенсаторне зростання активності якої не запобігає швидкому вичерпанню пулу основних ліпофільних біоантиоксидантів, що у свою чергу провокує інгібування ферментативних реакцій АОЗ. Це призводить до зниження адаптаційної здатності диких птахів за умов штучного розведення та потребує застосування антиоксидантних препаратів.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що добові фазанята характеризуються високим вмістом ТБК-активних продуктів у печінці та крові на фоні недостатньої функціональної активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту їх організму.
2. З'ясовано, що інтенсивність процесів ПОЛ знижується в печінці та крові фазанят протягом раннього постнатального онтогенезу разом із вичерпанням пулу вітаміну Е і каротиноїдів, підвищенням супероксиддисмутазної активності у 20-добових, глутатіонпероксидазної активності у 30-добових фазанят та вірогідним падінням супероксиддисмутазної, глутатіонпероксидазної і каталазної активності до 40-добового віку фазанів. З настанням ювенільного лінійня (40-60 діб), відбувається зростання супероксиддисмутазної, каталазної, глутатіонпероксидазної активності, вмісту вітаміну Е і А, загальних ліпідів в печінці, яке супроводжується зменшенням активності антиоксидантних ферментів, вмісту вітаміну Е і А в крові фазанів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зозуля Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Ю.А. Зозуля, В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. - Москва : Знание, 2000. – 344 с.
2. Halliwell B. Free Radicals in Biology and Medicine Oxford / B. Halliwell. - University Press, 1999. – 936 p.

3. Калитка В.В. Антиоксидантові властивості продуктів взаємодії амінокислот з вуглеводами за умов реакції Майларда / В.В. Калитка, Г.В. Донченко // Укр. біохім. журн. - 1995. - Т. 67, №2. - С.80 – 85.
4. Колесніков М.О. Роль антиоксидантної системи в адаптації качок до умов постнатального розвитку / М.О. Колесніков, В.В. Калитка // Укр. біохім. журн. - 2002. - Т. 74, №2. - С.123 – 127.
5. Данченко О.О. Особливості антиоксидантного гомеостазу печінки гусей в ранньому постнатальному онтогенезі / О.О. Данченко, В.В. Калитка // Укр. біохім. журн. - 2002. - Т. 74, №2. - С. 69 –72.
6. Рахманов А.И. Фазановые: содержание и разведение / А.И. Рахманов, Б.Ф. Бессарабов. - Москва : Агропромиздат, 1991. - 176 с.
7. Антонова Б.И. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические / Б.И. Антонова. - Москва : Агропромиздат, 1991. - 278 с.
8. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. - Москва : Наука, 1972. - 252 с.
9. Методы исследования липидов в организме и тканях животных / Метод. указания. - Львов, 1983. - 22 с.
10. Двинская Л.М. Жирорастворимые витамины и методы их определения в биологических субстратах / Л.М. Двинская. - Боровск, 1979. - 89 с.
11. 11. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, А.И. Иванова // Лаб. дело. - 1988. - №1. - С.16 – 19.
12. Гаврилова О.Г. Определение активности глутатионпероксидазы эритроцитов при насыщающих концентрациях субстрата / О.Г. Гаврилова, П.Ф. Хмара // Лаб. дело. - 1986. - №12. - С. 712 – 723.
13. Дубинина Е.Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е.Е. Дубинина, Л.А. Сальникова, Л.Ф. Ефимова // Лаб. дело. - 1983. - №10. - С. 30 – 33.
14. Lowry O.N. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.N. Lowry, N.V. Rosenbrough, A.L. Farr // J. Biol. Chem. - 1951. - 193, №1. - P. 265 – 275.
15. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. - М.: Высшая школа, 1990. - 352 с.

УДК 634.26:547.56

ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСТРАКТОВ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ФЕНОЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ЛИСТЬЕВ НЕКТАРИНА

Корнильев Г.В., младший научный сотрудник

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр УААН

В листьях 8 сортов нектарина селекции НБС – ННЦ проведено изучение содержания фенольных веществ в период сентябрь-ноябрь. Из листьев с наибольшим значением данного показателя (сорт Сувенир Никитский; собраны 12.11.08) путем варьирования 5 факторами на 4 уровнях значений определены оптимальные режимы получения экстрактов с повышенным содержанием фенольных веществ: температура – 65 °С; продолжительность настаивания – 168 ч.; соотношение листья:этанол – 1:3; концентрация этанола – 60 % об.; степень измельчения листьев – 2-3 мм.

Ключевые слова: нектарин, листья, фенольные вещества, получение экстрактов.

Корнільєв Г.В. ОТРИМАННЯ ЕКСТРАКТІВ ІЗ ПІДВИЩЕНИМ ВМІСТОМ ФЕНОЛЬНИХ РЕЧОВИН З ЛІСТКІВ НЕКТАРИНА / Нікітський ботанічний сад – Національний науковий центр УААН, Україна

У листах 8 сортів нектарина селекції НБС – ННЦ проведено вивчення вмісту фенольних речовин у період вересень-листопад. З листків із найбільшим значенням цього показника (сорт Сувенір Нікітський; зібрано 12.11.08) шляхом варіювання 5 факторами на 4 рівнях значень визначені оптимальні режими отримання екстрактів із підвищеним вмістом фенольних речовин: температура – 65 °С; тривалість настоювання – 168 год.; співвідношення листя:етанол – 1:3; концентрація етанолу – 60 % об.; ступінь подрібнення листків – 2-3 мм.