

ВПЛИВ БІОФЛАВОНОЇДІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ КАЧОК.

КОЛЕСНИКОВ М.О.*-аспірант,

ХОРАСЬКИНА Л.О., РОСЛОВ О.О., ДОКУНИН М.В .-студенти

Таврійська державна агротехнічна академія

Вивчали вплив різних концентрацій екстракту біофлавоноїдів з виноградного насіння на стан антиоксидантної системи. Виявлено уповільнення ПОЛ, активацію СОД, каталази, гіпохолестеринемічний ефект та зростання рівня вітаміну Е, β -каротину.

Відомо, що процес активації вільно радикального перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) є одним із складових механізму адаптивної відповіді організму тварин в пристосуванні до оточуючого середовища. Проте, інтенсифікація радикального окислення приводить до змін будови і біофізичних властивостей фосфоліпідних мембран клітини та її органелл, до порушення нормального функціонування окисного фосфорилування у мітохондріях[1]. Стабілізація рівня ПОЛ здійснюється завдяки багатокомпонентній системі антиоксидантного захисту. За умов тривалого окисного стресу, або у адаптаційно-критичні періоди відбувається виснаження резервів антиоксидантної системи і розвиток синдрому пероксидації. Особливо чутливими до окисного стресу є високопродуктивні тварини, такі як м'ясні породи сільськогосподарської птиці. У ці періоди різко зростає потреба організму птиці в біоактивних речовинах, які володіють антиокислювальною активністю, сприяють встановленню антиоксидантного гомеостазу і усуненню наслідків синдрому пероксидації. Серед фізіологічно активних речовин, які підвищують ефективність антиоксидантної системи захисту, значне місце посідають сполуки рослинного походження: біофлавоноїди, каротиноїди.[2]. Використання подібних препаратів перспективно, тому що вони легко і органічно включаються в метаболічні процеси в організмі і практично не мають побічних ефектів, що притаманне синтетичним антиоксидантам.

У ряді досліджень[3,4] показано наявність антиоксидантної активності у біофлавоноїдів (БФ) природного походження. Встановлено, що БФ інгибують ліпопероксидацію, здатні змінювати активність каталази, знижують гіперліпідемію

та гіперхолестеринемію, синергістично взаємодіючи з аскорбатом і тканинним токоферолом. У попередніх досліджах[5] ми встановили здатність сумарного екстракту БФ, вилученого із продукту вторинної переробки винограду (виноградного насіння), гальмувати ПОЛ у гомо- і гетерогенних біосистемах *in vitro*. Зважаючи на вище сказане, метою роботи було з'ясування особливостей впливу різних концентрацій БФ на антиоксидантний гомеостаз організму качок у період становлення механізмів захисної антиокислювальної системи.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проводили на каченятах білої пекінської породи кросу "Медео". Каченята утримувались на долівці з глибокої підстилкою. Доступ до води і корму був вільний. Каченятам згодовували стандартний раціон зі зниженим на 10-15% рівнем обмінної енергії та протеїну. Водний екстракт БФ вводили до складу корму безпосередньо перед згодовуванням (вологий тип годівлі) у період з 7 до 42-денного віку за схемою: група 1-стандартний комбікорм(СК); група 2- СК+50мг фенольних сполук на кг корму; група 3- СК+125мг/кг корму; група 4- СК+200мг/кг корму. Водний екстракт БФ отримували за методикою[6]. Каченят декапітували у віці 7,42,70 діб, збирали кров і відокремлювали плазму та сироватку. Печітку гомогенізували у 50 мМ фосфатному буфері (рН 7,4) на фізіологічному розчині у співвідношенні 1:9 (маса:об'єм). Інтенсивність ПОЛ у тканинах печінки та плазмі крові оцінювали за вмістом малонового діальдегіду(МДА) в реакції з тіобарбітуровою кислотою[1]. Визначали в сироватці крові вміст вітаміну Е за реакцією з залізопіріділовим реактивом, холестерину за методом Ілька, β -каротин фотометрією гексанового екстракту плазми при $\lambda=440$ нм, активність супероксиддисмутази (КФ1.15.1.1) в еритроцитах за допомогою тетразолію нітросинього у присутності ФМС-НАДН, каталази (КФ1.11.1.6) за здатністю H_2O_2 утворювати комплекс з солями молібдену за відомими методиками. Вміст білка визначали за Lowry O.N. et al. Результати дослідження опрацьовано статистично з виковистанням t-критерію Ст'юдента.

Оригінальні матеріали. В результаті проведених досліджень встановлено, що додавання до СР качок сумарного екстракту полі фенольних сполук виноградного насіння у концентраціях 50,125,200 мг/кг корму протягом 35 діб гальмувало інтенсивність ПОЛ у тканинах печінки, де вміст МДА був нижче в групах 2,3,4 в

1,37; 1,50; 1,19 рази відповідно при порівнянні з контрольною групою каченят (табл. 1). Проте, інтенсивність процесів ліпорексидації у плазмі крові качок дослідних груп не відрізняється вірогідно від цього показника у контрольній групі. Тенденція в післядії БФ здебільшого залишається без змін. Найбільш виразне інгибування ПОЛ у 70-денному віці відбувається в тканинах печінки каченят 2-ої та 3-ої груп, де вміст МДА нижчий відповідно в 1,60 ($P < 0,01$) та 1,25 рази, як порівняти з качками контрольної групи. Загалом, рівень протікання ПОЛ у тканинах печінки невеликий, тому на фоні уповільнення ліпоперексидації суттєвих змін у вмісті загальних ліпідів печінки в дослідних групах не спостерігається. Проте, БФ впливають на рівень стероїдного ліпиду - холестерину, вміст якого у сироватці крові поступово знижується. По закінченні періоду введення екстракту до раціону (42 доба), вірогідне зменшення вмісту холестерину на 10% викликають БФ у концентрації 200 мг/кг корму. Відомо, що антиоксидантна активність фенольних сполук пов'язана з їх гіпохолестеринемічним ефектом. Пригнічення процесів ПОЛ активує 7α -гідроксилазу, яка окислює холестерин до жовчних кислот, що зменшує його вміст. Тому в кінці досліду відбувається зниження рівня холестерину в сироватці крові качок дослідних груп на 15,5%-21,4%.

Введення до раціону качок поліфенольних сполук спричинює зростання каталазної активності у сироватці крові в середньому в 2 рази, а в тканинах печінки в 1,70-1,44 рази ($P < 0,01$). Виняток склала група 4, де активність каталази печінки не відрізнялась від цього показника у контрольних каченят, що, можливо, пояснюється нагромадженням в гепатоцитах прооксидантних компонентів екстракту БФ, які здатні змінювати конформацію нативної будови ферменту. З причини послаблення стимуляції біофлавоноїдами каталазної активності в період з 42-70 доби, ефективність ферменту лише незначно підвищена у сироватці дослідних качок при порівнянні з контрольними. В печінці качок 2-ої та 3-ої груп спостерігається несуттєве, але вірогідне збільшення в 1,2 рази активності каталази. Під впливом рослинних БФ у складі раціону не відмічено суттєвого ініціювання активності СОД. У 42-денних каченят 2,3,4-ої груп активність СОД перевищує відповідний показник для контрольних каченят лише на 4,9%; 1,7%; 5,6%, а у 70-денних каченят дослідних груп – на 20,3%; 9,4%; 12,7% ($P < 0,01-0,05$) відповідно. Таким чином, спостерігається

прямий кореляційний зв'язок між активностями каталази та СОД ($r=0,60-0,96$), що погоджується з літературними даними[6]. Значне збільшення каталазної активності у качок дослідних груп з одного боку зумовлене введенням БФ, а з другого – зростанням активності СОД, яка у ході дисмутації генерирує каталазоспецифічний субстрат-перекис водню.

Низькі концентрації БФ (50 мг/кг) не сприяють зростанню вмісту вітаміну Е в сироватці крові, т.як при введенні високих концентрацій (200 мг/кг) спостерігали підвищення рівня токоферолу на 31,6% у 42-денному і на 21,8% у 70-денному віці. В групі 3 відмічено зростання кількості вітаміну Е при порівнянні з контрольною групою на 21,8%, лише у 70-денному віці. Крім того, БФ виявляють протекторну дію по відношенню до β -каротину, гальмую реакції його неспецифічного окислення шляхом «перехвату» агентів ініціації радикало-окиснення. Це найбільш виразно виявляється при введенні 50-125 мг БФ/кг корму. На 42 добу відмічено вірогідне збільшення вмісту β -каротину в 2-ій групі на 13%, а на 70 добу в 2,3,4-ій групах – збільшення на 16,3-38,6% відповідно контрольної групи.

В цілому, взаємодія усіх компонентів антиоксидантної системи організму носить складний багато спрямований характер. БФ вступаючи в процеси стабілізації антиоксидантного гомеостазу контактують з системами аскорбату, α -токоферолу, ліпопротеїдів, тому неможливо дати однозначну відповідь прямо чи посередньо вони впливають на зміни того чи іншого компонента. Дисперсійний аналіз результатів показав, що вплив різних концентрацій БФ на показники стану антиоксидантної системи та рівня ПОЛ є вірогідними у 87%.

Отримані результати свідчать про те, що введення БФ у складі екстракту з виноградного насіння до раціону качок стабілізує стан антиоксидантної системи. При застосуванні БФ у дозі 50-125 мг/кг корму відбувається гальмування ліпопероксидації, стимулювання активності каталази та СОД, сприяння зростанню вмісту β -каротину, зменшенню рівня холестерину, а в концентрації 200мг/кг, крім того, активно впливають на накопичення вітаміну Е. Діапазон ефективних концентрацій досить широкий, але приймаючи до уваги властивість багатьох антиоксидантів до інверсії антиоксидантної дії в прооксидантну при переході від

низьких концентрацій до високих, слід віддати перевагу в застосуванні БФ в діапазоні 50-125 мг/кг корму.

Табл1.Зміна показників стану антиоксидантної системи організму качок за дії біофлавоноїдів. (M±m,n=3-4).

Показники	Вік	Групи			
		1(к)	2	3	4
МДА, нМ/г тканини	7	79,3±0,26			
	42	101,48±9,37	73,89±8,76	67,66±2,35**	85,47±3,08
	70	90,81±5,21	56,78±1,32**	72,76±7,32	84,13±2,01
МДА, нМ/мл плазми	7	820,5±39,2			
	42	358,9±9,8	354,7±15,4	354,7±2,1	369,6±18,6
	70	352,6±16,9	294,9±16,2	333,3±3,7	299,1±11,3*
СОД, ум.од/ хв*мг білка еритроцитів	7	1,413±0,017			
	42	0,909±0,016	0,954±0,012	0,924±0,013	0,961±0,002*
	70	1,143±0,029	1,375±0,028**	1,251±0,014*	1,290±0,018*
Каталаза, нкат/г білка сироватки	7	1,46±0,07			
	42	0,57±0,06	1,12±0,05**	1,32±0,05**	1,19±0,11**
	70	1,09±0,04	1,40±0,01**	1,17±0,02	1,23±0,04*
Каталаза, нкат/г білка печінки	7	178,75±4,47			
	42	74,45±1,66	125,45±1,30**	107,25±6,19**	67,10±4,80
	70	324,92±2,02	391,91±1,95**	366,75±5,71**	330,89±2,78
Холестерин, мМ/л сироватки	7	8,62±0,25			
	42	5,91±0,12	6,33±0,25	5,97±0,07	5,26±0,12**
	70	4,96±0,05	3,91±0,07**	3,90±0,07**	4,19±0,12**
Вітамін Е, мкг/мл сироватки	7	85,73±3,19			
	42	55,90±1,46	50,04±1,38*	50,37±1,94	73,59±0,78**
	70	86,30±2,39	76,63±1,38*	105,10±2,21**	105,09±3,07**
β-каротин, мкг/мл плазми	7	6,24±0,37			
	42	8,28±0,27	9,38±0,19*	8,74±0,03	8,26±0,06
	70	6,03±0,03	7,75±0,15**	8,36±0,05**	7,01±0,24*

* -різниця вірогідна порівняно з контролем (P<0,05)

**-(P<0,01)

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Владимиров Ю.А.,Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.-М.: Наука,1972.-252с.
2. Барабой В.А.,Хомчук Ю.В. Механизм антистрессового и противолучевого действия растительных фенольных соединений/Укр.биохим.журн.-1998.-т.70, №6.-С.13-22.
3. Furman В.,Buch S.,Vaya J.//Am.J.Clin.Nutr.-1997.-vol.66.-P.267-275.
4. Колесников М.О.,Калитка В.В. Антиоксидантні властивості екстрактів біофлавоноїдів/Вісник ПДСГІ.-2000.-№3.-С.33-34.
5. Masquelier J. Plant extract with a proanthocyanidins content as therapeutic agent having radical scavenger effect and use thereof/US Patent №4.-698.360.-1987.

6. Калитка В.В., Донченко Г.В. Вплив препарату стибіл на ферментативну активність системи антиоксидантового захисту у курчат/ Укр.біохим.журн.-1995.-т.67,№2.- С.76-80.

Изучали влияние различных концентраций экстракта биофлавоноидов из виноградной косточки на состояние антиоксидантной системы. Выявлено снижение ПОЛ, активирование каталазы и СОД, гипохолестеринемический эффект и возростание уровня витамина E, β -каротина.

The influence of bioflavonoids' different concentration of water extract from grapes seeds on antioxidant system condition was studied. It has established the reduce of LPO, activation of catalasa and SOD, hypocholesterinemia effect, vitamin E and β -carotin level increasing.

*- науковий керівник – д.с.г.н., професор Калитка В.В.