

УДК 598.261.7:591.133.2:582.661.212

ЦЕХМІСТРЕНКО С.І., д-р с.-г. наук

e-mail: tsekhmistrenko@rambler.ru

ЧУБАР О.М., канд. с.-г. наук

e-mail: chubar78@mail.ru

## ВМІСТ ДЕЯКИХ НЕФЕРМЕНТАТИВНИХ КОМПОНЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ПЕРЕПЕЛА ЗА УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ТА ДОДАВАННЯ НАСІННЯ АМАРАНТУ В КОМБІКОРМ

Вивчали вміст SH-груп білка та відновленого глутатіону у печінці перепела за умов гіпоксії, спричиненої введенням нітрату натрію. У птиці дослідної групи відмічали зниження вмісту неферментативних компонентів антиоксидантної системи порівняно з інтактною птицею. Згодовування насіння амаранту у складі комбікорму, за рахунок стабілізації вмісту відновленого глутатіону та SH-груп білка, зменшує негативний вплив нітратів на організм птиці, що дає можливість рекомендувати використання насіння амаранту як добавку до комбікорму з профілактичною метою за оксидативних стресів.

Ключові слова: відновлений глутатіон, SH-групи білка, печінка, амарант, нітрати, антиоксидантна система, перепели.

Незадовільний екологічний стан навколишнього середовища України значною мірою зумовлений поширенням у водоймах нітратів, рівень яких часто сягає небезпечних концентрацій. Це стає причиною виникнення низки патологій, зниження продуктивності та загибелі тварин. Загальновідомо, що нітрати є прооксидантами. Потрапивши в організм, вони включаються у нормальний фізіологічний цикл оксиду азоту (NO), підвищують рівень окремих його компонентів [3, 6, 9, 16, 18]. Токсичність нітратів пов'язана з їх відновною формою – нітритами. З даних літератури відомо, що механізм реалізації впливу нітритів на перебіг окисно-відновних процесів в організмі різноплановий: по-перше, нітрит-іони блокують активність ферментів антиоксидантної системи (АОС), зокрема каталази та супероксиддисмутази (СОД) [4, 16]. По-друге, за метаболізму нітритів в організмі утворюється високоактивний пероксинітрит, який поряд з іншими радикалами здатний запускати та підтримувати вільнорадикальне окиснення фосфоліпідів клітинних мембран та інших біополімерів [4, 6, 18]. По-третє, у процесі біотрансформації нітритів в організмі витрачається відновлений глутатіон (GSH), що є важливим елементом всієї АОС [4, 8, 15].

Пошук серед сполук природного походження таких, які мають антиоксидантну дію і сприяють нормалізації рівня ПОЛ, є актуальною науковою проблемою. На особливу увагу заслуговують кормові добавки рослинного походження, які характеризуються широким спектром біологічної дії та дають можливість корегувати раціони тварин і птиці за вітамінами, мікро- та макроелементами, біологічно активними речовинами. Важливим резервом у вирішенні цієї проблеми можуть бути малопоширені високобілкові культури, які дають високі стійкі врожаї. Однією з таких культур є амарант, із 60 сортів якого 12 видів окультурені і використовуються як зернові, кормові і декоративні рослини [1, 7]. Продукти переробки зерна амаранту (олія, борошно) широко застосовуються у фармації, косметології, лікувально-профілактичному та дієтичному харчуванні, кормовиробництві [1, 3, 4, 7, 10, 17].

За вмістом у насінні білка (15–18%) амарант перевищує пшеницю (12–14%), рис (7–10%), кукурудзу (9–10%) та інші зернові культури. За міжнародною шкалою якості білків найвищий ступінь біологічної цінності має білок насіння амаранту – 75 балів, для порівняння білок зерна пшениці оцінено у 57 балів, соєвих бобів – 68 і коров'ячого молока – 72 бали. Білок, що міститься в зерні амаранту збалансований за незамінними амінокислотами, серед яких значна кількість лізину, валіну, метіоніну, фенілаланіну та триптофану [1, 3, 4]. Насіння амаранту характеризується підвищеним вмістом мінеральних речовин (Магній, Калій, Натрій, Фосфор, Йод, Кальцій), низки біологічно активних речовин, зокрема, каротиноїдів (0,19 мг%), вітамінів (Е та С), сквалену, глутатіону, флавоноїдів [1, 7], що зумовлює його антиоксидантні властивості.

Завдяки біологічним особливостям перепелів, порівняно нова галузь – перепелівництво – дозволяє, певною мірою, забезпечити населення високопоживними та дієтичними продуктами харчування. М'ясо та яйця перепелів є надзвичайно корисним і смачним продуктом. За хімічним складом та смаковими якостями його відносять до дієтичної продукції, оскільки порівняно з м'ясом птиці

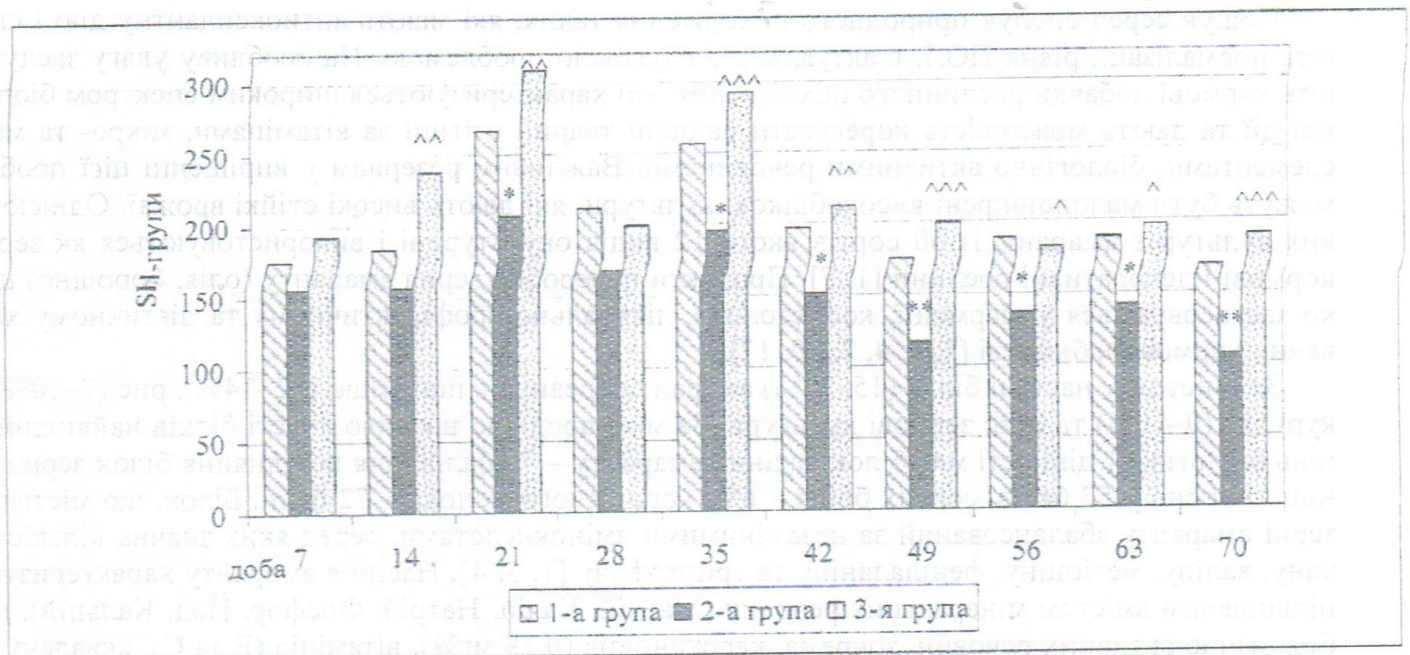
інших видів містить менше жиру. У м'ясі 8-тижневих перепелів міститься найбільша кількість незамінних амінокислот. Варене м'ясо рекомендовано людям із хворобами печінки. Перепелів, крім вирощування для виробництва яєць та м'яса, використовують для лабораторних досліджень. Один тиждень життя перепела відповідає 3,5 тижнів життя курки яєчного напрямку продуктивності, що дозволяє скоротити тривалість досліджень, знизити витрати на обладнання, годівлю [11].

**Метою досліджень** було вивчити стан неферментативних компонентів антиоксидантної системи печінки перепела за умов оксидативного стресу та використання насіння амаранту.

**Матеріал та методика досліджень.** Дослідження проведені на перепелах породи Фараон на базі віварію Білоцерківського НАУ. У 3-денному віці було сформовано 3 дослідних групи. Птиця 1-ї групи, якій згодовували основний комбікорм, слугувала контролем. З метою моделювання експериментального оксидативного стресу птиці 2-ї групи з 3-ї по 70-у доби досліджень з водою випоювали нітрат натрію в дозі 0,5 г/кг маси тіла за  $\text{NO}_3^-$ . Перепелам 3-ї групи (за умов впливу нітрату натрію) у складі комбікорму згодовували подрібнене зерно амаранту (10%) сорту Ультра (*Amaranthus Hybridus*). Умови утримання перепелів були однаковими і відповідали зоотехнічним нормам.

Після декапітації птиці під легким ефірним наркозом в екстракті печінки проводили біохімічні дослідження, починаючи з 3-денного до 10-тижневого віку з інтервалом 1 тиждень. Гомогенати печінки готували на фізіологічному розчині та центрифугували (3000 об./хв, 10 хв). Для дослідження інтенсивності процесів ліпопероксидації у гомогенатах печінки визначали вміст відновленого глутатіону (GSH) [5], SH-груп білка [12]. Результати дослідження оброблювали статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Під час оксидативного стресу в організмі генерація вільнорадикальних форм Оксигену переважає над потужністю антиоксидантних систем і супроводжується прискоренням процесів вільнорадикальної модифікації всіх клітинних компонентів. У печінці перепела, у відповідь на введення нітрату натрію, відбувається інтенсифікація процесів ПОЛ, про що свідчить зменшення кількості загальних ліпідів та підвищення вмісту продуктів ліпопероксидації (дієнових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів, ТБК-активних продуктів) [13]. Продукти біотрансформації нітратів, ліпідні радикали, пероксиди та гідропероксиди окиснюють SH-групи низькомолекулярних сполук, внаслідок чого змінюється рухомість ліпопротеїдного комплексу мембран і, цим самим, порушується структурна цілісність та функціональна активність клітинних і субклітинних компонентів [2, 4, 8, 9, 14]. Під час дослідження вмісту SH-груп білка було відмічено, що за умов тривалого впливу нітратів їх вміст суттєво знижується (рис. 1).



Примітка: Тут і надалі різниця вірогідна: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  порівняно з інтактною птицею; ^  $p < 0,05$ ; ^^  $p < 0,01$ ; ^^<sup>3</sup>  $p < 0,001$  порівняно з птицею 2-ї групи

Рис. 1. Вміст SH-груп білка у печінці перепела за умов нітратного навантаження та додавання насіння амаранту в комбікорм (мкмольSH-груп/105 г білка,  $n=5$ )

Достовірно зниження вмісту сульфгідрильних груп у печінці дослідної птиці відбувається на 21-у добу (на 22%).

Найбільш вірогідною причиною зниження кількості SH-груп білка є недостатній вміст у тканинах печінки відновленого глутатіону. Між умістом GSH та SH-груп у цей період дослідження існує позитивна залежність ( $r = 0,53$ ). На 49-у добу досліду вміст SH-груп стосовно показників інтактної птиці знижується у 1,5 раза. На 70-у добу рівень сульфгідрильних груп у печінці птиці другої групи становив  $106,1 \pm 6,4$  мкмоль SH-груп/ $10^5$  г білка, що на 37% нижче показників птиці контрольної групи.

У період із 7-ї до 21-ї доби інактивація  $H_2O_2$  та органічних гідроперекисів здійснюється в основному глутатіонзалежними пероксидазами [13] за рахунок окиснення GSH з утворенням кон'югованої форми глутатіону (GSSG). Тривале надходження в організм птиці нітрату натрію спричиняє зниження вмісту GSH (рис. 2) у печінці. На початковому етапі експерименту достовірне зниження вмісту GSH у печінці перепелів відбувається на 21-у добу (на 31,9%), протягом наступного тижня ця різниця значно зменшується. SH-групи відновленого глутатіону та цистеїну окиснюються набагато легше, ніж SH-групи білкових молекул, захищаючи тим самим білки від пошкоджувальної окисної модифікації [2, 15].

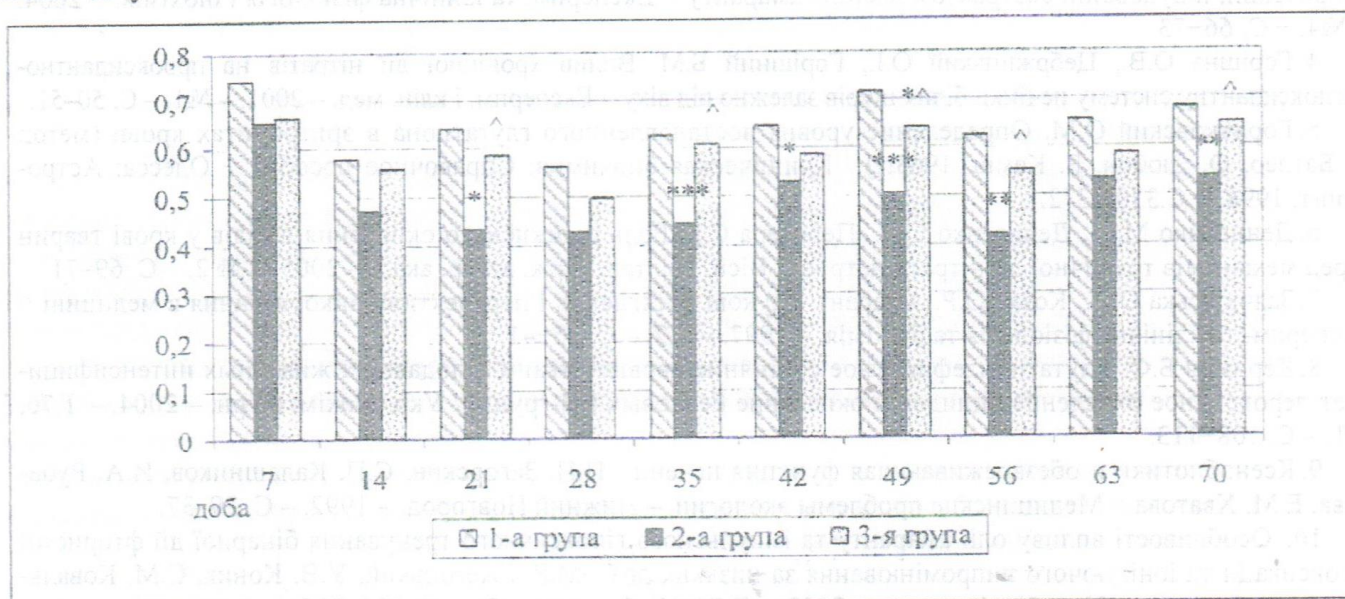


Рис. 2. Вміст відновленого глутатіону у печінці перепела за умов нітратного навантаження та додавання насіння амаранту в комбікорм (ммоль/г,  $n=5$ )

Максимально достовірне зниження вмісту глутатіону у печінці птиці другої групи відзначено на 56-у добу експерименту (на 32,5% відносно показників інтактної птиці).

З огляду на результати проведених досліджень та розуміння механізмів розвитку метаболічних порушень у печінці птиці, організм якої зазнав тривалого навантаження нітратом натрію, виникає проблема їх корекції. Токсикант ініціює процеси пероксидації та виснажує складові АОС, що призводить до ендогенної інтоксикації організму [4, 5, 8]. Актуальним є пошук нових препаратів, які пригнічували б активоване пероксидне окиснення ліпідів. У цьому експерименті з метою зменшення прояву нітратної інтоксикації та корекції системи антиоксидантного захисту організму використовували зерно амаранту сорту (10%) у складі комбікорму.

Застосування подрібненого насіння амаранту на фоні нітратного навантаження сприяло зниженню інтенсивності ПОЛ та зменшенню кількості його продуктів [13].

Зерно амаранту містить 168 мг/100 г глутатіону та 234,0 мг/100 г активних SH-груп [1], що, згідно з даними літератури [1, 17] цілком достатньо для його антиоксидантної здатності та відновлювального ефекту. Достовірне зростання вмісту відновленого глутатіону у печінці перепелів 3-ї групи відбувається із 21-ї доби застосування амаранту (на 20,4–35,6% щодо показників 2-ї групи). Відновлення вмісту GSH частково відбувається за рахунок зростання активності глутатіонредуктази [13]. Під час застосування зерна амаранту, за умови впливу нітратів у печінці перепелів 3-ї групи, вміст сульфгідрильних груп значно зростає. Так, вірогідне збільшення вмісту SH-груп протягом 14–21-ї діб експерименту (у 1,5 раза проти показників 2-ї групи), змінюється різким зменшенням

на 28-у добу (на 5,6% нижче контрольних величин і на 18,2% вище показників 2-ї групи). Період із 35-ї по 70-у доби експерименту характеризується високим вмістом SH-груп. Максимальний вміст даних сполук відзначено на 49 та 70-у добу (у 1,7 та 1,8 рази до рівня показників 2-ї групи).

Отже, навантаження організму перепелів нітратами зумовило інтенсифікацію процесів ліпопероксидації у печінці зі зниженням вмісту відновленого глутатіону та сульфогідрильних груп, які є важливими компонентами неферментативної ланки антиоксидантної системи печінки. Застосування насіння амаранту на фоні оксидативного стресу зменшило негативний вплив нітратів на організм за рахунок стабілізації вмісту відновленого глутатіону та SH-груп. Це дає можливість рекомендувати використання насіння амаранту як добавки до комбікорму з профілактичною метою за оксидативних стресів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Амарант. Перспективи використання / В.А. Гнізевич, Г.Ф. Коршунова, Р.Р. Сімакова, С.К. Ільдірова. – Донецьк: Дон.ДУЕТ, 2002. – 156 с.
2. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Антиокислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. – Ч.1. – 202 с.
3. Гжегоцький М.Р., Заячківська О.С. Роль капсаїцинчутливих сенсорних нервів та оксиду азоту в гастропротекції, індукованій екстрактом насіння амаранту // Експерим. та клінічна фізіологія і біохімія. – 2004. – №4. – С. 66–73.
4. Горішна О.В., Цебрицький О.І., Горішний Б.М. Вплив хронічної дії нітратів на прооксидантно-антиоксидантну систему печінки білих щурів залежно від віку // Експерим. і клін. мед. – 2001. – №1. – С. 50–51.
5. Горячковский О.М. Определение уровня восстановленного глутатиона в эритроцитах крови (метод Э. Батлер, О. Дюбон, Б. Кемш, 1963г.) / Клиническая биохимия: Справочное пособие – Одесса: Астропринт, 1998. – С.370–372.
6. Денисенко М.В., Денисенко С.В., Передера С.Б. Роль перекисного окислення ліпідів у крові тварин серед механізмів токсичної дії нітрату натрію // Вісн. Полтав. держ. аграр. акад. – 2005. – № 2. – С. 69–71.
7. Заячківська О.С., Козак О.Р. Амарант: наукові досягнення і перспективи використання в медицині // Експерим. та клінічна фізіологія та біохімія. – 1997. – Т.2. – С. 36–41.
8. Керимов Б.Ф. Глутатиондефицитное состояние нервной ткани голодавших животных интенсифицирует пероксидное окисление липидов и окисление белковых SH-групп // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т.76, №1. – С. 108–113.
9. Ксенобиотики и обезвреживающая функция печени / П.П. Загорский, С.П. Калашников, И.А. Рубанова, Е.М. Хватова // Медицинские проблемы экологии. – Нижний Новгород. – 1992. – С. 29–37.
10. Особливості впливу олії амаранту та імпульсного гіпоксичного тренування бінарної дії фтористої інтоксикації та іонізуючого випромінювання за низьких доз / М.Р. Гжегоцький, У.В. Коник, С.М. Ковальчук, М.А. Сапожак // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т.74, №46 (додаток 2). – С. 224–225.
11. Пигарева М.Д., Афанасьев Г.Д. Перепеловодство. – М.: Росагропромиздат, 1989. – 103 с.
12. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1997. – 392 с.
13. Чубар О.М. Вплив амаранту на процеси пероксидного окиснення ліпідів та стан антиоксидантної глутатіонової системи за хронічної нітратної інтоксикації // Зб. наук. праць Луган. аграр. ун-ту. – 2005. – № 52 (75). – С. 69–72.
14. Acute exposure of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt) yearlings to nitrite: Median-lethal concentration (LC<sub>50</sub>) determination, haematological changes and nitrate accumulation in selected tissues / M. Huertas, E. Gisbert, A. Rodriguez et al. // *Aquat Toxicol* [КЭ]. – 2002. – 57, № 4. – P. 257–266.
15. Cardillo C., Kilcoyne C.M., Quymi A.A. Effects of S-nitrosoglutathione in the human forearm circulation // *Circulation*. – 1998. – Vol. 97, № 9. – P. 815–856.
16. Chen P., Zhou J. Abnormal metabolism of nitric oxide, oxidative stress and lipoperoxidative stress in patients with acute viral myocarditis // *Chin. Med. J.* – 2001. – Vol. 114, № 11. – P. 1132–1135.
17. Extraction and purification of squalene from *Amaranthus* grain / He Han-Ping, Cai Yizhong, Sun Mei, Corke Harold // *J. Agr. and Food Chem.* – 2002. – Vol. 50, № 2. – P. 368–372.
18. Hogg N. Prooxidant and antioxidant effect of nitric oxide // *Analysis of. in biological systems* – Basel: Birkhauser Verlag. – 1995. – P. 37–50.

**Содержание некоторых неферментативных компонентов антиоксидантной системы печени перепела при условиях оксидативного стресса и добавлении в комбикорм семян амаранта**

**С.И. Цехмистренко, О.М. Чубар**

Исследовали содержание SH-групп белка и восстановленного глутатиона в печени перепела при условиях гипоксии, вызванной введением нитрата натрия. В экспериментальных животных регистрировали снижение содержания неферментативных компонентов антиоксидантной системы в сравнении с интакт-

ной птицей. Скармливание семян амаранта в составе комбикорма за счет стабилизации содержимого восстановленного глутатиона и SH-групп белка уменьшает отрицательное влияние нитратов на организм птицы, что дает возможность рекомендовать использование семян амаранта как добавку к комбикорму с профилактической целью при оксидативных стрессах.

Ключевые слова: восстановленный глутатион, SH-группы белка, печень, амарант, нитраты, антиоксидантная система, перепела.

**The contents of some nonenzyme components of the antioxidant system of liver of quail subject to the condition oxidant stress and at addition in the mixed fodder of seed to the amaranth**

**S. Tsekhmistrenko, O. Chubar**

Studied maintenance of SH-groups of albumen and reduced glutathione in the liver of quail under the condition hypoxia caused by introduction of nitrate of sodium. At experimental animals the decline of maintenance of nonenzyme components of the antioxidant system was marked in comparison with intact animals. The amaranth's seed feeding in mixed fodder results the declining of negative influencing of nitrates to the birds organism due to stabilization of maintenance of reduced glutathione and SH-groups of albumen. It enables to recommend to use the seed of amaranth as addition to the mixed fodder with a prophylactic purpose at oxidant stresses.

Key words: reduced glutathione, SH- groups of albumen, liver, amaranth, nitrates, antioxidant system, quails.