

ВПЛИВ ВІТАМІННО-КОРМОВОЇ ДОБАВКИ НА ВМІСТ ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ ТА СУЛЬФГІДРИЛЬНИХ ГРУП В ОРГАНАХ ТА ТКАНИНАХ КРОЛІВ

Н. В. Роль, аспірант

*С. І. Цехмістренко, доктор сільськогосподарських наук
Білоцерківський національний аграрний університет*

Досліджено вміст відновленого глутатіону та сульфгідрильних груп в мозку, серці та найдовшому м'язі спини кролів новозеландської породи. Встановлено, що при використанні вітамінно-кормової добавки «Текго» в тканинах мозку вірогідно ($p \leq 0,05$) збільшується вміст відновленого глутатіону на 10,6%. У серці кролів 90-добового віку достовірно ($p \leq 0,01$) збільшується вміст білкових та загальних HS-груп на 7,9 та 2,5% відповідно. При дослідженні найдовшого м'язу спини виявлено, що протягом усього дослідного періоду збільшується вміст білкових та загальних HS-груп та у 90-добовому віці становить 156,96 мкмоль/г та 169,44 мкмоль/г відповідно.

Ключові слова: кролі, серце, мозок, найдовший м'яз спини, глутатіон, сульфгідрильні групи.

Постановка проблеми. Актуальною проблемою сьогодення є забезпечення населення якісними продуктами харчування, зокрема м'ясом. М'ясо кроля – високопоживний та водночас дієтичний продукт, який майже повністю засвоюється в організмі людини. Саме тому кролівництво – високоефективна та перспективна галузь тваринництва, з низькими виробничими витратами та високими економічними показниками. Важливу роль у функціонуванні біокаталітичної системи живого організму відіграють функціональні HS-групи білків. Встановлено, що HS-вмісні сполуки піддаються процесам окиснення у першу чергу, таким чином оберігаючи від окиснення інші функціональні групи та молекули [2]. Неспецифічною реакцією організму на вплив різних стресових чинників є зворотна окиснювальна модифікація HS-груп, яка призводить до збільшення кількості дисульфідних груп. Така модифікація змінює стан клітинних мембран, їх проникність і адгезивні властивості, впливає на активність ензимів і клітинну проліферацію [4, 5]. Глутатіон – трипептид, що присутній у всіх клітинах живого організму, бере участь у численних реакціях метаболізму,

© Роль Н.В., Цехмістренко С.І., 2016

забезпечуючи тим самим нормальний перебіг низки фізіолого-біохімічних процесів [6, 11].

Метою досліджень є вивчення впливу вітамінно-кормової добавки на процеси пероксидного окиснення ліпідів в організмі кролів.

Основні завдання дослідження – визначення вмісту відновленого глутатіону та сульфгідрильних груп у серці, мозку та найдовшому м'язі кролів Новозеландської породи за використання вітамінно-кормової добавки «Текго».

Матеріали і методи досліджень. Експериментальна частина роботи проведена в ТОВ «Грегут» Фастівського району Київської області на кролях Новозеландської породи віком від народження до 90 діб. Лабораторні дослідження проведено в лабораторії біохімічних та гістохімічних методів досліджень Білоцерківського національного аграрного університету. Під час проведення досліджень дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм і вимог згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Матеріалом для дослідження були тканини мозку, серця та найдовшого м'яза спини кролів, які відбирали після забою. Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за методом, що базується на здатності GSH при взаємодії з реактивом Елмана утворювати сполуку жовтого кольору (2-нітроб-меркаптобензойну кислоту), інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмісту GSH [3]. Визначали сумарні та білкові сульфгідрильні групи з використанням реактиву Елмана (5,5-дітіо-біс-нітробензойної кислоти). Вимірювання проводили на спектрофотометрі СФ-2000 в кюветах з кварцового скла, при довжині хвилі 412 нм [1]. Для розрахунків використано комп'ютерну програму Microsoft Office Excel.

Виклад основного матеріалу. Важливу роль у розвитку оксидативного стресу займає рівновага синтезу прооксидантів та антиоксидантного захисту, зсув цієї рівноваги в бік прооксидантів викликає компенсаторну активацію антиокси-

дантної системи від пошкоджувальної дії вільних радикалів та пероксидних сполук. Відновлений глутатіон (ВГ) – один із найважливіших компонентів глутатіонового пулу, який швидко мобілізується у випадку підвищеного вмісту пероксидів та відновлює їх у реакції, що супроводжується утворенням окисненого глутатіону, який є токсичним для клітин [6, 7, 9]. У мозку тварин дослідної групи (табл. 1) відмічено вірогідне збільшення вмісту ВГ, що свідчить про зменшення інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) за використання вітамінно-кормової добавки. У серці кролів за додавання вітамінно-кормової добавки «Текго» спостерігали зниження на 55% вмісту ВГ з 45-ї по 75-ту добу досліду, що, ймовірно, спричинено посиленням використання його відновлюваного агента, зменшенням швидкості відновлення, а також порушенням у процесі його біосинтезу. Проте, у 90 діб відмічено зростання його вмісту в 2,2 рази, що свідчить про відновлення про/антиоксидантної рівноваги в організмі кролів. У найдовшому м'язі суттєвої різниці між показниками вмісту ВГ тварин дослідної та контрольної груп не встановлено.

Таблиця 1

Вміст відновленого глутатіону у органах та тканинах кролів новозеландської породи ммоль/г тканини (M±m, n=5)

Вік, діб	Мозок	Серце	М'яз
Контрольна група			
45	1,95±0,09	0,53±0,12	1,44±0,32
60	1,57±0,03**	0,52±0,16	1,56±0,02
75	2,01±0,02***	0,41±0,13	1,17±0,31
90	1,79±0,07*	0,26±0,04	1,23±0,19
Дослідна група			
45	2,15±0,04^	0,29±0,01	1,19±0,29
60	1,46±0,04***^	0,23±0,05	1,17±0,39
75	2,56±0,07***^^^	0,24±0,03	1,11±0,38
90	1,98±0,03***^	0,57±0,13*^	1,19±0,26

Примітка: тут і далі в таблицях * - $p \leq 0,05$; ** - $p \leq 0,01$; *** - $p \leq 0,001$ – порівняно з попереднім віковим періодом; ^ - $p \leq 0,05$; ^^ - $p \leq 0,01$; ^^ ^ - $p \leq 0,001$ – порівняно з контрольною групою.

HS-групи – це хімічно-активні групи, які відіграють важливу роль в процесах клітинного дихання, реакціях окисного фосфорильовання, регуляції проникності мембран, входять до складу активних центрів багатьох ензимів і коферментів, визначають їх каталітичну активність, а також беруть активну участь у підтриманні третинної структури білків. За кількістю HS-груп можна судити про метаболічну активність ензимів [8, 10].

Таблиця 2

Вміст HS-груп у органах та тканинах кролівновозеландської породи моль/ г ($M \pm m$, $n=5$)

Вік, діб	HS-групи білкові		HS-групи загальні		HS-групи вільні	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Мозок						
45	75,12± 5,71	64,68± 9,19	116,40± 9,15	108,24± 3,63	43,56± 6,79	43,56± 6,79
60	87,72± 8,09	75,72± 10,64	138,01± 3,64	126,48± 8,97	50,76± 3,91	50,76± 3,91
75	76,32± 12,65	96,36± 4,17	114,02± 9,93*	141,36± 3,40^	45,01± 5,71	45,01± 5,71
90	80,28± 16,24	54,12± 6,43***	103,68± 10,69	77,04± 5,43***	22,92± 2,69**	22,92± 2,69**
Серце						
45	98,64± 20,96	67,92± 37,29	267,84± 20,72	244,56± 21,77	169,19± 2,24	176,64± 22,63
60	111,96± 30,64	187,32± 16,85*^	258,24± 24,99	321,12± 11,97*^	146,28± 15,14	133,81± 21,18
75	143,28± 13,49	189,01± 17,49	303,84± 14,36	323,76± 15,67	160,56± 11,37	134,76± 4,86
90	134,52± 12,83	156,96± 5,23	270,96± 9,91	258,96± 4,46**	136,44± 19,62	102,01± 1,46***
Найдовший м'яз спини						
45	161,28± 13,39	151,68± 19,83	186,96± 15,14	188,64± 16,72	25,68± 2,43***	36,96± 3,63^
60	151,81± 4,53	159,84± 21,98	174,01± 6,49	186,24± 22,93	22,20± 3,91	26,41± 4,36
75	171,59± 4,67*	190,56± 14,53	191,98± 6,49	232,81± 13,32^	20,41± 4,52	42,24± 4,98*^^
90	145,44± 24,08	156,96± 16,93	165,36± 22,68	169,44± 17,43*	19,92± 2,87	12,48± 1,61***^^

У мозку кролів дослідної групи 90-добового віку відмічено вірогідне зменшення вмісту білкових HS-груп у 1,5 разів та загальних HS-груп у 1,4 рази порівняно з тваринами контрольної групи (табл. 2). Проте, показники вмісту вільних HS-груп у контрольній та дослідній групах майже не відрізнялися. Зниження вмісту HS-груп свідчить про збільшення концентрації вільних радикалів та посилення процесів ПОЛ та деяке послаблення антиоксидантних резервів організму.

У серці кролів дослідної групи відмічено збільшення кількості білкових HS-груп з 60-ї доби досліду, а у 90-добовому віці показник збільшився на 16,7%. Однак, дані вмісту загальних та вільних HS-груп мали тенденцію до зниження. При дослідженні найдовшого м'язу виявлено, що протягом усього дослідного періоду збільшувався вміст білкових та загальних HS-груп і у 90-добовому віці становив 7,9 та 2,5% відповідно. Такі показники свідчать про активну участь системи антиоксидантного захисту організму у протидії процесам пероксидного окиснення ліпідів та оксидативного стресу.

Висновки. Отримані при дослідженні показники вмісту відновленого глутатіону та сульфгідрильних груп в організмі кролів є важливим маркером оксидативного стресу. Визначення динаміки показників системи антиоксидантного захисту можна використовувати для виявлення оксидативного стресу в організмі тварин та попередження його шкідливого впливу на організм. Застосування вітамінно-кормової добавки «Текго» при вирощуванні кролів новозеландської породи позитивно впливає на вміст відновленого глутатіону та сульфгідрильних груп у мозку, серці та найдовшому м'язі спини.

Перспективи подальших досліджень. Заплановано дослідити активність ензимної ланки системи антиоксидантного захисту та показники окисної модифікації білків в організмі кролів новозеландської породи у віковому аспекті та при застосуванні вітамінно-кормової добавки.

Список використаних джерел:

1. Веревкина И. В. Колориметрический метод определения SH-групп и -S-S- связей в белках при помощи 5,5'-дитиобис (2-нитробензойной) кислоты / И. В. Веревкина, А. И. Точилкин, Н. А. Попова // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 223-231.

2. Гопаненко О. О. Пероксидні процеси в крові, печінці та скелетних м'язах кролів за гострого L-аргінін-індукованого панкреатиту та його корекції / О. О. Гопаненко, Й. Ф. Рівіс // Біологія тварин. – 2015. – Т. 17, № 3. – С. 43-51.
3. Горячковский О. М. Определение уровня восстановленного глутатиона в эритроцитах крови / Горячковский О. М. Клиническая биохимия : Справочное пособие – Одесса : Астропринт, 1998. – С. 370-372.
4. Зінко Г. О. Вплив препаратів селену та германію на окремі ланки патогенезу гастроентериту у телят / Л. Г. Слівінська, Г. О. Зінко // Біологія тварин. – 2015. – Т. 17. – № 2. – С. 57-64.
5. Іскра Р. Я. Дія хром цитрату на про/антиоксидантний статус підшлункової залози щурів за експериментального цукрового діабету / Р. Я Іскра., О. Слівінська // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2015. – В. 70. – С. 25-30.
6. Паска М. З. Вміст сульфгідрильних груп та глутатіону в бугайців волинської м'ясної породи різних типів вищої нервової діяльності за дії біологічно активних речовин / М.З. Паска //Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2013. – № 1. – С. 100-102.
7. Хаврона О. П. Порушення функціонування глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в слизовій оболонці шлунка, печінці та еритроцитах щурів при експериментальній виразковій хворобі / О. П. Хаврона // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2015. – № 1. – С. 26-31.
8. Цицюра Р. І. Особливості процесів ліпідної пероксидації, антиоксидантного захисту і цитолізу за умов гострої виразки шлунка і їх корекція / Р. І. Цицюра // Медична та клінічна хімія. – 2015. – Т. 7. – № 3. – С. 119-122.
9. Metovitan prevents accumulation of thiamin diphosphate oxygenized form in rat tissues under irradiation / Yu. M. Parkhomenko, G. V. Donchenko, L. I. Chehovskaya, S. P. Stepanenko etc // BiotechnologiaActa. – 2015. – V. 8. – №4. – P. 63-70.
10. Protective role of some feed additives against dizocelphine induced oxidative stress in testes of rabbit bucks / Sohair Y. Saleh, F. A. Sawiress, M. A. Tony, A. M. Hassanin etc. // Journal of Agricultural Science. – 2015.– V. 7. – № 10. – P. 239-252.
11. Kalinina E. V. Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes / 11. Kalinina E. V. Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes / E. V. Kalinina, N. N. Chernov, M. D. Novichkova // Biochemistry (Moscow). – 2014. – V. 79. – P. 1562-1583.

*Н. В. Роль, С. И. Цехмистренко. **Влияние витаминно-кормовой добавки на содержание восстановленного глутатиона и сульфгидрильных групп в органах и тканях кроликов.***

Исследовано содержание восстановленного глутатиона и сульфгидрильных групп в мозге, сердце и длиннейшей мышце спины кроликов новозеландской породы. Установлено, что при использовании витаминно-кормовой добавки «Текго» в тканях мозга достоверно ($p \leq 0,05$) увеличивается содержание восстановленного глутатиона на 10,6%. В сердце кроликов 90-суточного возраста достоверно ($p \leq 0,01$) увеличивается содержание белковых и общих HS-групп на 7,9 и 2,5% соответственно. При исследовании длиннейшей мышцы спины выявлено, что в течении всего исследовательского периода увеличивается содержание белковых и общих HS-групп и в 90-суточном возрасте составляет 156,96 мкмоль/г и 169,44 мкмоль/г соответственно.

Ключевые слова: кролики, сердце, мозг, длиннейшая мышца, глутатион, сульфгидрильные группы.

*N. Rol, S. Tsekhmistrenko. **Effect of vitamin and feed supplement for the maintenance of reduced glutathione and sulfhydryl groups in the organs and tissues of rabbits.***

The content of reduced glutathione and sulfhydryl groups in the brain, heart and muscle longest back New Zealand rabbits breed. It is established that the use of vitamin and feed additive «Tekro» in brain tissues significantly ($p \leq 0,05$) increases glutathione content 10.6%. At the heart of rabbits 90-day age was significantly ($p \leq 0,01$) increased protein content and total HS-group by 7.9% and 2.5% respectively. In the study of the longest back muscle found that during the research period increased protein content and total HS-groups and the 90-day age of 156,96 mmol/g and 169,44 mmol/g, respectively.

Keywords: rabbits, heart, brain, musclelongestback, glutathione, sulfhydrylgroup.