

ВПЛИВ ГОДІВЕЛЬНИХ ЧИННИКІВ НА ПЕРОКСИДНІ ПРОЦЕСИ Й АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ПЕЧІНЦІ КОРОПА

І. М. Попик, Н. П. Олексюк, В. Г. Янович

Інститут біології тварин НААН

Наведені дані про вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) — гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів, вітамінів А, Е та активність антиоксидантних ферментів — супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГП) і каталази у печінці коропа за різних умов годівлі. Встановлено, що інтенсивність процесів ПОЛ, вміст вітамінів А і Е та активність ферментів антиоксидантної системи у печінці коропа значною мірою залежить від годівельних чинників. Виявлено значно більший вміст продуктів ПОЛ (гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів), менший вміст вітамінів А і Е та нижчу активність антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази і каталази) у печінці коропа, що споживає додатково подрібнений ячмінь, порівняно з коропом, що споживає природний корм.

Ключові слова: ПЕРОКСИДНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ, АНТИОКСИДАНТНІ ФЕРМЕНТИ, ВІТАМІНИ А І Е, КОРОП, ПЕЧІНКА, ГОДІВЛЯ.

У процесі аеробного метаболізму в організмі риб, так само як і у теплокровних тварин, утворюються активні форми кисню (АФК), які окиснюють поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), що входять у склад фосfolіпідів клітинних мембран [1]. Утворені при цьому гідропероксиди проявляють деструктивну дію на клітинні мембрани і біополімери (білки та нуклеїнові кислоти). Захист ПНЖК від пероксидного окиснення забезпечує антиоксидантна система, яка включає ферментну і неферментну ланки. У ферментну ланку входять антиоксидантні ферменти: супероксиддисмутаза (СОД), глутатіонпероксидаза (ГП) і каталаза, у неферментну — природні антиоксиданти, найбільш відомими з яких є вітаміни А, Е, С і каротиноїди [1, 2]. Інтенсивність процесів ПОЛ й активність ферментів антиоксидантної системи в організмі риб детермінується генетичними факторами і значною мірою залежить від впливу багатьох годівельних факторів [3], а вміст жиророзчинних вітамінів і каротиноїдів — їх вмістом у спожитих кормах [4]. Відомо, що короп споживає як природні (зообентос), так і штучні корми, які суттєво відрізняються між собою за вмістом ПНЖК і вітаміну Е та каротиноїдів, які є попередниками вітаміну А, що, в свою чергу, впливає на процеси ПОЛ і систему антиоксидантного захисту в організмі риб [5]. Наявні в літературі поодинокі роботи про вміст окремих жиророзчинних вітамінів у тканинах риб фрагментарні і не розкривають вплив на вітамінний статус, пероксидні процеси і активність ферментів антиоксидантної системи складу природних кормів, які є джерелом і попередниками жиророзчинних вітамінів. У зв'язку з цим, метою нашої роботи було вивчення впливу різних типів кормів з різним вмістом вітаміну Е і каротиноїдів у живленні коропа на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів і активність ферментів антиоксидантної системи захисту в його організмі.

Матеріали і методи

Дослід провели на трьох групах лускатого коропа (*Cyprinus carpio*) дворічного віку масою 500–600 г, які вирощувалися у дослідних ставках Львівської дослідної станції Інституту рибного господарства НААН. Температура ставів була в межах 18–23 °С. Гідрохімічні показники води та кисневий режим у ставі були в межах норми. Рибу виловлювали зі ставів траловим методом. Перша група складала 225 екземплярів риби і утримувалася у ставі площею 0,15 га, друга налічувала 210 екземплярів і утримувалася у ставі площею 0,14 га, третя складала 165 екземплярів риби і утримувалась у ставі площею 0,11 га. Протягом вегетативного періоду, який тривав 80 днів, риби 1-ої групи (контрольної) споживали лише природний корм, наявний у ставку, рибама 2-ої групи окрім природного корму додатково згодовували подрібнений ячмінь, а рибама 3-ої групи — подрібнений ячмінь, до якого додавали вітамін А у вигляді 3,44 % масляного розчину ретинілацетату (ЗАО «Технолог», м. Умань) поступово збільшуючи його концентрацію в раціоні зі збільшенням кількості корму (2500, 5000, 7500 Ю/кг комбікорму) у відповідності з нормами годівлі [6]. Після закінчення досліду по п'ять коропів з кожної групи піддавали декапітації. Для біохімічних досліджень у них відбирали зразки печінки, які розтирали у рідкому азоті і готували гомогенат, який використовували у подальших дослідженнях. У ньому визначали вміст гідропероксидів ліпідів [7], ТБК-активних продуктів [8], активність супероксиддисмутази [9], глутатіонпероксидази [10] і каталази [11]. Вміст вітамінів А і Е визначали у розтертих у рідкому азоті зразках печінки методом високоефективної рідинної хроматографії [12]. Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стьюдента.

Результати й обговорення

Результати досліджень, які представлені у таблиці, показали, що процеси пероксидного окиснення ліпідів та активність ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи захисту у печінці коропа значною мірою залежать від годівельних чинників. Так, вміст продуктів ПОЛ у печінці коропів 2-ї і 3-ї груп, які додатково споживали відповідно подрібнений ячмінь і ячмінь з добавкою вітаміну А, значно більший, ніж їх вміст у коропів 1-ї групи, які споживали лише природний корм. Зокрема, вміст гідропероксидів ліпідів у печінці риб 2-ї групи був у 1,85 раза, а вміст ТБК-активних продуктів — у 6,45 раза більший, ніж їх вміст у печінці риб 1-ї групи ($p < 0,01$, $p < 0,001$). Отримані результати свідчать про значно меншу інтенсивність процесів ПОЛ у риб, які споживали природний корм, порівняно з рибами, які споживали додатковий штучний корм. Менший вміст ТБК-активних продуктів виявлено у печінці коропів 3-ї групи, яким згодовували подрібнений ячмінь з добавкою вітаміну А, порівняно з коропами 2-ї групи, які споживали подрібнений ячмінь ($p < 0,05$), тоді як вміст гідропероксидів ліпідів у печінці коропів 3-ї групи був на 75,7 % більший, порівняно з їх вмістом у печінці коропів 2-ї групи ($p < 0,001$).

Таблиця

Стан про- і антиоксидантних систем у печінці коропа за різних умов годівлі, ($M \pm m$, $n=5$)

Досліджувані показники	I група	II група	III група
Гідропероксидази, у.о./г	2,09±0,13	3,87±0,33**	6,80±0,43***°°
ТБК-активні продукти, нмоль/г	40,69±2,75	262,5±1,19***	239,3±7,89***°°
СОД, у.о./мг білка	6,98±0,15	6,02±0,22**	7,52±0,11*°°
ГП, мкмоль GSH/мг білка за хв.	1,17±0,01	1,19±0,02	1,22±0,01**
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мг білка за хв.*10 ⁵	2,48±0,07	2,19±0,09*	2,13±0,06**
Вітамін Е, мкг/г	14,65±0,83	6,02±0,16***	10,49±0,43***°°
Вітамін А, мкг/г	146,06±1,30	27,48±2,27***	63,17±6,17***°°

Примітки: 1. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ порівняно з групою риб, які споживали природний корм; 2. ° — $p < 0,05$; °° — $p < 0,001$ у порівнянні між 2 і 3-ю групами.

Значні різниці у печінці коропів досліджуваних груп виявлені також в активності антиоксидантних ферментів. Їх активність у печінці коропів, які споживали штучні корми була нижчою, ніж у коропів, які споживали лише природний корм ($p < 0,01-0,05$). Зокрема, активність СОД у печінці коропів 2-ї групи на 15,9 % ($p < 0,01$), а активність каталази — на 13,2 % нижча, ніж у печінці коропів 1-ї групи ($p < 0,05$). Лише активність ГП у печінці риб всіх досліджуваних груп була майже однаковою. Отримані результати досліджень свідчать про високу ефективність системи антиоксидантного захисту у печінці коропів, які споживали природний корм, порівняно з коропами, які споживали штучні корми. Вірогідно вищу активність СОД виявлено у печінці коропів 3-ї групи, яким згодовували подрібнений ячмінь з добавкою вітаміну А, порівняно з коропами 2-ї групи, яким згодовували лише подрібнений ячмінь ($p < 0,001$), тоді як активність глутатіонпероксидази і каталази суттєво не відрізнялася. Разом з тим, суттєві різниці виявлені у вмісті жиророзчинних вітамінів у печінці коропів, які споживали різні корми. Зокрема, нами виявлено значно менший вміст жиророзчинних вітамінів А і Е у печінці коропів, яким згодовували штучні корми, порівняно з коропами, які споживали природний корм ($p < 0,01-0,001$). Так, вміст вітаміну Е у печінці коропів 2 та 3-ї груп, яким згодовували подрібнений ячмінь і ячмінь з добавкою вітаміну А, відповідно у 2,43 і 1,39 раза ($p < 0,01-0,001$), а вміст вітаміну А — у 5,31 і 2,31 раза менший ($p < 0,001$), ніж їх вміст у печінці коропів 1-ї групи, які споживали лише природний корм. Відомо, що вміст вітаміну Е в організмі риб залежить від його вмісту у спожитих кормах, а вміст вітаміну А — від вмісту його попередників — каротиноїдів [4]. Природний корм містить більшу кількість вітаміну Е і каротиноїдів, які є попередниками вітаміну А [4], порівняно з ячменем. Тому, очевидним є більший вміст жиророзчинних вітамінів А і Е у печінці коропів, що споживали природний корм, порівняно з їх вмістом у печінці коропів, які споживали подрібнений ячмінь. Нами виявлено також значно більший вміст вітаміну А у печінці коропів 3-ї групи, яким згодовували подрібнений ячмінь з добавкою вітаміну А, порівняно з його вмістом у печінці коропів 2-ї групи, яким згодовували лише подрібнений ячмінь ($p < 0,001$). Отримані результати свідчать про пряму залежність між вмістом вітаміну А в раціоні риб і в організмі.

Загалом, отримані нами результати вказують на високу ефективність системи антиоксидантного захисту в організмі риб, які споживають природні корми.

Висновки

1. Вміст продуктів ПОЛ (гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів) у печінці коропів, які споживали додатково штучний корм, був вірогідно більший, а активність супероксиддисмутази і каталази вірогідно нижча, ніж у печінці коропів, які споживали лише природний корм ($p < 0,01-0,001$).
2. Вміст вітамінів А і Е у печінці коропів, які споживали подрібнений ячмінь, вірогідно менший, ніж у печінці коропів, які споживали природний корм ($p < 0,001$).

3. Вміст ТБК-активних продуктів у печінці коропів, яким згодовували подрібнений ячмінь з добавкою вітаміну А, був вірогідно менший, а вміст вітамінів А і Е більший та активність СОД вища, ніж у печінці коропів, яким згодовували подрібнений ячмінь ($p < 0,05-0,001$).

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення впливу різних доз вітаміну А на процеси ПОЛ і активність ферментів антиоксидантної системи в організмі коропа.

І. М. Потик, Н. П. Олексюк, В. Г. Янович

THE INFLUENCE OF NUTRITIONAL FACTORS ON LIPID PEROXIDATION AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN LIVER OF CARP

S u m m a r y

The data about content of lipid peroxidation products — lipid hydroperoxides and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), vitamins A and E and activity of antioxidant enzymes — superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in liver of carp depending on nutritional factors were presented in the article. It was established the lipid peroxidation, vitamins A and E and activity of antioxidant enzymes in liver of carp significantly depends on nutritional factors. The content of lipid peroxidation products (lipid hydroperoxides and TBARS) in liver of carp fed barley were significantly higher and content of vitamins A and E and activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) were significantly lower than in liver of carp fed natural food.

І. М. Потик, Н. П. Олексюк, В. Г. Янович

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВЫХ ФАКТОРОВ НА ПЕРЕКИСНЫЕ ПРОЦЕССЫ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ПЕЧЕНИ КАРПА

А н н о т а ц и я

В статье приведены данные о содержании продуктов перекисного окисления липидов — гидроперекисей липидов и продуктов, которые взаимодействуют с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активных продуктов), витаминов А, Е и активности антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы в печени карпа при разных условиях кормления. Установлено, что интенсивность перекисных процессов, содержание витаминов А, Е и активность ферментов антиоксидантной системы в печени карпа в значительной степени зависят от пищевых факторов. Обнаружено, что в печени карпа, которому скармливали измельченный ячмень, содержание продуктов ПОЛ (гидроперекисей липидов и ТБК-активных продуктов) значительно больше, содержание витаминов А и Е меньше, а активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и каталазы) ниже, чем у карпа, который питался природным кормом.

1. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков [и др.]. — М. : Фирма „Слово”, 2006. — 556 с. — ISBN 5-900228-55-X.
2. *Filho D. W.* Antioxidant defences in marine fish-I. Teleosts / D. W. Filho, C. Giulivi, A. Boveris // *Comp. Biochem. Physiol. C.* — 1993. — V. 106. — P. 409–413.
3. *Martines-Alvarez R. M.* Antioxidant defenses in fish : biotic and abiotic factors / R. M. Martines-Alvarez, A. E. Morales, A. Sanz // *Rev. Fish Biol. Fish.* — 2005. — V. 15, № 1. — P. 75–88.
4. Куртяк Б. М. Жиророзчинні вітаміни у ветеринарній медицині і тваринництві / Б. М. Куртяк, В. Г. Янович. — Львів : Тріада плюс, 2004. — 426 с. — ISBN 966-7596-39-7.
5. Грициняк І. І. Науково-практичні основи раціональної годівлі риб / І. І. Грициняк. — К. : Рибка моя, 2007. — 306 с. — ISBN 978-966-2990-02-7.
6. Остроумова І. Н. Биологические основы кормления рыб / И. Н. Остроумова. — Санкт-Петербург, 2001. — 372 с.
7. А. с. № 1084681 СССР, МКИ G № 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях / В. В. Мирончик (СССР). — № 3468369/28-13 ; заявл. 08.07.82 ; опубл. 07.04.84, Бюл. № 13.
8. Коробейникова С. Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой / С. Н. Коробейникова // *Лаб. дело.* — 1989. — № 7. — С. 8–9.
9. Дубинина Е. Е. Активность и изоферментный спектр СОД эритроцитов / Е. Е. Дубинина, Л. Я. Сальникова, Л. Ф. Ефимова // *Лаб. дело.* — 1983. — № 10. — С. 30–33.
10. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // *Лаб. дело.* — 1986. — № 12. — С. 724–727.
11. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // *Лаб. дело.* — 1988. — № 1. — С. 16–18.
12. Визначення вітамінів А і Е у біологічних матеріалах і кормах методом вискоєфективної рідинної хроматографії. Методичні рекомендації / Н. П. Олексюк, Л. Г. Левківська, Г. Г. Денис, Ю. Т. Салига. — Львів, 2007. — 20 с.

Рецензент: головний науковий співробітник лабораторії екологічної фізіології та якості продукції, доктор сільськогосподарських наук, с. н. с. Рівіс Й. Ф.