

ИЗМЕНЕНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА У АМЕРИКАНСКИХ НОРОК (*MUSTELA VISON SCHREBER, 1777*) ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРАКТА ИЗ БИОМАССЫ ХВОИ, ОБОГАЩЕННОГО L-АРГИНИНОМ

Change of pro- and antioxidative balance in american mink (Mustela vison) under effect extract from biomass needles, containing L-arginine

Е.П. Антонова¹, аспирант, С.Н. Сергина¹, И.В. Баишникова¹, А.Р. Унжаков¹, Н.Н. Тютюнник¹, Л.Б. Узенбаева¹, Н.П. Чернобровкина², Е.В. Робонен², В.А. Илюха¹
E.P. Antonova¹, S.N. Sergina¹, I.V. Baishnikova¹, A.R. Unzhakov¹, N.N. Tyutyunnik¹, L.B. Uzenbaeva¹, N.P. Chernobrovkina², E.V. Robonen², V.A. Ilyukha¹.

¹Институт биологии Карельского научного центра РАН

²Институт леса Карельского научного центра РАН

¹*Institute of biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences*

²*Forest Research Institute of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences (FRI KarRC RAS), Petrozavodsk*
antoonkina@rambler.ru

Аннотация. Исследовали влияние экстракта из биомассы хвои 10-летней сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*), обогащенного L-аргинином, на уровень генерации активных форм кислорода (АФК), активность антиоксидантных ферментов (АОФ) и содержание низкомолекулярных антиоксидантов в органах темно-коричневых норок. Выявлено, что аргинин оказал влияние на системы генерации и тушения АФК практически во всех исследованных органах 6-месячных щенков норок. Наиболее восприимчивым к действию экстракта было содержание GSH и жирорастворимых витаминов (А, Е). Ранее установлено, что, экстракт из биомассы хвои, содержащий L-аргинин оказывает положительное влияние на жизнеспособность, рост и развитие ослабленных щенков американских норок. Однако требуются дальнейшие исследования по изучению роли L-аргинина в развитии окислительного стресса.

Ключевые слова: норка, аргинин, биомасса хвои, активные формы кислорода, антиоксидантная система (АОС).

Summary. It was investigated the extract from needles biomass containing L-arginine influence on the reactive oxygen species (ROS) generation level, the antioxidant enzymes' activities and the content of low molecular antioxidants in the organs of mink. It was revealed that had an impact on the generation of ROS and reactive oxygen species quenching in almost all organs of minks. The content of GSH and fat-soluble vitamins (A, E) was more sensitive to the action of the extract. Previously, it was shown that an extract from needles biomass containing L-arginine had a positive effect on viability, growth and development of weakened mink kits. However, further research is needed to investigate the role of L-arginine in the development of oxidative stress.

Key words: mink, arginine, biomass of pine needles, reactive oxygen species (ROS), antioxidant system.

Компонентом большинства белков и субстратом для нескольких небелковых, азотсодержащих соединений является свободная аминокислота – аргинин [9]. В наших предыдущих исследованиях по изучению влияния экстракта хвои, обогащенной L-аргинином, было установлено, что аргинин, поддерживает у ослабленных щенков норок на высоком уровне неспецифическую защитную реакцию организма, обеспечивает повышение концентрации гемоглобина в эритроцитах, а также высокую интенсивность роста, и сохранность щенков [4]. Многие эффекты аргинина объясняются тем, что он является предшественником NO (оксида азота), вырабатываемого эндотелиальными клетками сосудов, макрофагами и нейтрофилами [1,10]. Однако биохимия NO двулика: с одной стороны, он может ограничивать окислительное повреждение (как обрывающий гаситель цепи радикалов), с другой – быть источником активных форм азота [10]. Для борьбы с окислительным воздействием существует ряд защитных механизмов гашения радикалов, к которым относятся различные низкомолекулярные клеточные соединения (GSH, витамины Е и С), а также ферментативные системы метаболизма (супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и GSH-пероксидаза). Исходя из изложенного, представляется целесообразным оценить состояние про- и антиоксидантного баланса у американских норок при действии экстракта из биомассы хвои, содержащего L-аргинин.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились на базе зверохозяйства «Пряжинское» Республики Карелия. Объектами исследования были 6-ти месячные щенки темно-коричневых норок. Кормление животных осуществлялось при добавлении в основной рацион экстракта из биомассы хвои, обогащенной аргинином сосны, выращенной при высоком уровне внесения в почву азотного удобрения и бора [5]. Контрольные животные содержались на основном рационе. Для определения уровня генерации АФК и интегральной оценки состояния АОС использовали хемилюминесцентный анализ (ХМЛ) с применением люминола и люцигенина в качестве люминофоров, а

также соли Fe (II) и H₂O₂ для активации свечения. Активность АОФ измеряли спектрофотометрически: супероксиддисмутаза по модифицированной адренохромной методике и каталаза по количеству разложенной H₂O₂. Содержание белка определяли по методу Лоури. В качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин. Активность ферментов рассчитывали на 1 г сырой ткани и 1 мг белка. Концентрацию витаминов А и Е определяли методом ВЭЖХ. Содержание восстановленного глутатиона (GSH) определяли спектрофотометрически по методу Эллмана. Исследования выполнены с использованием Центра коллективного пользования научным оборудованием Института биологии КарНЦ РАН. Полученные данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики, сравнение проводили с применением непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

Работа выполнена с соблюдением международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным и правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [6].

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проведенного эксперимента было выявлено влияние экстракта из биомассы хвои, обогащенной аргинином, на про- и антиоксидантный баланс у американских норок. Было установлено увеличение общего уровня генерации АФК в печени и сердце, что было оценено с помощью люминол-зависимой Fe (II)-индуцированной хемилюминесценции, как общей, так и удельной. Тем не менее, повышение уровня генерации супероксидного аниона-радикала было зафиксировано только в почках норок, потреблявших аргинин, о чём свидетельствует увеличение количества импульсов как общей, так и удельной люцигенин-зависимой Fe (II)-индуцированной хемилюминесценции. Возможно, что столь различные эффекты аргинина в исследуемых органах являются следствием того, что активные формы кислорода и азота находятся в сложных взаимоотношениях, обеспечивающих как синергические, так и антагонистические влияния, которые зависят от изменения скорости образования NO и O₂ [7].

При исследовании интегральных показателей функционирования ферментативного компонента АОС (общей и удельной люминол-зависимой H₂O₂-индуцированной хемилюминесценции) по увеличению количества импульсов было выявлено снижение общей активности АОФ как в печени, так и в лёгких норок подопытной группы по сравнению с контрольными животными. Тем не менее, активности конкретных АОФ – СОД и каталазы – не претерпели изменений под влиянием аргинина, за исключением удельной активности каталазы в печени, более низкой у подопытных норок по сравнению с контрольными животными. Известно, что в печени мышей NO продуцируется со скоростью 2 мкмоль/г/час, а в других тканях – в 5–10 раз меньше [3]. Активные формы азота (АФА) и АФК потенциально влияют на все аминокислоты и могут привести к окислению, как их боковых цепей, так и полипептидного скелета. Кроме того, окислительно модифицированные производные углеводов и липидов, например альдегиды, образуются при перекисном окислении полиненасыщенных жирных кислот, могут ковалентно реагировать с функциональными группами белков, которые сами по себе не подвергаются окислительным воздействиям [8]. Возможно, выявленное снижение АОФ является результатом увеличения продукции NO. При этом не зафиксировано достоверных изменений индекса СОД/каталаза в тканях органов норок под воздействием экстракта из биомассы обогащенной аргинином хвои, а содержание общего белка у норок контрольных и подопытных групп было идентичным.

Различные звенья АОС находятся в тесных взаимоотношениях, ослабление одного звена, как правило, сопровождается усилением других [2]. Вероятно, зафиксированные во всех исследованных тканях изменения содержания отдельных низкомолекулярных антиоксидантов у норок под воздействием аргинина (Табл. 1), являются следствием снижения ферментативного звена АОС. Так, в пе

Таблица 1. Влияние экстракта из биомассы обогащенной аргинином хвои на содержание низкомолекулярных антиоксидантов в органах щенков норок

Ткани органов	Группы животных	Содержание низкомолекулярных антиоксидантов, M±m		
		GSH, ммоль/100 г ткани	Ретинол, мг/г ткани	α-токоферол, мг/г ткани
Печень	к	0,49±0,01	16,11±1,68	16,58±3,78
	о	0,47±0,01	38,41±7,56*	56,21±10,78*
Почки	к	0,52±0,02	199,16±8,66	15,77±4,85
	о	0,71±0,02*	166,93±13,43	126,06±15,22*
Сердце	к	1,17±0,04	0,68±0,12	но
	о	1,02±0,03*	1,66±0,20*	но
Лёгкие	к	но	но	но
	о	но	но	но
Селезёнка	к	но	но	но
	о	но	но	но
Ск.м.	к	но	но	7,53±1,19
	о	но	но	16,33±2,68*

Условные обозначения: * - различия достоверны по сравнению с контролем (p<0,05); но – показатель в данном случае не определяли.

чени подопытных норок по сравнению с контрольными отмечаются более высокие уровни ретинола и α -токоферола, в почках – повышение уровней GSH и α -токоферола, в сердечной мышечной ткани – снижение содержания GSH наряду с повышением количества ретинола, и в скелетной мышце также наблюдается увеличение уровня α -токоферола.

Таким образом, выявленные эффекты экстракта из биомассы хвои, содержащего L-аргинин, на состояние про- и антиоксидантного баланса у американских норок, весьма противоречивы. Требуются дальнейшие исследования по изучению роли L-аргинина в развитии окислительного стресса.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований ОБН РАН «Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий» № гос. регистрации 01201257867 и гранта Президента и НШ-1410.2014.4.

Библиографический список:

1. Ванин А.Ф. Оксид азота в биологии: история, состояние и перспективы исследований // Биохимия. 1998. № 7. С. 867–869.
2. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы // Вестн. Рос. АМН. 1998. № 7. С. 43–51.
3. Галаган М.Е., Киладзе С.В., Ванин А.Ф. Реакция динитрозильных комплексов негемового железа с диэтилдитиокарбаматом в крови анестезированных крыс: её специфическое проявление на физико-химическом и физиологическом уровнях // Биофизика. 1997. Т. 42., № 3. С. 687–693.
4. Унжаков А.Р., Тютюнник Н.Н., Узенбаева Л.Б. и др.. Физиологическое состояние щенков американской норки (*Mustela vison*) при действии экстракта из обогащенной L-аргинином хвои // Труды КарНЦ РАН. 2014. №5. С. 222–227.
5. Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Зайцева М.И. Накопление L-аргинина в хвое сосны обыкновенной при регуляции азотного и борного обеспечения // Химия растительного сырья. 2010. №3. С. 71–75.
6. Этическая экспертиза биомедицинских исследований. Практические рекомендации / Под ред. Белоусова Ю.Б. Москва. 2005. 156 с.
7. Brune B., Zhou J., Knethen A. Nitric oxide, oxidative stress, and apoptosis // *Kidney Int.* 2003. Vol. 84. P. 22–24.
8. Hensley K. et al. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury // *Free Radic. Biol. Med.* 2000. Vol. 28, № 10. P. 1456–1462.
9. Nieves Jr C., Langkamp-Henken B. Arginine and immunity: a unique perspective // *Biomed. Pharmacother.* 2002. V.56. P. 471–482.
10. Wu G., Bazer F.W., Davis T.A. et al. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease // *Amino Acids.* 2009. Vol. 37. P. 153–168.

УДК 619.636.034

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ ОРГАНОВ КУР КРОССА «ХАЙСЕКс БРАУН» ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕКОТОРЫХ АДАПТОГЕНОВ

Morphological and functional changes of immune organs of chickens cross «Haysex Brown» under the influence of some adaptogens

Бородулина И.В. кандидат вет. наук, доцент
Borodulina I. V.

ФГБОУ ВПО «Красноярский государственный аграрный университет»
«*Krasnoyarsk State Agrarian University*»
borodulina-irina@rambler.ru

Аннотация. В статье рассматриваются результаты проведенных опытов, и описаны морфофункциональные изменения иммунокомпетентных органов кур кросса «Хайсекс браун» под влиянием адаптогенов растительного и животного происхождения.

Ключевые слова: куры, иммунокомпетентные органы, тимус, бурса, адаптогены.

Summary. The article discusses the results of the experiments are described and morphological changes of immune organs of chickens cross «Haysex Brown» under the influence of adaptogens plant and animal origin.

Key words: chickens, immunocompetent organs, thymus, bursa, adaptogens.

Наличие больших птицефабрик в нашей стране, исследования в области генетики и селекции сельскохозяйственной птицы, оптимизация условий ее эксплуатации с целью получения максимального количества продукции при наименьших затратах ставят много задач перед ветеринарной медициной. Вопросы профилактики болезней птиц и борьбы с ними нуждаются в поиске новых экономически выгодных решений [3,4,7].

Для решения этих проблем в настоящее время всё большее применение получают современные методы экологического животноводства. Многочисленные исследования показывают, что наиболее эффективными способами снижения заболеваемости животных, повышение их продуктивности и