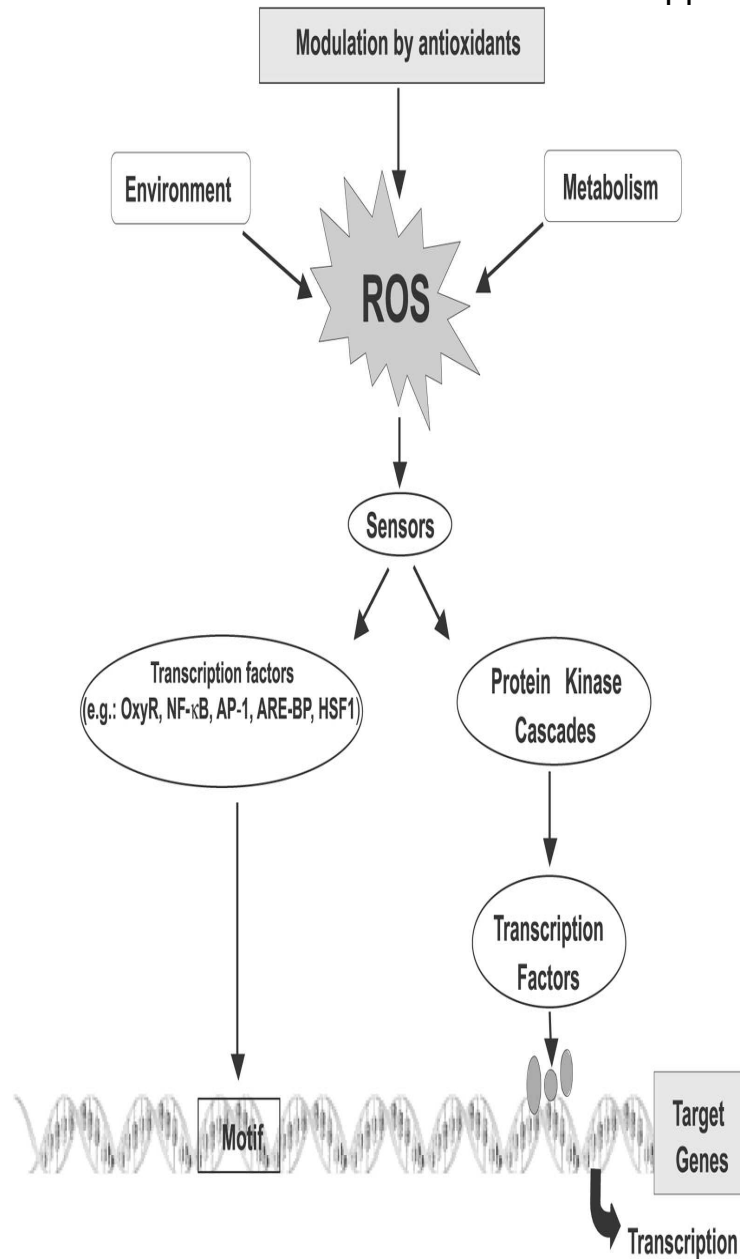


**ОПРЕДЕЛЯНЕ НА АНТИОКСИДАНТНА
АКТИВНОСТ НА ПЧЕЛНИ ПРОДУКТИ
(ПРОПОЛИС, ПЧЕЛНО МЛЕЧИЦЕ И ПЧЕЛЕН МЕД)**

*МАРТИН ДИМИТРОВ
ДОКТОРАНТ
БИОЛОГИЧЕСКИ ФАКУЛТЕТ, КАТЕДРА ГЕНЕТИКА*

Оксидативен стрес при живите организми -



1. ROS (свободни радикали) предизвикват различни промени в живите организми, като най-често атакуват жизнено важни компоненти.

- ДНК
- Липидни мембрани
- Протеини (белтъци)

2. Участват в:

- процесите на стареене
- някои автоимунни заболявания
- в развитието на различни тумори

3. Генерирането на ROS в организмите е резултат от:

- аеробния метаболизъм (ендогенни)
- влиянието на околната среда (екзогенни)

4. Организмите са изработили собствени защитни механизми за неутрализиране на свободните радикали, :

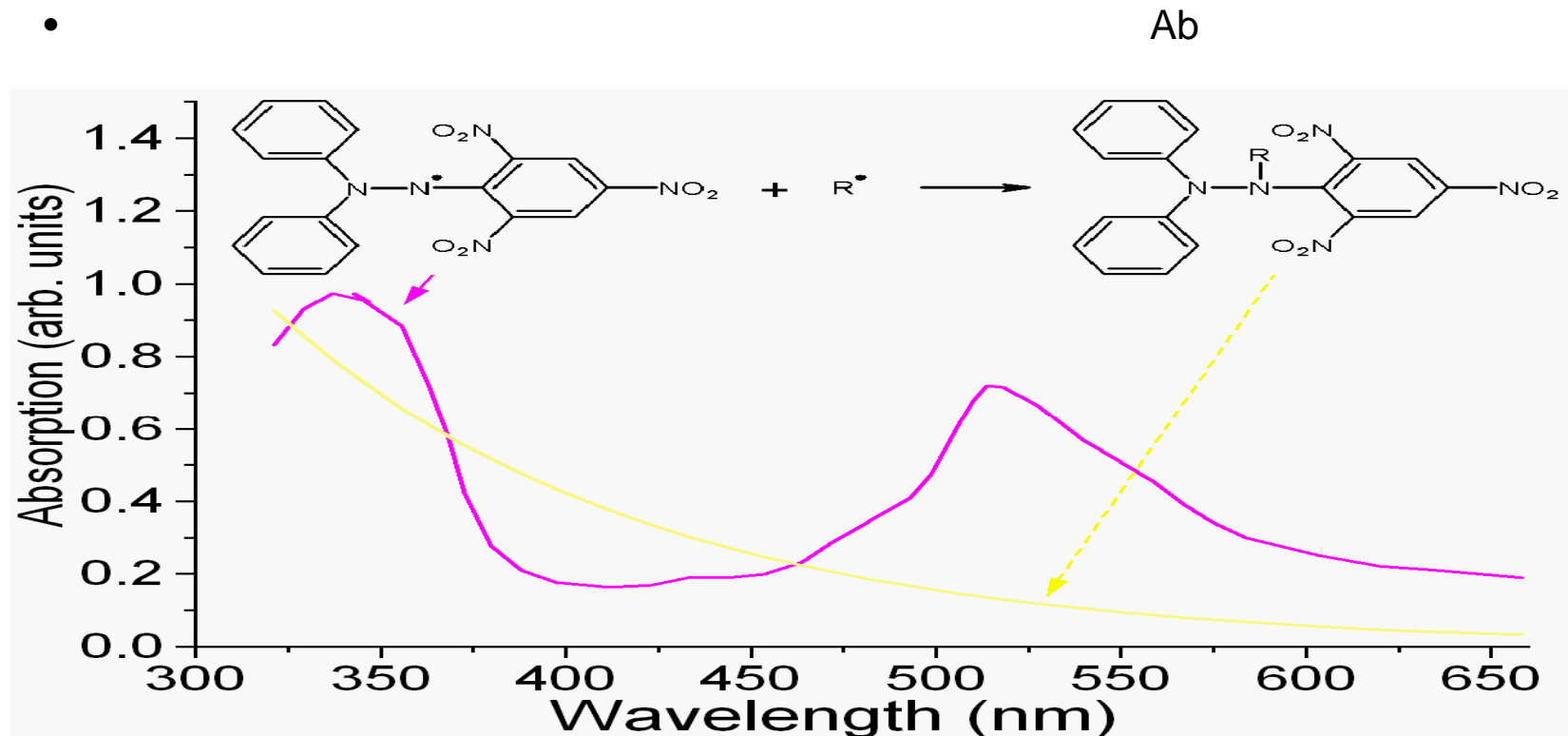
- ензимни системи за неутрализиране (SOD, CAT, peroxudase)

-не ензимни системи за неутрализиране

5. За неутрализиране на свободните радикали може да се използват природни продукти

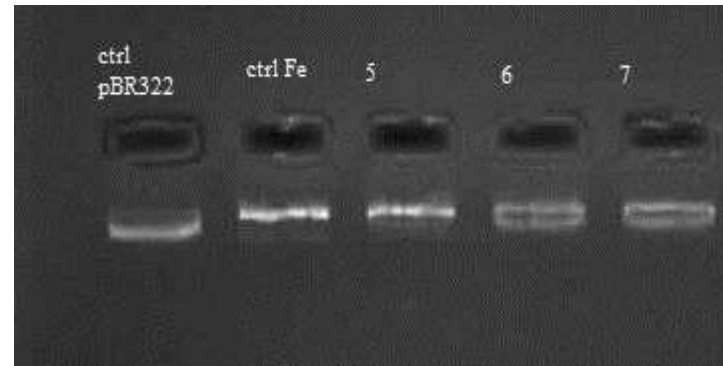
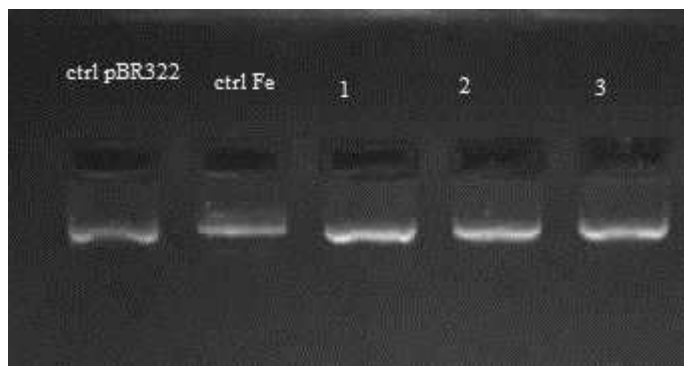
Подходи за определяне ролята на пчелните продукти като антиоксиданти

- 1. DPPH – анализ
- - бърз и евтин метод за определяне на антирадикална активност на различни съставки
- - DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) стабилен радикал с наситен виолетов цвят в разтвор на метанол
- - при добавяне на антиоксидант той се обезцветява или се оцветява в бледо жълто при неутрализиране
- - оптичестката плътност (екстинкцията) се отчита фотометрично при OD= 520 nm.
- - процента на активността се измерва по формулата $\frac{Ab - Aa}{Aa} \times 100$, където Ab е екстинкция на DPPH, а Aa- екстинкция на всяка проба



ДНК-topology assay

- DNA topology assay служи за определяне на метал-свързани ДНК повреди и се основава на:
 - - индукция на двойноверижни разриви в плазмидна ДНК (pBR 322) в присъствие на Fe²⁺
 - - Изследване способността на антиоксиданта (прополис, активна съставка на прополиса –CAPE, пчелно млечице, пчелен мед) да възстановяват двойноверижните разриви, индуцирани в плазмидната ДНК
 - - Резултатите ще се отчитат чрез гел-електрофореза по големина и брой на получените ивици от всеки вариант на опита



Cometa assay или Single cell гел-електрофорезата е техника за определяне на повреди в ДНК в индивидуални клетки, индуцирани от различни фактори- химични вещества, замърсители от околната среда и др. За целта:

-Клетките се вграждат в ниско-топяща агароза на микроскопски препарат, лизират се и се провежда електрофореза на геномната ДНК.

- Визуализират се чрез багрене с флуоресцентно багрило и се наблюдават на микроскоп. ДНК мигрира към анода и придобива форма на комета с опашка. Разкъсването в ДНК-веригата от анализирани вещества индуцира релаксиране на нормално суперзавитата хромозомна ДНК, при което опашката в ДНК става по-мобилна. Това се вижда като изявена миграция на ДНК към анода след електрофореза.

- Измерването на дължината на опашката или определянето на процента ДНК, съдържаща се в нея е прост начин за количествено определяне на степента на ДНК-повредата в една клетка.

- Cometa assay, разработен на дрожди принципно е прост и евтин, но също е много чувствителен и намира широко приложение за тестиране на генотоксини, за провеждане на екологичен и човешки мониторинг. Може да бъде адаптиран за оценка на способността на природни продукти да предпазват ДНК от повреди да репарират на ДНК- повреди.