

УДК 636.4.082.31:612.015.3

ПОЛІЩУК С.А., канд. с.-г. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

## КОРЕКЦІЯ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ БІЛКІВ В ОРГАНІЗМІ КНУРІВ-ПЛІДНИКІВ

Наведені результати впливу біокомплексного препарату Мультибактерін на показники білкового обміну в організмі кнурів-плідників великої білої породи та синтетичної лінії SS23. Встановлено, що за дії препарату Мультибактерін підвищуються адаптаційні можливості організму досліджуваних тварин, в спермі та цитоплазмі спермій кнурів великої білої породи і синтетичної лінії SS23 знижується вміст продуктів окисної модифікації білків, рівень середньомолекулярних пептидів та циркулюючих імунних комплексів, що позитивно впливає на її якісні та кількісні показники функціонування сперми.

**Ключові слова:** кнури-плідники, сперма, окисна модифікація білків, молекули середньої маси, циркулюючі імунні комплекси.

**Постановка проблеми.** Перебіг різноманітних фізіологічних і патологічних процесів обумовлений індивідуальними особливостями організму. З'ясування біохімічних механізмів функціонування клітин є важливим аспектом вирішення однієї із фундаментальних проблем біології. Вільнорадикальні процеси окиснення ліпідів і білків у клітинах різних органів перебігають з неоднаковою інтенсивністю [1, 5].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Близько 95 % Оксигену, який потрапляє до організму в процесі окиснювального фосфорилування відновлюється в мітохондріях до води. Решта в результаті різноманітних реакцій перетворюються в активні форми Оксигену (АФО). Останні модифікують структуру білків і ліпідів біологічних мембран, що в свою чергу призводить до порушення метаболічних процесів у клітинах. Статеві клітини самців надзвичайно чутливі до дії АФО, оскільки містять значну частину поліненасичених жирних кислот та білків [5].

У зв'язку із особливостями хімічної будови та структурної організації білків, процес окисної модифікації білків (ОМБ) має складний та специфічний характер. Окиснювальна модифікація білків супроводжується порушенням структури скелету поліпептидного ланцюга або окремих амінокислотних залишків.

Біохімічними наслідками ОМБ в організмі є зміна активності ферментів та їх інгібіторів, агрегація білків, модифікація генної транскрипції, утворення аномальних поверхневих молекул тощо [2, 5]. Водночас потрібно зазначити, що процес окиснення білків постійно перебігає в тканинах організму, виконуючи при цьому надзвичайно важливу функцію в обміні білків. Деякі автори розглядають накопичення окиснених білків як один із факторів регуляції синтезу і розпаду білків, активації мультикаталітичних протеаз, вибірково руйнуючих окиснені молекули. Фактично руйнування окиснених білків оцінюється як прояв вторинного антиоксидантного захисту в тканинах [8].

ОМБ – один із ранніх і найбільш надійних індикаторів ураження тканин за вільнорадикальної патології [5]. За розвитку більшості патологічних процесів саме білки, а не ліпіди і нуклеїнові кислоти є ефективними пастками для АФО. ОМБ розглядається як один з ранніх та надійних маркерів окислятивного стресу [9]. Відомо, що деградовані білки можуть знаходитися в клітинах від декількох годин до декількох діб, а продукти пероксидного окиснення ліпідів підлягають детоксикації вже через декілька хвилин [10]. У зв'язку з цим використання препаратів з антиоксидантними та метаболічними властивостями є перспективним напрямом у біології. До них належить біологічно активний препарат з вітамінно-мінеральними комплексами Мультибактерін.

**Мета дослідження** – дослідити вплив багатокомпонентного препарату Мультибактерін на вміст продуктів ОМБ і концентрацію молекул середньої маси у спермі кнурів-плідників.

**Матеріал і методи досліджень.** Для досліджень використовували кнурів-плідників великої білої породи та синтетичної лінії SS23. Матеріалом для досліджень слугувала сперма. Інтенсивність ОМБ оцінювали за вмістом альдегід- та кетондинітрофенілгідрозонів (АДНФГ і КДНФГ) [4]. Вміст

молекул середньої маси (МСМ) визначали скринінговим методом [7]. Стан аутоімунних процесів оцінювали за вмістом циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) [3]. Отримані експериментальні дані обраховували загальноприйнятими методами статистики.

**Результати досліджень та їх обговорення.** В таблиці 1 відображена динаміка вмісту загального білка в плазмі сперми та цитоплазмі спермійв кнурів-плідників великої білої породи та синтетичної лінії SS23. Згодовування Мультибактеріну сприяє підвищенню вмісту загального білка у спермі кнурів. Так, на 15-ту добу експерименту його вміст в плазмі сперми чистопорідних кнурів зростає на 23,6 % ( $p < 0,05$ ), у тварин синтетичної лінії – на 24,8 % ( $p < 0,01$ ) порівняно з контролем. До кінця досліджуваного періоду концентрація загального білка знаходиться на досить високому рівні. Подібна тенденція прослідковується і в цитоплазмі спермійв.

В еякулятах кнурів-плідників обох досліджуваних порід виявлені продукти окиснення білків, які прореагували із 2,4-динітрофенілгідрaziном (табл. 2). Основна кількість утворених динітрофенілгідразонів належить до альдегідо- та кетонпохідних нейтрального характеру. На фоні згодовування препарату в плазмі сперми кнурів обох порід проявляється тенденція до зниження концентрації КДНФГ нейтрального характеру. Кількість вказаних продуктів ОМБ в плазмі сперми плідників великої білої породи знижується на 23,2 %, у тварин синтетичної лінії – на 10,1 % проти показників у контролі. При цьому відмічається вірогідне зниження АДНФГ нейтрального характеру в чистопорідних кнурів у 2,0 рази ( $p < 0,001$ ), тварин синтетичної лінії SS23 – в 1,6 рази ( $p < 0,001$ ) порівняно з контролем.

Таблиця 1 – Вміст загального білка в плазмі сперми та цитоплазмі спермійв кнурів плідників за дії Мультибактеріну, ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )

Група кнурів	Загальний білок, г/л	
	плазма сперми	цитоплазма спермійв
До введення		
Контроль Велика біла	11,05 ± 0,41	36,82 ± 2,99
Дослід Велика біла	11,91 ± 0,65	41,81 ± 3,10
Контроль SS23	10,76 ± 0,72	46,81 ± 2,82
Дослід SS23	11,14 ± 0,78	48,57 ± 3,55
Через 15 діб після згодовування препарату		
Контроль Велика біла	8,09 ± 0,39	42,14 ± 2,90
Дослід Велика біла	10,00 ± 0,68*	55,14 ± 2,11*
Контроль SS23	10,76 ± 0,54	45,52 ± 1,75
Дослід SS23	13,43 ± 0,32**	48,05 ± 1,13
Через 30 діб після згодовування препарату		
Контроль Велика біла	8,38 ± 0,87	38,29 ± 1,34
Дослід Велика біла	10,60 ± 0,24*	47,52 ± 1,07**
Контроль SS23	7,33 ± 0,51	35,33 ± 1,18
Дослід SS23	10,95 ± 0,72**	41,57 ± 2,36

**Примітка.** Тут і надалі \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  – порівняно з контролем.

На 15-ту добу експерименту концентрація альдегідо- і кетонпохідних основного характеру в плазмі сперми кнурів досліджуваних порід була фактично у 2 рази нижчою, порівняно з похідними нейтрального характеру. До кінця дослідження кількість продуктів ОМБ основного характеру продовжувала знижуватися відносно карбонільних сполук нейтрального характеру.

Таблиця 2 – Вміст продуктів окисної модифікації білків нейтрального та основного характеру в плазмі сперми кнурів-плідників за дії Мультибактеріну, ммоль/г білка ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )

Група кнурів	Продукти нейтрального характеру		Продукти основного характеру	
	КДНФГ $\lambda=356$	АДНФГ $\lambda=370$	КДНФГ $\lambda=430$	АДНФГ $\lambda=530$
До введення				
Контроль Велика біла	41,02 ± 2,42	32,37 ± 2,59	25,68 ± 2,50	3,66 ± 0,36
Дослід Велика біла	39,40 ± 3,64	30,22 ± 2,50	25,05 ± 2,49	3,35 ± 0,32
Контроль SS23	33,08 ± 3,32	31,37 ± 3,13	24,50 ± 2,44	4,08 ± 0,38
Дослід SS23	35,38 ± 3,33	34,07 ± 3,15	24,98 ± 2,08	4,49 ± 0,42

На 15-ту добу згодовування препарату				
Контроль Велика біла	43,00 ± 1,92	40,44 ± 1,98	33,05 ± 1,71	7,12 ± 0,70
Дослід Велика біла	33,87 ± 3,62	20,01 ± 1,49***	25,14 ± 2,00*	4,54 ± 0,31*
Контроль SS23	40,16 ± 1,57	33,11 ± 0,75	27,52 ± 1,31	6,26 ± 0,20
Дослід SS23	36,12 ± 2,07	20,61 ± 1,49***	23,97 ± 1,24	6,05 ± 0,53
На 30-ту добу згодовування препарату				
Контроль Велика біла	40,54 ± 1,13	33,53 ± 0,99	28,62 ± 1,17	11,73 ± 0,63
Дослід Велика біла	32,66 ± 1,83*	26,99 ± 1,00**	23,03 ± 0,95**	9,43 ± 0,52*
Контроль SS23	32,67 ± 1,29	28,87 ± 1,63	25,12 ± 1,42	10,15 ± 0,83
Дослід SS23	27,77 ± 0,91*	24,52 ± 0,51*	21,33 ± 0,38*	8,66 ± 0,78

За двотижневого згодовування Мультибактеріну відмічається суттєве зниження вмісту КДНФГ нейтрального характеру у цитоплазмі сперміїв чистопорідних кнурів на 18,9 %, у тварин синтетичної лінії – на 29,2 % порівняно з контролем. Концентрація альдегідпохідних нейтрального характеру за цей період знизилась відповідно на 17,3 та 35,1 %.

Кількість АДНФГ основного характеру в цитоплазмі сперміїв тварин великої білої породи протягом двотижневого використання Мультибактеріну майже не змінюється. Однак, вже до кінця експерименту виявлено суттєве зменшення рівня всіх фракцій окиснених білків порівняно з контролем. Коливання вмісту різноманітних продуктів ОМБ мають свої особливості, що, ймовірно, пов'язано з умовами їх утворення. Наприклад, одні продукти ОМБ утворюються в результаті безпосередньої взаємодії АФО з білковими молекулами, водночас інші утворюються при взаємодії з продуктами ліпопероксидації й глікооксидації [2].

Як додатковий показник, який відображає ступінь фрагментації білків, досліджували вміст молекул середньої маси в еякулятах кнурів-плідників [6].

Ступінь ендогенної інтоксикації в організмі тварин за використання Мультибактеріну вивчали на основі вмісту МСМ за довжини хвилі 254 та 280 нм. Результати досліджень показали, що згодовування мультикомпонентного препарату кнурам-плідникам сприяє зниженню рівня МСМ в їх спермі. Так, на 15-ту добу експерименту кількість МСМ280 у плазмі сперми чистопорідних тварин знижується на 11,8 %, у тварин синтетичної лінії – на 18,8 % порівняно з контролем. На 30-ту добу – рівень середньомолекулярних пептидів у кнурів дослідних груп продовжує знижуватися на 41,2 ( $p < 0,01$ ) та 37,5 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Концентрація МСМ у сперміях плідників дещо вища порівняно із плазмою сперми.

Функціонування гуморальної ланки імунітету в організмі кнурів-плідників за використання Мультибактеріну оцінювали за вмістом ЦІК. Відомо, що імунна система тварин, в силу своєї чутливості є однією із перших, яка реагує на взаємодії з біотичними та абіотичними факторами. Важливою функцією імунної системи є видалення із організму екзо- та ендогенних антигенів, якими можуть бути віруси, бактерії, власні аномальні білки, ксенобіотики тощо.

Одним із механізмів виведення антигену із організму є утворення імунних комплексів – антиген-антитіло. Всі антигени, взаємодіючи з рецепторами клітин імуннокомпетентної системи, викликають синтез антитіл і належать до індукторів утворення ЦІК. За фізіологічних умов, утворення та присутність ЦІК у біологічних рідинах є одним із проявів імунної відповіді організму на надходження антигенів та є важливим чинником, що забезпечує імунітет. За розвитку оксидативного стресу в організмі накопичується значна кількість продуктів окиснювальної модифікації біополімерів (білки, нуклеїнові кислоти), які набувають антигенних властивостей і можуть стимулювати антитілогенез, що призводить до підвищення рівня ЦІК [11]. Концентрація ЦІК у плазмі сперми та цитоплазмі сперміїв кнурів-плідників великої білої породи дещо вища порівняно з тваринами синтетичної лінії. На фоні згодовування препарату Мультибактерін спостерігається тенденція до зниження циркулюючих імунних комплексів в еякулятах досліджуваних груп тварин.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** Згодовування Мультибактеріну кнурам-плідникам сприяє підвищенню адаптаційних можливостей організму в умовах промислового вирощування свиней. Зокрема, в спермі досліджуваних тварин спостерігається зменшення концентрації продуктів окисної модифікації білків.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барабой В.А. Биоантиоксиданты / В.А. Барабой. – К.: Книга плюс, 2006. – 462 с.
2. Окислительная модификация белков и липидов плазмы крови больных раком легкого / Р.Н. Белоногов, Н.М. Титова, Ю.А. Дыхно [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – №4 (34). – С. 48–51.
3. Гриневич Ю.А. Определение иммунных комплексов в крови онкологического больного / Ю.А. Гриневич, А.Н. Алферов // Лаб. дело. – 1981. – № 8. – С. 493–495.
4. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т. 41. – С. 24–26.
5. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь, смерть, созидание и разрушение). Физиологическое и клинико-биохимические аспекты / Елена Ефимовна Дубинина. – СПб.: Медпресса, 2006. – 400 с.
6. Никольская В.А. Биохимический аспект рассмотрения роли молекул средней массы в организме / В.А. Никольская, Ю.Д. Данильченко, З.Н. Меметова // Ученые записки Таврического нац. ун-та им. В. И. Вернадского. – 2013. – Т. 26 (65), № 1. – С. 139–145.
7. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях: Метод. рекомендации / Габриэлян Н.И., Левицкий Э.Р., Дмитриев А.А. [и др.] // НИИТ и ИО МЗ СССР. – М., 1985. – 32 с.
8. Presence of membrane-bound proteinases that preferentially degrade oxidatively damaged erythrocyte membrane proteins as secondary antioxidant defense / M. Beppu, M. Inoue, T. Ishikawa, K. Kikugawa // Biochim. Biophys. Acta. – 1994. – Vol. 1196 (1). – P. 81–87.
9. Protein modification as oxidative stress marker in follicular fluid from women with polycystic ovary syndrome: the effect of inositol and metformin / P. Piomboni, R. Focarelli, A. Capaldo [et al.] // J. Assist. Reprod. Genet. – 2014. – Vol. 10. – P. 1269–1276.
10. Reduced 4-hydroxynonenal degradation in hearts of spontaneously hypertensive rats during normoxia and postischemic reperfusion / T. Grune, K. Schönheit, I. Blasig, W. Siems // Cell Biochem. Funct. – 1994. – Vol. 12 (2). – P. 143–147.
11. Serum protein profiles, circulating immune complexes and proteinuria in dogs naturally infected with Anaplasma phagocytophilum / U. Ravnik, B.P. Bajuk, L. Lusa, N. Tozon // Vet. Microbiol. – 2014. – Vol. 173 (1–2). – P. 160–165.

### REFERENCES

1. Baraboj V.A. Bioantioxidanty / V.A. Baraboj. – K.: Kniga plus, 2006. – 462 s.
2. Okislitel'naja modifikacija belkov i lipidov plazmy krovi bol'nyh rakom legkogo / R.N. Belonogov, N.M. Titova, Ju.A. Dyhno [i dr.] // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. – 2009. – № 4 (34). – S. 48–51.
3. Grinevich Ju.A. Opredelenie immunnyh kompleksov v krovi onkologicheskogo bol'nogo / Ju.A. Grinevich, A.N. Alferov // Lab. delo. – 1981. – № 8. – S. 493–495.
4. Dubinina E.E. Okislitel'naja modifikacija belkov syvorotki krovi cheloveka, metod ee opredelenija / E.E. Dubinina, S.O. Burmistrov, D.A. Hodov // Vopr. med. himii. – 1995. – T. 41. – S. 24–26.
5. Dubinina E.E. Produkty metabolizma kisloroda v funkcional'noj aktivnosti kletok (zhizn', smert', sozidanie i razrushenie). Fiziologicheskoe i kliniko-biohimicheskie aspekty / Elena Efimovna Dubinina. – SPb.: Medpressa, 2006. – 400 s.
6. Nikol'skaja V.A. Biohimicheskij aspekt rassmotrenija roli molekul srednej massy v organizme / V.A. Nikol'skaja, Ju.D. Danil'chenko, Z.N. Memetova // Uchenye zapiski Tavricheskogo nac. un-ta im. V. I. Vernadskogo. – 2013. – T. 26 (65), № 1. – S. 139–145.
7. Skringinovyj metod opredelenija srednih molekul v biologicheskikh zhidkostjah: Metod, rekomendacii / Gabrijeljan N.I., Levickij Je.R., Dmitriev A.A. [i dr.] // NIIT i IO MZ SSSR. – M., 1985. – 32 s.
8. Presence of membrane-bound proteinases that preferentially degrade oxidatively damaged erythrocyte membrane proteins as secondary antioxidant defense / M. Beppu, M. Inoue, T. Ishikawa, K. Kikugawa // Biochim. Biophys. Acta. – 1994. – Vol. 1196 (1). – P. 81–87.
9. Protein modification as oxidative stress marker in follicular fluid from women with polycystic ovary syndrome: the effect of inositol and metformin / R. Piomboni, R. Focarelli, A. Capaldo [et al.] // J. Assist. Reprod. Genet. – 2014. – Vol. 10. – P. 1269–1276.
10. Reduced 4-hydroxynonenal degradation in hearts of spontaneously hypertensive rats during normoxia and postischemic reperfusion / T. Grune, K. Schönheit, I. Blasig, W. Siems // Cell Biochem. Funct. – 1994. – Vol. 12 (2). – P. 143–147.
11. Serum protein profiles, circulating immune complexes and proteinuria in dogs naturally infected with Anaplasma phagocytophilum / U. Ravnik, B.P. Bajuk, L. Lusa, N. Tozon // Vet. Microbiol. – 2014. – Vol. 173 (1–2). – P. 160–165.

### Коррекция свободнорадикального окисления белков в организме хряков-производителей

С.А. Полищук

Приведены результаты влияния биокомплексного препарата Мультибактерин на показатели белкового обмена в организме хряков-производителей. Установлено, что при действии препарата повышаются адаптационные возможности организма исследуемых животных, в сперме и спермоцитоплазме половых клеток хряков крупной

белой породы и синтетической линии SS23 снижается содержание продуктов окислительной модификации белков, уровень среднемолекулярных пептидов, что положительно влияет на качественные и количественные показатели.

**Ключевые слова:** хряки-производители, сперма, окислительная модификация белков, молекулы средней массы, циркулирующие иммунные комплексы.

*Надійшла 16.10.2015 р.*