

L. Diachenko Ph.D stud., L. Stepchenko Ph.D.
Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

EVALUATION OF THE USE OF FEED ADDITIVES OF HUMIC NATURE BY INDICES OF LEUKOCYTES IN RATS AFTER COMBINED STRESS

In response to the action of stress factors of different genesis in a living organism, a cascade of adaptive responses, which can neutralize functional disorders of homeostasis, is triggered. Combining the effects of various stress factors can cause excessive formation and accumulation of active forms of oxygen, which entails a number of pathological conditions that create the preconditions for the development of a large number of diseases. One of the indicators of the development of adaptation and the integral indicator of the body's state is the blood system, especially the leukocytic formula, whose redistribution makes it possible to analyze the nature of the effect and estimate the intensity of adaptive processes in the body due to functions that perform different forms of leukocytes. Leukocyte indices in which the parameters of the leukocyte formula were used, allow assessment of the degree of endogenous intoxication, the development of resistance and the character of cellular immunity for the influence of stress factors on the organism of animals and humans. The article considers the possibility of evaluating the preventive effect of natural antioxidants of humic nature on indices of leukocytes on the organism of rats after the influence of combined water-immobilization stress (WICS). For this, the animals were divided into five groups of 6 animals: 1- group of intact animals (control); 2-5 – experimental groups. Animals of all experimental groups were additionally received orally, individually with the help of a probe for 18 days, water, feed additives "Humilid" (at 5 mg / kg of body weight per active ingredient), "Eco-Impulse Animal" (at a rate of 2.5 mg / kg body weight) and vitamin E (at a rate of 50 mg / kg body weight). In animals, 2, 3, 4 and 5 groups simulated stress. It has been established that the effects of water-immobilization combined stress on blood of rats lead to the growth of cells of the leukocyte series, mainly due to the increase of eosinophils and rod-neutrophils. The use of natural antioxidant, a feed additive "Humilid" in the pre-season period causes a decrease in the number of leukocytes by 41% compared to values in animals that received purified water during this period and did not differ from those in intact animals. The change in leukocyte indexes indicates functional changes in the body and the presence of a neutrophilic shear on the background of WICS in rats. Also, the effect of WICS leads to the release of the younger forms of neutrophils in the bloodstream, an increase in both the percentage of eosinophils and the quantitative. For preventive use of feed additives of humic nature, "Humilid" and "Eco-Impulse Animal" and vitamin E, the studied parameters are close to the values of the control group.

Key words: leukocytes, "Humilid", "Eco-Impulse Animal", stress.

УДК 577.122.8

Д. Креницька, студ., А. Юрченко, асп., О. Савчук, д-р біол.наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
Н. Ліпець, студ.
ТОВ "Фармацевтичний завод "Біофарма", Київ, Україна

ЗМІНИ БІЛКОВОГО СКЛАДУ ТКАНИН ПРИ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЖИРІННЯ У ЩУРІВ

Проблема ожиріння в сучасному світі займає провідне місце поруч з іншими патологіями. Усупереч сталим уявленням про те, що причиною ожиріння є гіподинамія та надмірне надходження їжі, провідні медичні видання стверджують, що досліджувана патологія має поліморфне походження і пов'язана каскадом різних порушень в органах та їхніх системах. Останнім часом накопився масив даних, на основі яких постулюється участь тканинно-специфічних пептидних пулів у підтриманні гомеостазу, зокрема, встановлена їхня здатність регулювати процеси проліферації, диференціювання та загибелі клітин. Охарактеризовано фракції низько-, середньо- і високомолекулярних білків гомогенатів печінки, нирок, м'язів та жирової тканини при розвитку експериментального ожиріння у щурів. Білкові фракції були розділені за допомогою електрофорезу за методом Laemmli в 10 % ПААГ з використанням додецилсульфату натрію (ДДС-Na). Розподіл між білками у контрольній групі щурів з ожирінням показав різницю в кількості фракцій. Досліджено кількісний і якісний склад білкових фракцій у гомогенатах тканин щурів. В умовах експериментального ожиріння білковий склад тканин зазнав змін, а саме, збільшувався вміст середньомолекулярної фракції (67–35 кДа) і низькомолекулярної фракції (35–10 кДа). Експериментальні дані можуть свідчити про порушення білок-білкових взаємодій у цих органах і передбачити появу в кровотоці неспецифічних білків та їхніх фрагментів як результат посилення дії протеолітичних ферментів і руйнування клітин органів. Подальші дослідження особливостей змін білкового складу і пептидного пулу тканин щурів сприятимуть кращому розумінню біохімічних процесів за даної патології, що важливо при розробці нових підходів для діагностики та лікування ожиріння.

Ключові слова: ожиріння, білковий склад, висококалорійна дієта, диск-електрофорез, метаболічний синдром.

Вступ. Проблема ожиріння в сучасному світі займає провідне місце поруч з іншими патологіями. Усупереч сталим уявленням про те, що причиною ожиріння є гіподинамія та надмірне надходження їжі, провідні медичні видання стверджують, що досліджувана патологія має поліморфне походження та пов'язана каскадом різних порушень в органах та їхніх системах. Останнім часом накопився масив даних, на основі яких постулюється участь тканинно-специфічних пептидних пулів у підтриманні гомеостазу, зокрема, встановлена їх здатність регулювати процеси проліферації, диференціювання та загибелі клітин. Знання, отримані в результаті патофізіологічних аналізів захворювань людини, недостатні для того, щоб пояснити складні механізми їх патогенезу. Полігенні та багатофакторні розлади, такі як рак, захворювання серцево-судинної системи, ожиріння і діабет II типу, є прикладом захворювань, де моделі гризунів широко використовуються для дослідження фундаментальних механізмів шляхом відтворення деяких змін, які відбуваються в організмі людини [9]. Ожиріння змінює метаболічну і ендокринну функції жирової

тканини і призводить до підвищеного вивільнення жирних кислот, гормонів і прозапальних молекул, які сприяють ускладненням, пов'язаним з ожирінням [14]. Ці розлади включають гіпертензію, дисліпідемію і резистентність до глюкози. Це фактор ризику для серцево-судинних захворювань, інсульту, цукрового діабету 2 типу та деяких видів раку [12]. Збільшення рівня чутливих до запалення білків плазми (ISP) фібриногену, альфа-1-кислий глікопротеїн (AGP), альфа1-антитрипсину, гаптоглобін і церулоплазміну пов'язані зі збільшенням ваги [7]. У різних дослідженнях сироватковий альбумін і концентрація загального білка під час ожиріння не відрізнялися від контрольних [1]. Навіть під час дослідження зразків пацієнтів з ожирінням показали помітно знижену концентрацію альбуміну в сироватці порівняно з контрольною групою пацієнтів [2]. Крім того, концентрації сироваткового альфа 1-кислого глікопротеїну, зв'язуючого білка гормону росту (GHBP), феритину і ретинол-зв'язуючого білка 4 (RBP4), збільшуються зі збільшенням ваги.

У мишей, що знаходились на висококалорійній дієті (ВКД) спостерігається порушення толерантності до глюкози та резистентність до інсуліну, що призводить до гіперглікемії, гіперінсулінемії та порушення секреції глюкагону [4]. Глюкагон, що продукується панкреатичними α -клітинами, демонструє порушення секреції як при цукровому діабеті 1-го типу, так і при діабеті 2-го типу і сприяє гіперглікемії [5, 6, 8, 11, 13].

Частота нових випадків ожиріння продовжує зростати в усьому світі, що робить дослідження механізмів розвитку та пошук нових методів лікування даного захворювання вкрай актуальним. Таким чином, висока поширеність, рання смертність, прогресування і невисока ефективність сучасних методів корекції надмірної ваги і лікування ожиріння змушують шукати все нові терапевтичні підходи. При цьому більшість способів нормалізації ваги усувають наслідок, а не причину. Тому без сумніву, є актуальним дослідження різних експериментальних моделей ожиріння, які б на патогенетичному рівні відповідали розвитку цього захворювання у людини і могли б бути основою для пошуку нових перспективних засобів, шляхів корекції різноманітних ускладнень, які виникають за умов ожиріння.

Тому дослідження даної проблеми та її складових дають змогу отримати повну картину про розвиток та протікання цієї патології, її терапевтичне лікування та попередження.

Метою роботи було дослідити зміни вмісту білкового складу гомогенатів тканин щурів за умов розвитку експериментального ожиріння під впливом висококалорійної дієти.

Матеріали і методи. Досліди проводилися на білих нелінійних щурах-самцях з початковою масою 115–150 г. Впродовж 1 тижня експерименту всі тварини одержували стандартну їжу "Purina rodent chow" та воду *ad libitum*. На 8-й день експерименту тварини були рандомізовано поділені на 2 групи. Щури 1-ї групи ("Контроль") продовжували отримувати стандартний корм упродовж наступних 10 тижнів. Тварини 2-ї групи ("ВКД") перебували на висококалорійній дієті, яка складалась із стандартної їжі (60 %), свинячого жиру (10 %), курячих яєць (10 %), сахарози (9 %), арахісу (5 %), сухого молока (5 %) та рослинної олії (1 %) та отримували воду [16].

Кількість білку визначали за методом Bradford [3]. Цей метод ґрунтується на здатності барвника Кумасі діамантово-синього G-250 змінювати забарвлення при зв'язуванні з білком, при цьому максимум поглинання зміщується відповідно з 465 до 595 нм. За таких умов концентрація барвника, що зв'язалась з білком, прямопропорційна кількості білку в пробі.

Розділення білкових фракцій тканин щурів проводили методом диск-електрофорезу у 10 % поліакриламідному гелі (ПААГ) за наявності 0,1 % додецилсульфату натрію (ДДС-Na). Електрофорез проводили за методом Лемлі [10], в якому замість фосфатного буфера використовували трис-гліцинову систему [15]. Електрофорез проводили у апараті для вертикального препаративного диск-електрофорезу ("BioRad") у скляних пластинах завтовшки 1 мм за сили струму 19 мА для концентруючого та 35 мА для розділяючого гелів. Як маркери використовували "LMW Calibration Kit" ("Amersham Biosciences", США), до якого входять такі білки: 97 кДа – фосфорилаза Б, 66 кДа – альбумін, 45 кДа – овальбумін, 31 кДа – карбоангідраза, 21 кДа – соєвий інгібітор трипсину, 14 кДа – α -лактальбумін. Статистично достовірні розрахунки молекулярних мас та кількості білкових смуг на електрофореграмах проводили використовуючи програму "TotalLab TL120".

Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Для статистичної обробки параметричних даних був використаний t-критерій Стюдента для незалежних вибірок [17].

Експериментальні роботи з щурами проводили в умовах віварію Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Проведення експерименту здійснювалось із дотриманням принципів біоетики, що викладені у Хельсинській декларації Всесвітньої медичної асоціації про гуманне ставлення до тварин, а також згідно із Законом України "Про захист тварин від жорстокого поводження" від 15.12.2009 р. № 1759-VI та "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Київ, 2001).

Результати досліджень та їх обговорення. Білки посідають центральне місце у процесах життєдіяльності організму, входячи до складу всіх клітинних та міжклітинних структур, виконують каталітичну, структурну, регуляторну, рецепторну, транспортну, механічну, захисну та інші функції. Склад білків тканин організму змінюється залежно від функціонального стану і зумовлює їх роль в оцінці здоров'я, як у нормі, так і за умов різних патологій.

Розподіл між білками у контрольній і групі щурів з ожирінням показав різницю у кількості фракцій (табл. 1). У контрольній групі щурів білки гомогенату печінки розділилися на 17 фракцій (рис.1). У групі щурів, які мали ожиріння, білки гомогенату печінки розділилися на 13 фракцій (рис.2). Білкові фракції гомогенату нирок інтактних тварин розподілилися на 10 фракцій (рис.3), у той час, як білкові фракції гомогенату нирок експериментальних тварин розподілилися на 18 фракцій (рис.4). Кількість білкових фракцій гомогенатів м'язової та жирової тканин інтактних тварин та тварин експериментальним ожирінням також відрізнялися.

Аналіз літературних даних дозволив нам поділити фракції, відповідно до молекулярної маси (м.м.), на високомолекулярні (100-150 кДа), середньомолекулярні (67-100 і 35-67 кДа) та низькомолекулярні (10-35 кДа) для всіх досліджувальних груп.

Встановлено, що за умов розвитку експериментального ожиріння розподіл білків гомогенатів тканин змінювався. Так в гомогенаті печінки експериментальних тварин спостерігалась відсутність високомолекулярної білкової фракції (100-150 кДа), в той час, як середньомолекулярна (100-67 кДа) білкова фракція знизилась на 27 % ($p < 0,05$), у свою чергу низькомолекулярна фракція (35-10 кДа) знизилась на 10 % ($p < 0,05$) порівняно з групою інтактних тварин.

У гомогенаті нирок експериментальних тварин спостерігалась поява високомолекулярної білкової фракції (150-100 кДа) та середньомолекулярної фракції (100-67 кДа) та збільшення фракції середньомолекулярної білкової фракції 67-35 (кДа) на 36 % ($p < 0,05$) та збільшення низькомолекулярної фракції (35-10 кДа) на 20 %. В гомогенаті м'язової тканини експериментальних тварин з'являється середньомолекулярна білкова фракція (100–67 кДа), білкова фракція (67-35 кДа) збільшилась на 40 % ($p < 0,05$) відносно групи інтактних тварин. В гомогенаті жирової тканини експериментальних тварин спостерігалось поява високомолекулярної білкової фракції (150-100 кДа) та збільшення низькомолекулярної білкової фракції (35-10 кДа) на 10 % ($p < 0,05$). Кореляції між вмістом низькомолекулярної фракцій (35-10 кДа) є гомогенатах жирової та м'язової тканин у контрольній та експериментальній групі не спостерігалось.

Таблиця 1. Вміст білків у гомогенатах тканин щурів у нормі та при розвитку експериментального ожиріння

	Гомогенат печінки		Гомогенат нирок		Гомогенат м'язової тканини		Гомогенат жирової тканини	
	Інтактні тварини	Тварини з ожирінням	Інтактні тварини	Тварини з ожирінням	Інтактні тварини	Тварини з ожирінням	Інтактні тварини	Тварини з ожирінням
≥ 150 кДа								155 кДа
150-100 кДа	121 кДа 119 кДа			118 кДа 107 кДа				140 кДа
100-67 кДа	97 кДа 90 кДа 78 кДа 71 кДа	94 кДа 79 кДа 74 кДа		89 кДа 79 кДа 69 кДа		76 кДа 71 кДа	90 кДа	90 кДа
67-35 кДа	65 кДа 57 кДа 44 кДа 40 кДа 37 кДа	62 кДа 57 кДа 50 кДа 42 кДа 37 кДа	55 кДа 50 кДа 44 кДа 35 кДа	57 кДа 54 кДа 51 кДа 45 кДа 42 кДа 35 кДа	42 кДа 40 кДа	52 кДа 49 кДа 40 кДа	59 кДа 48 кДа 38 кДа	59 кДа 48 кДа 38 кДа
35-10 кДа	33 кДа 30 кДа 28 кДа 24 кДа 18 кДа 13 кДа	33 кДа 30 кДа 29 кДа 28 кДа 13 кДа	31 кДа 29 кДа 27 кДа 19 кДа 17 кДа 14 кДа	33 кДа 31 кДа 29 кДа 26 кДа 21 кДа 18 кДа 13 кДа	30 кДа 25 кДа 17 кДа	30 кДа 18 кДа 16 кДа	31 кДа 29 кДа 16 кДа	32 кДа 23 кДа 16 кДа 13 кДа
≤ 10 кДа					7 кДа			

Аналіз літературних даних показав, що білкові фракції 115 кДа (CRP), 26 кДа (TNF-α) і 20 кДа (RBP4) позитивно корелюють з ожирінням і збільшенням ваги, тоді як білкові фракції 66 кДа (альбумін), 49 кДа і 43 кДа (α-1 кислота-глокопротеїну) мають негативний вплив на ожиріння.

Печінка, як основний орган детоксикації, та нирки, одними з перших зазнають змін біохімічних процесів, а враховуючи, що саме тут активно протікають процеси синтезу та розпаду білків, які мають важливе значення для забезпечення потреб організму, метою нашої роботи було дослідження білкових фракцій за умов розвитку ожиріння.

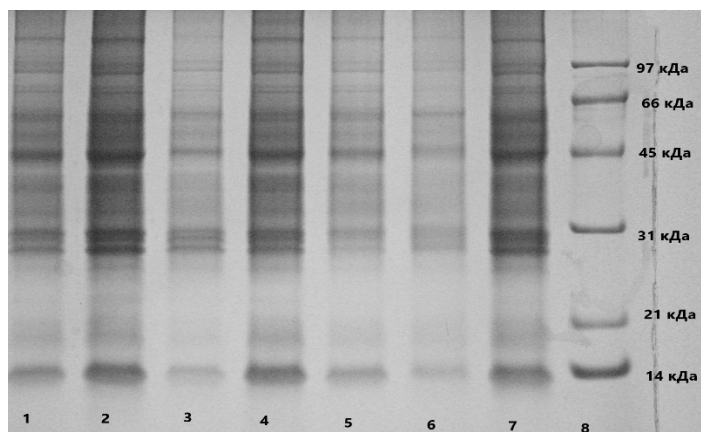


Рис 1. Типова електрофореграма розділення білків гомогенату печінки інтактних щурів:

8 – маркери молекулярної маси (97, 66, 45, 31, 21, 14 кДа);

1-7 – зразки гомогенату печінки інтактних тварин

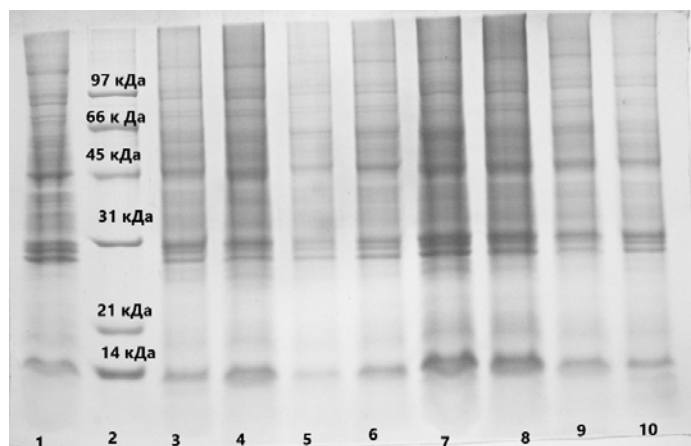


Рис 2. Типова електрофореграма розділення білків гомогенату печінки щурів з ожирінням:

2 – маркери молекулярної маси (97, 66, 45, 31, 21, 14 кДа);

1, 3-10 – зразки гомогенату печінки тварин з ожирінням

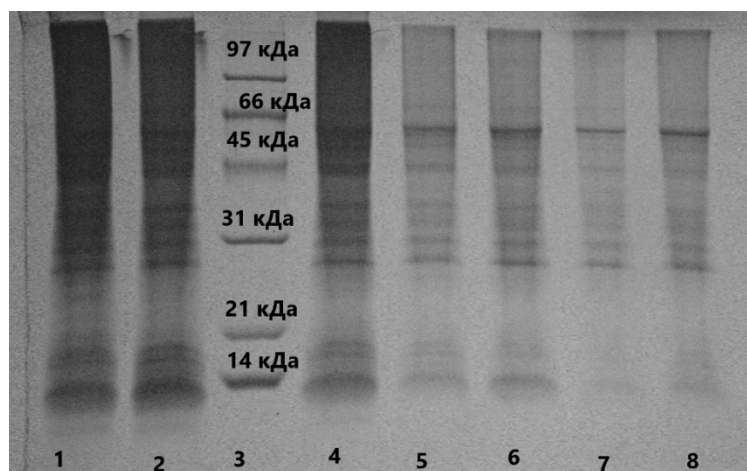


Рис 3. Типова електрофореграма розділення білків гомогенату нирок інтактних щурів:
3 – маркери молекулярної маси (97, 66, 45, 31, 21, 14 кДа);
1-2, 4-8 – зразки гомогенату нирок інтактних тварин

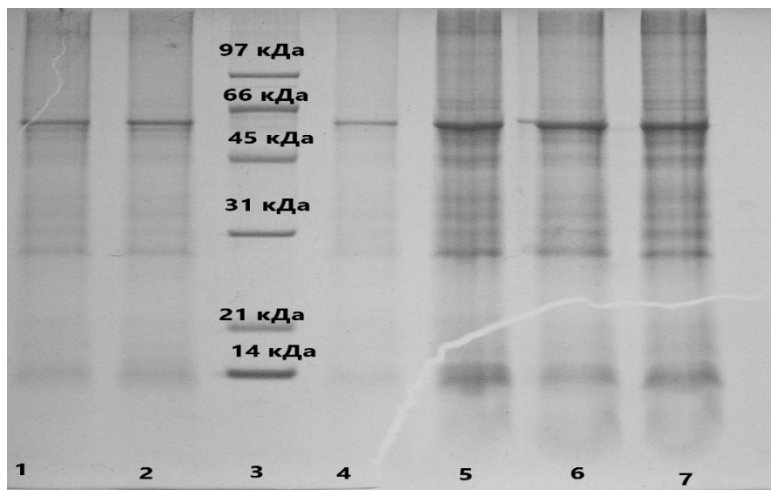


Рис. 4. Типова електрофореграма розділення білків гомогенату нирок щурів з ожирінням:
3 – маркери молекулярної маси (97, 66, 45, 31, 21, 14 кДа);
1-2, 4-7 – зразки гомогенату нирок тварин з ожирінням

Проведений кількісний аналіз виявив значне зростання вмісту всіх білкових фракцій відповідної молекулярної маси у гомогенаті нирок тварин, що перебували на висококалорійній дієті порівняно з групою інтактних тварин. Одержані нами дані в цілому узгоджуються з даними, представленими в літературі, відповідно до яких потенційним патогенетичним механізмом, що обумовлений метаболічним синдромом, є накопичення в цитоплазмі гепатоцитів білків. По-перше, це практично усі глікопротеїни, що синтезуються в печінці та потім транспортуються до кровотоку. Накопичення пов'язане з порушеннями функціонування апарату Гольджі та процесами посттрансляційного фолдингу білків, в результаті чого утворюється певна кількість білків з аномальними властивостями. Вплив метаболічного синдрому може реалізовуватися на різних етапах білкового обміну, зокрема, на рівні їх синтезу, секреції та протеолітичного розщеплення. В печінці синтезується значна кількість білків плазми крові, зокрема, альбумін, трансферрин, коагуляційні фактори, які є необхідними для підтримання належного гомеостазу, тому порушення їх секреції призводить до зміни буферності та об'єму крові, доставки іонів до периферійних тканин та обумовлює дефекти системи згортання крові. У нирках синтезується активатор плазміногену – урокіназа. В мозковій

речовині нирки утворюються простагландини. Вони беруть участь, зокрема, в регуляції ниркового і загального кровотоку, збільшують виділення натрію з сечею, зменшують чутливість клітин каналців до АДГ.

Висновки. Було досліджено кількісний та якісний склад білкових фракцій у гомогенатах тканин щурів. Виявлено, що за умов розвитку експериментального ожиріння білкові фракції гомогенатів тканин щурів змінюються, а саме збільшувався вміст середньомолекулярної фракції (67-35 кДа) та низькомолекулярної фракції (35-10 кДа). У жировій тканині було виявлено зростання високомолекулярної фракції (150-100 кДа). Експериментальні дані можуть свідчити про порушення білок-білкових взаємодій у цих органах та передбачити появу в кровотоці неспецифічних білків та їх фрагментів, як результат посилення дії протеолітичних ферментів та руйнування клітин органів. Подальші дослідження особливостей змін білкового складу та пептидного пулу тканин щурів сприятимуть кращому розумінню біохімічних процесів за умов даної патології, що є важливим для розроблення підходів діагностики та лікування ожиріння.

Список використаних джерел:

1. Alterations in drug distribution and clearance due to obesity / D.R. Abernethy, D.J. Greenblatt, M. Divoll et al. // J. Pharmacol. exp. Ther. 217. – P. 681–685.

2. Andersen T. The liver in consecutive patients with morbid obesity: a clinical, morphological, and biochemical study / T. Andersen, P. Christoffersen, C. Gluud // *Int. J. Obesity*, 8. – P. 107-115.
3. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // *Analytical Biochemistry*, 1976. – Vol. 72, № 1-2. – P. 248-254.
4. Glucagon receptor knockout mice are resistant to diet-induced obesity and streptozotocin-mediated beta cell loss and hyperglycaemia / Conarello S.L., Jiang G., Mu J. et al. // *Diabetologia*. 2007. – 50(1). – P. 142-150.
5. Failure of glucagon suppression contributes to postprandial hyperglycaemia in IDDM / S. Dinneen, A. Alzaid, D. Turk, R. Rizza // *Diabetologia*, 1995. – 38(3). – P. 337-343.
6. Dunning B.E. The role of alpha-cell dysregulation in fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes and therapeutic implications / B.E. Dunning, J.E. Gerich // *Endocr Rev.*, 2007. – 28(3). – P. 253-283.
7. Inflammation-sensitive plasma proteins are associated with future weight gain / G. Engström, B. Hedblad, L. Stavenow et al. // *Diabetes*, 52. – P. 2097-2101.
8. Gromada J. Alpha-cells of the endocrine pancreas: 35 years of research but the enigma remains. / J. Gromada, I. Franklin, C.B. Wollheim // *Endocr. Rev.*, 2007. – 28(1). – P. 84-116.
9. Jean-Charles Sanchez. The mouse SWISS2D PAGE database: a tool for proteomics study of diabetes and obesity / Sanchez Jean-Charles // *Proteomics*, 2001. – Vol. 1, Iss. 1. – P. 136-163.
10. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage / U.K. Laemmli // *Nature*, 1970. – P. 680-685.
11. Larsson H. Islet dysfunction in insulin resistance involves impaired insulin secretion and increased glucagon secretion in postmenopausal women with impaired glucose tolerance / H. Larsson, B. Ahren // *Diabetes care*, 2000. – 23(5). – P. 650-657.
12. Obesity-associated hypertension. New insights into mechanisms / K. Rahmouni, M. Correia, W.G. Haynes, A.L. Mark // *Hypertension*, 2005. – 45. – P. 9.
13. Lack of suppression of glucagon contributes to postprandial hyperglycemia in subjects with type 2 diabetes mellitus / P. Shah, A. Vella, A. Basu et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000. – 85(11). – P. 4053-4059.
14. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue / P. Stuart, D. Weisberg, M. Desai et al. // *J. clin. Invest.*, 2003. – 112. – P. 1796-1808.
15. Weber K. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis / K. Weber., M. Osborn // *J. Biol. Chem.*, 1969. – Vol. 244, № 16. – P. 4406-4412.
16. Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity. / Xiu-Hua Shen, Qing-Ya Tang, Juan Huang, Wei Cai // *Experimental Biology and Medicine*, 2010. – № 235. – P. 47-51.
17. Плохинский Н.А. Методические консультации по биометрии / Н.А. Плохинский // *Проблемы современной биометрии*. – М.: МГУ, 1981. – С. 30-50.
3. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // *Analytical Biochemistry*. – 1976. – Vol. 72, № 1-2. – P. 248-254.
4. Conarello S.L., Jiang G., Mu J., Li Z., Woods J., Zycband E., et al. Glucagon receptor knockout mice are resistant to diet-induced obesity and streptozotocin-mediated beta cell loss and hyperglycaemia. *Diabetologia*. 2007; 50(1):142-50.
5. Dinneen S., Alzaid A., Turk D., Rizza R. Failure of glucagon suppression contributes to postprandial hyperglycaemia in IDDM. *Diabetologia*. 1995; 38(3):337-43.
6. Dunning B.E., Gerich J.E. The role of alpha-cell dysregulation in fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes and therapeutic implications. *Endocr Rev.* 2007; 28(3):253-83.
7. Engström G., Hedblad B., Stavenow L., Lind P., Janzon L., Lindgärde F., 2003. Inflammation-sensitive plasma proteins are associated with future weight gain. *Diabetes*, 52: 2097-2101.
8. Gromada J., Franklin I., Wollheim C.B.: Alpha-cells of the endocrine pancreas: 35 years of research but the enigma remains. *Endocr Rev.* 2007; 28(1):84-116.
9. Jean-Charles Sanchez The mouse SWISS2D PAGE database: a tool for proteomics study of diabetes and obesity // *Proteomics*. – 2001 – Volume-1, Issue-1, P.136-163.
10. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage // *Nature*. – 1970. – P. 680-685.
11. Larsson H., Ahren B. Islet dysfunction in insulin resistance involves impaired insulin secretion and increased glucagon secretion in postmenopausal women with impaired glucose tolerance. *Diabetes care*. 2000; 23(5):650-7.
12. Rahmouni K., Correia M., Haynes W. G., Mark A. L., 2005. Obesity-associated hypertension. New insights into mechanisms. *Hypertension*, 45: 9.
13. Shah P., Vella A., Basu A., Basu R., Schwenk W.F., Rizza R.A.: Lack of suppression of glucagon contributes to postprandial hyperglycemia in subjects with type 2 diabetes mellitus. *J. Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85(11):4053-9.
14. Stuart P., Weisberg D., Desai M., Rosenbaum M., Leibel R. L., Ferrante A. W., 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. clin. Invest.*, 112: 1796-1808.
15. Weber K. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis / K. Weber., M. Osborn // *J. Biol.Chem.* – 1969. – Vol. 244, № 16. – P. 4406-4412.
16. Xiu-Hua Shen., Qing-Ya Tang., Juan Huang., Wei Cai. Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity. // *Experimental Biology and Medicine*. – 2010. – №235. – P. 47-51.
17. Плохинский Н.А. Методические консультации по биометрии // *Проблемы современной биометрии*. – М.: МГУ, 1981. – С. 30-50.

Reference (Scopus):

1. Abernethy D. R., Greenblatt D. J., Divoll M., Harmatz J.S., Shader R.I., 1981. Alterations in drug distribution and clearance due to obesity. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 217: 681-685.
2. Andersen T., Christoffersen P., Gluud C., 1984. The liver in consecutive patients with morbid obesity: a clinical, morphological, and biochemical study. *Int. J. Obesity*, 8: 107-115.

Д. Креницька, студ., А. Юрченко, асп., О. Савчук, д-р биол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
Н. Липець, студ.
ООО "Фармацевтический завод "Биофарма" Киев, Украина

ИЗМЕНЕНИЕ БЕЛКОВОГО СОСТАВА ТКАНЕЙ ПРИ РАЗВИТИИ ОЖИРЕНИЯ У КРЫС

Проблема ожирения в современном мире занимает ведущее место на ряду с другими патологиями. Вопреки устоявшимся представлениям о том, что причиной ожирения является гиподинамия и чрезмерное поступление пищи ведущие медицинские издания утверждают, что данная патология имеет полиморфное происхождение и связана каскадом различных нарушений в органах и их системах. В последнее время накопился массив данных, на основе которых постулируется участие тканеспецифических пептидных пулов в поддержании гомеостаза, в частности, обусловленных их способностью регулировать процессы пролиферации, дифференцировки и гибели клеток. Охарактеризованы фракции низко-, средне- и высокомолекулярных белков гомогенатов печени, почек, мышц и жировой ткани при развитии экспериментального ожирения у крыс. Белковые фракции были разделены с помощью электрофореза по методу Лаemmli в 10 % ПААГ с использованием додецилсульфата натрия. Распределение между белками в контрольной и группе крыс с ожирением показало разницу в количестве фракций. Исследовано количественный и качественный состав белковых фракций в гомогенатах тканей крыс. В условиях экспериментального ожирения белковый состав тканей изменяется, а именно увеличивается содержание среднемолекулярной фракции (67–35 кДа) и низкомолекулярной фракции (35–10 кДа). Экспериментальные данные могут свидетельствовать о нарушении белок-белковых взаимодействий в этих органах и предусматривать появление в кровотоке неспецифических белков и их фрагментов как результат усиления действия протеолитических ферментов и разрушения клеток органов. Дальнейшие исследования особенностей изменений белкового состава и пептидного пула тканей крыс будет способствовать лучшему пониманию биохимических процессов в условиях данной патологии, что важно для разработки новых подходов диагностики и лечения ожирения.

Ключевые слова: ожирение, белковый состав, высококалорийная диета, диск-электрофорез, метаболический синдром.

Надійшла до редколегії 07.02.2019
Отримано виправлений варіант 06.03.2019
Підписано до друку 06.03.2019

Received in the editorial 07.02.2019
Received a revised version on 06.03.2019
Signed in the press on 06.03.2019

D. Krenytska, stud., A. Yurchenko, Ph. D. stud., O. Savchuk Dr. Sci.
Taras Shevchenko National university of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
N. Lipets, stud.
LLC "Pharmaceutical Plant" Biofarma, Kyiv, Ukraine

THE PEPTIDES PROFILE CHANGES IN TISSUES UNDER THE CONDITION OF EXPERIMENTAL OBESITY IN RATS

The problem of obesity in modern world has a leading place along with other pathologies. Contrary to the settled ideas that the reason of obesity is hypodynamia and overeating, leading medical editions claim that investigating pathology has polymorphic origin and are linked to the cascade of various violations in organs and their systems. Recently collected data array on the basis of which participation of tissue-specific peptide pools in maintenance to a homeostasis is being postulated, in particular, their ability to regulate proliferation processes, differentiation and death of cells is established. We have characterized fractions of low-, medium- and high-molecular-weight protein homogenates from liver, kidney, muscle and adipose tissue samples of rats with experimental obesity. Protein fractions were separated by electrophoresis using the Laemmli method in 10 % PAAG with sodium dodecyl sulfate (SDS). Spreading between proteins in control and group of rats with obesity has showed a difference in quantity of fractions. We have investigated quantitative and qualitative composition of protein fractions in rat's tissues. Under experimental obesity conditions protein composition of tissues changes, the content of median-molecular fraction (67-35 kDa) and low molecular weight fraction (35-10 kDa) increases. Experimental data may indicate connection breach in protein-protein interactions in these viscuses and predict the formation of non-specific proteins and their fragments in the bloodstream, as a result of increased activity of proteolytic enzymes and destruction of viscuses cells. Future studies in specifics of protein composition changes and peptide pool of rat's tissues will improve understanding the biochemical processes under the conditions of this pathology, which is important in development of new approaches to diagnosis and treatment of obesity principles.

Keywords: obesity, protein composition, high-calorie diet, electrophoresis, metabolic syndrome.

УДК 631.472.51

Т. Пилипчук, студ., Т. Тесьолкіна, студ., Д. Лукашов, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

СЕЗОННА ДИНАМІКА ФРАКЦІЙНОГО СКЛАДУ ЛІСОВОЇ ПІДСТИЛКИ НПП "ГОЛОСІЇВСЬКИЙ"

Лісова підстилка – важливий структурно-функціональний елемент лісових екосистем, динамічні процеси в якому утворюють зв'язок між фітоценозом та едафотопом. Накопичення підстилкового матеріалу та швидкість його розкладу характеризує інтенсивність кругообігу речовин у лісових екосистемах. Розглянуто особливості формування і розкладу підстилкового шару ґрунту в грабовій діброві в умовах Національного природного парку "Голосіївський" (м. Київ). Встановлено значні її обсяги на північному схилі яружної берегової системи (16,4 т/га восени, 4,3 т/га влітку). Аналіз запасів підстилки на момент закінчення листопаду показав відсутність суттєвих відмінностей на різних ділянках рельєфу (12,3–16,4 т/га). Протягом зимового періоду обсяги підстилки суттєво зменшуються за рахунок інтенсивних процесів мінералізації під сніговим покривом. Найбільш інтенсивно ці процеси відбуваються на ділянках схилу. Фракційний склад підстилки в цілому також не залежав від розташування дослідної ділянки за елементами рельєфу. Домінуючою фракцією восени та навесні був листовий опад (65-69 % загальної маси). Влітку зростала частка трухи (38-46 %). На всіх дослідних ділянках найменша кількість гілок спостерігалась восени і взимку, їхня частка була в межах 11-22 %. Максимальний обсяг гілок спостерігався на всіх ділянках влітку. Їхній обсяг становив 27-49 %. Частка насіння і його залишків протягом року була незначною і становила 1-3 %. Визначено швидкість мінералізації целюлози аплікаційним методом із застосуванням фільтрувального паперу. Динаміка швидкості розкладання целюлози в умовах південного та північного схилів яру виявилася подібною з максимумом у березні та липні-серпні. На ділянці плакору швидкість розкладу целюлози характеризувалася значною динамікою без чітко визначених сезонних періодів.

Ключові слова: підстилка, опад, мінералізація.

Вступ. Лісова підстилка є одним головних компонентів лісової екосистеми, що регулює процеси кругообігу речовини та виступає основним депо у ньому хімічних елементів. Таким чином, вона є важливою структурно-функціональною ланкою, що поєднує фітоценоз, зооценоз та мікробіоценоз лісової екосистеми в єдину злагоджену систему. Завдяки цьому, підстилка визначає не тільки генезис лісових ґрунтів, але й продуктивність лісових насаджень, і тому її обсяги та особливості фракційного складу можна використовувати як критерій оцінки стану лісової екосистеми.

Негативні зміни основних властивостей лісової підстилки і ґрунтів відбуваються на процесах біологічного кругообігу речовини у лісових екосистемах, особливо в умовах аеротехногенного забруднення. При надходженні забруднювачів у підстилку разом з листовим опадом відбувається їх трансформація. Таким чином, вона відіграє своєрідну тригерну роль – забезпечення регуляції напрямків потоків речовини у системі "листя–підстилка–ґрунт", втримуючи від вимивання хімічні елементи та рівномірно розподіляючи їх надходження (Жицька, 2010).

Кількість лісового опадів залежить від видового стану деревостану, їх бонітету, щільності й зімкненості крон, фізико-хімічних властивостей ґрунту. Специфічне

розшарування підстилки на горизонти мінералізації є наслідком різноякісності функції в підсистемах детритного блоку лісової екосистеми.

Національний природний парк "Голосіївський" було створено у 2007 р. Загальна площа становить 4525,52 га, в постійному користуванні – 1879,43 га. Він розташований в північній частині лісостепової зони на правому березі р. Дніпро. Це єдиний в Україні національний природний парк, розташований у межах великого міста (Онищенко та ін., 2016). Модельна ділянка розташована на території Голосіївського лісу, що характеризується численними балками і ярами. Тут переважають свіжі грабово-дубові ліси (*Carpinus betulus*, *Quercus robur*). Нашими дослідженнями раніше було охарактеризовано річну динаміку накопичення та мінералізації підстилки в умовах заповідної екосистеми грабового лісу Канівського природного заповідника (Lukashov, Levchenko, 2015).

Локалізація парку в межах мегаполісу та значне антропогенне навантаження на його екосистему становлять значний науковий інтерес у дослідженнях процесів, що відбуваються у лісовій екосистемі. Представлена робота спрямована на вивчення сезонних змін обсягів та структури підстилки як маркера стабільності лісової екосистеми.