

Свідоцтво про державну реєстрацію: № KB 21158-10958ПР від 23.01.2015.

Проблематика: фізіологія і біохімія, ветеринарна медицина, живлення та годівля, розведення і селекція тварин, морфологія, клітинна та молекулярна біологія, імунологія, генетика, екологія і токсикологія, цитологія, мікробіологія та біотехнологія; огляди актуальних проблем біології; методичні роботи, в яких описано нові або вдосконалені методи досліджень; статті з історії біологічної, ветеринарної та сільськогосподарської наук, що висвітлюють еволюцію ідей, виникнення і розвиток наукових шкіл або присвячені творчим портретам учених; дискусійні статті рецензій на нові книги та на журнальні публікації; наукова хроніка.

Засновник: Інститут біології тварин НААН.

Рік заснування: 1998. **Періодичність:** 4 рази на рік.

Мова видання: українська, англійська.

Науковий журнал «Біологія тварин» індексується у *The Index Copernicus International, Google Scholar, Cross Ref, WorldCat.*

Головний редактор: Салига Ю. Т., д. біол. н.

Науковий редактор: Вудмаска І. В., д. с.-г. н.

Відповідальний секретар: Грабовська О. С., к. біол. н.

Комп'ютерна верстка: Судин К. Ю.

Certificate of print media State registration: No. KB 21158-10958ПР of 23.01.2015.

Aims and Scope: physiology and biochemistry, veterinary medicine, nutrition and feeding animals, breeding and selection, morphology, cellular and molecular biology, immunology, genetics, ecology and toxicology, cytology, microbiology, biotechnology; reviews on actual problems of biology; methodical works describing new or improved research methods; articles about the history of biological, agricultural and veterinary sciences highlighting the evolution of ideas, the conception and development of scientific schools or dedicated to creative portraits of scientists; discussion reviews of the new books and the journal publications; scientific chronicle.

Founder: Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine.

Published since: 1998. **Periodicity:** 4 times per year.

Language: Ukrainian, English.

The scientific journal "The Animal Biology" is included in: *The Index Copernicus International, Google Scholar, CrossRef, WorldCat.*

Editor-in-chief: Yuriy Salyha, Dr. Sc.

Scientific Editor: Ihor Vudmaska, Dr. Sc.

Editorial secretary: Olexandra Grabovska, PhD.

Page layout: Kateryna Sudyn.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Салига Юрій Тарасович, Інститут біології тварин НААН (Україна) — Голова колегії, головний редактор
Вудмаска Ігор Васильович, Інститут біології тварин НААН (Україна) — заступник головного редактора

Антоняк Галина Леонідівна, Львівський національний університет імені І. Франка (Україна)

Бартлевські Павел, Ветеринарний коледж Онтаріо, Гвельфський університет (Канада)

Білий Ростислав Олександрович, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (Україна)

Віщур Олег Іванович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Войтюк Олександр, Уппсальський університет (Швеція)

Гавриляк Вікторія Василівна, Національний університет «Львівська політехніка» (Україна)

Гладій Михайло Васильович, Національна академія аграрних наук України (Україна)

Гунчак Алла Володимирівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Гжегоцький Мечислав Романович, Львівський національний медичний університет ім Данила Галицького (Україна)

Доліба Микола, Пенсильванський університет (США)

Жукорський Остап Мирославович, Національна академія аграрних наук України (Україна)

Заячківська Оксана Станіславівна, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (Україна)

Іскра Руслана Ярославівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Калачнюк Лілія Григорівна, Національний університет біоресурсів і природокористування України (Україна)

Кльоцек Чеслав, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Ковальскі Зигмунд, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Ковальчук Ірина Іванівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Корпан Ярослав Ізидорович, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України (Україна)

Коцюмбас Ігор Ярославович, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок (Україна)

Кришталь Олег Олександрович, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України (Україна)

Кулік Джордж, Медичний центр Університету Вейк Форест (США)

Лесик Ярослав Васильович, Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка (Україна)

Луговий Богдан, Університет Маунт Сент Вінсент (Канада)

Лушак Володимир Іванович, Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника (Україна)

Мадіч Алла Всеволодівна, Кембриджський університет (Великобританія)

Мароунек Мілан, Інститут тваринництва (Чехія)

Медина Ігор, Середземноморський інститут нейробиології (Франція)

Мудронь Павол, Університет ветеринарної медицини та фармації в Кошице (Словаччина)

Муравські Мацей, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Остапів Дмитро Дмитрович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Півнева Тетяна Андріївна, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України (Україна)

Снітинський Володимир Васильович, Львівський національний аграрний університет (Україна)

Стапай Петро Васильович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Стибель Володимир Володимирович, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького (Україна)

Стойка Ростислав Степанович, Інститут біології клітини НАН України (Україна)

Тизьо Роман, Середземноморський інститут нейробиології (Франція)

Федорович Єлизавета Іллівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Федорук Ростислав Степанович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Шаран Микола Михайлович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Адреса редакції: Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна.
Тел./ Факс: (+38 032) 260-07-95, (+38 032) 270-23-89.
Електронна скринька: editor_j@inenbiol.com.ua.
Веб-сторінка: <http://aminbiol.com.ua>

Editorial Office: Institute of Animal Biology NAAS,
38 Stus str., Lviv, 79034, Ukraine.
Тел. / Факс: (+38 032) 260-07-95, (+38 032) 270-23-89.
E-mail: editor_j@inenbiol.com.ua.
Website: <http://aminbiol.com.ua>



ІНСТИТУТ
БІОЛОГІЇ
ТВАРИН
НААН

ISSN 1681-0015 (print)

ISSN 2313-2191 (online)

DOI: 10.15407/animbiol

БІОЛОГІЯ ТВАРИН

The ANIMAL BIOLOGY

2022 ▪ Volume 24 ▪ Issue 4 ▪ Issue DOI: 10.15407/animbiol24.04

EDITORIAL COUNCIL

Yuriy Salyha, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine) — Head of the council, editor-in-chief
Ihor Vudmaska, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine) — deputy chief editor

Halyna Antonyak, Ivan Franko National University of Lviv (Ukraine)
Paweł Mieczysław Bartlewski, Ontario Veterinary College, University of Guelph (Canada)
Rostyslav Bilyy, Danylo Halatsky Lviv National Medical University (Ukraine)
Nicolai M. Doliba, University of Pennsylvania (United States)
Yelyzaveta Fedorovych, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Rostyslav Fedoruk, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Mykhailo Gladij, The National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (Ukraine)
Mechyslav Gzhegotskyi, Danylo Halatsky Lviv National Medical University (Ukraine)
Viktoriiia Havryliak, Lviv Polytechnic National University (Ukraine)
Alla Hunchak, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Ruslana Iskra, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Liliiia Kalachniuk, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Ukraine)
Czesław Klocek, University of Agriculture in Kraków (Poland)
Yaroslav Korpan, Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine (Ukraine)
Igor Kotsyumbas, State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives (Ukraine)
Iryna Kovalchuk, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Zygmunt Maciej Kowalski, University of Agriculture in Kraków (Poland)
Oleg Krishtal, Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine (Ukraine)
George Kulik, Wake Forest University (United States)
Yaroslav Lesyk, Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University (Ukraine)
Bohdan Luhovyy, Mount Saint Vincent University (Canada)
Volodymyr Lushchak, Vasyl Stefanyk Precarpathian National University (Ukraine)
Alla Madich, University of Cambridge (United Kingdom)
Milan Marounek, Institute of Animal Science (Czech Republic)
Igor Medina, Mediterranean Institute of Neurobiology (France)
Pavol Mudroň, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice (Slovak Republic)
Maciej Murawski, University of Agriculture in Kraków (Poland)
Dmytro Ostapiv, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Tatyana Pivneva, Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine (Ukraine)
Mykola Sharan, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Volodymyr Snityns'kyi, Lviv National Agrarian University (Ukraine)
Petro Stapay, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Rostyslav Stoika, Institute of Cell Biology NAS of Ukraine (Ukraine)
Volodymyr Stybel, Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv (Ukraine)
Roman Tyzio, Mediterranean Institute of Neurobiology (France)
Oleg Vishchur, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Oleksandr Voytyuk, Uppsala University (Sweden)
Oksana Zayachkivska, Danylo Halatsky Lviv National Medical University (Ukraine)
Ostap Zhukorskyi, The National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (Ukraine)

ЗМІСТ

<i>Волощук О. М., Лучик Т. В.</i> Активність цитозольних ензимів катаболізму ендогенних альдегідів у печінці щурів за умов різної забезпеченості раціону нутрієнтами	3
<i>Ніпот О. Є., Ершова Н. А., Шпакова Н. М., Ершов С. С., Шапкіна О. О.</i> Ефективність амфіфільних сполук в умовах постгіпертонічного шоку еритроцитів кролика залежно від температурних умов	8
<i>Шаран О. М., Стефанік В. Ю.</i> Гематологічні показники та якість сперми баранів у період статевого спокою за згодовування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки	12
<i>Дзіцюк В. В., Стародуб Л. Ф., Димань Т. М.</i> Хромосомна нестабільність чистопородних і кросбредних корів молочного напрямку продуктивності	17
<i>Лещова М. О., Олійр А. В., Еверт В. В.</i> Вплив <i>Lavandula angustifolia</i> на показники обміну речовин і морфофункціональний стан органів щурів на тлі високожирового раціону	21
<i>Prudius T. Y., Vishchur O. I.</i> Efficacy of "EnzActive mix" feed additive in piglet growing	27

CONTENTS

<i>Voloshchuk O. M., Luchyk T. V.</i> Activity of the cytosolic enzymes of endogenous aldehydes catabolism under the conditions of different nutrients content in a diet	3
<i>Nipot O. E., Ershova N. A., Shpakova N. M., Ershov S. S., Shapkina O. O.</i> Efficiency of amphiphilic compounds in rabbit erythrocytes posthypertonic shock depending on temperature conditions	8
<i>Sharan O. M., Stefanyk V. Yu.</i> Hematological indicators and sperm quality of rams during the sexual rest period when fed a liposomal vitamin and mineral supplement	12
<i>Dzitsiuk V., Starodub L., Dyman T.</i> Chromosomal instability of purebred and crossbred dairy cows	17
<i>Lieshchova M. A., Oliyar A. V., Evert V. V.</i> Influence of <i>Lavandula angustifolia</i> on metabolic indicators and morphofunctional state of rat organs with a high-fat diet	21
<i>Prudius T. Y., Vishchur O. I.</i> Efficacy of "EnzActive mix" feed additive in piglet growing	27



Активність цитозольних ензимів катаболізму ендogenous альдегідів у печінці щурів за умов різної забезпеченості раціону нутрієнтами

О. М. Волощук, Т. В. Лучик

o.voloshchuk@chnu.edu.ua

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів, кафедра біохімії та біотехнології,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна

У роботі вивчали активність альдегіддегідрогенази (КФ 1.2.1.3), альдегідредуктази (КФ 1.1.1.21), вміст ТБК-активних продуктів і карбонільних похідних протеїнів у цитозольній фракції печінки щурів за умов споживання раціону з різною забезпеченістю протеїном та сахарозою. Дослідження проводили на 4 групах тварин: I група — інтактні тварини (К); II група — щури, які перебували на напівсинтетичній низькопротеїновій дієті протягом 28 днів (НПР); III група — щури, які перебували на високосахарозному раціоні (ВСР); IV група — щури, які отримували низькопротеїновий/високосахарозний раціон (НПР/ВСР). Встановлено, що для тварин, яких утримували за умов аліментарного дефіциту протеїну, характерне двократне підвищення вмісту карбонільних і ТБК-активних похідних у цитозольній фракції печінки щурів на тлі відсутності змін активності альдегідредуктази й альдегіддегідрогенази. Водночас у тварин, які споживали високосахарозний раціон, спостерігається виражене накопичення ТБК-активних похідних та карбоніл-дериватів у цитозольній фракції печінки на тлі підвищення як альдегідредуктазної, так і альдегіддегідрогеназної активності у 2–2,5 рази. Максимальне накопичення продуктів окиснювального ушкодження протеїнів та ліпідів на тлі недостатньої активації ензимів, які забезпечують їх катаболізм, можна розглядати як один з можливих механізмів ушкодження клітин печінки за умов споживання низькопротеїнового/високосахарозного раціону. Отримані результати відкривають перспективи для дослідження механізмів детоксикації ендogenous альдегідів та подальшої розробки стратегії корекції метаболічних порушень у печінці за умов нутрієнтного дисбалансу.

Ключові слова: альдегіддегідрогеназа, альдегідредуктаза, ТБК-активні продукти, карбонільні похідні, низькопротеїновий раціон, високосахарозна дієта

Нині залишається відкритим питання про механізми формування метаболічних порушень за умов недостатнього або надмірного споживання окремих нутрієнтів. Показано, що надлишок сахарози у раціоні індукує оксидативний стрес, призводить до розвитку та прогресування таких захворювань, як ожиріння, неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), діабет II типу, атеросклероз або рак [6]. При цьому гіперглікемія супроводжується інтенсифікацією продукування активних форм кисню (АФК), активацією глікації білків, індукцією поліольних та гексамінових шляхів [10], а також посиленням продукування прозапальних цитокинів через активацію ядерного фактору NF- κ B [14]. Припускають, що саме зміни окисно-відновного гомеостазу та оксидативний стрес є одним із провідних механізмів порушення метаболічних процесів за таких умов [11].

Окрім того, у літературі трапляються окремі відомості про збільшення ризику оксидативного ушкодження біомолекул у печінці за умов споживання низькопротеїнового раціону [1, 27]. При цьому відомо, що дисбаланс між прооксидантним навантаженням і антиоксидантним захистом призводить до структурних та функціональних змін ензимів та регуляторних протеїнів, пошкодження ліпідів, ДНК, індукції апоптозу [31].

Реалізація альтеруючого ефекту вільнорадикальних реакцій опосередковується через накопичення у клітинах продуктів оксидативного ушкодження біомолекул (карбонільних і ТБК-активних продуктів), серед яких саме альдегіди зумовлюють чітко виражену генотоксичну та цитотоксичну дію [28]. Відомо, що ендogenous альдегіди можуть слугувати своєрідними вторинними месенджерами пошкодження клітин за оксидативного

стресу [2], оскільки здатні реагувати з нуклеофільними сполуками, зокрема деякими фосфоліпідами і вуглеводами, амінокислотами, азотистими основами нуклеотидів. Тому у клітині функціонує альдегіддегідрогеназний шлях катаболізму ендogenousних альдегідів, що забезпечує окиснення альдегідів до карбонових кислот, та альдегідредуктазний шлях, що забезпечує відновлення ендogenousних альдегідів до спиртів [13]. При цьому ензиматичне знешкодження карбонільних метаболітів розглядається як механізм захисту клітини від альтерації при патологіях, що супроводжуються активацією вільнорадикальних процесів.

Метою роботи було дослідити активність альдегідредуктази (КФ 1.1.1.21) та альдегіддегідрогенази (КФ 1.2.1.3), а також вміст карбонільних й ТБК-активних похідних у цитозольній фракції печінки щурів за умов споживання раціону з різною забезпеченістю протеїном та сахарозою.

Матеріали і методи

Для дослідження використали 36 статевозрілих білих безпородних щурів масою 130–140 г. У роботі з тваринами дотримувалися вимог міжнародної конвенції про захист хребетних тварин, які використовують для експериментальних та інших цілей.

Модель дослідження передбачала поділ тварин на чотири групи по 9 особин у кожній: I група — інтактні щури (К); II група — тварини, яких утримували на напівсинтетичній низькопротеїновій дієті протягом 4 тижнів (НПР); III група — тварини, які впродовж чотирьох тижнів споживали високосахарозний раціон (ВСР); IV група — щури, яких впродовж експерименту утримували на високосахарозному/низькопротеїновому раціоні (НПР/ВСР) [29].

Тварини контрольної групи споживали раціон, збалансований за всіма необхідними вітамінами та мікроелементами, до складу якого входило 14% протеїну (казеїну), 10% жирів, 76% вуглеводів. Тварини групи НПР споживали ізоенергетичний раціон, до складу якого входило 4,7% протеїну, 10% жирів та 85,3% вуглеводів. Щури групи ВСР споживали високосахарозний раціон (40% сахарози), збалансований за іншими макро- і мікронутрієнтами. Щури групи НПР/ВСР отримували суміш, яка містила 4,7% протеїну, 40% сахарози та інші нутрієнти, вміст яких був розрахований згідно з рекомендаціями *American Institute of Nutrition* [20, 29].

Щурів утримували по одному в пластмасових клітках із піщаною підстилкою, доступ до води *ad libitum*. Цервікальну дислокацію тварин проводили під легким ефірним наркозом на 29-у добу експерименту.

Свіжовиділену печінку гомогенізували у середовищі: 250 мМ сахарози, 1 мМ ЕДТА, 10 мМ трис-НСІ, рН 7,4. Отриманий тканинний гомогенат фільтрували в пробірки для центрифугування. Цитозольну фракцію отримували після виділення мітохондрій та мікосом методом диференційного центрифугування.

Ядра і уламки клітин осаджували центрифугуванням гомогенату за 700×g протягом 10 хв. Із супернатанту осаджували фракцію мітохондрій за 10000×g протягом 10 хв. Після виділення мітохондрій до надосадової рідини у співвідношенні 9:1 додавали 80 мМ CaCl₂ та 160 мМ MgCl₂ у 10 мМ трис-НСІ буфері (рН 7,4). Залишали на 10 хв на холоді з постійним перемішуванням. Центрифугували 10 хв при 10000×g для виділення мікосомальної фракції. Для подальших досліджень використовували надосадову рідину.

Альдегіддегідрогеназну активність визначали спектрофотометрично за швидкістю відновлення NAD⁺ [30], альдегідредуктазну активність — за швидкістю окиснення NADH, і розраховували з урахуванням коефіцієнту молярного поглинання 6,22·10³ М⁻¹·см⁻¹ [4].

Визначення вмісту ТБК-активних продуктів проводили за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, яка в умовах високої температури і кислого середовища утворює триметиновий комплекс рожевого кольору. Величину поглинання забарвленого розчину визначали спектрофотометрично за λ 532 нм (ε = 1,56×10⁵ М⁻¹·см⁻¹). Кількість ТБК-активних продуктів виражали в нмоль/мг протеїну [21].

Вміст карбоніл-дериватів протеїнів визначали за накопиченням похідних 2,4-динітрофенілгідразону і виражали в нмоль на мг протеїну [15]. Вміст протеїну визначали за методом Лоурі [9].

Статистичну обробку одержаних результатів проводили з використанням комп'ютерної програми *Microsoft Excel*. Результати розраховували як середнє значення 9 незалежних визначень ± похибка середнього. Для оцінки статистичної значимості різниці середніх показників використовували *t*-критерій Стьюдента.

Результати й обговорення

Результати проведених досліджень показали, що у печінці тварин, які споживали низькопротеїновий раціон, спостерігали збереження на рівні показників контролю активності як цитозольної альдегідредуктази (рис. 1), так і альдегіддегідрогенази (рис. 2). При цьому нами виявлено підвищення у печінці практично вдвічі вмісту ТБК-активних продуктів (рис. 3) та карбонільних похідних протеїнів (рис. 4), які розглядають як субстрати вказаних ензимів. Оскільки накопичення карбонільних продуктів окисного ушкодження біомолекул у низьких концентраціях запускає адаптивну сигналізацію та активує низку транскрипційних факторів [22], то, ймовірно, виявлене нами накопичення карбонільних продуктів за відсутності зміни активності ензимів їх детоксикації відіграє важливу регуляторну роль за умов дефіциту протеїну у раціоні.

Водночас у цитозольній фракції печінки тварин, які споживали високосахарозний раціон, виявлено посилене накопичення ТБК-активних похідних (рис. 3), що у 6 разів перевищує показники контрольної групи тварин, та 4-кратне підвищення вмісту карбонільних похід-

них протеїнів (рис. 4) на тлі активації у 2–2,5 раза альдегідредуктази (рис. 1) й альдегіддегідрогенази (рис. 2), що, ймовірно, призводитиме до запобігання накопиченню аддуктів альдегідів з клітинними макромолекулами.

Показано, що накопичення карбонільних сполук за умов надмірного споживання сахарози може бути зумовлене не лише безпосереднім окисненням біомолекул за участі АФК, але і їх взаємодією з продуктами перексидного окиснення ліпідів з альдегідними групами (наприклад, 4-гідрокси-2-ноненалем, малондіальдегідом, 2-пропеналом) чи взаємодією зі сполуками з карбонільними групами, утвореними внаслідок розпаду ліпідів або глікоксидування [18]. Відомо, що продукти ПОЛ індукують утворення карбонільних сполук, які поглиблюють ушкодження, спричинені АФК [22]. Як і АФК, так і карбонільні сполуки можуть реагувати з низкою клітинних компонентів, утворюючи ковалентні аддукти та змінюючи їх структуру та функції. Карбонільні сполуки метаболізуються оксидоредуктазами, зокрема альдегідредуктазами та альдегіддегідрогеназами [3]. Метаболічні перетворення за участі цих ензимів будуть супроводжуватися інактивацією ендогенних альдегідів, проте можуть призвести до утворення сигнальних

молекул, які активуватимуть адаптаційні реакції. Саме альдегідредуктази та альдегіддегідрогенази відіграють критичну роль у захисті клітин від ендогенних альдегідів, регулюючи їх рівень. Проте роль альдегідредуктази, яка забезпечує перетворення ендогенних альдегідів до спиртів, в опосередковуванні гіперглікемічних ушкоджень залишається незрозумілою. У нормі цей ензим відіграє важливу роль у передачі сигналів ядерних рецепторів, запальних реакціях, осморегуляції, детоксикації ендо- та ксенобіотиків, синтезі гормонів, клітинному метаболізмі [16]. За умов гіперглікемії, з одного боку, альдегідредуктаза забезпечує ефективний каталіз середньо- та довголанцюгових альдегідів, які є продуктами ПОЛ, регулюючи таким чином сигнали оксидативного стресу. З іншого боку, альдегідредуктаза задіяна у активації поліольного шляху, що розглядають як одну з причин ушкодження клітин за гіперглікемії [8, 26]. Також встановлено зв'язок між поліморфізмом гену альдегідредуктази та формуванням ускладнень за цукрового діабету. Припускають, що підвищена активність ензиму за цукрового діабету може бути відповіддю на окиснювальний стрес [19], тоді як інгібування альдегідредуктази послаблює окисний стрес.

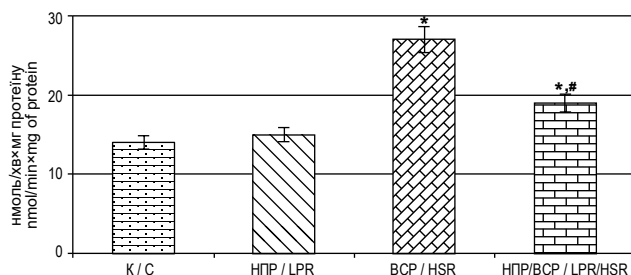


Рис. 1. Активність альдегідредуктази у цитозольній фракції печінки щурів за різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном
Fig. 1. The aldehyde reductase activity in the cytosolic fraction of rat liver under different dietary sucrose and protein content

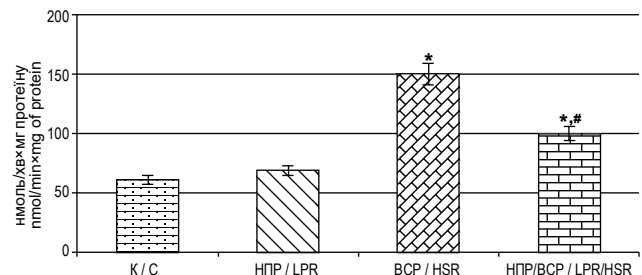


Рис. 2. Активність альдегіддегідрогенази у цитозольній фракції печінки щурів за різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном
Fig. 2. The aldehyde dehydrogenase activity in the cytosolic fraction of rat liver under different dietary sucrose and protein content

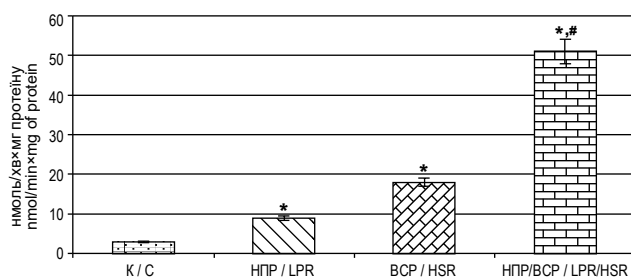


Рис. 3. Вміст ТБК-активних похідних у цитозольній фракції печінки щурів за різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном
Fig. 3. The levels of TBA reactive substances in the cytosolic fraction of rat liver under different dietary sucrose and protein content

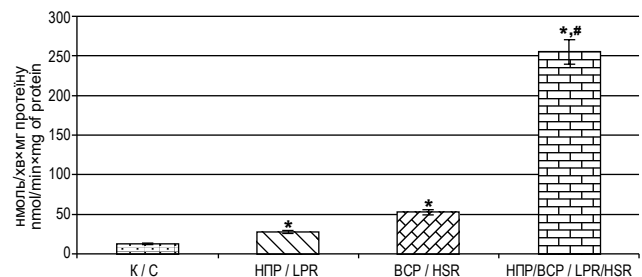


Рис. 4. Вміст карбонільних похідних у цитозольній фракції печінки щурів за різної забезпеченості раціону сахарозою та протеїном
Fig. 4. The levels of protein carbonyl derivatives in the cytosolic fraction of rat liver under different dietary sucrose and protein content

Примітка. К — тварини, які отримували повноцінний напівсинтетичний раціон (контроль); НПП — тварини на низькопротеїновій дієті; ВСП — щури на високосахарозному раціоні; НПП/ВСП — щури, які отримували низькопротеїновий/високосахарозний раціон.
 * — статистично вірогідна різниця порівняно з контролем, P≤0,05; # — статистично вірогідна різниця порівняно з групою ВСП, P≤0,05.
Note. C — animals receiving full-value semi-synthetic ration (control group); LPR — animals receiving low-protein ration; HSR — animals receiving high-sucrose diet; LPR/HSR — animals receiving low-protein high-sucrose diet.
 * — difference from control significant with P≤0.05; # — difference from the group HSR significant with P≤0.05.

Цікаво, що альдегіддегідрогеназа метаболізує широкий спектр ендогенних альдегідів у відповідні карбонові кислоти [23, 24], таким чином контролюючи їх рівень у клітині та виконуючи роль позитивного або негативного регулятора генів-мішеней. Проте для активації генів необхідно, щоб вміст альдегідів досягнув певного порогового рівня, тому зміну активності альдегіддегідрогенази розглядаються як умову, необхідну для точного налаштування активації генів альдегідами [25].

Отже, встановлене нами посилене накопичення карбонільних сполук на тлі активації ензимів катаболізму ендогенних альдегідів за умов надмірного споживання сахарози, ймовірно, вказує на активацію регуляторних механізмів, спрямованих на підтримку метаболічних процесів за умов посиленої генерації АФК на тлі гіперглікемії. При цьому високий вміст ТБК-активних продуктів та карбоніл-дериватів протеїнів, ймовірно, вказує на формування стану оксидативного стресу, наслідком чого буде порушення функціональної активності низки біомолекул та метаболічних шляхів. Показано, що надлишкове продукування АФК, що спостерігають за умов надмірного споживання сахарози, може бути одним із факторів, які сприяють ініціації та прогресуванню низки метаболічних порушень [7, 17]. За гіперглікемії спостерігають активацію низки сигнальних механізмів, посилене накопичення кінцевих продуктів глікозилювання, активацію протеїнінази С та гексозаміну, опосередковане NF-κB судинне запалення, які, у свою чергу, призводять до пошкодження клітин [5].

Водночас варто вказати, що максимально виражене накопичення ТБК-активних продуктів та карбонільних похідних протеїнів характерне для тварин, які споживали низькопротеїновий/високосахарозний раціон (рис. 1–2). При цьому у тварин вказаної експериментальної групи спостерігається зниження альдегідредуктазної та альдегіддегідрогеназної активності порівняно з тваринами групи ВС, проте показники досліджуваної ензиматичної активності перевищують показники контролю (рис. 3–4). Отримані дані вказують, що споживання надлишку сахарози на тлі одночасного дефіциту протеїну у раціоні є критичним для системи детоксикації ендогенних альдегідів у печінці. Ймовірно, наслідком посиленого накопичення карбонільних похідних протеїнів може стати їх фрагментація та денатурація, що призводитиме до порушення функціонування локалізованих у цитозолі метаболічних шляхів [2]. У свою чергу, наслідком значного накопичення ТБК-активних сполук може бути підвищення проникності та в'язкості плазматичних мембран, а також порушення їх цілісності, що призводитиме до дисбалансу у механізмах регуляції гомеостазу клітин [12].

Отже, максимальне накопичення продуктів окиснювального ушкодження протеїнів та ліпідів на тлі недостатньої активації ензимів, які забезпечують їх катаболізм, можна розглядати як один з можливих механізмів ушкодження клітин печінки за умов споживання низькопротеїнового/високосахарозного раціону.

Висновки

1. Для тварин, яких утримували за умов аліментарного дефіциту протеїну, характерне підвищення вмісту карбонільних і ТБК-активних похідних у цитозольній фракції печінки щурів на тлі відсутності змін активності альдегідредуктази й альдегіддегідрогенази.

2. У тварин, які споживали високосахарозний раціон, спостерігали виражене накопичення ТБК-активних похідних та карбоніл-дериватів у цитозольній фракції печінки на тлі підвищення як альдегідредуктазної, так і альдегіддегідрогеназної активності.

3. Максимальне накопичення продуктів окиснювального ушкодження протеїнів та ліпідів на тлі недостатньої активації ензимів, які забезпечують їх катаболізм, можна розглядати як один з можливих механізмів ушкодження клітин печінки за умов споживання низькопротеїнового/високосахарозного раціону.

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати відкривають перспективи для дослідження механізмів метаболічної детоксикації ендогенних альдегідів та подальшої розробки стратегії корекції метаболічних порушень у печінці за умов нутрієнтного дисбалансу.

- Ampong I, Watkins A, Gutierrez-Merino J, Ikwuobe J, Griffiths HR. Dietary protein insufficiency: an important consideration in fatty liver disease? *Br. J. Nutr.* 2020; 123 (6): 601–609. DOI: 10.1017/S0007114519003064.
- Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2014; 2014: 360438. DOI: 10.1155/2014/360438.
- Barrera G, Pizzimenti S, Daga M, Dianzani C, Arcaro A, Cetrangolo GP, Giordano G, Cucci MA, Graf M, Gentile F. Lipid peroxidation-derived aldehydes, 4-hydroxynonenal and malondialdehyde in aging-related disorders. *Antioxid.* 2018; 7 (8): 102. DOI: 10.3390/antiox7080102.
- Ellis EM, Hayes JD. Substrate specificity of an aflatoxin-metabolizing aldehyde reductase. *Biochem. J.* 1995; 312 (2): 535–541. DOI: 10.1042/bj3120535.
- Geraldes P, King GL. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ. Res.* 2010; 106 (8): 1319–1331. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.110.217117.
- Görlach A, Dimova EY, Petry A, Martínez-Ruiz A, Hemansanz-Agustín P, Rolo AP, Palmeira CM, Kietzmann T. Reactive oxygen species, nutrition, hypoxia and diseases: Problems solved? *Redox Biol.* 2015; 6: 372–385. DOI: 10.1016/j.redox.2015.08.016.
- Kopp W. How Western diet and lifestyle drive the pandemic of obesity and civilization diseases. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* 2019; 12: 2221–2236. DOI: 10.2147/DMSO.S216791.
- Kovacikova L, Prnova MS, Majekova M, Bohac A, Karasu C, Stefek M. Development of novel indole-based bifunctional aldose reductase inhibitors/antioxidants as promising drugs for the treatment of diabetic complications. *Molecules.* 2021; 26 (10): 2867. DOI: 10.3390/molecules26102867.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AI, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193 (1): 265–275. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6.

10. Luo X, Wu J, Jing S, Yan LJ. Hyperglycemic stress and carbon stress in diabetic glucotoxicity. *Aging Dis.* 2016; 7 (1): 90–110. DOI: 10.14336/AD.2015.0702.
11. Maciejczyk M, Żebrowska E, Chabowski A. Insulin resistance and oxidative stress in the brain: What's new? *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20 (4): 874. DOI: 10.3390/ijms20040874.
12. Marchitti SA, Brocker C, Stagos D, Vasiliou V. Non-P450 aldehyde oxidizing enzymes: the aldehyde dehydrogenase superfamily. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2008; 4 (6): 697–720. DOI: 10.1517/17425255.4.6.697.
13. O'Brien PJ, Siraki AG, Shangari N. Aldehyde sources, metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health. *Crit. Rev. Toxicol.* 2005; 35 (7): 609–662. DOI: 10.1080/10408440591002183.
14. Ott C, Jacobs K, Haucke E, Santos AN, Grune T, Simm A. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biol.* 2014; 2: 411–429. DOI: 10.1016/j.redox.2013.12.016.
15. Parihar MS, Pandit MK. Free radical induced increase in protein carbonyl is attenuated by low doses of adenosine in hippocampus and mid brain: implication in neurodegenerative disorders. *Gen. Physiol. Biophys.* 2003; 22 (1): 29–39. PMID: 12870699.
16. Penning TM, Drury JE. Human aldo-keto reductases: Function, gene regulation, and single nucleotide polymorphisms. *Arch. Biochem. Biophys.* 2007; 464 (2): 241–250. DOI: 10.1016/j.abb.2007.04.024.
17. Prasad K, Dhar I. Oxidative stress as a mechanism of added sugar-induced cardiovascular disease. *Int. J. Angiol.* 2014; 23 (4): 217–226. DOI: 10.1055/s-0034-1387169.
18. Purdel NC, Margina D, Ilie M. Current methods used in the protein carbonyl assay. *Ann. Res. Rev. Biol.* 2014; 4 (12): 2015–2026. DOI: 10.9734/ARRB/2014/8763.
19. Ramana KV. Aldose reductase: new insights for an old enzyme. *Biomol. Concepts.* 2011; 2(1–2): 103–114. DOI: 10.1515/bmc.2011.002.
20. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of nutrition *ad hoc* writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* 1993; 123 (11):1939–1951. DOI: 10.1093/jn/123.11.1939.
21. Rodrigues T, de França LP, Kawai C, de Faria PA, Mugnol KCU, Braga FM, Tersariol ILS, Smaili SS, Nantes IL. Protective role of mitochondrial unsaturated lipids on the preservation of the apoptotic ability of cytochrome C exposed to singlet oxygen. *J. Biol. Chem.* 2007; 282 (35): 25577–25587. DOI: 10.1074/jbc.M700009200.
22. Singh M, Kapoor A, Bhatnagar A. Oxidative and reductive metabolism of lipid-peroxidation derived carbonyls. *Chem Biol Interac.* 2015; 234: 261–273. DOI: 10.1016/j.cbi.2014.12.028.
23. Singh S, Brocker C, Koppaka V, Chen Y, Jackson BC, Matsumoto A, Thompson DC, Vasiliou V. Aldehyde dehydrogenases in cellular responses to oxidative/electrophilic stress. *Free Rad. Biol. Med.* 2013; 56: 89–101. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.11.010.
24. Stagos D, Chen Y, Cantore M, Jester JV, Vasiliou V. Corneal aldehyde dehydrogenases: multiple functions and novel nuclear localization. *Brain Res. Bull.* 2010; 81 (2–3): 211–218. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2009.08.017.
25. Tagnon MD, Simeon KO. Aldehyde dehydrogenases may modulate signaling by lipid peroxidation-derived bioactive aldehydes. *Plant Signal. Behav.* 2017; 12 (11): e1387707. DOI: 10.1080/15592324.2017.1387707.
26. Tang WH, Martin KA, Hwa J. Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus. *Front. Pharmacol.* 2012; 9 (3): 87. DOI: 10.3389/fphar.2012.00087.
27. Van Zutphen T, Ciapaitė J, Bloks VW, Ackereley C, Gerding A, Jurdzinski A, Allgayer de Moraes R, Zhang L, Wolters JC, Bischoff R, Wanders RJ, Houten SM, Bronte-Tinkew D, Shatseva T, Lewis GF, Groen AK, Reijngoud DJ, Bakker BM, Jonker JW, Kim PK, Bandsma RHJ. Malnutrition-associated liver steatosis and ATP depletion is caused by peroxisomal and mitochondrial dysfunction. *J. Hepatol.* 2016; 65 (6): 1198–1208. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.05.046.
28. Voloshchuk OM, Kopylchuk GP, Mishyna YI. Activity of the mitochondrial isoenzymes of endogenous aldehydes catabolism under the conditions of acetaminophen-induced hepatitis. *Ukr. Biochem. J.* 2018; 90 (1): 42–47. DOI: 10.15407/ubj90.01.042.
29. Voloshchuk OM, Luchyk TV, Kopylchuk GP. Indicators of immunoreactivity in rats under conditions of different nutrition regimen. *Biol. Tvarin.* 2021; 23 (1): 12–17. DOI: 10.15407/animbiol23.01.012. (in Ukrainian)
30. Xu D, Guthrie JR, Mabry S, Sack TM, Truog WE. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase attenuates hyperoxia-induced cell death through activation of ERK/MAPK and PI3K-Akt pathways in lung epithelial cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2006; 291 (5): L966–L975. DOI: 10.1152/ajplung.00045.2006.
31. Żebrowska E, Chabowski A, Zalewska A, Maciejczyk M. High-sugar diet disrupts hypothalamic but not cerebral cortex redox homeostasis. *Nutrients.* 2020; 12 (10): 3181. DOI: 10.3390/nu12103181.

Activity of the cytosolic enzymes of endogenous aldehydes catabolism under the conditions of different nutrients content in a diet

O. M. Voloshchuk, T. V. Luchyk
o.voloshchuk@chnu.edu.ua

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
Educational and Scientific Institute of Biology, Chemistry and Bioresources, Biochemistry and biotechnology department,
2 Kotsyubinskogo str., Chernivtsi, 58012, Ukraine

The research was conducted to study the activity of aldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.3) and aldehyde reductase (EC 1.1.1.21), the levels of TBA reactive substances and protein carbonyl derivatives in the cytosolic fraction of rat liver under the conditions of different dietary sucrose and protein content. The animals were distributed into the 4 experimental groups: group I — animals receiving full-value semi-synthetic feed (control group); group II — animals on a low-protein diet (LPD); III group — animals on a high-sucrose diet (HS); IV group — animals on a low-protein and high-sucrose diet (LPD/HS). It was found that in animals under conditions of dietary protein deficiency, there was a two-fold increase in the levels of TBA reactive substances and protein carbonyl derivatives in the liver cytosolic fraction against the absence of changes in the aldehyde reductase and aldehyde dehydrogenase activity. At the same time, in animals on a high-sucrose diet, there was a significant accumulation of the TBA reactive substances and carbonyl derivatives in the liver cytosolic fraction along with a 2–2.5-fold increase in both aldehyde reductase and aldehyde dehydrogenase activity. The maximum accumulation of the products of oxidative damage to proteins and lipids along with the insufficient activation of the enzymes ensuring their catabolism can be considered as one of the possible mechanisms of liver cell damage under conditions of the low-protein/high-sucrose diet. The obtained results open new prospects for future studies of the mechanisms of endogenous aldehydes detoxification and further development of a strategy for the correction of metabolic liver disorders under the conditions of nutrient imbalance.

Key words: aldehyde dehydrogenase, aldehyde reductase, TBA-active products, protein carbonyl derivatives, low protein diet, high-sucrose diet



Ефективність амфіфільних сполук в умовах постгіпертонічного шоку еритроцитів кролика залежно від температурних умов

О. Є. Ніпот, Н. А. Єршова, Н. М. Шпакова, С. С. Єршов, О. О. Шапкіна

nipotel71@gmail.com

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,
вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61016, Україна

У роботі досліджено вплив температурних умов на рівень пошкодження еритроцитів кролика в умовах постгіпертонічного шоку та рівень їх захисту за допомогою амфіфільних сполук. Максимальне пошкодження клітин спостерігали за 0°C. За 20°C рівень гемолізу знижувався в 1,8 раза. Подальше підвищення температури досліду до 37°C не змінювало рівень пошкодження. Досліджувані амфіфільні сполуки за температури 0°C та 10°C доволі ефективно захищали еритроцити кролика від постгіпертонічного шоку. За цих умов рівень гемолітичного пошкодження зменшувався у 2–3 рази. За 20°C амфіфільні сполуки не впливали на рівень пошкодження клітин, а за 30°C і 37°C — збільшували його. Існування температурної залежності постгіпертонічного пошкодження показало залучення до процесу фосфоліпідної компоненти мембрани еритроцита. За нижчої температури спостерігають більшу впорядкованість ліпідів, її підвищення супроводжується розупорядкуванням та зростанням плинності, а отже, і еластичності мембрани. Як наслідок, пошкодження еритроцита в умовах постгіпертонічного шоку менше за температури 20–37°C. Додавання амфіфільних сполук за 0 та 10°C діє подібно до підвищення температури — розупорядковує бішар, підвищує еластичність мембрани та зменшує пошкодження під час перенесення з гіпертонічного розчину в ізотонічний. За понад 20°C внесення амфіфільних сполук призводить не тільки до розупорядкування, а й до формування змішаних міцел, які складаються з фосфоліпідів та молекул амфіфільної речовини. Це порушує бішар, надає йому нестабільності і призводить до посилення пошкодження еритроцитів.

Ключові слова: еритроцити кролика, амфіфільні сполуки, постгіпертонічний шок, температура

На сьогодні кріоконсервація — добре відомий засіб зберігання живих клітин і тканин, яку застосовують у багатьох галузях біології та медицини [2]. Успішне зберігання біологічного матеріалу значною мірою залежить від здатності контролювати та змінювати стан клітин, що мінімізує або пом'якшує ушкодження, пов'язані з низькими температурами і процесами переходів між нормотермічним та низькотемпературним режимами. Теоретичні підходи до вивчення кріоконсервації призвели до появи моделей, які дають можливість вивчати зміни клітин під час охолодження та нагрівання [4, 15].

Головним наслідком пошкодження під час відтавання суспензії клітин є лізис, спричинений надлишковим збільшенням об'єму після впливу високої концентрації солі та подальшого розведення до ізотонічних умов. Для вивчення цього процесу існує модель постгіпертонічного шоку [4, 12]. Клітини спочатку інкубують у високосольових розчинах, а потім переміщують

в ізотонічні умови. Теоретичні основи постгіпертонічного шоку базуються на надмірному вході іонів натрію з концентрованого розчину, який утворюється внаслідок виморожування води під час охолодження. Втрата води клітиною провокує процес, за якого сольові містки між фіксованими зарядами на білках цитоплазми розриваються та зв'язуються з внутрішньоклітинними іонами, тим самим спричиняючи додатковий приплив із позаклітинного середовища. Після розморожування білки вивільняють іони у відповідь на розведення цитоплазми. Їх підвищений вміст притягує достатньо води, щоб перевищити межі еластичності мембрани, що призводить до пошкодження мембрани [12].

Деякі речовини, здатні змінювати плинність мембрани, можуть захистити клітини від факторів, які впливають на них під час кріоконсервування. Відомо, що амфіфільні речовини знижують рівень ушкодження еритроцитів ссавців за гіпертонічного шоку та кріо-

гемолізу, що моделюють вплив високих концентрацій солей, які утворюються при виморожуванні води, та різке охолодження клітин відповідно [7, 13]. В умовах постгіпертонічного шоку деякі амфіфільні сполуки захищають еритроцити за 0°C, але неефективні за фізіологічної температури [3]. З огляду на ці дані, було доцільно дослідити детальніше температурну залежність захисного ефекту амфіфільних речовин на еритроцити в умовах постгіпертонічного шоку.

Матеріали і методи

Для дослідження використовували еритроцити, отримані з крові кролика. Роботу з тваринами проводили відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах» (V Національний конгрес з біоетики, Київ, 2013) та «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986). Після видалення плазми еритромасу двічі відмивали центрифугуванням за 1000 г протягом 3 хв. у 10-кратному об'ємі фізіологічного розчину (NaCl 0,15 моль/л; Na-фосфатний буфер 0,01 моль/л, pH 7,4). Постгіпертонічний шок здійснювали перенесенням еритроцитів

з 2,0 моль/л NaCl в 0,15 моль/л NaCl за 0°C, 10, 20, 30 і 37°C. Амфіфільні речовини трифторперазин (150 мкмоль/л), хлорпромазин (400 мкмоль/л), децилсульфат натрію (600 мкмоль/л), децил- β ,D-глюкопіранозид (800 мкмоль/л) додавали в 0,15 моль/л NaCl перед внесенням клітин. Для кожної амфіфільної речовини обирали концентрацію, найбільш ефективну в умовах постгіпертонічного шоку за 0°C. Вміст гемоглобіну в супернатанті визначали спектрофотометрично. Для всіх зразків проводили обчислення середнього арифметичного значення і значення середньоквадратичної помилки ($M \pm m$). Статистичну обробку отриманих експериментальних результатів проводили за допомогою програми *Statistica 6.0* (StatSoft Inc., США).

Результати й обговорення

Дані щодо впливу температури та амфіфільних сполук на постгіпертонічний гемоліз наведені на рис. 1–4. Видно, що в контролі максимальне пошкодження клітин спостерігається за 0°C; за 10°C і 20°C пошкодження еритроцитів кролика знижується в 1,4 та 1,8 раза відповідно. Подальше підвищення температури досліджу до 37°C не змінювало рівень пошкодження.

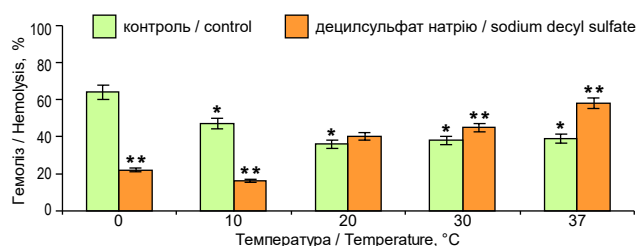


Рис. 1. Рівень постгіпертонічного гемолізу контрольних еритроцитів та еритроцитів у присутності децилсульфату натрію залежно від температури досліджу

Fig. 1. The level of posthypertonic hemolysis of control erythrocytes and erythrocytes in the presence of sodium decyl sulfate depending on the temperature of the experiment

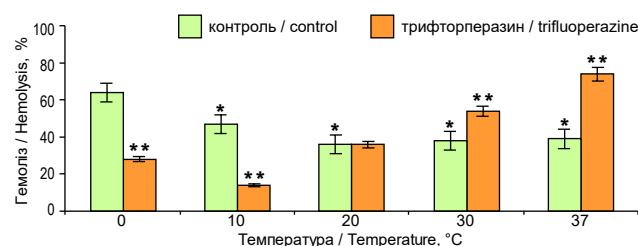


Рис. 2. Рівень постгіпертонічного гемолізу контрольних еритроцитів та еритроцитів у присутності трифторперазину залежно від температури досліджу

Fig. 2. The level of posthypertonic hemolysis of control erythrocytes and erythrocytes in the presence of trifluoroperazine depending on the temperature of the experiment

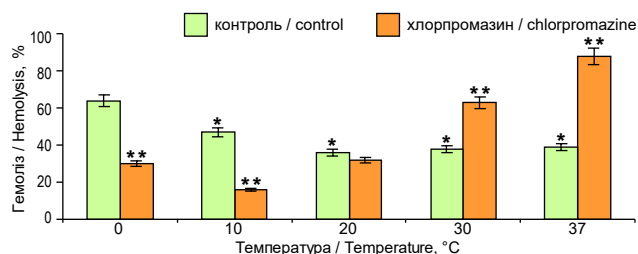


Рис. 3. Рівень постгіпертонічного гемолізу контрольних еритроцитів та еритроцитів у присутності хлорпромазину залежно від температури досліджу

Fig. 3. The level of posthypertonic hemolysis of control erythrocytes and erythrocytes in the presence of chlorpromazine depending on the temperature of the experiment

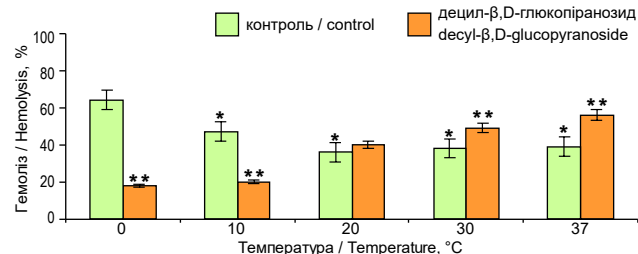


Рис. 4. Рівень постгіпертонічного гемолізу контрольних еритроцитів та еритроцитів у присутності децил- β ,D-глюкопіранозиду залежно від температури досліджу

Fig. 4. The level of posthypertonic hemolysis of control erythrocytes and erythrocytes in the presence of decyl- β ,D-glucopyranoside depending on the temperature of the experiment

Примітка. * — відмінності вірогідні порівняно з рівнем гемолізу клітин за 0°C, $P < 0,05$;

** — порівняно з рівнем гемолізу клітин у відсутності амфіфільної сполуки за тієї ж температури, $P < 0,05$.

Note. * — differences are significant compared to the level of cell hemolysis at 0°C,

$P < 0,05$; ** — compared to the level of cell hemolysis in the absence of amphiphilic compound at the same temperature, $P < 0,05$.

Обчислене зниження рівня гемолізу для контрольних клітин за підвищення температури досліду від 0 до 10°C становить 1,4 раза, від 10 до 20°C — 1,3 раза. Подальше підвищення температури не призводить до зниження пошкодження. Загальний рівень зниження гемолізу клітин за підвищення температури від 0 до 37°C становить близько 1,8 раза (рис. 1–4, зелені стовпчики).

Досліджувані амфіфільні сполуки за температури 0°C та 10°C доволі ефективно захищають еритроцити кролика від постгіпертонічного шоку. Зниження гемолітичного пошкодження за 0°C становить: децилсульфат натрію — у 2,9 раза, трифторперазин — у 2,3 раза, хлорпромазин — у 2,1 раза, децил- β ,D-глюкопіранозид — у 3,6 раза; за 10°C: децилсульфат натрію — у 2,9 раза, трифторперазин — у 3,4 раза, хлорпромазин — у 2,9 раза, децил- β ,D-глюкопіранозид — у 2,6 раза. За 20°C амфіфільні сполуки не впливають на рівень гемолізу, а за 30°C і 37°C — збільшують рівень пошкодження клітин (рис. 1–4, помаранчеві стовпчики).

Отже, ми бачимо, що температурні умови визначають як базовий рівень пошкодження клітин в умовах постгіпертонічного шоку, так і рівень захисту еритроцитів за допомогою амфіфільних сполук.

Існування температурної залежності постгіпертонічного пошкодження демонструє залучення до процесу фосфоліпідної компоненти мембрани еритроцита. Температура модулює плинність мембран, поділ фаз та організацію ліпідних доменів [8]. Плинність мембрани охоплює кілька параметрів — таких, як структура, склад і розташування мембранних ліпідів, і з фізико-хімічної точки зору є еластомеханічною властивістю. Різноманітність типів ліпідів у мембрані еритроцита створює певний баланс, який визначає структурні особливості біомембран. Зміна температури впливає на процеси, пов'язані з рухом молекул усередині ліпідного подвійного шару та регуляцією активності інших молекул, в тому числі з мембранозв'язаними білками [11]. На відміну від штучних ліпідних везикул, у біологічних мембранах відсутні стрімкі фазові переходи, порядок ліпідів змінюється лінійно з температурою. Для нижчої температури характерна більша впорядкованість ліпідів, підвищення температури супроводжується зменшенням впорядкованості та зростанням плинності, а отже, й еластичності мембрани [8, 10]. Помірне зростання плинності може забезпечити більшу стійкість до розтягування і, як наслідок, пошкодження еритроцита в умовах постгіпертонічного шоку зменшується. Це може пояснити зниження пошкодження еритроцитів за підвищення температури постгіпертонічного шоку (рис. 1–4, зелені стовпчики).

Відомо, що латеральна організація мембран у живих клітинах проявляється невеликими гетерогенними та високодинамічними доменами [5, 8]. За зміни температури змінюється склад і розмір цих доменів. За підвищення температури у зовнішньому моношарі зменшується кількість доменів, збагачених сфінгомієліном, та зростає кількість збагачених фосфатидил-

холіном [5]. Перерозподіл фосфоліпідів може впливати на плинність мембрани, здатність витримувати розтягнення і змінювати критичний гемолітичний об'єм. Це також може відігравати певну роль у температурній чутливості еритроцитів до постгіпертонічного шоку.

Амфіфільні сполуки є мембранотропними речовинами і їхня інтеркаляція у ліпідний бішар мембрани змінює такі характеристики клітини, як упорядкованість, об'єм, площа поверхні [1, 16, 17]. Після вбудовування амфіфілу неупорядкована фаза ліпідного бішару розширюється. Отже, можливо, що додавання амфіфільних сполук за 0 та 10°C діє подібно до підвищення температури, розупорядковує бішар, підвищує еластичність мембрани та зменшує пошкодження під час перенесення з гіпертонічного розчину до ізотонічного. Крім того, у багатьох роботах показано збільшення площі поверхні модельних мембран, а також збільшення діаметру еритроцита за вбудовування амфіфільної речовини [1, 16]. Більша площа поверхні створює спроможність досягнути більшого об'єму під час перенесення в ізотонічні умови й уникнути пошкодження внаслідок перевищення критичного гемолітичного об'єму. За температури понад 20°C плинність мембрани значно підвищується [11]. Крім того, зв'язування амфіфілів з поверхнею клітини збільшується внаслідок підсилення гідрофобних взаємодій [6]. Виявлено, що фенотіазини збільшують кількість доменів у модельних мембранах за кімнатної температури, зменшують їхню площу і помітно збільшують загальну довжину кордону домена. Передбачається, що зміна організації доменів, найімовірніше, виникає внаслідок селективного накопичення фенотіазинів у міжфазних ділянках між рідинно-впорядкованими та рідинно-неупорядкованими доменами [17]. За таких умов внесення амфіфільних сполук призводить не тільки до розупорядкування, а й до формування змішаних міцел, які складаються з фосфоліпідів і молекул амфіфільної речовини. Це порушує бішар, надає йому нестабільності і призводить до посилення пошкодження еритроцитів в умовах постгіпертонічного шоку за температури понад 20°C в присутності амфіфільних речовин.

Висновки

Як рівень пошкодження еритроцитів кролика в умовах постгіпертонічного шоку, так і рівень захисту клітин за допомогою амфіфільних сполук залежать від температури навколишнього середовища. При цьому дія амфіфільних сполук змінюється від ефективного захисту до посилення пошкодження. За результатами досліджень впливу температури на постгіпертонічний гемоліз, можна зробити висновок, що для зменшення відсотка пошкоджених клітин переводити їх з гіпертонічних у фізіологічні умови доцільно за температури 20–37°C. Натомість використання амфіфільних сполук як захисних речовин в умовах постгіпертонічного шоку є ефективним за температур 0–10°C.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження передбачають залучення еритроцитів інших ссавців, які мають відмінності за фосфоліпідним складом мембрани. Це дозволить детальніше вивчити дію амфифільних сполук на мембрани еритроцитів ссавців під час постгіпертонічного шоку і, можливо, передбачати захисну дію сполук цього класу.

- Alves I, Staneva G, Tessier C, Salgado GF, Nuss P. The interaction of antipsychotic drugs with lipids and subsequent lipid reorganization investigated using biophysical methods. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2011; 1808 (8): 2009–2018. DOI: 10.1016/j.bbamem.2011.02.021.
- Bojic S, Murray A, Bentley BL, Spindler R, Pawlik P, Cordeiro JL, Bauer R, de Magalhães JP. Winter is coming: the future of cryopreservation. *BMC Biol.* 2021; 19 (1): 56. DOI: 10.1186/s12915-021-00976-8.
- Chabanenko OO, Yerzhova NA, Orlova NV, Shpakova NM. Effect of sodium decyl sulfate and chlorpromazine on posthypertonic shock of mammalian red blood cells. *Biol. Tvarin.* 2019; 21 (4): 84–90. DOI: 10.15407/animbiol21.04.084. (in Ukrainian)
- Chabanenko O, Yerzhova N, Shpakova N. Adequacy of posthypertonic shock model to real cryopreservation conditions during deglycerolization of erythrocytes. Proc. 57th ann. meet. "CRYO-2020", 21–23 July 2020, USA. *Cryobiol.* 2020; 97: 276. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2020.10.106.
- Conrard L, Stommen A, Cloos AS, Steinkühler J, Dimova R, Pollet H, Tyteca D. Spatial relationship and functional relevance of three lipid domain populations at the erythrocyte surface. *Cell. Physiol. Biochem.* 2018; 51 (4): 1544–1565. DOI: 10.1159/000495645.
- Durell SR, Ben-Naim A. Temperature dependence of hydrophobic and hydrophilic forces and interactions. *J. Phys. Chem.* 2021; 125 (48): 13137–13146. DOI: 10.1021/acs.jpcc.1c07802.
- Ershova NA, Shpakova NM, Orlova NV, Ershov SS. Amphiphiles as tools for studying hypertonic cryohemolysis of mammalian erythrocytes. *Biol. Tvarin.* 2014; 16 (2): 48–56. (in Ukrainian)
- Färber N, Westerhausen C. Broad lipid phase transitions in mammalian cell membranes measured by Laurdan fluorescence spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2022; 1864 (1): 183794. DOI: 10.1016/j.bbamem.2021.183794.
- Habibi S, Lee HY, Moncada-Hernandez H, Gooding J, Minerick AR. Impacts of low concentration surfactant on red blood cell dielectrophoretic responses. *Biomicrofluidics.* 2019; 13 (5): 054101. DOI: 10.1063/1.5113735.
- Jaferzadeh K, Sim M, Kim N, Moon I. Quantitative analysis of three-dimensional morphology and membrane dynamics of red blood cells during temperature elevation. *Sci. Rep.* 2019; 9: 14062. DOI: 10.1038/s41598-019-50640-z.
- Klaiss-Luna MC, Manrique-Moreno M. Infrared spectroscopic study of multi-component lipid systems: A closer approximation to biological membrane fluidity. *Membranes.* 2022; 12 (5): 534. DOI: 10.3390/membranes12050534.
- Muldrew K. The salting-in hypothesis of post-hypertonic lysis. *Cryobiol.* 2008; 57 (3): 251–256. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2008.09.007.
- Orlova NV, Shpakova NM. Mechanism of protective effect of amphiphilic compounds during hypertonic hemolysis of erythrocytes. *Fiziol. Zh.* 2006; 52 (5): 55–61. PMID: 17176840. (in Ukrainian)
- Riske KA, Domingues CC, Casadei BR, Mattei B, Carità AC, Lira RB, Preté PSC, de Paula E. Biophysical approaches in the study of biomembrane solubilization: quantitative assessment and the role of lateral inhomogeneity. *Biophys. Rev.* 2017; 9 (5): 649–667. DOI: 10.1007/s12551-017-0310-6.
- Shpakova NM, Orlova NV. About the mechanism of mammalian erythrocytes osmotic stability. *Probl. Cryobiol. Cryomed.* 2020; 30 (4): 331–342. DOI: 10.15407/cryo30.04.331.
- Steinkopf S, Schelderup AK, Gjerde HL, Pfeiffer J, Thoresen S, Gjerde AU, Holmsen H. The psychotropic drug olanzapine (Zyprexa®) increases the area of acid glycerophospholipid monolayers. *Biophys. Chem.* 2008; 134 (1–2): 39–46. DOI: 10.1016/j.bpc.2008.01.003.
- Wesołowska O, Michalak K, Hendrich AB. Direct visualization of phase separation induced by phenothiazine-type antipsychotic drugs in model lipid membranes. *Mol. Membrane Biol.* 2011; 28 (2): 103–114. DOI: 10.3109/09687688.2010.533706.

Efficiency of amphiphilic compounds in rabbit erythrocytes posthypertonic shock depending on temperature conditions

O. E. Nipot, N. A. Ershova, N. M. Shpakova, S. S. Ershov, O. O. Shapkina
nipotel71@gmail.com

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine NAS of Ukraine,
23 Pereyaslavskaya str., Kharkiv, 61016, Ukraine

The influence of temperature conditions on the level of damage of rabbit erythrocytes under posthypertonic shock and the level of their protection by amphiphilic compounds was investigated. We observed the maximum cell damage at 0°C. When the temperature increased to 20°C, the level of hemolysis decreased by 1.8 times. Further increase in temperature up to 37°C did not lead to a decrease in damage. The investigated amphiphilic compounds at 0°C and 10°C effectively protected rabbit erythrocytes from posthypertonic shock. Reduction of hemolytic damage was 2–3 times. At 20°C amphiphilic compounds did not affect the level of cell damage, and at 30°C and 37°C they increased it. The existence of temperature dependence of posthypertonic damage showed the involvement of the phospholipid component of the erythrocyte membrane in the process. Lower temperature is characterized by greater orderliness of lipids, its increase is accompanied by disorder and increased fluidity, and hence elasticity of the membrane. As a result, erythrocyte damage in posthypertonic shock is less at the temperature of 20–37°C. The addition of amphiphilic compounds at 0 and 10°C acts similarly to increasing the temperature, disorganizes the bilayer, increases the elasticity of the membrane and reduces damage during the transfer from hypertonic to isotonic solution. Above 20°C, the introduction of amphiphilic compounds leads not only to disorder, but also to the formation of mixed micelles consisting of phospholipids and amphiphilic molecules. This disrupts the bilayer, gives it instability and leads to increased damage of erythrocytes.

Key words: rabbit erythrocytes, amphiphilic compounds, posthypertonic shock, temperature



Гематологічні показники та якість сперми баранів у період статевого спокою за згодовування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки

О. М. Шаран, В. Ю. Стефанік

oshaom737@gmail.com

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

Метою роботи було дослідити вплив згодовування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки у період статевого спокою на гематологічні показники та якісні показники сперми баранів. Експеримент проводили у ФОП «Когут Б. М.» Городоцького р-ну Львівської обл. на 12 клінічно здорових баранах породи тексель віком 2–4 роки у період статевого спокою (березень-травень). Тварин поділили на дві групи — контрольну і дослідну по 6 самців у кожній. Контрольні барани отримували основний раціон, до складу якого входили сіно, силос кукурудзяний та комбікорм. Баранам дослідної групи впродовж 45 днів індивідуально до комбікорму у формі ліпосомальної емульсії додавали кормову добавку, до складу якої входили вітаміни А, D₃, Е, С та цинку глюконат. На початку і наприкінці згодовування відбирали проби крові, в якій визначали гематологічні показники. Після закінчення згодовування добавки від баранів отримували еякуляти з режимом використання їх дуплетною садкою двічі на тиждень впродовж трьох тижнів. Визначали фізіологічні показники якості еякулятів: об'єм, концентрацію спермій, відсоток живих спермій, а також життєздатність спермій. Морфологічні порушення та відсоток дегенеративних спермій визначали за допомогою комп'ютеризованої системи CASA. Встановлено, що згодовування баранам ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки у період статевого спокою покращує гематологічні показники: вірогідно зростає вміст еритроцитів ($P < 0,01$), гемоглобіну ($P < 0,001$), тромбоцитів ($P < 0,05$) та гематокрит на 13,5% за зниження на 24,2% кількості лейкоцитів ($P < 0,05$). Відповідно, еритроцитарні індекси крові дослідних баранів-плідників були вищими від величин значень у контрольних плідників. Згодовування баранам ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки забезпечило збільшення об'єму еякуляту на 17,6% ($P < 0,05$), концентрації спермій ($P < 0,01$), їхньої життєздатності на 7,3% ($P < 0,05$), а також зменшення кількості незрілих ($P < 0,001$) та дегенерованих ($P < 0,05$) спермій. Вищі показники якості еякулятів баранів за впливу вітамінів А, D₃, Е, С та цинку глюконату вказують на можливість отримання сперми від баранів-плідників у період статевого спокою.

Ключові слова: вітамінно-мінеральна добавка, ліпосомальна емульсія, барани, гематологічні показники, сперма, виживання, запліднювальна здатність, період статевого спокою

Одним із завдань продовольчої безпеки держави є забезпечення населення якісним м'ясом, зокрема бараниною. За роки незалежності України виникла негативна тенденція розвитку вівчарства, коли поголів'я овець до 2020 р. скоротилося у 9 разів [22]. Проте, зважаючи на позитивні економічні і соціальні зміни в Україні, в останні роки поголів'я овець почало поступово зростати. Станом на 1 січня 2022 р. в Україні на підприємствах поголів'я овець та кіз зросло на 7,1% порівняно з минулим роком і становить 162,1 тис. тварин [13]. Для підвищення конку-

рентоздатності фермери почали розвивати м'ясне вівчарство, використовуючи спеціалізовані м'ясні породи овець імпортової селекції, однією з яких є тексель. Для овець цієї породи характерні інтенсивність росту та розвитку молодняка, скоростиглість, чудові смакові якості м'яса. За схрещування з іншими породами вівці породи тексель передають м'ясні якості потомству вже в першому поколінні [21]. Це робить привабливим використання овець цієї породи для промислового схрещування з місцевими породами і отримання більшої кількості якісного м'яса.

Успішне розведення овець неможливе без використання біотехнологічних методів відтворення, першим з яких є штучне осіменіння. Водночас штучне осіменіння вимагає постійної наявності сперми генетично цінних баранів [8]. Оскільки вівці — сезонні тварини, то статевая активність як самок, так і самців активніше проявляється у парувальний сезон [17, 20]. У цей період увага власників тварин і фахівців з розведення зосереджена на посиленій годівлі та утриманні тварин, що дозволяє отримувати високі результати запліднення вівцематок. Зокрема, важливо балансувати раціони баранів та вівцематок вітамінами та мікроелементами [9, 16].

Відомо, що у період статевого спокою норми споживання вітамінів та мікроелементів на 25–50% нижчі, ніж у парувальний сезон [12]. Крім природної статевої активності, пов'язаної з мелатоніном, це очевидно знижує якісні показники сперми баранів, про що свідчать численні літературні дані [11, 14, 18]. Зазвичай зменшена поживність раціону баранів-плідників у період статевого спокою спричинена зниженням статевої активності. Водночас годівлю баранів-плідників потрібно організувати так, щоб вони протягом року мали заводську вгодованість. Тому для підвищення статевої активності та якості сперми баранів у період статевого спокою необхідно збільшити норми споживання вітамінів і мікроелементів до рівня парувального сезону.

У зв'язку з цим, для підвищення якісних показників сперми ми запропонували розроблену кормову добавку у формі ліпосомальної емульсії для підгодівлі баранів у період статевого спокою. Виникає потреба з'ясувати вплив згодовування ліпосомальної кормової добавки на гематологічні показники та якість сперми баранів у період статевого спокою.

Матеріали та методи

У ФООП «Когут Б. М» Городоцького р-ну Львівської обл. було відібрано 12 клінічно здорових баранів породи тексель віком 2–4 роки, яких утримували у чотирьох клітках по три самці у кожній. Перед початком експерименту проводили клінічний огляд кожної тварини з визначенням температури тіла. Дослідження проводили у період статевого спокою (березень-травень). Тварин поділили на дві групи-аналоги — контрольну і дослідну по 6 тварин у кожній. Барани контрольної групи отримували основний раціон, до складу якого входили: сіно — 2 кг, силос кукурудзяний — 1 кг, комбікорм — 500 г, у складі якого три частини вівса, одна частина пшениці та одна частина кукурудзи.

Баранам дослідної групи індивідуально до комбікорму впродовж 45 днів додавали ліпосомальну вітамінно-мінеральну добавку у дозі 2 мл на тварину на добу. Для виготовлення 20 мл добавки використали 200 мг цинку глюконату, 250 тис. МО вітаміну А, 25 тис. МО вітаміну D₃, 250 мг вітаміну Е, 500 мг вітаміну С, а також лецитин і твін-20 та деіонізовану воду. Суміш пере-

мішували та диспергували на ультразвуковому диспергаторі УЗДН-1 за частоти 22 кГц впродовж 2–3 хв. до утворення однорідної емульсії. Отриману емульсію стерилізували на водяній бані впродовж 10 хв.

На початку і наприкінці згодовування брали проби крові. За допомогою автоматичного гематологічного аналізатора *Mythic 18 Orphee Vet* (Швейцарія) визначали гематологічні показники: WBC — лейкоцити, RBC — еритроцити, HGB — концентрація гемоглобіну в цільній крові, HCT — гематокрит, PLT — тромбоцити; еритроцитарні індекси: MCV — середній об'єм еритроцита, MCH — середній вміст гемоглобіну в окремому еритроциті, MCHC — середня концентрація гемоглобіну в еритроцитарній масі. Лейкограму визначали під мікроскопом у камері Горєва і підраховували базофіли, еозинофіли, нейтрофіли, лімфоцити та моноцити у %.

Через 45 днів від початку експерименту, тобто після закінчення згодовування добавки тваринам дослідної групи, впродовж трьох тижнів від баранів отримували еякуляти на штучну вагіну фірми *Minitube* з режимом використання плідників дуплетною садкою два рази на тиждень. Визначали фізіологічні показники якості еякулятів: об'єм (мл), концентрацію спермій (млрд/мл), кількість життєздатних спермій (%).

Об'єм еякуляту барана визначали за допомогою градуйованої пробірки, а концентрацію спермій — спектрофотометрично за допомогою фотометра SDM 6 з сенсорним дисплеєм (*Minitube*). Життєздатність статевих клітин, морфологічні порушення та відсоток дегенеративних спермій визначали комп'ютеризованою системою *CASA (Computer Assisted Semen Analysis)* з активуванням модуля *Sperm Vision* [23].

Для всіх зразків проводили обчислення середнього арифметичного значення і середньоквадратичної помилки ($M \pm m$). Отриманий цифровий матеріал статистично опрацьовували із застосуванням пакету програм *Microsoft Office Excel 2010*.

Результати й обговорення

Аналізуючи результати гематологічних досліджень перед згодовуванням ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки, ми встановили, що основні показники в період статевого спокою були в межах референтних значень ближче до нижньої межі їх фізіологічної норми. Це пояснюється зниженням фізіологічної та статевої активності баранів у період статевого спокою (березень-червень), під час якого годівля тварин спрямована на забезпечення лише фізіологічних потреб.

Оскільки тривалість сперматогенезу у баранів становить 40 днів, ми запропонували згодовування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки у складі основного раціону впродовж 45 днів з метою посилення статевої активності та якості сперми. Компоненти препарату підібрали з огляду на їхню дію на організм самців, а також на статеву поведінку та сперматогенез.

Таблиця 1. Гематологічні показники баранів за згодування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки ($M \pm m$, $n=6$)
Table 1. Hematological parameters of rams fed liposomal vitamin and mineral supplement ($M \pm m$, $n=6$)

Показник Parameter	Група тварин / Group of animals	
	контрольна control	дослідна experimental
Еритроцити, Т/л / RBC, $\times 10^{12}/l$	7,8 \pm 0,27	10,2 \pm 0,39**
Гемоглобін, г/л / HGB, g/l	84,7 \pm 4,60	112,8 \pm 5,60***
Гематокрит, % / HCT, %	25,9 \pm 1,76	29,4 \pm 1,27
Середній об'єм еритроцита, фл MCV, $10^{-15} l$	29,5 \pm 1,60	32,4 \pm 1,86
Середній вміст гемоглобіну в окремому еритроциті, пг MCH, $10^{-12} g$	10,2 \pm 0,65	11,3 \pm 0,47
Середня концентрація гемоглобіну в еритроцитарній масі, г/л MCHC, g/l	321,3 \pm 11,92	336,5 \pm 13,83
Тромбоцити, $\times 10^9/мл$ / PLT, $\times 10^9/ml$	258,0 \pm 7,10	318,4 \pm 13,37*
Лейкоцити, $\times 10^9/мл$ / WRC, $\times 10^9/ml$	6,25 \pm 0,39	4,74 \pm 0,19*

Примітка. Тут і далі * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$ порівняно з контрольною групою.

Note. Here and further * — $P < 0.05$, ** — $P < 0.01$, *** — $P < 0.001$ compared to the control group.

Таблиця 2. Лейкограма баранів за згодування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки, % ($M \pm m$, $n=6$)
Table 2. Leukogram of rams fed liposomal vitamin-mineral supplement, % ($M \pm m$, $n=6$)

Показник Parameter	Група тварин / Group of animals		
	контрольна control	дослідна experimental	
Базофіли / Basophils	0,62 \pm 0,03	0,65 \pm 0,03	
Еозинофіли / Eosinophil's	6,60 \pm 0,41	6,45 \pm 0,38	
юні / young	0,80 \pm 0,08	0,55 \pm 0,06*	
Нейтрофіли Neutrophils	паличкоядерні banded	4,63 \pm 0,20	4,75 \pm 0,14
	сегментноядерні segmented	38,50 \pm 1,95	39,60 \pm 2,03
Лімфоцити / Lymphocytes	45,20 \pm 1,20	43,80 \pm 1,62	
Моноцити / Monocytes	3,65 \pm 0,12	4,20 \pm 0,12*	

Таблиця 3. Якість еякулятів баранів за згодування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки ($M \pm m$, $n=6$)
Table 3. The quality of ejaculates of rams fed liposomal vitamin-mineral supplement ($M \pm m$, $n=6$)

Показник Parameter	Група тварин / Group of animals	
	контрольна control	дослідна experimental
Об'єм еякуляту, мл Ejaculate volume, ml	1,08 \pm 0,06	1,27 \pm 0,06*
Концентрація спермійів, $\times 10^9/мл$ Spermatozoa concentration, $\times 10^9/ml$	3,04 \pm 0,06	3,29 \pm 0,06**
Загальна кількість спермійів, $\times 10^9$ Total spermatozoa count, $\times 10^9$	3,28 \pm 0,22	4,12 \pm 0,23*
Життєздатних спермійів (рухливість), % Viable spermatozoa (motility), %	85,2 \pm 1,82	91,4 \pm 1,34*
Спермії з цитоплазматичними краплями, % Spermatozoa with cytoplasmic drops, %	6,2 \pm 0,30	3,9 \pm 0,46***
Дегенеровані спермії, % Degenerate spermatozoa, %	8,6 \pm 0,99	4,7 \pm 0,55*

Дослідженнями встановлено, що під впливом згодування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки баранам у період статевого спокою зросли гематологічні показники. Зокрема кількість еритроцитів (RBC) у крові баранів дослідної групи стала вищою на 30,8% ($P < 0,01$) порівняно з контрольними тваринами (табл. 1). Аналогічно, концентрація гемоглобіну в крові (HGB) дослідних тварин перевищувала показники контрольних тварин на 33,2% ($P < 0,001$). За вмістом тромбоцитів і гематокритом спостерігали таку ж закономірність. Зокрема, вміст тромбоцитів і гематокрит у крові баранів під впливом згодування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки вищий, відповідно, на 23,4% ($P < 0,05$) та 13,5% порівняно з контрольними тваринами. Водночас кількість лейкоцитів у крові баранів дослідної групи стала на 24,2% нижчою ($P < 0,05$) порівняно з тваринами контрольної групи.

Аналізуючи еритроцитарні індекси у крові піддослідних тварин, варто зазначити про вищі їх значення у баранів дослідної групи. Зокрема, середній об'єм еритроцита (MCV), середній вміст гемоглобіну в окремому еритроциті (MCH) та середня концентрація гемоглобіну в еритроцитарній масі (MCHC) у крові баранів дослідної групи були вищими, відповідно, на 9,8; 10,8 та 4,7% порівняно з тваринами контрольної групи, проте різниці не були вірогідними.

Дослідженням лейкоцитарної формули крові піддослідних тварин встановлено відмінності значень між дослідною та контрольною групами. Кількість базофілів у крові баранів дослідної групи була більшою на 4,8% порівняно з контрольними тваринами (табл. 2).

Водночас кількість еозинофілів у крові баранів дослідної групи була нижчою на 2,2%, ніж у тварин контрольної групи. За вмістом нейтрофілів між групами тварин спостерігали розбіжності: відсоток юних нейтрофілів у крові баранів дослідної групи став нижчим на 31,2% ($P < 0,05$), а за вмістом паличкоядерних і сегментноядерних нейтрофілів — навпаки, спостерігали тенденцію до підвищення на 2,4% і 2,9% відповідно порівняно з контрольними тваринами.

Кількість лімфоцитів у крові баранів дослідної групи була нижчою на 3,1%, водночас вміст моноцитів — навпаки, вищим на 15,4% ($P < 0,05$) порівняно з тваринами контрольної групи.

У дослідженнях встановлено позитивний вплив згодування баранам ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки на кількісні та якісні показники сперми. Зокрема, об'єм еякуляту у баранів дослідної групи став на 17,6% більшим ($P < 0,05$), ніж у контрольних самців (табл. 3). Аналогічно, концентрація спермійів та загальна кількість спермійів в еякуляті баранів дослідної групи — відповідно, на 8,2% ($P < 0,01$) і 27,4% ($P < 0,05$) вищі порівняно з тваринами контрольної групи. Згодування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки 7,3% ($P < 0,05$) збільшило на відсоток життєздатних спермійів (з прямолінійно-поступальним рухом) у період статевого спокою. Водночас частка спермійів з цитоплазматичними краплями та дегене-

рованих статевих клітин значно зменшилися — відповідно, на 37,1% ($P < 0,001$) і 45,3% ($P < 0,05$).

Серед комплексу чинників, які впливають на відтворення стада, годівля баранів-плідників займає чільне місце, оскільки для нормального сперміогенезу необхідно забезпечити самців повноцінним раціоном. У період статевих спокою годівля баранів-плідників зосереджена на забезпеченні нормального функціонування організму [12], тому виникає потреба збагатити раціони вітамінами та мікроелементами. З цією метою ми розробили кормову добавку у формі ліпосомальної емульсії, до складу якої додали вітаміни А, D₃, Е, С та цинку глюконат. Ліпосомальна емульсія забезпечує пролонгований ефект, захищає діючі речовини під час проходження їх через травний тракт з використанням лецитину та твіну.

Підбір компонентів розробленої добавки мотивований численними літературними даними, у яких показано позитивну дію окремих вітамінів та мікроелементів. Зокрема, вітамін А проявляє антиоксидантні властивості, а його дефіцит викликає аномалії спермій [1]. У наших дослідженнях очевидно, що за рахунок додавання вітаміну А вірогідно ($P < 0,001$) знизилася кількість дегенерованих ембріонів. Вітамін D₃ також позитивно впливає на сперматогенез. Експериментальні дослідження підтверджують сприятливий вплив вітаміну D на репродуктивну здатність самців через модуляцію вироблення гормонів за допомогою геномних і негеномних дій і зокрема покращення якості сперми [3]. Вітамін Е як антиоксидант запобігає окисненню жирних кислот, забезпечує стійкість і активність епітелію слизових оболонок статевої системи. Додавання до раціонів вітаміну Е у поєднанні з Селеном збільшувало лібідо баранів, якісні показники сперми та активність глутатіонпероксидази у спермі [4]. Вітамін С завдяки сильним антиоксидантним властивостям відіграє значну роль у регуляції окисно-відновних процесів, активує синтез колагену і проколагену, стероїдних гормонів і катехоламінів, обмін фолієвої кислоти та заліза. Чимало досліджень підтверджують сумісну позитивну дію вітамінів Е і С на якісні показники сперми баранів [6, 19]. Комплексне застосування вітамінів А, D₃ та Е забезпечує підвищення загальної резистентності організму тварин, покращення стану їхнього здоров'я та репродуктивної функції. Ролі Цинку у репродуктивній функції присвячено багато досліджень. Зокрема, широко висвітлено визначальну роль цього мікроелемента у фертильності самців [2, 5, 15]. Також встановлено ефективність згодовування органічних форм цинку [7] і його комбінації з біологічно активними речовинами [10] з позитивною дією на синтез тестостерону, статевої активності і якісні показники сперми баранів.

Аналіз результатів проведених досліджень підтверджує позитивну дію згодовування баранам ліпосомальної добавки з вітамінами А, D₃, Е, С та цинку глюконатом у період статевих спокою на гематологічні показники. Зокрема, встановлено суттєве зростання концентрації гемоглобіну, вмісту еритроцитів, тромбоцитів та гематокриту на фоні зниження вмісту лейкоцитів. Це може

вказувати на посилення обмінних процесів та інтенсифікацію захисних сил в організмі баранів-плідників. Свідченням позитивної дії компонентів ліпосомальної добавки є значне збільшення об'єму еякуляту баранів та кількості спермій у ньому, а також зростання життєздатності статевих клітин. Водночас вірогідно знижується відсоток спермій з цитоплазматичними краплями, що вказує на позитивний вплив на сперматогенез згодовування вітамінів А, D₃, Е, С та глюконату цинку у фізіологічно обґрунтованих співвідношеннях.

Таким чином, поєднання вітамінів А, D₃, Е та С з цинком глюконатом у складі ліпосомальної емульсії забезпечує пролонгований ефект, захищає діючі речовини під час проходження їх через травний тракт, активізує відтворювальну функцію баранів як безпосередню дію цинку глюконату на синтез тестостерону, так і опосередковано — через стимуляцію гіпоталамо-гіпофізарної системи вітамінами А, D₃, Е, а також синтез стероїдних гормонів вітаміном С. Це дозволяє отримувати від баранів-плідників сперму високої якості у період статевих спокою і забезпечити плідне осіменіння вівцематок.

Висновки

1. Згодовування баранам-плідникам у період статевих спокою ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки впродовж 45 днів підвищує гематологічні показники: вміст еритроцитів — на 30,8% ($P < 0,01$), концентрацію гемоглобіну — на 33,2% ($P < 0,001$), вміст тромбоцитів — на 23,4% ($P < 0,05$) та гематокрит — на 13,5%. Водночас еритроцитарні індекси (MCV, MCH та MCHC) у крові баранів зросли — відповідно, на 9,8; 10,8 та 4,7%.

2. Додавання до складу основного раціону баранам-плідникам ліпосомальної емульсії з вітамінами А, D₃, Е, С та цинком глюконатом призвело до збільшення на 17,6% ($P < 0,05$) об'єму еякуляту, на 8,2% ($P < 0,01$) — концентрації спермій і на 27,4% ($P < 0,05$) — загальної кількості спермій в еякуляті у період статевих спокою.

3. Компоненти ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки забезпечили збільшення на 7,3% ($P < 0,05$) кількості спермій з прямолінійно-поступальним рухом у період статевих спокою, а також зниження відсотка незрілих спермій — на 37,1% ($P < 0,001$) зменшилася частка спермій з цитоплазматичними краплями. Водночас кількість дегенерованих статевих клітин зменшилася на 45,3% ($P < 0,05$).

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження будуть скеровані на з'ясування дії ліпосомального вітамінно-мінерального препарату на біохімічні параметри крові баранів, запліднювальну здатність спермій та їх антиоксидантний захист у період статевих спокою.

Дотримання етичних стандартів

Під час експерименту дотримано всіх міжнародних, національних і/або інституційних принципів догляду та використання тварин, зокрема Директиви 2010/63/ЄС «Про захист тварин, що використовуються в наукових цілях».

1. Abdulkareem TA, Al-Haboby AH, Al-Mjamei SM, Hobi AA. Sperm abnormalities associated with vitamin A deficiency in rams. *Small Rum. Res.* 2005; 57 (1): 67–71. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2004.06.017.
2. Allouche-Fitoussi D, Breitbart H. The role of Zinc in male fertility. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21 (20): 7796. DOI: 10.3390/ijms21207796.
3. Angelis C, Galdiero M, Pivonello C, Garifalos F, Menafrà D, Cariati F, Salzano C, Galdiero G, Piscopo M, Vece A, Colao A, Pivonello R. The role of vitamin D in male fertility: A focus on the testis. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2017; 18 (3): 285–305. DOI: 10.1007/s11154-017-9425-0.
4. Baiomy AA, Mohamed AEA, Mottelib AA. Effect of dietary selenium and vitamin E supplementation on productive and reproductive performance in rams. *BS Vet. Med. J.* 2009; 19 (1): 39–43. DOI: 10.21608/jvmr.2009.77807.
5. Cheah Y, Yang W. Functions of essential nutrition for high quality spermatogenesis. *Adv. Biosci. Biotechnol.* 2011; 2 (4): 182–197. DOI: 10.4236/abb.2011.24029.
6. Cofré-Narbona EJ, Peralta-Troncoso OA, Urquieta-Mangiola BE, Raggi-Saini LA, Benavides-Aguila N, Parraguez-Gamboa VH. Improvement of antioxidant status and semen quality by oral supplementation with vitamins C and E in rams. *Revista Científica.* 2016; 26 (3): 156–163. Available at: <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/42180> (in Spanish)
7. Fadl AM, Abdelnaby EA, El-Sherbiny HR. Supplemental dietary zinc sulphate and folic acid combination improves testicular volume and haemodynamics, testosterone levels and semen quality in rams under heat stress conditions. *Reprod. Domest. Anim.* 2022; 57 (6): 567–576. DOI: 10.1111/rda.14096.
8. Faigl V, Vass N, Jávora A, Kulcsár M, Solti L, Amiridis G, Cseh S. Artificial insemination of small ruminants — A review. *Acta Vet. Hung.* 2012; 60 (1): 115–129. DOI: 10.1556/avet.2012.010.
9. Feeding Management and Methods. Tamil Nadu Agricultural University. Available at: http://www.agritech.tnau.ac.in/expert_system/sheepgoat/Feeding%20Management%20of%20Sheep%20and%20Goats.html
10. Ghorbani A, Moeini MM, Souiri M, Hajarian H. Influences of dietary selenium, zinc and their combination on semen characteristics and testosterone concentration in mature rams during breeding season. *J. Appl. Anim. Res.* 2018; 46 (1): 813–819. DOI: 10.1080/09712119.2017.1406858.
11. Hrymak K. The sexual activity of the ram-sires depending on their mode of use. *Sci. Mess. LNU Vet. Med. Biotechnol. Ser. Agricult. Sci.* 2019; 21 (91): 29–32. DOI: 10.32718/nvvet-a9105. (in Ukrainian)
12. Ibatullin II (ed.), Zhukorskyi OM. *Handbook on Complete Feeding of Farm Animals.* Kyiv, 2016: 300 p. (in Ukrainian)
13. In Ukraine, the population of sheep and goats has increased significantly. *AgroNews.* 27.01.2022. Available at: <https://agronews.ua/news/v-ukrayini-suttyvevo-zbilshylosya-pogolivya-ovecz-ta-kiz> (in Ukrainian)
14. Ntemka A, Kiossis E, Boscós C, Theodoridis A, Kourousekos G, Tsakmakidis I. Impact of old age and season on Chios ram semen quality. *Small Rum. Res.* 2019; 178: 15–17. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2019.07.004.
15. Page CM, Van Emon ML, Murphy TW, Larson CK, Berardinelli JG, McGregor IR, Taylor JB, Stewart WC. Effects of zinc source and dietary concentration on serum zinc concentrations, growth performance, wool and reproductive characteristics in developing rams. *Animal.* 2020; 14 (3): 520–528. DOI: 10.1017/S1751731119002180.
16. Pugh DG. Nutritional requirements of sheep: minerals and vitamins. The Ohio State University, 2020. Available at: <https://u.osu.edu/sheep/2020/07/28/nutritional-requirements-of-sheep-minerals-and-vitamins>
17. Santos SGCG, Saraiva EP, Filho ECP, Santos LFD, Fonsêca VFC, Veríssimo TNS, Almeida MEV, Pinheiro AC. Seasonal and circadian variation of the sexual behavior of Morada Nova rams in tropical environment. *R. Bras. Zootec.* 2015; 44 (1): 8–14. DOI: 10.1590/S1806-92902015000100002.
18. Santos SI, Sánchez-Dávila F, Vázquez-Armijo GF, Ledezma-Torres RA, Bosque-González AS, Palomera CL, Bernal-Barragán H. Changes in sexual behaviour and semen quality associated with age and type of enclosure of Saint Croix rams in different seasons of the year. *It. J. Anim. Sci.* 2015; 14 (4): 678–683. DOI: 10.4081/ijas.2015.3890.
19. Shedeed HA. Evaluating the effect of adding vitamins E & C to the extender for Barki ram semen by cooling. *Intern. J. Environ. Agricult. Biotechnol.* 2020; 5 (2): 356–365. DOI: 10.22161/ijeab.52.10.
20. Snowden GD, Stellflug JN, Van Vleck LD. Genetic correlation of ram sexual performance with ewe reproductive traits of four sheep breeds. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2004; 8 (3–4): 253–261. DOI: 10.1016/j.applanim.2004.04.004.
21. Texel breed. ULUS s.r.o. Available at: <http://www.ulus.cz/Texel.html>
22. The sheep population in Ukraine has decreased nine times. *NV.ua.* 02.07.2019. Available at: <https://biz.nv.ua/ukr/markets/vivci-za-28-rokiv-pogoliv-ya-v-ukrajini-skorotilosya-v-dev-yat-raviv-50029872.html> (in Ukrainian)
23. Yaremchuk IM, Sharan MM. Modern opportunities of sperm quality analysis and sperm dose calculation. *Biol. Tvarin.* 2012; 14 (1–2): 697–703. Available at: <http://aminbiol.com.ua/index.php/archive?catid=1:2013-02-15-09-09-13&id=203:2013-03-09-12-31-38> (in Ukrainian)

Hematological indicators and sperm quality of rams during the sexual rest period when fed a liposomal vitamin and mineral supplement

O. M. Sharan, V. Yu. Stefanyk
oshaom737@gmail.com

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv,
50 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

The aim of the work was to investigate the effect of feeding a liposomal vitamin and mineral supplement during the period of sexual rest on hematological indicators and quality of ram sperm. The experiment was conducted at the PE "Kogut BM" in Horodotsky district, Lviv region, on 12 clinically healthy Texel rams, aged 2–4 years, during the period of sexual rest (March-May). Animals were divided into two groups — control and experimental, 6 animals per group. The control rams received the basic diet containing hay, corn silage, and compound feed. For 45 days, the sheep of the experimental group were individually added to the combined feed a feed additive containing vitamins A, D₃, E, C and zinc gluconate in the form of a liposomal emulsion. At the beginning and at the end of feeding, we took blood samples, in which hematological indicators were determined. After the end of supplement feeding, ejaculates were collected twice a week in doublets for three weeks. Physiological indicators of ejaculate quality (volume, sperm concentration, percentage of live sperm, as well as sperm viability, morphological disorders and percentage of degenerative sperm) were determined using the CASA computerized system. It was established that feeding liposomal vitamin-mineral supplements to rams during the period of sexual rest improves hematological indicators: the content of erythrocytes, hemoglobin, platelets and hematocrit increase significantly ($P < 0.05$ – 0.001) while the content of leukocytes decreases by 24.2% ($P < 0.05$). Accordingly, the erythrocyte indices of the blood of experimental breeding rams were higher than those of control animals. Feeding rams with a liposomal vitamin and mineral supplement ensured an increase in ejaculate volume by 17.6% ($P < 0.05$), sperm concentration ($P < 0.01$), their viability, as well as a decrease in the number of immature ($P < 0.001$) and degenerated ($P < 0.05$) sperm. Higher quality indicators of ejaculates of rams under the influence of vitamins A, D₃, E, C and zinc gluconate indicate the possibility of obtaining sperm from breeding rams during the period of sexual rest.

Key words: vitamin and mineral supplement, liposomal emulsion, ram, hematological indicators, sperm, survival, fertilizing capacity, period of sexual rest



Хромосомна нестабільність чистопородних і кросбредних корів молочного напрямку продуктивності

В. В. Дзіцюк¹, Л. Ф. Стародуб¹, Т. М. Димань²

valentynadzitsiuk@gmail.com

¹Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН,
вул. Погребняка, 1, с. Чубинське, Бориспільський р-н, Київська обл., Україна

²Білоцерківський національний аграрний університет,
пл. Соборна, 8/1, м. Біла Церква, Київська обл., 09117, Україна

Викладено результати досліджень мінливості каріотипових ознак чистопородних і кросбредних корів молочного напрямку продуктивності. Матеріалом для досліджень слугували проби периферійної крові чистопородних корів-первісток української червоно-рябої молочної і української чорно-рябої молочної порід, а також кросбредних корів, отриманих від схрещування корів української червоно-рябої молочної породи з бугаями монбельярдської (ДП «ДГ «Нива» Інституту розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН»). Приготування цитогенетичних препаратів, аналіз морфології, ідентифікацію і класифікацію аберацій хромосом здійснювали за загальноприйнятими методиками. Аналіз клітин проводили під мікроскопом *Axiostar plus* (*Carl Zeiss*, Німеччина) з імерсійним збільшенням у 1000 разів та мікрофотографували. В усіх дослідженнях як параметри хромосомної нестабільності визначали частоту абераційних метафаз і спектр хромосомних аберацій. Враховували ознаки: частоти анеуплоїдних і поліплоїдних клітин, клітин із передчасним розходженням центромерних районів хромосом (ПРЦХ), клітин зі структурними абераціями хромосом (розриви, фрагменти і асоціації негомологічних хромосом). У результаті аналізу каріотипів корів-первісток чистопородного і кросбредного походження встановлено, що частка диплоїдних клітин у нормі становить в середньому 85%; решта, майже 15% — соматичні клітини із числовими і структурними аномаліями. У кросбредних корів встановлено вірогідно вищі частоти ($P < 0,001$) анеуплоїдних (у півтора рази), поліплоїдних (на 27%), структурних аберацій хромосом (на 20%) порівняно з чистопородними коровами українських червоно-рябої і чорно-рябої молочних порід. Клітин, що містять хромосоми з розривами і фрагментами, на 15–20% більше виявили теж у помісних первісток. Результати цитогенетичного дослідження вказують на більшу хромосомну нестабільність кросбредних корів порівняно з чистопородними. Однією із причин цього явища може бути вплив методів розведення, зокрема кросбридинг.

Ключові слова: чистопородні і кросбредні корови, цитогенетичні дослідження, каріотип, аберації хромосом, хромосомна нестабільність

Цитогенетичні дослідження дозволяють подивитись на геном у цілому: виявити число хромосом і описати їх морфологію, діагностувати небажані аберації і рівень хромосомної нестабільності, який є чинником природної мінливості. Хромосомна нестабільність або неспецифічні порушення каріотипу — це тип нестабільності геному, що охоплює зміни генетичної інформації на рівні хромосом [1]. Хромосомна нестабільність трапляється в будь-якому організмі, навіть, у генетично здорових тварин і в невеликій кількості не спричинює порушень їх життєдіяльності [6]. Велика кількість хромосом-

них аномалій свідчить про порушення генетичного апарату, що призводить до збою репродуктивної і продуктивної функції тварини, а також може бути причиною хвороб чи фенотипових змін.

Хромосомна нестабільність може бути наслідком як природної мінливості, так і впливу екологічних чинників — таких, як радіаційне чи хімічне ураження, наявність паразитів в організмі, антибіотики, віруси чи вакцини [2]. У літературі є повідомлення про високий рівень хромосомної нестабільності у високопродуктивних тварин як частини посиленого метаболізму на клітинному рівні [10].

Зокрема, тривають дискусії з приводу впливу методів розведення сільськогосподарських тварин на стабільність їх каріотипу [9]. Однак досі ще залишаються недостатньо вивченими цитогенетичні характеристики особин, залучених до селекційного процесу, зокрема до міжвидового і міжпородного схрещування.

У зв'язку з цим, актуальними є дослідження цитогенетичної структури тварин, отриманих в результаті різних селекційних методів, зокрема кросбридингу.

Матеріали і методи

Дослідження провели у відділі генетики і біотехнології тварин Інституту розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН та у ДП «ДГ «Нива» цього ж Інституту.

Матеріалом для досліджень периферійної крові чистопородних корів-первісток української червоно-рябої молочної (УЧеРМ) і української чорно-рябої молочної (УЧРМ) порід, а також кросбредних корів, отриманих від схрещування корів української червоно-рябої молочної породи з бугаями монбельярдської (УЧеРМ×М).

Для приготування препаратів хромосом цільну венозну кров культивували впродовж 48 годин за температури +37°C у середовищі RPMI 1640 (*Sigma*, США) з додаванням 0,1 мл/мл ФГА (фітогемаглютинин, *Sigma*, США) і 15% ембріональної телячої сироватки. За дві години до закінчення терміну культивування для припинення ділення клітин вносили колхіцин (*Serva*, Німеччина). Центрифугуванням отримували осад клітин, який обробляли гіпотонічним розчином KCl (0,075 M) впродовж 20 хв. Фіксацію клітин здійснювали у трьох змінах суміші метанол-оцтової кислоти у співвідношенні 3:1. Отриману в останній порції фіксатора

клітинну суспензію бажаної густини краплями нанесли на охолоджене зволожене предметне скло.

Для рутинного фарбування хромосом використовували 2%-ний розчин Гімза (*Merk*, Німеччина). Аналіз метафаз проводили під мікроскопом *Axiostar plus* (*Carl Zeiss*, Німеччина) з імерсійним збільшенням у 1000 разів та фотографували.

Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за допомогою *Microsoft Office Excel 2003*.

Результати й обговорення

У результаті аналізу каріотипів корів-первісток чистопородного і кросбредного походження встановлено, що частка диплоїдних клітин у нормі (у великій рогатій худобі нормою є $2n=60$, XY; $2n=60$, XX) становить в середньому 85%. Решта, майже 15% — соматичні клітини з різними порушеннями у каріотипі: зі зміною числа хромосом чи структурними абераціями. Аналіз препаратів хромосом у досліджених тварин виявив анеуплоїдні, поліплоїдні клітини, структурні порушення хромосом у вигляді розривів, пробілів і фрагментів, асоціації негомологічних хромосом, а також частку клітин із передчасним розходженням центромерних районів хромосом, тобто із несинхроністю мітотичного поділу (ПРЦХ) (табл.).

Анеуплоїдні клітини трапляються з різною частотою у тварин усіх досліджених груп. У складі анеуплоїдних клітин гіпоплоїдні і гіперплоїдні клітини виявили приблизно з однаковою кількістю, тобто у цьому дослідженні анеуплоїдія є істинною, а не результатом методичних огріхів у приготуванні препаратів хромосом. Найбільше анеуплоїдних клітин зафіксовано у кросбредних первісток — 17,52%, що у півтора рази вище ($P<0,001$), ніж у корів УЧеРМ і УЧРМ — 12,84 і 11,53% відповідно.

Табл. Цитогенетичні показники чистопородних і кросбредних корів
Table. Cytogenetic indicators of purebred and crossbred cows

Показник Parameter	Порода / Breed			
	УЧеРМ	УЧРМ	УЧеРМ×М	
Кількість тварин / Number of animals	30	30	30	
Кількість досліджених метафаз / The number of investigated metaphases	950	900	925	
Всього аберантних клітин / Total aberrant cells, %	16,5±0,21***	17,0±0,09	25,8±0,13***	
Частота геномних аберацій, % Frequency of genomic aberrations, %	анеуплоїдія / aneuploidy	12,84±0,17	11,53±0,20	17,52±0,12
	поліплоїдія / polyploidy	2,02±0,09	2,50±0,22	3,40±0,07
Частота хромосомних аберацій, % Frequency of chromosomal aberrations, %	розриви / chromosome breaks	2,40±0,28	3,12±0,90	3,36±0,12
	фрагменти / fragments	2,25±0,98*	2,60±0,050	3,05±0,80*
Асоціації хромосом / Associations of chromosomes	—	—	3,35±0,07	
Клітини із передчасним розходженням центромерних районів хромосом Cells with premature separation of centromeric regions of chromosomes	3,18±0,15	2,47±0,17	6,82±0,39	

Примітка. * — $P<0,05$, ** — $P<0,01$, *** — $P<0,001$.

Note. * — $P<0,05$, ** — $P<0,01$, *** — $P<0,001$.

У кросбредних корів виявлено підвищений рівень поліплоїдних клітин — 3,40%, який на 27% переважає аналогічний показник у чистопородних особин порід УЧЕРМ і УЧРМ, і ця різниця є статистично значущою ($P < 0,001$). В пулі поліплоїдних клітин виявлено в основному тетраплоїди і невелику кількість триплоїдів. При цьому частоти анеуплоїдних і поліплоїдних клітин у корів УЧЕРМ і УЧРМ практично не відрізнялись. Цей показник, на нашу думку, пов'язаний з енергією росту тварин, а не з пошкодженням апарату сегрегації хромосом, як вважають окремі дослідники [3]. Це підтверджують і результати цитогенетичних досліджень інших вчених, які свідчать про асоціацію поліплоїдії із регенерацією і функціональною активністю органів і тканин у тварин [4].

У тварин усіх досліджених груп виявлено структурні аберації хромосом, серед яких — розриви, фрагменти і асоціації негомологічних хромосом. Клітин, які містять хромосоми із розривами і фрагментами, виявили на 15–20% більше у помісних тварин порівняно з чистопородними.

Інформативним є показник ПРЦХ, який характеризує синхронізацію у часовому вимірі мітотичних процесів і наглядно ілюструє процеси, пов'язані зі стабільністю ядра у різних тварин. Результати аналізу показали значно більшу кількість клітин з несинхронністю мітотичного поділу у корів, отриманих внаслідок міжпородного схрещування.

Дослідження хромосомної нестабільності сільськогосподарських тварин за різних селекційних прийомів, проведені іншими дослідниками, підтверджують вплив методів розведення, зокрема інбридингу і кросбридингу, на їхній геном [7, 8]. Інші дослідники аргументовано доводять, що селекційні методи впливають на прояв анеуплоїдії і поліплоїдії, і, можливо, і на інші каріотипові ознаки [9]. Вони вважають, що до геномних мутацій тварин можуть призвести певні методи розведення, зокрема з інбредністю тварин пов'язують підвищення частки анеуплоїдних клітин.

Методи розведення тварин, як вважають окремі дослідники [5], призводять також і до структурних хромосомних аберацій у потомків. Отримані внаслідок різних варіантів схрещувань тварини, які мають нормальний фенотип, можуть бути гомозиготними за нелетальними інверсіями. У таких тварин змінюється послідовність зчеплення генів, але кон'югація хромосом і подальша рекомбінація відбувається нормально.

Відомо, що за кросбридингу як селекційного методу розведення внаслідок гетерозису реалізуються кращі ознаки життєздатності і продуктивності у гібридів порівняно з батьківськими формами. Генетичною основою гетерозису є різке збільшення у потомків гетерозиготності, яка утворюється під час схрещування порід, далеких за походженням і відмінних за генофондом. На цитогенетичному рівні це може проявлятися як певний рівень хромосомної нестабільності, що підтверджують отримані нами результати досліджень.

Індійські дослідники з *University of Hyde Rabad*, провівши детальний каріометричний аналіз двох груп бугаїв (помісей джерсейської і голштинської порід з іншими породами), виявили каріологічні особливості помісних тварин. Хромосоми помісних і чистопородних тварин різнилися за відносною довжиною і співвідношенням довжин плечей статевих хромосом [8].

Існує думка, що схрещування тварин, навіть споріднених порід, але отриманих за різних селекційних систем у різних екологічних умовах, призводить до деконсолідації спадковості і руйнування генних адаптивних комплексів [11]. Ці автори у вивченні поліплоїдії у тварин великої рогатої худоби герефордської породи виявили її зв'язок з методом підбору батьківських пар. Найменшу плоідність спостерігали в групі трипородних помісей (5,2%) і в тварин, отриманих у результаті лінійного кросу (6,5%). Автори припускають, що це пояснюється впливом міжпородного і внутрішньопородного гетерозису. Дещо вищою є плоідність в інбредних тварин (7,3%), найнижчою — у групі чистопородних герефордів.

Доцільно взяти до уваги, що під час створення складних багатокомпонентних порід тварин цитогенетичні особливості (як індивідуальні, так і породні) здатні виконувати роль генетичних маркерів. Завдяки дослідженням ядерних структур соматичних клітин можна оцінити стан спадкового апарату тваринного організму з огляду на різну продуктивність, виявити механізми, що призводять до зниження продуктивності, яка часто супроводжує інтенсивну селекцію за іншими показниками, і усунути причини. За допомогою цитогенетичних методів можна виявити нові джерела генетичної мінливості, і, найважливіше, не допустити поширення шкідливих хромосомних аберацій у популяціях тварин.

Висновки

Результати цитогенетичного дослідження свідчать про більшу хромосомну нестабільність кросбредних корів порівняно з чистопородними. Однією з причин цього явища може бути вплив методів розведення, зокрема кросбридинг.

Перспективи подальших досліджень

Зважаючи на важливість і недостатнє вивчення питання хромосомної нестабільності у зв'язку із селекційними методами у великої рогатої худоби, актуальним є продовження досліджень у цьому напрямі.

1. Bakhoun SF, Silkworth WT, Nardi IK, Nicholson JM, Compton DA, Cimini D. The mitotic origin of chromosomal instability. *Curr. Biol.* 2014; 24 (4): PR148–R149. DOI: 10.1016/j.cub.2014.01.019.
2. Heng HH, Bremer SW, Stevens JB, Horne SD, Liu G, Abdallah BY, Ye KJ, Ye CJ. Chromosomal instability (CIN): what it is and why it is

- crucial to cancer evolution. *Cancer Metast. Rev.* 2013; 32: 325–340. DOI: 10.1007/s10555-013-9427-7.
3. Holečková B, Schwarzbacherová V, Galdíková M, Koleničová S, Halušková J, Staničová J, Verebová V, Jutková A. Chromosomal aberrations in cattle. *Genes (Basel)*. 2021; 12 (9): 1330. DOI: 10.3390/genes12091330.
 4. Lozano CB, Meza LC, de la Colina FF, Bañuelos VR, Báez AJJ. Effect of lymphocyte polyploidy/aneuploidy on fertility of Holstein cows in the state of Zacatecas, Mexico. *Abanico Vet.* 2013; 3 (3): 22–29. Available at: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenl.cgi?IDARTICULO=46588>
 5. Popescu CP. Chromosomes of the cow and bull. *Adv. Sci. Comp. Med.* 1990; 34: 41–71 DOI: 10.1016/B978-0-12-039234-6.50007-0.
 6. Rajagopalan H, Nowak MA, Vogelstein B, Lengauer C. The significance of unstable chromosomes in colorectal cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 2003; 3: 695–701. DOI: 10.1038/nrc1165.
 7. Raudsepp T, Chowdhary BP. Chromosome aberrations and fertility disorders in domestic animals. *Ann. Rev. Anim. Biosci.* 2016; 4: 15–43. DOI: 10.1146/annurev-animal-021815-111239.
 8. Sahoo AK, Choudhuri G, Koley N, Ghosh SK. Cytogenetic studies on the metaphase chromosomes in the taurus-indicus crossbred breeding bulls. *Indian J. Anim. Health.* 1992; 31 (2): 1–10.
 9. Van den Bosch T, Derks S, Miedema DM. Chromosomal instability, selection and competition: factors that shape the level of karyotype intra-tumor heterogeneity. *Cancers (Basel)*. 2022; 14 (20): 4986. DOI: 10.3390/cancers14204986.
 10. Wójcik E, Szostek M. Assessment of genome stability in various breeds of cattle. *PLoS One.* 2019. 14 (6): 0217799. DOI: 10.1371/journal.pone.0217799.
 11. Zartman DI, Fechheimer NS. Somatic aneuploidy and polyploidy in inbred and linecross cattle. *J. Anim. Sci.* 1967; 26 (4): 678–682. DOI: 10.2527/jas1967.264678x.

Chromosomal instability of purebred and crossbred dairy cows

V. Dzitsiuk¹, L. Starodub¹, T. Dyman²
valentynadzitsiuk@gmail.com

¹Institute of Animal Breeding and Genetics named after M. V. Zubets NAAS,
1 Pohrebniaka str, Chubynske village, Boryspil district, Kyiv region, 08321, Ukraine

²Bila Tserkva National Agrarian University,
8/1 Soborna sq., Bila Tserkva, Kyiv region, 09117, Ukraine

The article presents the results of research on the karyotype characteristics variability in purebred and crossbred dairy cows. The material for the research was peripheral blood samples of purebred firstborn cows of the Ukrainian red-spotted dairy and Ukrainian black-spotted dairy breeds, as well as crossbred cows obtained from crossing Ukrainian red-spotted with Montbeliard bulls (DG "Nyva" SE of the Institute of Animal Breeding and Genetics named after M. V. Zubets NAAS). Preparation of cytogenetic preparations, analysis of morphology, identification and classification of chromosome aberrations were carried out according to generally accepted methods. We performed cell analysis with the *Axiostar plus* microscope (*Carl Zeiss*, Germany) under immersion magnification of 1000 times and took microphotographs. In all studies, the frequency of aberrant metaphases and the spectrum of chromosomal aberrations were determined as parameters of chromosomal instability. The following signs were taken into account: the frequency of aneuploid and polyploid cells, cells with premature separation of the centromeric regions of chromosomes (CRC), cells with structural aberrations of chromosomes (breaks, fragments and associations of non-homologous chromosomes). As a result of the analysis of karyotypes of firstborn cows of purebred and crossbred origin, it was established that the proportion of diploid cells in the norm is on average 85%. The remaining almost 15% are somatic cells with numerical and structural abnormalities. Crossbred cows have significantly higher frequencies ($P < 0.001$) of aneuploid (one and a half times), polyploid (by 27%), structural aberrations of chromosomes (by 20%) than in purebred cows of the Ukrainian red-spotted and black-spotted dairy breeds. 15–20% more cells containing chromosomes with breaks and fragments were also found in crossbred firstborns. The results of the cytogenetic study indicate greater chromosomal instability in crossbred cows compared to purebred cows. One of the reasons for this phenomenon may be the influence of breeding methods, in particular crossbreeding.

Key words: purebred and crossbred cows, cytogenetic studies, karyotype, chromosome aberrations, chromosomal instability



Вплив *Lavandula angustifolia* на показники обміну речовин і морфофункціональний стан органів щурів на тлі високожирового раціону

М. О. Лещова, А. В. Оліяр, В. В. Єверт

lieshchova.m.o@dsau.dp.ua

Дніпровський державний аграрно-економічний університет,
вул. Сергія Єфремова, 25, м. Дніпро, 49009, Україна

Рослинні препарати, рекомендовані в схемах лікування порушень обміну речовин, мають високу ефективність і менш токсичні, ніж хімічно синтезовані. Рослини родини *Lamiaceae*, зокрема *Lavandula angustifolia*, відомі і широко використовуються в лікуванні та профілактиці багатьох захворювань людини і тварин. У 30-добовому експерименті на модельних тваринах вивчено вплив сухої трави *Lavandula angustifolia* на швидкість набору маси, показники обміну речовин і морфофункціональний стан серця, легень, печінки та нирок. Для цього сформовано дві групи білих лабораторних щурів (n=7), які упродовж 30 днів споживали високожировий раціон. Дослідній групі додатково задавали 5% сухої подрібненої трави *L. angustifolia* у складі раціону. Тварин зважували, вираховували середньодобовий приріст маси тіла. По завершенні експерименту визначали біохімічні показники крові, оцінювали макро- та мікроскопічні зміни внутрішніх органів. Встановили, що додавання до високожирового раціону *L. angustifolia* спричиняло підвищення середньодобового приросту маси тіла тварин, вірогідне збільшення абсолютної маси серця і печінки порівняно з контрольною групою. Із біохімічних параметрів крові суттєво підвищилася активність лужної фосфатази, а також рівень загального холестеролу і холестеролу ліпопротеїдів низької щільності. Високожировий раціон провокував розвиток зернистої дистрофії у нирках, зернистої і жирової дистрофії — у печінці, а додавання до раціону *L. angustifolia* не поліпшили цей стан.

Ключові слова: *Lavandula angustifolia*, біохімічні показники крові, холестерол, гепатоцити, гістоструктура, високожирова дієта

Метаболічні захворювання — такі, як дисліпідемія і цукровий діабет, є поліетіологічними і характеризуються поєднанням генетичної схильності і впливу факторів навколишнього середовища, зокрема дієти чи способу життя. З часом ці метаболічні порушення можуть спричинити судинні ускладнення, що призведе до дисфункції життєво важливих органів із летальним результатом чи суттєвим зниженням якості життя. Нині у фармакології запропоновано низку препаратів, які успішно контролюють рівень холестеролу і глюкози в крові, проте їх застосування часто пов'язане з серйозними побічними ефектами. Тому пошук і розробка нових препаратів, особливо природного походження, для кращого лікування метаболічних порушень, є актуальними [9, 13]. Застосування лікарських рослин може допомогти в боротьбі з ожирінням та іншими порушеннями обмінних процесів, при цьому особливу увагу привертають саме

рослини родини *Lamiaceae* [18]. У науковій літературі вказано про позитивний вплив активних речовин рослин родини *Lamiaceae* на обмінні процеси [13, 16].

Лаванда вузьколиста (*Lavandula angustifolia*) — це багаторічна рослина, яку широко використовують у різних сферах життя. Експериментальна фармакологія *L. angustifolia* охоплює протисудомну, седативну, проти-запальну, антимікробну, спазмолітичну дію, здатність пригнічувати центральну нервову систему, а в клінічній фармакології розглядають її анальгетичну дію та вплив на серцево-судинну систему [14]. У народній медицині *L. angustifolia* використовують для лікування мігрені, неврастенії, за стресу [13, 17, 22], серцево-судинних захворювань [25], деяких хвороб сечової системи [6]. Також препарати *L. angustifolia* добре себе зарекомендували у лікуванні шкірних захворювань, ревматизмі, травмах [3, 4, 23]. Багато повідомлень про позитивний

вплив *L. angustifolia* на стан нервової системи (настрій, поведінку та сприйняття), що використовують під час лікування різних нервових розладів — епілепсії, стресу, деменції, хвороби Альцгеймера [3].

Низку наукових досліджень присвячено вивченню фармакологічних ефектів ефірної олії *L. angustifolia* [3, 4, 7, 14, 20, 24]. У системному мета-аналізі рандомізованих контрольованих досліджень ефективності застосування ефірної олії *L. angustifolia* показано, що її вдихання може суттєво знизити рівень тривожності, проте не виявлено значного ефекту щодо зниження систолічного артеріального тиску [6]. Компоненти ефірної олії *L. angustifolia* мають імуномодулюючі властивості, посилюючи фагоцитарну активність макрофагів стосовно бактерій [20]. Вчені [7] вказують, що протимікробна дія ефірної олії *L. angustifolia* пов'язана з одночасним пришвидшенням фагоцитозу й активацією стримування внутрішньоклітинної реплікації бактерій, які культивувалися в моноцитах людини та були попередньо оброблені ефірною олією, а потім інфіковані *Staphylococcus aureus*. Ця стимуляція поєднувалася з експресією генів, які беруть участь у продукції активних форм кисню. Тому автори зробили висновок, що ефірна олія *L. angustifolia* посилює вроджений імунітет, стимулюючи фагоцитоз із одночасним пом'якшенням перебігу запальної реакції, чим підтримує і балансує загальну імунну відповідь [7]. Досліджуючи рівні IgA в слині вагітних жінок, дослідники встановили, що ароматерапевтичний масаж з ефірною олією *L. angustifolia* може значно посилити імунну функцію [5]. Статистично вірогідне збільшення кількості лейкоцитів і лімфоцитів периферичної крові людей з раком молочної залози встановлено під час 30-хвилинного ароматерапевтичного масажу двічі на тиждень протягом місяця із використанням ефірних олій, зокрема *L. angustifolia* [11].

Ефірна олія *L. angustifolia* проявляє виражений знеболювальний ефект, зокрема її вдихання знижує силу больового відчуття у післяопераційний період після видалення пахової грижі [1], видалення піднебінних мигдалин у дітей [21], кесаревого розтину у породіль [19] та під час пологів у жінок [12], за онкологічних захворювань [8] та під час гемодіалізу [2].

З огляду на широкий спектр фармакологічних ефектів як самої рослини, так і виготовлених на її основі препаратів, метою нашого дослідження було виявлення в експерименті впливу сухої трави *L. angustifolia* на рівень обмінних процесів і морфофункціональний стан внутрішніх органів щурів, які споживали раціон з високим вмістом жиру.

Матеріали і методи

Протокол дослідження розглянутий і схвалений локальним етичним комітетом Дніпровського державного аграрно-економічного університету (м. Дніпро, Україна). Для дослідження сформовано дві групи білих лабораторних щурів-самців масою 150 ± 20 г по сім тварин

у групі (n=7). Контрольна група тварин отримувала високожировий раціон, виготовлений на основі стандартного з додаванням 15% соняшникової олії. Дослідна група додатково до високожирового раціону отримувала 5% подрібнених сухих молодих пагонів *L. angustifolia*. Рослини були вирощені в Ботанічному саду Дніпровського національного університету ім. Олеся Гончара (м. Дніпро, Україна). Суцвіття з пагонами збирали під час цвітіння (липень) дворічних кущів, зрізали квітки разом зі стеблиною 15–20 см. Рослину сировину зв'язували пучками по 15–20 пагонів і сушили протягом п'яти днів у темному сухому приміщенні за температури 25°C. Сухі суцвіття з пагонами подрібнювали без термічної обробки і додавали до корму дослідної групи щурів під час виготовлення гранул. Основні компоненти раціону (зерно, м'ясо-кісткове борошно, мінерально-вітамінний комплекс) подрібнювали в млині, змішували, додавали олію і виготовляли гранули з розрахунку 4200 г для кожної групи на весь період досліду (30 днів). Тварини мали вільний доступ до корму і води. В експерименті враховували кількість корму і води, спожитих кожною групою за добу, і загальну кількість за весь період досліду. За тваринами спостерігали щоденно, зважували їх на першу і 30-у добу дослідження. Розраховували загальне збільшення маси тварин і щоденний приріст живої маси. На 30-у добу досліду проводили евтаназію тварин під наркозом тотальним кровопусканням із серця. Після розтину візуально оцінювали стан внутрішніх органів, наявність патологічних змін. Органи (серце, печінка, легені, нирки) відбирали, зважували і проводили гістологічні дослідження. Шматочки органів фіксували у 10%-му водному розчині нейтрального формаліну, заливали в парафін, виготовляли тонкі (7 мкм) гісто-зрізи, забарвлювали гематоксиліном і еозином згідно з загальноприйнятими методиками [10, 15]. Мікропрепарати вивчали під світловим мікроскопом *Leica DM 1000*, мікрофотографії зроблені за допомогою програми *LAS V4.12*. Проби крові для біохімічних досліджень відбирали під час евтаназії щурів. У сироватці крові визначали біохімічні показники — вміст загального білка, альбумінів, глобулінів, сечовини, креатиніну, холестеролу, триацилгліцеролів, холестеролу ліпопротеїнів низької і високої щільності, активність аспартат-амінотрансферази, аланінамінотрансферази, лужної фосфатази, гамма-глутамілтрансферази за допомогою автоматичного аналізатора *Miura 200* (Італія), наборів реагентів *Spinreact S.A.* (Іспанія), *High Technology* (США), *PZ Cormay S.A.* (Польща).

Отримані цифрові дані аналізували за допомогою програми *Statistica 6.0* (*StatSoft Inc.*, США).

Результати й обговорення

За результатами зважування щурів на початок досліду середня маса у контрольній групі становила 156,9 г, у дослідній — 162,3 г. Через 30 днів експерименту маса тварин контрольної групи збільшилася на 13,4%, тоді

Таблиця 1. Показники маси тіла щурів ($x \pm SD$, $n=7$)
Table 1. Rats' body weight parameters ($x \pm SD$, $n=7$)

Показник / Parameter	Контрольна Control	Дослідна Experimental
Маса на початок дослідів, г Weight in the beginning, g	156,9 \pm 7,24	162,3 \pm 11,80
Маса на кінець дослідів, г Weight in the end, g	177,9 \pm 2,91	220,6 \pm 25,47*
Середньодобовий приріст, мг/день Average daily weight gain, mg/day	700 \pm 271	1943 \pm 496*

Примітка. У цій та наступних таблицях * — $P \leq 0,05$ порівняно з контролем.

Note. In this and the next tables * — $P \leq 0.05$ compared to control.

як щури, які додатково споживали суху траву *L. angustifolia*, набрали масу на 35,9%. Середньодобовий приріст маси у щурів, які споживали високожировий раціон, становив у середньому 700 мг на добу, тоді як у тварин на тлі згодовування *L. angustifolia* цей показник був значно вищим — 1943 мг на добу (табл. 1).

Аналізуючи показники абсолютної маси деяких внутрішніх органів, бачимо, що у тварин дослідної групи на кінець дослідів була вірогідно вищою маса серця (на 25,4%) і печінки (на 29%) порівняно з тваринами контрольної групи. Маса легень і нирок вірогідно не відрізнялася в тварин контрольної і дослідної груп (табл. 2).

Аналізуючи білковий обмін, встановили, що високожировий раціон не призводив до зміни рівня загального білка і альбумінів крові, проте вміст глобулінової фракції був дещо вищим від референтних значень. Споживання надмірної кількості жиру не вплинуло на рівень сечовини і креатиніну в крові щурів. Додавання до високожирового раціону сухої трави *L. angustifolia* не призводило до вірогідних змін показників білкового обміну тварин дослідної групи (табл. 3).

Високожировий раціон у тварин контрольної групи зумовив порушення ліпідного обміну, що виявлялося підвищенням рівнем триацилгліцеролів (майже удвічі порівняно з референтними значеннями), при цьому рівень загального холестеролу, холестеролу ліпопротеїдів високої щільності і холестеролу ліпопротеїдів низької щільності був у межах норми для цієї вікової групи щурів. Додавання до раціону щурів сухої трави *L. angustifolia* спричиняло суттєве підвищення рівня холестеролу ліпопротеїдів низької щільності і помірне вірогідне зростання рівня загального холестеролу в крові (табл. 4).

Споживання щурами високожирового раціону протягом 30 діб зумовило підвищення активності аспартатамінотрансферази і аланінамінотрансферази крові порівняно з референтними значеннями норми цієї вікової групи тварин, а от показники активності лужної фосфатази і гамма-глутамілтрансферази залишалися в межах фізіологічних значень. За споживання сухої трави *L. angustifolia* додатково до раціону з надмірним вмістом жиру різко і вірогідно зросла активність лужної фосфатази у 3,5 рази, при цьому активність аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази і гамма-глутамілтрансферази суттєво не змінилася (табл. 5).

Таблиця 2. Абсолютна маса внутрішніх органів щурів ($x \pm SD$, $n=7$)
Table 2. The absolute mass of rats' internal organs ($x \pm SD$, $n=7$)

Показник / Parameter	Контрольна Control	Дослідна Experimental
Серце, г / Heart, g	0,63 \pm 0,05	0,79 \pm 0,09*
Легені, г / Lungs, g	1,74 \pm 0,34	1,93 \pm 0,55
Печінка, г / Liver, g	7,26 \pm 0,39	9,36 \pm 0,53*
Нирки, г / Kidneys, g	0,65 \pm 0,07	0,70 \pm 0,08

Таблиця 3. Показники білкового обміну в крові щурів ($x \pm SD$, $n=7$)
Table 3. Protein metabolism parameters in rats' blood ($x \pm SD$, $n=7$)

Показник / Parameter	Контрольна Control	Дослідна Experimental
Загальний білок, г/л Total protein, g/L	77 \pm 5,3	76 \pm 4,3
Альбуміни, г/л / Albumins, g/L	39,6 \pm 2,8	38,7 \pm 2,8
Глобуліни, г/л / Globulins, g/L	37,4 \pm 3,9	37,3 \pm 3,2
Білковий коефіцієнт, од. Protein coefficient, U	1,10 \pm 0,15	1,06 \pm 0,12
Сечовина, ммоль/л / Urea, mmol/L	6,84 \pm 1,02	6,00 \pm 0,74
Креатинін, мкмоль/л Creatinine, μ mol/L	63,0 \pm 4,4	61,0 \pm 7,4

Таблиця 4. Показники ліпідного обміну в крові щурів ($x \pm SD$, $n=7$)
Table 4. Lipid metabolism parameters in rats' blood ($x \pm SD$, $n=7$)

Показник / Parameter	Контрольна Control	Дослідна Experimental
Холестерол, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	1,27 \pm 0,13	1,59 \pm 0,20*
Триацилгліцероли, ммоль/л Blood triglycerides, mmol/L	2,13 \pm 0,55	1,36 \pm 0,38
Холестерол ліпопротеїдів низької щільності, ммоль/л Low-dense lipoprotein cholesterol (LDL cholesterol), mmol/L	0,65 \pm 0,13	0,66 \pm 0,19
Холестерол ліпопротеїдів високої щільності, ммоль/л High-dense lipoprotein cholesterol (HDL cholesterol), mmol/L	0,52 \pm 0,29	1,18 \pm 0,08*
Індекс атерогенності, Од Atherogenic index of plasma, U	1,04 \pm 0,45	1,85 \pm 1,41

Таблиця 5. Активність деяких ферментів плазми крові щурів ($x \pm SD$, $n=7$)
Table 5. Activity of some enzymes in rats' blood plasma ($x \pm SD$, $n=7$)

Показник / Parameter	Контрольна Control	Дослідна Experimental
Аспартатамінотрансфераза, Од/л Aspartate aminotransferase (AST), U/L	186 \pm 61	160 \pm 48
Аланінамінотрансфераза, Од/л Alanine aminotransferase (ALT), U/L	131 \pm 41	129 \pm 39
Лужна фосфатаза, Од/л Alkaline phosphatase, U/L	129 \pm 64	451 \pm 94*
Гамма-глутамілтрансфераза, Од/л Gamma-glutamyl transferase (GGT), U/L	9,1 \pm 4,4	9,3 \pm 2,6

Під час огляду внутрішніх органів щурів обох груп встановили анатомічно правильне розміщення органів, гладкі і блискучі серозні покриви порожнин і органів, незначний прозорий, водянистий вміст черевної порожнини. Серце конусоподібної форми, перикард і епікард прозорі, без нашарувань, міокард пружний, рожево-червоного кольору, волокнистий на розрізі. Легені не збільшені, пухкої консистенції, блідо-рожевого кольору. Печінка не збільшена, пружної консистенції з гострими краями, червоно-коричневого кольору зі світлішими ділянками, на розрізі характерна структура органу збережена. Нирки бобоподібної форми, темно-червоного кольору, не збільшені (краї розрізу співпадають), капсула легко знімається, межа між кірковою і мозковою зонами виражена. Тобто макроско-

пічно досліджуванні внутрішні органи тварин не мали виражених патологоанатомічних змін.

За оцінювання мікроскопічної будови печінки щурів контрольної групи встановлено, що орган мав типову часточкову будову. Часточки шестигранні з центральною веною в центрі, балки гепатоцитів розміщені радіально, синусоїдні капіляри розширені. Гепатоцити мали ознаки зернистої і жирової дистрофії, їхня цитоплазма мутна, здебільшого ядра збільшені і гіпохромні. У цитоплазмі клітин, розміщених по периферії часточок, наявні оксифільні зерна і дрібні вакуольні порожнини (рис. 1). У печінці щурів, які протягом 30 днів споживали високожировий раціон з додаванням сухої трави лаванди, гістоструктура печінки суттєво не відрізнялася від тварин контрольної групи.

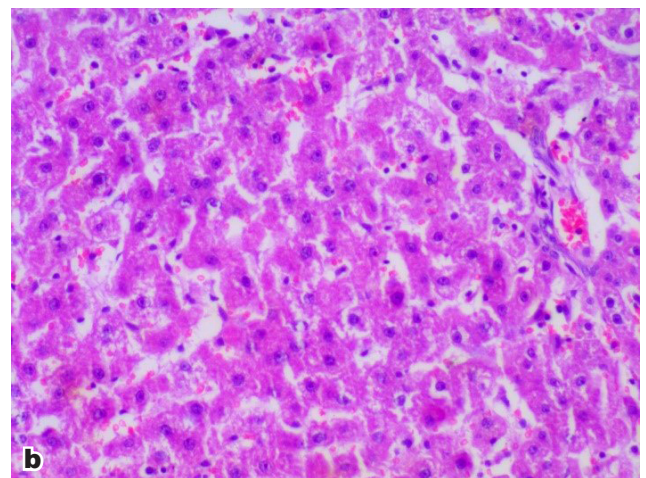
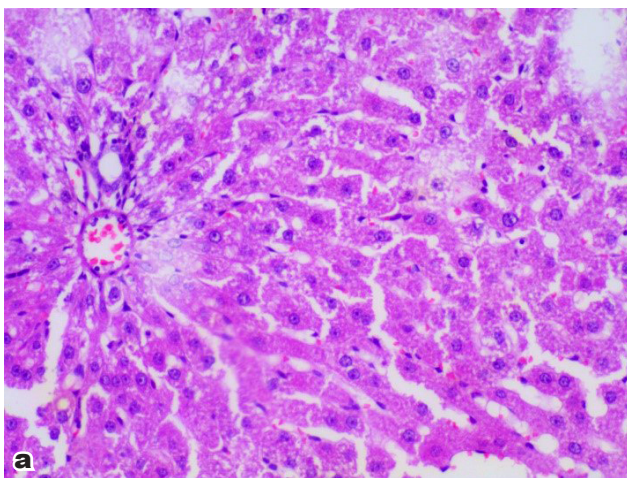


Рис. 1. Гістоструктура печінки щура: *a* — контрольної групи, *b* — дослідної групи. Дистрофічні зміни у гепатоцитах, нерівномірно забарвлена цитоплазма, гіпохромні ядра, розширені синусоїдні капіляри. Гематоксилін і еозин, $\times 400$
Fig. 1. Histostructure of rat liver: *a* — control group, *b* — experimental group. Granular and fatty degeneration of hepatocytes, unevenly stained cytoplasm, hypochromic nuclei, dilated sinusoidal capillaries. Hematoxylin and eosin $\times 400$

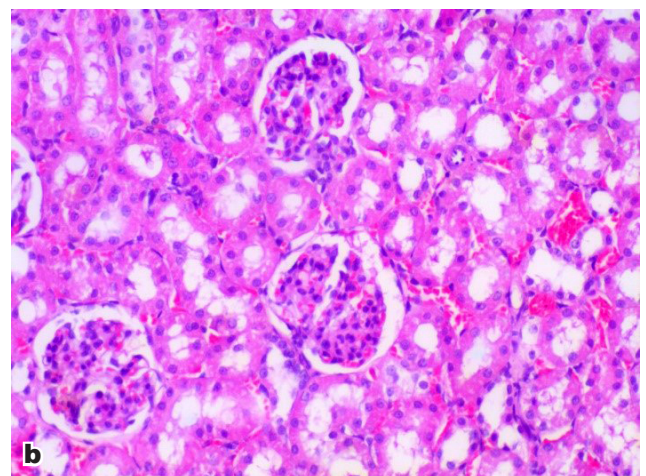
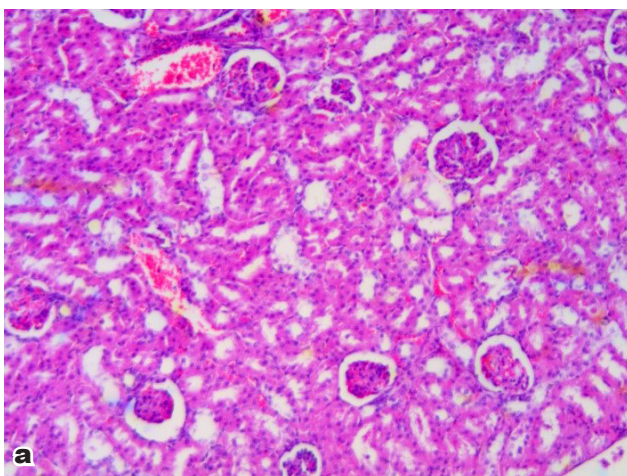


Рис. 2. Гістоструктура нирок щура: *a* — контрольної групи ($\times 100$), *b* — дослідної групи ($\times 400$). Набряклі клубочки, розширений сечовий простір, збільшений просвіт звивистих каналців, мутна з нерівномірною зернистістю цитоплазма епітеліоцитів каналців. Гематоксилін і еозин
Fig. 2. Histostructure of rat kidneys: *a* — control group ($\times 100$), *b* — experimental group ($\times 400$). Swollen glomeruli, enlarged urinary space, enlarged lumen of the convoluted tubules, turbid with uneven granularity of the cytoplasm of tubular epithelial cells. Hematoxylin and eosin

Надлишкова жирова дієта щурів контрольної групи зумовила появу ознак зернистої дистрофії епітелію каналців нирок. Виявляли розширення просвіту звивистих і прямих каналців, в епітеліоцитах — мутну цитоплазму, неоднорідну зернистість і нерівномірно забарвлені ядра. Ниркові клубочки були набряклі, подекуди виявляли розширення сечового простору між внутрішнім і зовнішнім листками капсули клубочка. Аналізуючи гістоструктуру нирок щурів дослідної групи, виявляли схожу картину (рис. 2).

Гістоструктура міокарда і легень не відрізнялася у щурів контрольної і дослідної груп і не мала патогістологічних змін.

Висновки

1. Надмірна жирова дієта протягом 30 діб спричиняла підвищення рівня триацилгліцеролів і ферментативну активність крові щурів, що проявилось появою ознак білкової (печінка, нирки) і жирової (печінка) дистрофії внутрішніх органів.

2. Додаткове споживання сухої трави *L. angustifolia* на тлі високожирового раціону привело до пришвидшення набору маси тіла щурів і збільшило їхній середньодобовий приріст, а також зумовило вищу абсолютну масу серця і печінки.

3. Як високожировий раціон, так і додавання до нього сухої трави *L. angustifolia* не впливає на показники білкового обміну, провокує зміни ліпідного обміну і ферментативної активності крові щурів.

4. Високожировий раціон спричиняє підвищення вмісту триацилгліцеролів, а додавання *L. angustifolia* — підвищення рівня як загального холестеролу, так і холестеролу ліпопротеїдів низької щільності, не впливаючи на активність аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази і гамма-глутамілтрансферази крові щурів.

5. Додавання до корму сухої трави *L. angustifolia* на тлі надлишку жиру в раціоні не спричинило змін у гістоструктурі печінки, нирок, міокарда і легень щурів, проте поліпшило функціональний стан видільної функції нирок, на що вказують біохімічні показники крові.

Перспективи подальших досліджень

У перспективі буде вивчено дію інших лікарських рослин родини *Lamiaceae* на обмінні процеси, морфофункціональний стан нервової і імунної систем та мікробіоту кишечника модельних тварин, які отримують високожировий раціон.

Фінансування

Дослідження фінансувалося Міністерством освіти і науки України, ґрант №0122U000975.

1. Bagheri H, Salmani T, Nourian J, Mirrezaie SM, Abbasi A, Mardani A, Vlasisavljevic Z. The Effects of inhalation aromatherapy using lavender essential oil on postoperative pain of inguinal hernia: A randomized controlled trial. *J. PeriAnest. Nurs.* 2020; 35 (6): P642–648. DOI: 10.1016/j.jopan.2020.03.003.
2. Bagheri-Nesami M, Shorofi SA, Nikkha A, Espahbodi F, Ghaderi Koolae F-S. The effects of aromatherapy with lavender essential oil on fatigue levels in haemodialysis patients: A randomized clinical trial. *Complement. Ther. Clin. Pract.* 2016; 22: 33–37. DOI: 10.1016/j.ctcp.2015.12.002.
3. Boukhatem MN, Sudha T, Darwish NHE, Chader H, Belkadi A, Rajabi M, Houche A, Benkebailli F, Oudjida F, Mousa SA. A new eucalyptol-rich lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oil: Emerging potential for therapy against inflammation and cancer. *Molecules.* 2020; 25 (16): 3671. DOI: 10.3390/molecules25163671.
4. Cardia GFE, Silva-Filho SE, Silva EL, Uchida NS, Cavalcante HAO, Cassarotti LL, Salvadego VEC, Spironello RA, Bersani-Amado CA, Cuman RKN. Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil on acute inflammatory response. *Evid. Bas. Complem. Alt. Med.* 2018; 2018: 1413940. DOI: 10.1155/2018/1413940.
5. Chen PJ, Chou CC, Yang L, Tsai YL, Chang YC, Liaw JJ. Effects of aromatherapy massage on pregnant women's stress and immune function: A longitudinal, prospective, randomized controlled trial. *J. Alt. Complem. Med.* 2017; 23 (10): 778–786. DOI: 10.1089/acm.2016.0426.
6. Donelli D, Antonelli M, Bellinazzi C, Gensini GF, Firenzuoli F. Effects of lavender on anxiety: A systematic review and meta-analysis. *Phyto-med.* 2019; 65: 153099. DOI: 10.1016/j.phymed.2019.153099.
7. Giovannini D, Gismondi A, Basso A, Canuti L, Braglia R, Canini A, Mariani F, Cappelli G. *Lavandula angustifolia* Mill. essential oil exerts antibacterial and anti-inflammatory effect in macrophage mediated immune response to *Staphylococcus aureus*. *Immunol. Invest.* 2016; 45 (1): 11–28. DOI: 10.3109/08820139.2015.1085392.
8. Hamzeh S, Safari-Faramani R, Khatony A. Effects of aromatherapy with lavender and peppermint essential oils on the sleep quality of cancer patients: A randomized controlled trial. *Evid. Bas. Complem. Alt. Med.* 2020; 2020: 7480204. DOI: 10.1155/2020/7480204.
9. Heghes SC, Filip L, Vostinaru O, Mogosan C, Miere D, Iuga CA, Moldovan M. Essential oil-bearing plants from Balkan peninsula: Promising sources for new drug candidates for the prevention and treatment of diabetes mellitus and dyslipidemia. *Front. Pharmacol.* 2020; 11: 989. DOI: 10.3389/fphar.2020.00989.
10. Horalskiy LP, Khomych VT, Kononsky AI. *Histological Techniques and Morphological Methods in Normal and Pathological Conditions*. Zhytomyr, Polissia, 2019. (in Ukrainian)
11. Imanishi J, Kuriyama H, Shigemori I, Watanabe S, Aihara Y, Kita M, Sawai K, Nakajima H, Yoshida N, Kunisawa M, Kawase M, Fukui K. Anxiolytic effect of aromatherapy massage in patients with breast cancer. *Evid. Bas. Complem. Alt. Med.* 2009; 6: 254092. DOI: 10.1093/ecam/nem073.
12. Karatopuk S, Yarıcı F. Determining the effect of inhalation and lavender essential oil massage therapy on the severity of perceived labor pain in primiparous women: A randomized controlled trial. *EXPLORE.* 2023; 19 (1): 107–114. DOI: 10.1016/j.explore.2022.08.006.
13. Kennedy DO, Wightman EL. Herbal extracts and phytochemicals: Plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *Adv. Nutr.* 2011; 2 (1): 32–50. DOI: 10.3945/an.110.000117.
14. Koriem KMM. *Lavandulae aetheroleum* oil: A review on phytochemical screening, medicinal applications, and pharmacological effects. *Biointerface Res. App. Chem.* 2020; 11 (3): 9836–9847. DOI: 10.33263/BRIAC113.98369847.
15. Lieshchova MA, Bilan MV, Evert VV, Kravtsova MV, Mylostyvyi RV. Morphofunctional state of the rat's liver under the influence of *Aralia elata* alcohol tincture during the high-fat diet. *Sci. Mess. Lviv Nat. Univer. Vet. Med. Biotechnol. Ser. Vet. Sci.* 2022; 24 (108): 75–81. DOI: 10.32718/nvlvet10811. (in Ukrainian)

16. Lieshchova MA, Brygadyrenko VV. Influence of *Lavandula angustifolia*, *Melissa officinalis* and *Vitex angustifolia* on the organism of rats fed with excessive fat-containing diet. *Reg. Mech. Biosys.* 2021; 12 (1): 169–180. DOI: 10.15421/022125.
17. Lundstrom K, Pham HT, Dinh LD. Interaction of plant extracts with central nervous system receptors. *Medicines.* 2017; 4 (1): 12. DOI: 10.3390/medicines4010012.
18. Michel J, Abd Rani NZ, Husain K. A review on the potential use of medicinal plants from *Asteraceae* and *Lamiaceae* plant family in cardiovascular diseases. *Front. Pharmacol.* 2020; 11. DOI: 10.3389/fphar.2020.00852.
19. Olapour A, Behaen K, Akhondzadeh R, Soltani F, al Sadat Razavi F, Bekhradi R. The effect of inhalation of aromatherapy blend containing lavender essential oil on cesarean postoperative pain. *Anesthesiol. Pain Med.* 2013; 3 (1): 203–207. DOI: 10.5812/aapm.9570.
20. Peterfalvi A, Miko E, Nagy T, Reger B, Simon D, Miseta A, Czéh B, Szereday L. Much more than a pleasant scent: A review on essential oils supporting the immune system. *Molecules.* 2019; 24 (24): 4530. DOI: 10.3390/molecules24244530.
21. Soltani R, Soheilipour S, Hajhashemi V, Asghari G, Bagheri M, Molavi M. Evaluation of the effect of aromatherapy with lavender essential oil on post-tonsillectomy pain in pediatric patients: A randomized controlled trial. *Intern. J. Ped. Otorhinolaryngol.* 2013; 77 (9): 1579–1581. DOI: 10.1016/j.ijporl.2013.07.014.
22. Woronuk G, Demissie Z, Rheault M, Mahmoud S. Biosynthesis and therapeutic properties of *Lavandula* essential oil constituents. *Planta Medica.* 2011; 77 (1): 7–15. DOI: 10.1055/s-0030-1250136.
23. Xu P, Wang K, Lu C, Dong L, Gao L, Yan M, Aibai S, Yang Y, Liu X. The protective effect of lavender essential oil and its main component linalool against the cognitive deficits induced by D-galactose and aluminum trichloride in mice. *Evid. Bas. Complem. Alt. Med.* 2017; 2017: 7426538. DOI: 10.1155/2017/7426538.
24. Yu SH, Seol GH. *Lavandula angustifolia* Mill. oil and its active constituent linalyl acetate alleviate pain and urinary residual sense after colorectal cancer surgery: A randomised controlled trial. *Evid. Bas. Complem. Alt. Med.* 2017; 2017: 3954181. DOI: 10.1155/2017/3954181.
25. Ziaee M, Khorrami A, Ebrahimi M, Nourafcan H, Amiraslazadeh M, Rameshrad M, Garjani M, Garjani A. Cardioprotective effects of essential oil of *Lavandula angustifolia* on isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rat. *Iran. J. Pharm. Res.* 2015; 14 (1): 279–289. PMID: 25561934.

Influence of *Lavandula angustifolia* on metabolic indicators and morphofunctional state of rat organs with a high-fat diet

M. A. Lieshchova, A. V. Oliyar, V. V. Evert
lieshchova.m.o@dsau.dp.ua

Dnipro State Agrarian and Economic University,
25 Sergii Efremov str., Dnipro, 49009, Ukraine

Herbal preparations recommended in the treatment protocols for metabolic disorders are highly effective and less toxic than chemically synthesized ones. Plants of the *Lamiaceae* family, in particular *Lavandula angustifolia*, are known and widely used in the treatment and prevention of many diseases in humans and animals. In a 30-day experiment on model animals was studied the effect of dry herb narrow-leaved lavender on the rate of weight gain, metabolic parameters and the morphofunctional state of the heart, lungs, liver and kidneys. For this, two groups of white laboratory rats (n=7) consuming a high-fat diet for 30 days were formed. The experimental group was additionally given 5% of crushed dry lavender herb as part of the diet. We weighted the animals, calculated the average daily weight gain and at the end of the experiment determined the biochemical parameters of the blood, as well as assessed the macroscopic and microscopic changes in the internal organs. It was established that the addition of lavender to a high-fat diet led to increase in the average daily weight gain, and a significant increase in the absolute mass of the heart and liver compared to the control group. Among the biochemical parameters of the blood, the activity of alkaline phosphatase, as well as the level of total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol, increased significantly. A high-fat diet caused the development of granular degeneration in the kidneys, granular-fatty one in the liver, and the supplementation of the diet with lavender did not improve this condition.

Key words: *Lavandula angustifolia*, blood biochemical parameters, cholesterol, hepatocytes, histostructure, high-fat diet



Efficacy of “EnzActive mix” feed additive in piglet growing

T. Y. Prudius, O. I. Vishchur

tarasvet126@gmail.com

Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stusa str, Lviv, 79034, Ukraine

The study was conducted in two stages. The first stage of study was carried out on lactating sows with suckling piglets, and then on weaned piglets up to 43 days of age. The second stage was carried out on young pigs from 43 to 165 days of life during fattening stage. For the study, two groups of sows of the 2–3 farrow were formed. The sows of the control group (C) were fed standard feed, and the experimental group (E) received standard feed with the addition of the “EnzActive Mix” feed additive in the amount 0.3 kg/t of feed. The suckling piglets received pre-starter feed from 5 days of age until weaning. The E group received the experimental feed additive in the amount of 500 g/t. Weaned piglets in the growing period continued to consume pre-starter feed. After the 43 day of life, the piglets in E group received the “EnzActive Mix” feed additive in the amount of 0.3 kg/t to the standard feed. It was found that during the experiment, which lasted 33 days, the live weight of sows decreased by 25 kg (C) and by 20 kg (E), which is 2.44% less ($P < 0.001$). In the early age piglets in E group, there was a statistically significant increase in live weight on day 28 ($P < 0.001$) or by 15.28% compared to C group. After fourteen days of growing, the piglets of E group had a significant increase in live weight ($P < 0.001$) or 12.61%, compared to C group. The increase in live weight in E group is confirmed by the piglets average daily gain rise on 7.14% ($P < 0.001$). The second (fattening) stage of the experiment showed that after adding the “EnzActive Mix” feed additive, from 43 to 80 days of life the average weight in the E group was 15.38% ($P < 0.001$) higher than in C group, and also the increase in live weight by 14.55% ($P < 0.001$) was admitted. We found out an increase in average daily weight gain by 17.27% ($P < 0.001$) in the E group, pointing that the cost of feed to obtain 1 kg of weight gain was lower by 14.61% comparing to the C group. In the second fattening period from 81 to 118 days of life, the live weight in E group increased by 15.4% ($P < 0.001$), live weight gain and average daily weight gain increased by 17.94% ($P < 0.001$), compared to C group, whereas the feed costs per 1 kg of weight gain decreased by 15.38% ($P > 0.001$). In the third period of fattening, which lasted from 119 to 165 days of life, the feed consumption per 1 kg of weight gain in E group was significantly lower by 9.06 ($P > 0.001$), and an increase in live weight and average daily weight gain by 9.86% ($P < 0.001$) was noted.

Key words: piglets, “EnzActive Mix”, compound feed, productivity, enzymes, probiotics

One of the most pressing problems in pig production, especially with intensive technologies, is the need to significantly increase the productive effect of compound feed, on the one hand, and to increase the resistance and safety of animals, on the other. This is especially relevant in the context of a shortage of high-quality grain fodder, high-protein resources, including animal resources [2]. At the same time, the grain group used for feeding, obtained from different regions of Ukraine, differs in protein, fat content, and the contents of minerals. This accordingly affects the physiological and biochem-

ical processes in the body of animals, which can lead to a decrease in their productivity.

Furthermore, gastrointestinal and respiratory diseases, especially in young animals, cause significant economic losses in the pig industry. Therefore, intensive technologies involve not only balanced feeding, housing conditions, but also new conceptual approaches to animal diseases prevention and treatment. In this regard, in recent years, a large number of probiotics appeared, which are used to normalize the intestinal microflora and to increase animal resistance [1, 4].

As a probiotics, a combination (or monoculture) of non-pathogenic, atypical spore-forming microorganisms can be used, such as non-lactic acid-producing yeast, which pharmacological effect is associated with a competing, antagonistic effect on aggressive intestinal microflora. Yeast has been used for decades as a preventive and therapeutic agent for diarrhea and other gastrointestinal disorders in humans. In monogastric animals, the mechanism of yeast action is explained by the fact that its addition to the diet stimulates the formation of disaccharides on cell membranes, with a non-adhesive effect against pathogens, activation of nonspecific immunity, weakening of toxins, and an anthoganistic effect against pathogens.

Additionally, enzymes are increasingly used in modern feed for young animals, especially in recipes with a high content of fiber and non-structural carbohydrates, which is a result of the cheaper cereals (barley, rye, oats), and grain and oilseed processing by-products (bran, grain waste, sunflower and rapeseed meals) use in feed. Enzyme preparations act as stimulants for the active breakdown of nutrients in the animal body and their assimilation. An important feature of enzyme preparations is that they cannot be accumulated in the body of animals in comparison with hormones [3].

In order to obtain better results in pig breeding, in recent years, various means and feed additives in the form of acidifiers, probiotics, enzymes and essential oils have been used quite intensively to improve productivity [16]. Furthermore, their use in animal feeding requires sufficient knowledge and experience. Incorrect use can lead to feed efficiency reduction, decrease of animal productivity, causing significant economic losses. To make a decision which probiotic and enzyme preparation are appropriate to use in a particular case, it is necessary to know the characteristics of these preparation, their metabolic and productive effects.

At this point of view, the development and implementation of new complex probiotic enzyme preparation that will have a positive impact on the animal growth and safety is an urgent task in intensive technologies of pig production. That's why, it is worth to pay attention to a new unique product containing both a probiotic component — live yeast of the genus *Saccharomyces cerevisiae* with an activity of $\geq 1.5 \times 10^{10}$ CFU/g, and an enzymatic component — protease, cellulase, xylanase, α -amylase, β -glucanase, phytase.

Therefore, the purpose of the research is to study the efficacy of the “EnzActive Mix” feed additive at a closed-cycle pig farm on lactating sows, early-age piglets, weaned and fattening piglets.

Materials and Methods

The research was conducted at a pig farm in the Kyiv region. For the study, sows of 2–3 farrow of the Big White breed of the RIS genetic company were selected. This experiment was conducted in two stages:

- the stage I — the effect of “EnzActive Mix” feed additive on productivity of lactating sows and their piglets from 5 to 43 days of life;
- the stage II — the effect of the “EnzActive Mix” feed additive on growth and development of fattening piglets.

The feed for all technological groups was prepared on the basis of the pig complex using feed recipes and premixes offered by the Danish feed company *Nutrimin*.

The main methodological technique for setting up the experiment was the method of analogue groups [6].

At the first stage of the study, two groups of sows were formed, 6 animals each in the control (C) and the experimental (E) group, which were placed in the one farrowing box 5 days before farrowing. All animals received a standard diet balanced in terms of nutrients and biologically active substances. Sows of E group received the “EnzActive Mix” feed additive (produced by “Enzym” LLC, Ukraine) in the amount of 300 g/t of finished feed. The sows were fed with the help of dispensers in the troughs three times a day. The newborn piglets received pre-starter combined feed as supplementary feeding from the fifth day after birth.

Piglets born from sows of the E group received pre-starter feed with the addition of “EnzActive Mix” in the amount of 500 g/t of finished feed. The piglets were fed in special feeders in portions 4–5 times during the day. Young piglets were weaned from sows at 28 days after birth. After weaning, the piglets were transferred to the growing department where they continued to consume this pre-starter feed freely. The duration of feeding was 33 days for sows, 23 days for young piglets, and 14 days for weaned piglets.

The second stage of the study was divided into three technological periods (table 1).

Table 1. Names of piglet fattening periods

Periods	Name of the period	Live weight of the piglet, kg	Period duration, days
1 st period	Start	12–30	43–80
2 nd period	Grower	30–70	81–118
3 rd period	Finish	70–115	119–165

At the beginning of the second stage, starting at 43 days of life, the piglets were divided into 25 animals in each group and fed a standard feed balanced in nutrients and biologically active substances according to the technological piglets' age. For the entire period of fattening, the group received an additional feed supplement “EnzActive Mix” in the amount of 0.3 kg/t. The access to feed was *ad libitum*.

Results and Discussion

Lactating sows need a significant amount of nutrients because they spend a lot of energy during lactation. However, eating large amounts of feed does not

always ensure the necessary nutrients intake and absorption. This has a direct impact on milk production and live weight loss during lactation. A number of scientific studies confirmed that the use of probiotics in the feed composition for gestating and lactating sows significantly increases the absorption of nutrients in their bodies, improves digestive processes, and activates protein synthesis by the large intestine microbiota [19, 23]. According to the results of the first stage of the study (table 2) of the effect of the "EnzActive Mix" feed additive on sows and piglets of early age, we see a positive increase in their productivity parameters. When using the additive in feeding sows before farrowing and during lactation, it can be noted that the live weight of the control group decreased by 25 kg, and in the experimental group by 20 kg, which is 2.46% less ($P < 0.001$).

During the experiment, sows of E group consumed less than 1.49% ($P < 0.01$) of feed, which did not have a negative effect on young piglets. Thus, piglets born from sows of E group had lower live weight by 12.59% ($P < 0.001$) relatively to C. Already on the fifth day of life, the live weight of piglets of E group was slightly higher than that of C group by 2.79%. Because the piglets of this age do not yet consume any additional feed except sow's milk, we can assume that this experimental supplement had an impact on the quality composition of milk. Since the fifth day of the piglets life, in the group where they were given pre-starter feed, we see a statistically significant increase in live weight (E) on day 14 ($P < 0.001$) or by 12.92% and on day 28 ($P < 0.001$) or by 15.28% compared to C group. Together with the increase in live weight of young piglets in the E group, there was a slightly increased consumption of pre-starter feed per farrow by 5.6% ($P < 0.05$).

Piglets after weaning in the growing department continued to consume pre-starter feed. After fourteen days of growing, piglets of E group had a significant increase in live weight and average daily gain by 7.69% ($P < 0.001$) (table 3). Feed costs per 1 kg of weight gain are also an important factor in feeding piglets. This indicator is better by 21.43% in E group. The results of the study confirm previous studies of various scientists that probiotic cultures have a significant effect on the growth rate of piglets before and after weaning, reducing the number of pathogenic microorganisms in the large intestine, which is manifested in immunostimulating action and affects the safety of piglets [6, 12].

Analyzing the II stage of the study in the 1st period of piglet fattening (table 4), when using the "EnzActive Mix" feed additive in compound feed, the live weight of E group was 15.38% ($P < 0.001$) higher than in C group, and the increase in weight gain was 17.02% ($P < 0.001$). An increase in average daily weight gain by 17.02% ($P < 0.001$) in the E group should be pointed, and the amount of feed consumed to obtain 1 kg of weight gain was 14.61% lower in the E group.

Table 2. Productive performance of lactating sows and young piglets ($M \pm m$, $n=6$)

Parameters	Control (C)	Experimental (E)
Sows quantity, n	6	6
Sows live weight at farrowing, kg	219.75±0.208	219.5±0.287
Sows live weight at weaning, kg	194.75±0.208	199.5±0.287***
Number of farrowings	2–3	2–3
Total piglets born, n	64	65
Live piglets, n	64	64
Stillborn piglets, n	0	1
Live weight of piglets at birth, kg	1.35±0.012	1.18±0.001***
Live weight of piglets at 5 days of age, kg (beginning of pre-starter feeding)	2.15±0.047	2.21±0.029
Live weight of piglets on the 14 th day of life, kg	3.25±0.076	3.67±0.013***
Live weight of piglets on the 28 th day, kg (weaning)	7.2±0.175	8.3±0.044***
Amount of feed used for sows, kg (from the time of farrowing at the time of weaning)	201.0±0.68	198.0±0.61**
Amount of pre-starter used, kg (per farrow at the time of weaning)	7.46±0.119	7.88±0.135*
Mortality, %	–	–

Note. In this and the following tables: * — $P < 0.05$, ** — $P < 0.01$, *** — $P < 0.001$.

Table 3. Productivity parameters of rearing piglets ($M \pm m$, $n=64$)

Parameters	Control (C)	Experimental (E)
Piglets quantity, n	64	64
Weight of piglets at weaning, kg	7.2±0.175	8.3±0.044***
Weight of piglets at transition to starter feed, kg	11.1±0.106	12.50±0.063***
Weight gain, kg	3.9±0.24	4.2±0.09
Average daily weight gain, g	280±2.27	300±2.38***
Amount of feed consumed from day 28 to 42, kg	5.5	5.5
Feed conversion rate	1.4±0.013	1.31±0.009***
Mortality, %	–	–

Table 4. Piglet productivity in the 1st fattening period ($M \pm m$, $n=25$)

Parameters	Control (C)	Experimental (E)
Period duration, days	40	40
Piglets quantity, n	25	25
Live weight at the start of the period, kg	11.1±0.08	12.5±0.07***
Live weight at the end of the period, kg	29.9±0.13	34.5±1.07***
Live weight gain, kg	18.8±0.16	22.0±0.12***
Average daily weight gain, kg	0.469±0.004	0.550±0.003***
Amount of feed consumed per piglet/day, kg	0.800	0.800
Feed consumption per 1 kg of weight gain, kg	1.71±0.014	1.46±0.008***

When using the feed additive in the 2nd period of fattening, the live weight in the E group increased by 17.94% ($P < 0.001$), compared to the C group (table 5). Average daily gains in the E group were significantly higher ($P < 0.001$) compared to the C group by 17.94%, and feed costs per 1 kg of gain decreased in the E group by 15.35% ($P > 0.001$).

Productivity indicators for the 3rd period of fattening are shown in table 6. There was a significant increase in live weight in E group by 9.89% ($P < 0.001$), average daily gain by 9.89% ($P < 0.001$), and a decrease in feed costs per 1 kg of gain by 9.06% ($P > 0.001$).

The intestine is a complex and multifunctional organ where nutrients are broken down and absorbed into the body. Depending on the structure of the feed consumed by animals, in addition to the assimilation of proteins, fat, energy, etc., non-starch polysaccharides (NSP) β -mannan and arabinoxylan are formed in organism. The structure of these components reduces the interaction of digestive enzymes with the feed substrate, and increases the viscosity of chymus [8]. This leads to a deterioration in the absorption of macronutrients, fat, and protein, which negatively affects growth and significantly reduces feed digestibility. The presence of a large amount of non-starchy polysaccharides or its residues in the intestine leads to the development of coliform bacteria that damage the intestinal mucosa and villi.

Table 5. Piglet productivity in the 2nd fattening period ($M \pm m$, $n=25$)

Parameters	Control (C)	Experimental (E)
Period duration, days	35	35
Piglets quantity, n	25	25
Live weight:		
at the start of the period, kg	29.9 \pm 0.13	34.50 \pm 1.07***
at the end of the period, kg	57.2 \pm 2.24	66.70 \pm 0.63***
Live weight gain, kg	27.3 \pm 0.278	32.20 \pm 0.100***
Average daily weight gain, kg	0.780 \pm 0.0079	0.920 \pm 0.0287***
Amount of feed consumed per piglet/day, kg	1.575	1.575
Feed consumption per 1 kg of weight gain, kg	2.02 \pm 0.025	1.71 \pm 0.005***

Table 6. Piglets productivity in the 3rd fattening period ($M \pm m$ $n=25$)

Parameters	Control (C)	Experimental (E)
Period duration, days	47	47
Piglets quantity, n	25	25
Live weight:		
at the start of the period, kg	57.2 \pm 2.24	66.70 \pm 0.63***
at the end of the period, kg	103.2 \pm 0.086	117.25 \pm 0.066***
Live weight gain, kg	46.0 \pm 0.27	50.55 \pm 0.09***
Average daily weight gain, kg	0.980 \pm 0.0058	1.075 \pm 0.0019***
Amount of feed consumed per piglet/day, kg	2.700	2.700
Feed consumption per 1 kg of weight gain, kg	2.76 \pm 0.014	2.51 \pm 0.004***

At the injury site, inflammatory processes occur, accompanied by the release of large amounts of mucin [7], which in turn slows down the passage of nutrients and their absorption.

The introduction of enzymes of plant and fungal origin into the diet promotes the hydrolysis of the main non-starch polysaccharides (NSP), which in turn increases the absorption of available raw materials [7, 15], improves nutrient absorption and pig growth [5, 13].

Taking into account previous studies on the use of enzymes and probiotics, it is shown that a decrease in the level of non-starchy polysaccharides and a decrease in the viscosity of the contents leads to improved absorption of nutrients. Therefore, low levels of NSP do not lead to inflammation of the mucous membranes, do not increase mucin levels, and do not interfere with digestibility. Probiotics support the development of villi, through which nutrients are absorbed, by changing the pH of the environment and enzymes secreting [5, 7, 13, 15].

Conclusion

Based on the results of studies on the use of probiotics and enzymes combination included in the “Enz-Active Mix” feed additive in growing piglets feeding, a significant increase in productive parameters was obtained compared to the control group — an increase in live weight, average daily gain, and a decrease in feed consumption per unit of gain when using the same amount of natural feed in the groups.

Prospects for further research

To investigate the effect of the “EnzActive Mix” feed additive on the morphological composition of carcasses, the quality of muscle tissue and to determine the slaughter performance of pigs.

- Balanchuk IM. Practical application of enzymes in livestock. *Scientific research and their practical application. modern state and ways of development*, 1–12 October 2013. *SWorld*. 2013. Available at: <https://www.sworld.com.ua/konfer32/609.pdf> (in Ukrainian)
- Berehovi MV, Kuzmenko OA. Enzyme preparations effect on the pig's growth indexes for meat pigs growing. *Int. Sci. Pract. Conf. Young*. BNU. Bila Cerkva 2021: 52–54. (in Ukrainian)
- Berezhniuk NA. Productivity and nutrients digestibility of pigs fed by enzyme preparation *Kemzaim*. *Agr. Sci. Food Tech*. 2019; 2 (105): 4–25. Available at: <http://techfood.vsau.org/en/particles/productivity-and-nutrients-digestibility-of-pigs-fed-by-enzyme-preparation-kemzaim> (in Ukrainian)
- Bontempo V, Di Giancamillo A, Savoini G, Dell'Orto V, Domeneghini C. Live yeast dietary supplementation acts upon intestinal morpho-fuctional aspects and growth in weanling piglets. *Anim. Feed Sci. Tech*. 2006; 129 (3–4): 224–236. DOI: 10.1016/j.anifeeds-ci.2005.12.015.
- Deplancke B, Gaskins HR. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *Am. J. Clin. Nutr*. 2001; 73 (6): S1131–S1141. DOI: 10.1093/ajcn/73.6.1131S.

6. Fairbrother JM, Nadeau É, Gyles CL. *Escherichia coli* in post-weaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies. *Anim. Health Res. Rev.* 2015; 6 (1): 17–39. DOI: 10.1079/AHR2005105.
7. Ibatullin II, Zhukorskyi OM (eds). *Methodology and Organization of Scientific Research in Animal Husbandry*. A handbook. Kyiv, Ahrarna Nauka, 2017: 328 p. (in Ukrainian)
8. Jiang Z, Wei S, Wang Z, Zhu C, Hu S, Zheng C, Chen Z, Hu Y, Wang L, Ma X, Yang X. Effects of different forms of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, intestinal development, and systemic immunity in early-weaned piglets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2015; 6: 47. DOI: 10.1186/s40104-015-0046-8.
9. Kim JS, Hosseindoust AR, Lee SH, Choi YH, Kim MJ, Lee JH, Kwon IK, Chae BJ. Bacteriophage cocktail and multi-strain probiotics in the feed for weanling pigs: effects on intestine morphology and targeted intestinal coliforms and clostridium. *Animal.* 2017; 11 (1): 45–53. DOI: 10.1017/S1751731116001166.
10. Kim JS, Ingale SL, Hosseindoust AR, Lee SH, Lee JH, Chae BJ. Effects of mannan level and β -mannanase supplementation on growth performance, apparent total tract digestibility and blood metabolites of growing pigs. *Animal.* 2017; 11 (2): 202–208. DOI: 10.1017/S1751731116001385.
11. Kogan G, Kocher A. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livestock Sci.* 2007; 109 (1–3): 161–165. DOI: 10.1016/j.livsci.2007.01.134.
12. Kyryliv YI, Prudyus TY, Barulo BS. The effectiveness of using of biologically active fodder addition *Activio* in the diet of broiler chickens. *Sci. Mess. LNU Vet. Med. Biotechnol. Ser. Agricult. Sci.* 2015; 17 (1/61): 80–85. Available at: <https://nvlvet.com.ua/index.php/agriculture/article/view/3553> (in Ukrainian)
13. Lee JT, Bailey CA, Cartwright AL. β -Mannanase ameliorates viscosity-associated depression of growth in broiler chickens fed guar germ and hull fractions. *Poult. Sci.* 2003; 82 (12): 1925–1931. DOI: 10.1093/ps/82.12.1925.
14. Markowiak P, Śliżewska K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathogens.* 2018; 10 (21): 2–20. DOI: 10.1186/s13099-018-0250-0.
15. Molist F, van Eerden E, Parmentier HK, Vuorenmaa J. Effects of inclusion of hydrolyzed yeast on the immune response and performance of piglets after weaning. *Anim. Feed Sci. Tech.* 2014; 195: 136–141. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2014.04.020.
16. Prandini A, Sigolo S, Morlacchini M, Giuberti G, Moschini M, Rzepus M, Della Casa G. Addition of nonstarch polysaccharides degrading enzymes to two hullless barley varieties fed in diets for weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 2014; 92 (5): 2080–2086. DOI: 10.2527/jas.2012-6199.
17. Sauer N, Mosenthin R & Bauer E. The role of dietary nucleotides in single-stomached animals. *Nutr. Res. Rev.* 2011; 24 (1): 46–59. DOI: 10.1017/S0954422410000326.
18. Shen YB, Piao XS, Kim SW, Wang L, Liu P, Yoon I, Zhen YG. Effects of yeast culture supplementation on growth performance, intestinal health, and immune response of nursery pigs. *J. Anim. Sci.* 2009; 87 (8): 2614–2624. DOI: 10.2527/jas.2008-1512.
19. Simon O. Microorganisms as feed additives — probiotics. *Adv. Pork Prod.* 2005; 16: 161–167. Available at: <https://www.banffpork.ca/documents/BO07-Simon.O.pdf>
20. Susenbeth A, Naatjes M, Blank B, Kühl R, Ader P, Dickhoefer U. Effect of xylanase and glucanase supplementation to a cereal-based, threonine-limited diet on the nitrogen balance of growing pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 2011; 65 (2): 123–133. DOI: 10.1080/1745039X.2010.534896.
21. Trckova M, Faldyna M, Alexa P, Sramkova Zajacova Z, Gopfert E, Kumprechtova D, Auclair E, D'Inca R. The effects of live yeast *Saccharomyces cerevisiae* on postweaning diarrhea, immune response, and growth performance in weaned piglets. *J. Anim. Sci.* 2014; 92 (2): 767–774. DOI: 10.2527/jas.2013-6793.
22. Willamil J, Badiola I, Devillard E, Geraert PA, Torrallardona D. Wheat-barley-rye- or corn-fed growing pigs respond differently to dietary supplementation with a carbohydrase complex. *J. Anim. Sci.* 2012; 90 (3): 824–832. DOI: 10.2527/jas.2010-3766.
23. Willing BP, Malik G, Van Kessel AG. Nutrition and gut health in swine. In: Chiba LI (ed). *Sustainable Swine Nutrition*. Chichester, Wiley, 2012: 197–213. DOI: 10.1002/9781118491454.ch8.

Ефективність використання кормової добавки «ЕнзАктив Мікс» за вирощування свиней

Т. Я. Прудіус, О. І. Віщур
tarasvet126@gmail.com

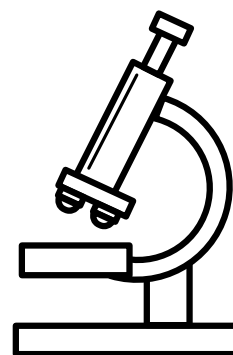
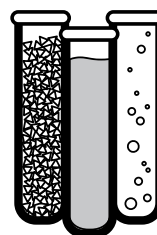
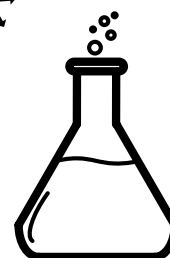
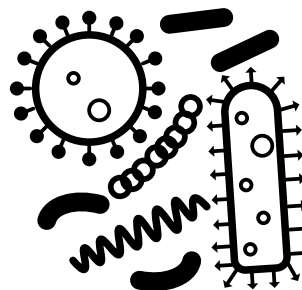
Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

Дослідження провели в два етапи. У першому етапі дослідження використовували лактуючих свиноматок та народжених від них підсисних поросят, а також відлучених поросят до 43-ї доби життя. Другий етап дослідження проводили на свинях із 43-ї по 165-ту добу життя на етапі відгодівлі. З кожної вікової групи свиней сформували дві групи тварин — дослідну і контрольну. Для годівлі тваринам контрольних груп давали комбікорм, а дослідних — комбікорм з додаванням кормової добавки «ЕнзАктив Мікс». Свиноматкам контрольної групи (К) згодовували стандартний комбікорм для лактуючих свиноматок, а дослідної групи (Д) — стандартний комбікорм із додаванням кормової добавки «ЕнзАктив Мікс» у кількості 0,3 кг/т комбікорму. Підсисні поросята отримували престаартерний корм із п'ятої доби життя і до відлучення (28 доба). Поросят груп Д до корму додавали добавку «ЕнзАктив Мікс» у кількості 0,5 кг/т корму. Поросят після відлучення у період дорощування продовжили згодовувати престаартерний корм. Від 43-ї доби життя поросят груп Д до стандартного корму давали добавку «ЕнзАктив Мікс» у кількості 0,3 кг/т. Встановлено, що за період досліду, який тривав 33 доби, жива маса свиноматок знизилася на 25 кг (К) і 20 кг (Д), що на 2,44% менше ($P < 0,001$). Додавання підсисним поросят груп Д добавки «ЕнзАктив Мікс» привело до вірогідного збільшення їх живої маси на 28-му добу життя на 15,28% порівняно з контролем ($P < 0,001$). Через 14 діб у поросят груп Д встановили вірогідне збільшення живої маси та середньодобових приростів на 7,69% ($P < 0,001$), а також конверсії корму на 21,43%. Другий (відгодівельний) етап досліду показав, що за додавання до стандартного корму добавки «ЕнзАктив Мікс» у період відгодівлі з 43-ї по 80-ту добу життя середня маса тварин груп Д була на 15,38% більшою, ніж у групі К ($P < 0,001$), також приріст живої маси та середньодобових приростів збільшився на 17,02% ($P < 0,001$), причому затрати корму на 1 кг приросту в групі Д були нижчими на 14,61% порівняно з групою К. У другому періоді відгодівлі з 81-ї по 118-ту добу життя жива маса в групі Д збільшилася на 15,4% ($P < 0,001$), а приріст живої маси та середньодобові прирости зросли на 17,94% ($P < 0,001$) порівняно з групою К, тоді як витрати корму на 1 кг приросту зменшилися на 15,38% ($P < 0,001$). У третій період відгодівлі, який тривав з 119-ї по 165-ту добу життя тварин, витрати корму на 1 кг приросту в групі Д були вірогідно нижчими на 9,06% ($P > 0,001$), причому спостерігали зростання живої маси та середньодобових приростів на 9,86% ($P < 0,001$).

Ключові слова: поросята, «ЕнзАктив мікс», комбікорм, продуктивність, ензими, пробіотики

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН ПРОВОДИТЬ:

- Дослідження біохімічних показників (аналізатор *Humalyzer 2000*, Німеччина)
- Гематологічний аналіз (аналізатор *Mythic-18Vet*, Швейцарія)
- Мікробіологічні дослідження (посів на стерильність, антибіотикограма, склад мікрофлори кишечника тварин, мікробіологічний аналіз кормів, води, повітря)
- Імуноферментні дослідження (аналізатор *Stat Fax 3000*, Німеччина)
- Оцінка репродуктивної здатності тварин, штучне осіменіння, трансплантація ембріонів
- Селекційно-генетичні дослідження
- Дослідження кормів
- Дослідження молока
- Дослідження яєць
- Визначення показників якості меду
- Дослідження вовни і волосся
- Атомно-абсорбційний і атомно-емісійний аналіз концентрації хімічних елементів
- Аналіз органічних добрив



Організовує проведення досліджень на лабораторних тваринах і надає кваліфіковану інтерпретацію отриманих результатів.

* можливе проведення інших досліджень

** всі лабораторії інституту акредитовані для проведення досліджень

Інститут біології тварин НААН
вул. В. Стуса 38, м. Львів, 79034
тел.: +38 (032) 270-23-89, +38 (96) 858-37-76
e-mail: markinfo@inenbiol.com.ua

Завжди раді співпраці з Вами!