

УДК 619:616.3:615.3:612.017:636.2

**ФОРМУВАННЯ КОЛОСТРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ У
НОВОНАРОДЖЕНИХ ТЕЛЯТ ЗА ЛІПОСОМНОЇ КОРЕКЦІЇ ЛІПІДНОГО
СКЛАДУ ПЛАЗМОЛЕМИ ЕНТЕРОЦИТІВ**

М. О.МАРИНЮК, асистент,

О. М. ЯКИМЧУК, кандидат біологічних наук, доцент,

М. І. ЦВІЛІХОВСЬКИЙ, доктор біологічних наук, професор

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: marynyuk_mo@nubip.edu.ua

***Анотація.** Функціональна активність слизової оболонки тонкого кишечника у період формування колострального імунітету в новонароджених телят визначається здатністю плазмолем абсорбційних ентероцитів транспортувати імуноглобуліни молозива в нативному вигляді. Основними структурними елементами плазмолем ентероцитів є фосфоліпіди та холестерол, які впливають на функціональні параметри мембранного бішару. Максимальне надходження молозивних імуноглобулінів та формування колострального імунітету на високому рівні можливе шляхом корекції вмісту фосфоліпідів і холестеролу та їх співвідношення в плазмолемі ентероцитів. Дослідження проводили на новонароджених телятах української чорно-рябої молочної породи. Телятам дослідних груп за 15 хвилин до випоювання молозива задавали нативні та насичені водорозчинними формами жиророзчинних вітамінів А та Е ліпосоми. Встановлено, що застосування нативних та насичених вітамінами ліпосом стабілізує ліпідний склад плазмолем ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят протягом першої доби життя, забезпечує оптимальну в'язкість плазмолем ентероцитів для проникнення імуноглобулінів молозива, та сприяє збільшенню їх надходження у кров і пролонгує дію колострального імунітету.*

***Ключові слова:** колостральний імунітет, новонароджені телята, холестерол, фосфоліпіди, ентероцити, ліпосоми*

***Актуальність.** Функціональна активність слизової оболонки тонкого кишечника є одним із основних факторів, який впливає на формування колострального (пасивного) імунітету в організмі ссавців [3]. Це визначається здатністю плазмолем абсорбційних ентероцитів транспортувати імуноглобуліни (Ig) молозива матері в нативному вигляді. Варто зазначити, що недостатній рівень*

молозивних Ig у крові телят призводить до виникнення імунодефіцитного стану і системних захворювань у цих тварин вже з перших днів життя [6-8].

Основними структуроформуєчими елементами плазмолемі ентероцитів тонкого кишечника є фосфоліпіди. Їх фізико-хімічні властивості забезпечують функціональні параметри мембранного бішару (в'язкість, активність ферментів, адсорбційні властивості тощо), формують мікродомени і мікрооточення рецепторів, ензимів, білків-транспортерів тощо. Забезпечення максимального надходження колостральних Ig через плазмолему ентероцитів у період формування колострального імунітету в жуйних тварин можна досягти шляхом корекції фосфоліпідного складу плазмолемі ентероцитів [1].

Виходячи з викладеного вище, **метою роботи** було дослідити вплив нативних і насичених водорозчинними формами жиророзчинних вітамінів А та Е ліпосом на ліпідний склад плазмолемі ентероцитів тонкого кишечника новонароджених телят у період активного формування колострального імунітету.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проводили на телятах української чорно-рябої молочної породи в період від народження до 1-добового віку.

Було сформовано три групи телят (контрольну та дві дослідні), по 5 тварин у кожній. Телятам всіх груп випоювали молозиво в кількості 2 літри після народження, а потім по 1,5 л через кожні 4 год. упродовж першої доби.

Телята першої дослідної групи двічі, за 15 хв до першого випоювання молозива, а потім через 12 год., за 15 хв до чергового випоювання молозива, отримували нативні ліпосоми у вигляді макрокапсул (середній розмір ліпосом 46,5 нм) у дозі по 5 мл з теплою водою (37 °С) в кількості 50 мл.

Телята другої дослідної групи двічі, за 15 хвилин до першого випоювання молозива, а потім через 12 год., за 15 хв до чергового випоювання молозива, отримували таку ж кількість ліпосом із заключеними в них вітамінами А (4000 МО) та Е (15 мг), що запатентовані нами як препарат під назвою «Мембраностабіль» (патент на корисну модель №92841 від 10.09.2014 р., Бюл. №17 [4]).

Визначення вмісту ліпідів у дослідних зразках проводили після народження телят до першої годівлі їх молозивом та через 6 і 24 год. життя тварин з використанням загальноприйнятих методичних підходів [1, 5-6].

Результати дослідження та їх обговорення. До випоювання молозива вміст холестеролу (ХС) у плазмолемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят становив $238,5 \pm 23,2$ нмоль/мг білка, а вміст загальних фосфоліпідів (ФЛ) – $628,5 \pm 32,4$ нмоль/мг білка (рис. 1-2). Співвідношення холестерол/фосфоліпіди становило 0,35 (рис. 3). Такий уміст холестеролу і загальних фосфоліпідів у плазмолемі ентероцитів тонкого кишечника телят після народження може бути оптимальним для забезпечення безперешкодного проникнення імуноглобулінів (Ig) молозива через неї шляхом піноцитозу в клітину, а далі – в кров'яне русло тварини.

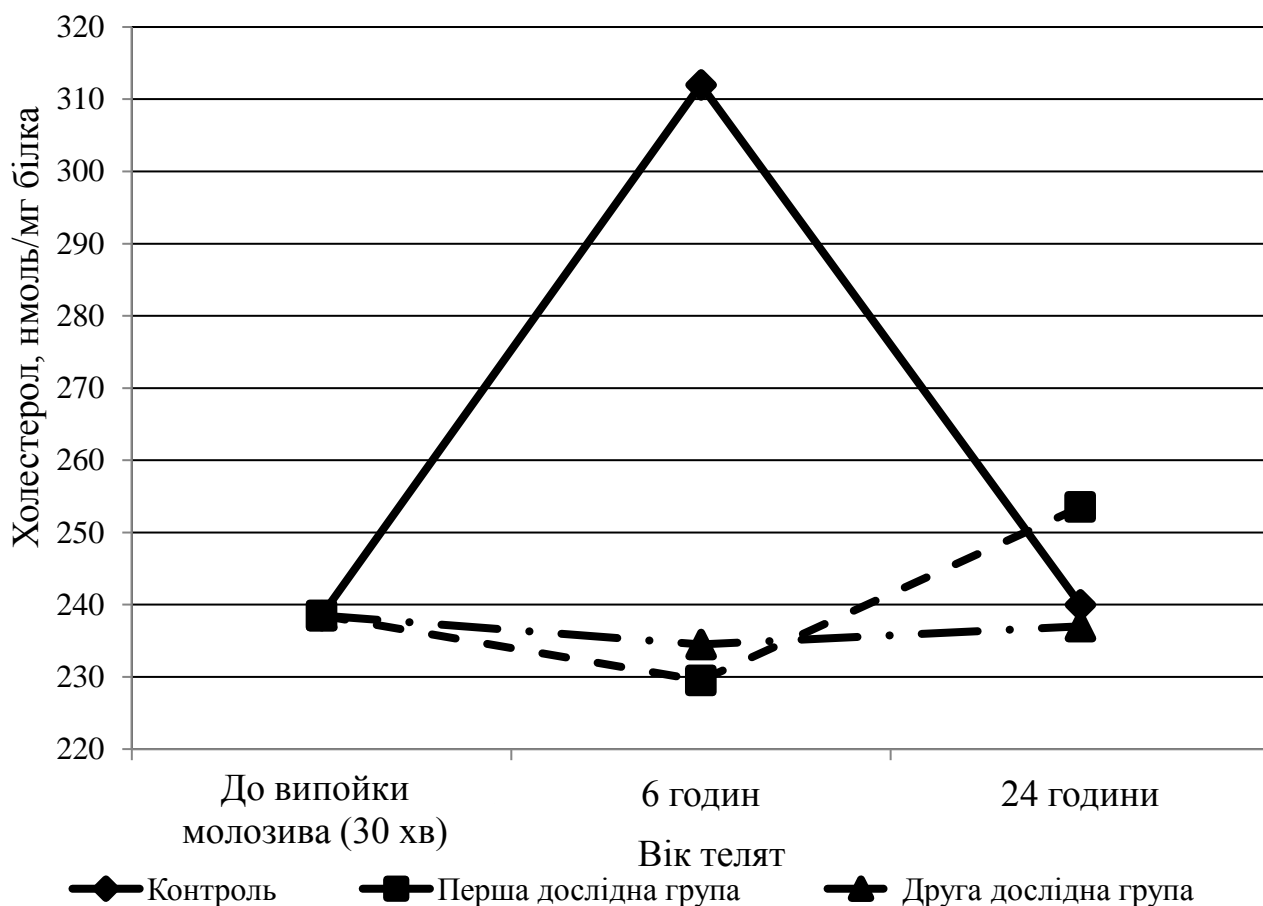


Рис. 1. Вміст холестеролу в плазмолемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят, $M \pm m$, $n = 5$

Через 6 год. після народження в плазмолемі ентероцитів порожньої кишки телят контрольної групи вміст холестеролу був достовірно вищим в 1,31 раза

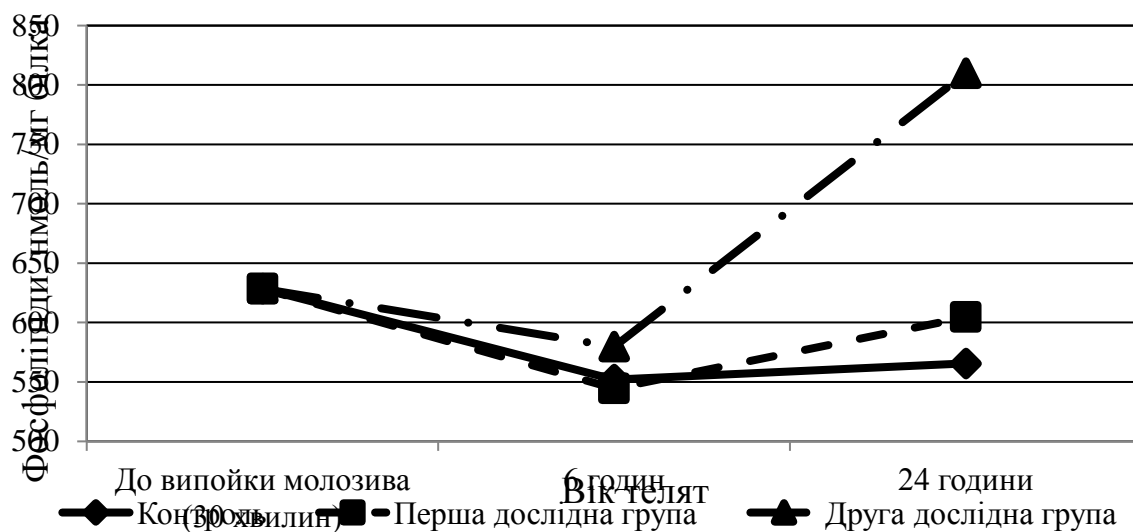


Рис. 2. Вміст фосфоліпідів у плазмолемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят, $M \pm m$, $n = 5$

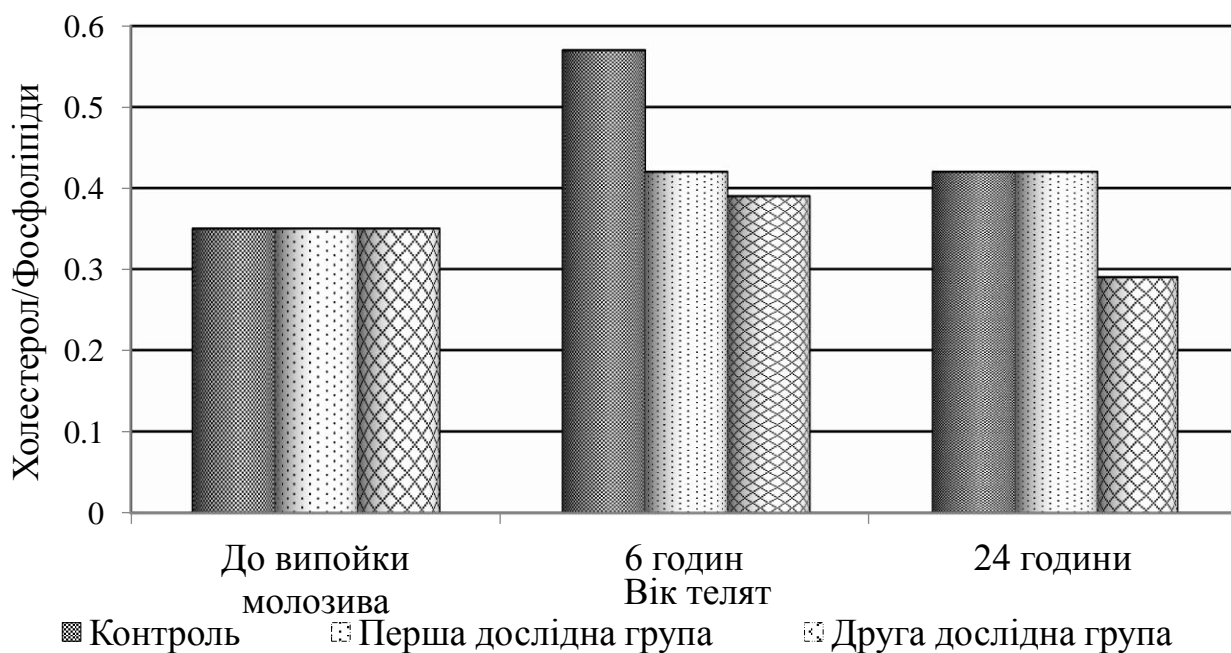


Рис. 3. Співвідношення холестерол/фосфоліпідів у плазмолемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят, $M \pm m$, $n = 5$

($p \leq 0,05$), а вміст фосфоліпідів достовірно не відрізнявся від такого порівняно з телятами після народження. Співвідношення холестерол/фосфоліпіди в плазмолемі ентероцитів цих тварин становило 0,57 (див. рис. 3), що в 1,63 рази вище, ніж до випоювання молозива.

Холестерол є важливою складовою ліпідного бішару мембран абсорбційних клітин. Завдяки йому відбувається стабілізація фізико-хімічних властивостей мембран. Високий вміст ХС впливає на транспортні властивості мембранного бішару шляхом зниження його проникності [1]. Зростання величини співвідношення ХС/ФС свідчить про формування жорсткої мембрани, яка є важкопроникною для Ig у пік формування колострального імунітету. В подальшому це призводить до формування недостатнього рівня колострального імунітету та розвитку імунодефіциту в організмі телят.

Вміст холестеролу в плазмолемі ентероцитів порожньої кишки телят першої дослідної групи у віці 6 годин був у 1,36 рази достовірно нижчим порівняно з телятами контрольної групи цього ж віку та майже таким, як під час народження тварин (див. рис. 1). За недостовірно нижчого вмісту фосфоліпідів у плазмолемі ентероцитів порожньої кишки у цих тварин, порівняно з показником до випоювання телятам молозива, співвідношення холестерол/фосфоліпіди становить 0,42. За такого співвідношення в'язкість плазмолемі ентероцитів тонкого кишечника є майже такою, як після народження телят, що робить її досить плинною та легкопроникною для білків молозива через слизову оболонку тонкого кишечника.

У плазмолемі ентероцитів порожньої кишки телят другої дослідної групи через 6 год. після народження показники вмісту холестеролу та фосфоліпідів не мали достовірної різниці порівняно з телятами першої дослідної групи, а їх співвідношення становило 0,39, що вказує на високу проникність плазмолемі ентероцитів для білків молозива.

У плазмолемі ентероцитів порожньої кишки телят контрольної групи через 24 год. після народження встановлено зниження в 1,30 рази вмісту холестеролу порівняно з телятами цієї ж групи у віці 6 год., тоді як вміст фосфоліпідів не

змінювався. Внаслідок цього знизився показник співвідношення холестерол/фосфоліпід до 0,42 (див. рис. 3). Однак у цей віковий період вказане співвідношення ХС/ФЛ вже мало впливає на формування колострального імунітету через зниження інтенсивності всмоктування Ig молозива у незмінному вигляді [2].

У плазмолемі ентероцитів телят першої дослідної групи на 24 годину життя показники вмісту холестеролу та фосфоліпідів достовірно не відрізняються від таких у телят при їх народженні до випоювання молозива, а співвідношення холестерол/фосфоліпідів становить 0,42. Стабільність показників вмісту холестеролу та фосфоліпідів і їх співвідношення в плазмолемі ентероцитів порожньої кишки телят першої дослідної групи вказує на рівномірний транспорт Ig молозива в кишечнику цих тварин впродовж перших 24 год. їх життя завдяки збереженій і майже незмінній в'язкості плазмолемі ентероцитів.

У плазмолемі ентероцитів порожньої кишки телят другої дослідної групи на 24 годину життя вміст холестеролу становив $237,0 \pm 21,7$, а вміст фосфоліпідів $810,0 \pm 41,3$, що забезпечує співвідношення холестерол/фосфоліпідів на рівні 0,29 (див. рис. 1-3). Дане співвідношення ХС/ФЛ свідчить про низьку в'язкість, високу плинність мембрани ентероцитів, а значить і високу пропускну здатність для Ig молозива.

Відомо, що показник співвідношення холестеролу до фосфоліпідів визначає проникність біологічних мембран: чим нижче співвідношення ХС/ФС, тим вища проникність мембрани для іонів і молекул органічних речовин [2]. Уміст фосфоліпідів у плазмолемі ентероцитів телят, які отримували нативні та насичені вітамінами ліпосоми, був достовірно вищим порівно з телятами контрольної групи цього ж віку відповідно у 1,34 та 1,43 рази.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Одержані нами дані вказують на стабільність ліпідного складу плазмолемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят впродовж першої доби їх життя. Застосування нативних та насичених водорозчинними формами жиророзчинних вітамінів А та Е ліпосом сприяє підвищенню вмісту фосфоліпідів у плазмолемі ентероцитів, що

забезпечує оптимальну в'язкість для проникнення імуноглобулінів молозива. Результати наших досліджень є важливими з точки зору обґрунтування застосування нативних та насичених вітамінами ліпосом для підвищення рівня та пролонгування дії колострального імунітету у новонароджених телят.

Подальші дослідження необхідно спрямувати на вивчення активності АТФаз плазмолемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят у період формування колострального імунітету за впливу нативних та насичених вітамінами ліпосом.

Список літератури

1. Бугай А.О. Ліпідний склад плазмолемі абсорбційних ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби: автореф. дис ... канд. вет. наук : 03.00.04 – біохімія. К. – Національний аграрний університет. – 2008. – 21 с.
2. Липидный состав плазматических мембран энтероцитов тощей кишки крупного рогатого скота различного возраста / П. В.Усатюк, Г. Л. Волков, Н. И. Цвилюховский, Д. А. Мельничук // Биохимический журнал. – 1990. – Т. 62. – №3. – С. 87–94.
3. Маринюк М.О. Рівень колострального імунітету і розвиток розладів травлення у новонароджених телят / М.О. Маринюк, С.І. Голопура, О.М. Якимчук, Т.В. Немова, М.І. Цвіліховський // Ветеринарна медицина України. – 2014. – №5.– С. 21 – 23.
4. Патент 92841 Україна МПК А61К9/127. Ветеринарний препарат Мембраностабіл / М.І. Цвіліховський, М.О. Маринюк, Л.Ю. Авдєєва, Т.В. Немова, О.М. Якимчук, Е.К. Жукотський ; власник Нац. ун-т біоресурсів і природокористування України. – № u201402508 ; заявл. 13.03.2014 ; опублік. 10.09.2014, Бюл. № 17. – 4 с.
5. Цвилюховский Н.И. Выделение, химический состав и транспортные АТФазы щеточной каймы и базолатеральных мембран клеток кишечного эпителия взрослого крупного рогатого скота, новорожденных здоровых и больных диспепсией телят: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 – биохимия. – Львов. – Львовский зооветеринарный институт. – 1989. – 17 с.
6. Цвіліховський М.І. Білки плазматичної мембрани тонкого кишечника великої рогатої худоби: автореф. дис. ... д-ра біол. наук: спец. 03.00.04 – біохімія / М.І. Цвіліховський. – К. – Національний аграрний університет. – 1998. – 38 с.
7. Hurley W. L. Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk / W. L. Hurley, P. K. Theil. // Nutrients. – 2011. – №3 (4). – P. 442–474.
8. The effect of colostrum source (goat vs. sheep) and timing of the first colostrum feeding (2h vs. 14h after birth) on body weight and immune status of artificially reared newborn lambs / [L. E. Hernández-Castellano, A. Morales-delaNuez, D. Sánchez-Macías etc.]. // J. Dairy Sci. – 2015. – V. 98. – №1. – P. 204–210.

References

1. Buhai, A.O. (2008) Lipidnyi sklad plazmolemy absorbtsiinykh enterotsytiv porozhnoi kyshky plodiv velykoi rohatoi khudoby [Lipid composition plasmolemma absorption jejenum enterocytes fetus cattle]. National Agricultural University. Kyiv, . – 21 s.
2. Usatiuk, P. V., Volkov, H. L., Tsvylykhovskiy, N. Y., Melnychuk, D. A. (1990) Lypidnyi sostav plazmatycheskykh membran enterotsytov toshchei kyshky krupnoho rohatoho skota razlychnoho vozrasta [Lipid composition of plasmatic membranes of enterocytes of the jejenum of different age cattle]. Biochemical Journal, 62, 3, 87–94.
3. Maryniuk, M.O., Golopura, S.I., Yakymchuk, O.M., Nemova, T.V., Tsvilikhovskiy, M.I. (2014). Riven kolostralnoho imunitetu i rozvytok rozladiv travlennia u novonarodzhenykh teliat [The level of maternal immunity and development of digestive disorders in newborn calves]. Veterinary Medicine Ukraine, 5, 21 – 23.
4. Tsvilikhovskiy, M.I., Maryniuk, M.O., Avdieieva, L.Ju., Nemova, T.V., Yakymchuk, O.M., Zhukotskyi, E.K. (2014) Veterinary drug “Membranostabil” Patent of Ukraine for useful model. MPK A61K9/127. № u201402508; declared. 13.03.2014; published 10.09.2014, № 17.
5. Tsvylykhovskiy N.Y. (1989) Videlenye, khymycheskyi sostav y transportnie ATFazy shchetochnoi kaimy y bazolateralnykh membran kletok kyshechnoho epytelyia vzrosloho krupnoho rohatoho skota, novorozhdennikh zdorovykh y bolnykh dyspepsyei teliat [Isolation, chemical composition and transport ATPases of the brush border and basolateral membranes of intestinal epithelial cells of adult cattle, newborns healthy and patients with dyspepsia of calves]. Lviv zooveterinary institute, Lvov,. – 17 s.
6. Tsvilikhovskiy M.I. (1998) Bilky plazmatychnoi membrany tonkoho kyshechnyka velykoi rohatoi khudoby [Proteins plasma membrane of the small intestine of cattle]. National Agricultural University. Kyiv, . – 38 s.
7. Hurley, W. L., Theil, P. K. (2011) Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk. Nutrients, 3 (4), 442–474. doi: 10.3390/nu3040442
8. Hernández-Castellano, L. E., Morales-delaNuez, A., Sánchez-Macías, D., Moreno-Indias, I., Torres, A., Capote, J., Argüello, A., Castro, N. (2015). The effect of colostrum source (goat vs. sheep) and timing of the first colostrum feeding (2h vs. 14h after birth) on body weight and immune status of artificially reared newborn lambs. Journal Dairy Science, 98, 1, 204–210. doi: 10.3168/jds.2014-8350

**ФОРМИРОВАНИЕ КОЛОСТРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У
НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ ПРИ ЛИПОСОМНОЙ КОРРЕКЦИИ
ЛИПИДНОГО СОСТАВА ПЛАЗМОЛЕМЫ ЭНТЕРОЦИТОВ
Н. А. Марынюк, О. Н. Якимчук, Н. И. Цвилиховский**

Аннотация. Функциональная активность слизистой оболочки тонкого кишечника в период формирования колострального иммунитета у

новорожденных телят определяется способностью плазмолеммы абсорбционных энтероцитов транспортировать иммуноглобулины молозива в нативном виде. Основными структурными элементами плазмолеммы энтероцитов есть фосфолипиды и холестерол, которые влияют на функциональные параметры мембранного бишара. Максимальное поступление молозивных иммуноглобулинов и формирование колострального иммунитета на высоком уровне возможно путем коррекции содержания фосфолипидов и холестерола и их соотношения в плазмалемме энтероцитов. Исследования проводили на новорожденных телятах украинской черно-пестрой молочной породы. Телятам опытных групп за 15 минут до выпаивания молозива задавали нативные и насыщенные водорастворимыми формами жирорастворимых витаминов А и Е липосомы. Установлено, что использование нативных и насыщенных витаминами липосом стабилизирует липидный состав плазмолеммы энтероцитов тощей кишки новорожденных телят на протяжении первых суток жизни, обеспечивает оптимальную вязкость плазмолеммы энтероцитов для проникновения иммуноглобулинов молозива и способствует увеличению их поступления в кровь и пролонгирует действие колострального иммунитета.

***Ключевые слова:** колостральный иммунитет, новорожденные телята, холестерол, фосфолипиды, энтероциты, липосомы*

FORMATION OF COLOSTRAL IMMUNITY IN NEWBORN CALVES FOR LIPOSOME CORRECTION OF LIPIDS OF ENTEROCYTES' PLASMOLEMMMA

M. O. Maryniuk, O. M. Yakymchuk, M. I. Tsvilikhovskiy

***Abstract.** Functional Activity of the small intestine mucous membrane during colostrum immunity formation of newborn calves is determined of ability enterocytes plasmolemma absorption of colostrum immunoglobulin transported in native form. The main structural elements are enterocytes plasmolemma phospholipids and cholesterol, which influence of the functional parameters of the membrane bilayer. Maximum flow colostric formation of maternal immunoglobulins and immune system at high levels is possible by correcting the content of cholesterol and phospholipids and their relationship to plasmolemma enterocyte. The study was performed on newborn calves Ukrainian black and white breast breed. Calves research groups 15 minutes to watering colostrum and asked nativni saturated water-soluble forms of fat-soluble vitamins A and E liposomes. There was found, that using of native and saturated vitaminami liposomes stabilizes the lipid composition plasmolemma jejunum enterocyte newborn calves during in the first days of life, providing optimum viscosity for penetration plasmolemma enterocyte colostrum immunoglobulin and promotes increase their revenues in the blood and prolongs the effect of maternal immunity.*

***Kewwords:** colostrum immunity, newborn calves, cholesterol, phospholipids, enterocytes, liposomes*