

## ВМІСТ ФОСФОЛІПІДІВ В ЯЄЧНИКАХ КОРІВ ЗА РІЗНОГО ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ

А. З. Пилипець

Інститут біології тварин НААН України

*У статті представлені результати дослідження вмісту сфінгомієліну, фосфатидилсерину, фосфатидилінозиту, фосфатидилхоліну, кардіоліпіну, лізолецитину, фосфатидилетаноламіну та фосфатидної кислоти у тканині яєчників корів за різного стану дозрівання жовтого тіла. Встановлено пряmlinійну кореляцію між зміною фізіологічного стану яєчників корів на стадіях: «фолікулярний ріст» — «раннє жовте тіло» — «пізнє жовте тіло» з вмістом сфінгомієліну, фосфатидилінозиту; обернену — з вмістом фосфатидилхоліну та кардіоліпіну і криволінійну — з вмістом лізолецитину, фосфатидилсерину, фосфатидилетаноламіну та фосфатидною кислотою.*

**Ключові слова:** КОРОВИ, ЯЄЧНИК, ЖОВТЕ ТІЛО, СФІНГОМІЄЛІН, ФОСФАТИДИЛСЕРИН, ФОСФАТИДИЛЕТАНОЛАМІН, ФОСФАТИДИЛХОЛІН, КАРДІОЛІПІН, ЛІЗОЛЕЦИТИН, ФОСФАТИДИЛІНОЗИТОЛ, ФОСФАТИДНА КИСЛОТА

Фосфоліпіди — основні структурні компоненти клітинних мембран. У мембрані виділяють ліпідну фазу, яка складається в основному з фосфоліпідів та холестерину. Ліпідні молекули — важливі структурні і функціональні компоненти клітинної мембрани, що регулюють рухливість та активність мембранозв'язаних білків, визначають адаптаційний потенціал клітини [1–4]. Фосфогліцериди також називають есенціальними, що відображає їх значення для організму як незамінних факторів росту і розвитку, необхідних для функціонування всіх клітин без винятку. Фосфоліпіди цитоплазматичних мембран органів та тканин різноманітні і виконують структурні, регуляторні, захисні та інші важливі функції. Співвідношення решти моногліцерофосфатидів у всіх органах і тканинах залежить від функціональних особливостей органу [2].

Співвідношення окремих підкласів фосфоліпідів, ступінь насиченості жирних кислот, які входять до їх складу, визначають плинність ліпідного бішару мембрани, впливають на впорядкованість ліпідних молекул, а також характер ліпід–ліпідних і білок–ліпідних взаємодій [5]. Збільшення мікров'язкості ліпідної фази плазматичних мембран призводить до зниження активності мембранозв'язаних ферментів, гальмування зв'язування рецепторів з лігандами і порушення інших важливих для клітини процесів [6, 7].

Відомо, що фосфоліпіди є одними з найважливіших біологічними ефекторами, регуляторами та медіаторами, які беруть участь майже у всіх фізіологічних процесах. Зокрема виявлено, що ліпіди відіграють важливу роль у статевих циклах корів. Проте наявні в літературі дані такого плану фрагментарні і недостатні для широких узагальнень. Зокрема мало вивчено зміни складу фосфоліпідів і їх жирно кислотний склад в яєчниках корів за різного фізіологічного стану. Актуальність таких досліджень зумовлена центральним положенням фосфоліпідів у забезпеченні ультраструктури і функції клітинних мембран у тканинах тварин [8]. У зв'язки з цим, метою нашої роботи було дослідити зміни складу фосфоліпідів у тканинах яєчників корів за різного фізіологічного стану яєчників.

### Матеріали і методи

Дослід проведено на 16 коровах української чорно-рябої молочної породи віком 5–6 років. Від корів одержували яєчники, які оцінювали за морфо-функціональним станом:

«фолікулярний ріст (без жовтого тіла)»; «раннє жовте тіло (червоного або брунатового кольору)»; «пізнє жовте тіло (жовтого кольору)». Для дослідження брали 1 г тканини яєчника та екстрагували з нього ліпіди за методом Фолча [9]. Для розділення фосфоліпідів використовували метод одномірної тонкошарової хроматографії [10]. Ідентифікацію фосфоліпідів проводили за  $R_f$  та кольорових реакцій. Отримані дані опрацьовували статистично за допомогою програми Microsoft Excel.

## Результати й обговорення

Проведені дослідження показали, що вміст окремих підкласів фосфоліпідів залежить від фізіологічного стану яєчників. Зокрема у тканині яєчників за «фолікулярного росту» переважають лізофосфатидилхолін ( $24 \pm 0,90$  %) та фосфатидилхолін ( $22,32 \pm 1,00$  %), за «раннього жовтого тіла» — сфінгомієлін ( $19,59 \pm 0,77$  %) та фосфатидна кислота ( $23,52 \pm 0,24$  %), за «пізнього жовтого тіла» — лізофосфатидилхолін та сфінгомієлін ( $23,35$ – $23,77$  %) (рис. 1, 2).

Встановлено, що зміна фізіологічного стану яєчників, які включають «фолікулярний ріст», «раннє жовте тіло» та «пізнє жовте тіло» характеризується підвищенням вмісту сфінгомієліну з 5,53 до 19,59–23,77 % та фосфатидилінозитулу з 4,16 до 8,62–11,66 %. При цьому вміст фосфатидилхоліну та кардіоліпіну зменшується відповідно, з 22,32 до 8,60–2,72 % та з 20,57 до 15,7–7,97 %.

Виявлене нами зниження вмісту фосфатидилхоліну в яєчниках корів у стадію «жовтого тіла» свідчить про активацію фосфоліпази Д, ферменту, що каталізує його гідроліз з утворенням фосфатидної кислоти [11, 12] (рис. 1). Збільшення вмісту сфінгомієліну в клітинах яєчників пов'язують з процесами диференціації та проліферації внаслідок активації сфінгомієлінази та високу функціональну здатність яєчника [13].

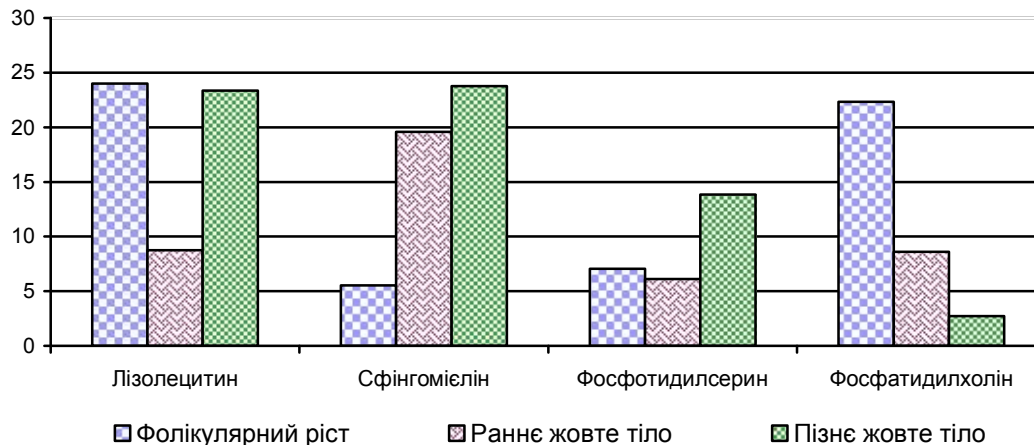


Рис. 1. Діаграма складу фосфоліпідів у яєчниках корів за різного фізіологічного стану (%)

На відміну від описаних вище фосфоліпідів, в яєчника корів протягом розвитку жовтого тіла рівень фосфатидилінозитулу змінювався поступово (рис. 2). Відомо, що фосфоінозитиди є залученими у процеси сигнальної трансдукції та є джерелом таких важливих месенджерів, як диацилгліцерол, інозитолфосфати та арахідонова кислота [14]. Виходячи з вищезазначеного, виявлені нами зміни вмісту фосфатидилінозитулу можна пояснити інгібуванням активності фосфоліпази С. В основі встановлених нами змін може бути зниження швидкості рецепторопосередкованого гідролізу фосфатидилінозитулу фосфоліпазою С [15].

Вміст лізофосфатидилхоліну в яєчниках корів найбільший на стадії «фолікулярного росту» ( $24,00 \pm 0,90$  %), знижується на стадії «раннього жовтого тіла» (15,25 %) і знову зростає на стадії «пізнього жовтого тіла» ( $23,35 \pm 1,06$  %) (рис. 1). Вміст

фосфатидилетаноламіну та фосфатидної кислоти в яєчниках корів, навпаки, був найменшим на стадії «фолікулярного росту» (6,43 % та 9,74 %), підвищувався на 2,68 % і 13,78 % на стадії «раннього жовтого тіла» і знову зменшувався до 6,55 % та 10,15 % на стадії «пізнього жовтого тіла», відповідно (рис. 2). Вміст фосфатидилсерину на стадії «фолікулярного росту» становив 7,07 %, на стадії «раннього жовтого тіла» зменшувався на 0,96 %, а на стадії «пізнього жовтого тіла» зростав до 13,84 % (рис. 1). Зміни вмісту фосфатидної кислоти можна пояснити тим, що вона є продуктом дії ензимів фосфоліпази С та фосфоліпази Д, виступаючи у клітинному матриксі як вторинний месенджер [16].

Встановлене зниження вмісту фосфатидилетаноламіну може бути пов'язане з тим, що цей фосфоліпід залучений до різних фізіологічних процесів: реакції дезінтоксикації, енергетичного обміну, активації ліпази та регуляції активності різних трансмембранних білків, що співзвучне з даними літератури [17]. Одночасно нами було встановлено збільшення відносного вмісту фосфатидилетаноламіну по відношенню до фосфатидилхоліну. Враховуючи, що фосфатидилетаноламін може замінити фосфатидилсерин в активації фосфоліпази С, зростання його відносного вмісту може бути одним із чинників патологічного сигналу в клітині [18]. Встановлене зменшення вмісту фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну може бути зумовлено також пригніченням реакціювання лізофосфатидилхоліну.

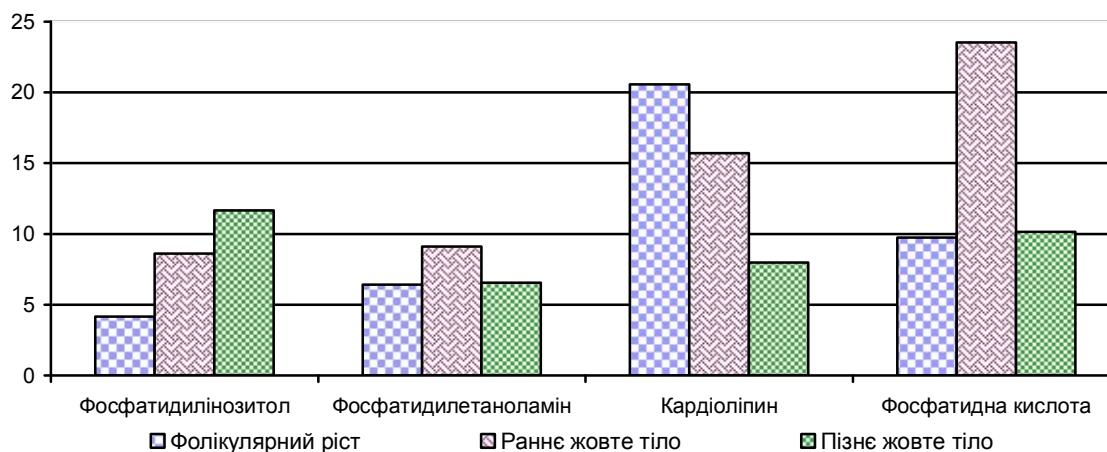


Рис. 2. Діаграма складу фосфоліпідів у яєчниках корів за різного фізіологічного стану (%)

Зміну вмісту кардіоліпіну можна пояснити більшим інтенсивним його впливом на ДНК-полімераза гамма, яка включається в реплікацію мітохондріальної ДНК та інгібує всі три ДНК-полімерази і термінальну дезоксинуклеотидилтрансферазу [19].

Таким чином, зміни фізіологічного стану яєчників корів на стадіях «фолікулярний ріст» — «раннє жовте тіло» — «пізнє жовте тіло» мають прямолінійний зв'язок з вмістом сфінгом'єліну, фосфатидилінозитолу, обернений — з вмістом фосфатидилхоліну та кардіоліпіну і криволінійний — з вмістом лізолецитину, фосфатидилсерину, фосфатидилетаноламіну та фосфатидною кислотою. Загалом, зміни у вмісті окремих фосфоліпідів яєчників корів протягом росту розвитку жовтого тіла свідчать про молекулярно-структурні зміни. Під дією комплексу факторів, разом із зазначеними змінами у співвідношенні окремих підкласів фосфоліпідів у яєчниках корів можуть з'являтися нові їх функції [20, 21]. У кінцевому підсумку такі зміни можуть суттєво позначитися на загальному метаболізмі організму.

## Висновки

Зміна фізіологічного стану яєчників корів на стадіях: «фолікулярний ріст» — «раннє жовте тіло» — «пізнє жовте тіло» має прямолінійний зв'язок з вмістом сфінгом'єліну,

фосфатидилсерину, фосфатидилінозиту, обернений зв'язок — з вмістом фосфатидилхоліну та кардіоліпину і криволінійний зв'язок — з вмістом лізолецитину, фосфатидилетаноламіну та фосфатидною кислотою.

**Перспективи подальших досліджень.** Становить інтерес дослідження вмісту сфінгомеліну, фосфатидилсерину, фосфатидилінозиту, фосфатидилхоліну, кардіоліпину, лізолецитину, фосфатидилетаноламіну та фосфатидної кислоти у тканинах яєчників корів *in vitro* під впливом статевих гормонів.

*A. Z. Pylypets*

## **THE CHANGES OF SOME LIPIDS CLASSES CONTENT IN COWS' OVARIES AT DIFFERENT PHYSIOLOGICAL CONDITION OF OVARIES**

### **S u m m a r y**

The results of researches of some lipids classes content in the ovaries tissue of cows at different stages of yellow body ripening are presented in this article. The change of ovaries physiologic condition on the stage «follicular growth» → «early yellow body» → «late yellow body», which has linear connection with content of phospholipids and non-etherified fatty acids, and inverse — with diglycerides and triglycerides and curvilinear — with cholesterol and its etherified form.

*A. З. Пилипец*

## **СОДЕРЖАНИЕ ФОСФОЛИПИДОВ В ЯИЧНИКАХ КОРОВ ПРИ РАЗЛИЧНОМ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ СОСТОЯНИИ**

### **А н н о т а ц и я**

В статье представлены результаты исследования содержания сфингомиелина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитола, фосфатидилхолина, кардиолипина, лизолецитина, фосфатидиэтаноламина и фосфатидной кислоты в тканях яичников коров при различном физиологическом состоянии. Изменения в составе фосфолипидов яичников коров свидетельствует об молекулярно-структурных изменениях их структуры и организации в зависимости от цикла созревания желтого тела. Выявлено прямолинейную связь между изменением физиологического состояния яичников: «фоликулярный рост» — «раннее желтое тело» — «позднее желтое тело» и содержанием сфингомиелина, фосфатидилинозитола; обратную — фосфатидилхолина и кардиолипина; и криволинейную — лизолецитина, фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина и фосфатидной кислоты.

1. *Laxalt A. M.* Phospholipid signalling in plant defence [text] / A. M. Laxalt, T. Munnik // Curr. Opin. Plant Biol. — 2002. — V. 5. — P. 332–338.

2. *Янович В. Г.* Обмен липидов у животных в онтогенезе [текст] / В. Г. Янович, П. З. Лагодюк. — М. : Агропромиздат, 1991. — 317 с.

3. *Титов В. Н.* Липопротеины высокой плотности: структура, функция и диагностическое значение [текст] / В. Н. Титов // КЛД. — 2000. — № 2. — С. 25–32.

4. *Болдырев А. А.* Новая гвардия приходит на смену старой [текст] / А. А. Болдырев // Биологические мембраны. — 2006. — № 23. — С. 47–56.

5. *Allen H. G.* Role of membrane lipids in developing insulin resistant diabetes mellitus type II in Caucasians and African Americans [text] / H. G. Allen, J. C. Allen, L. C. Boyd, G. Fenner // Nutrition. — 2006 Nov-Dec. — Vol. 22. — С. 1096–1102.

6. *Decsi T.* Polyunsaturated fatty acids in plasma lipids of obese children with and without metabolic cardiovascular syndrome [text] / T. Decsi, G. Csabi, K. Torok et al. // *Lipids*. — 2000. — № 35. — P. 1179–1184.
7. *Nkondjock A.* Specific fatty acids and human colorectal cancer: an overview [text] / A. Nkondjock, B. Shatenstein, P. Maisonneuve // *Ghadirian Cancer Detect Prev.* — 2003. — № 27. — С. 55–62.
8. *Болдырев А. А.* Введение в биохимию мембран [текст] / А. А. Болдырев. — М. : Высшая школа, 1986. — 109 с.
9. *Folch J.* A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [text] / J. Folch, M. Lees, G. Stauley // *J. Biol. Chem.* — 1957. — V. 226. — P. 497.
10. *Кондрахин И. П.* Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии. Справочное издание [текст] / И. П. Кондрахин, Н. В. Курилов, А. Г. Малахов и др. — М. : Агропромиздат, 1985. — С. 102–106.
11. *Corrotte M.* Dynamics and function of phospholipase D and phosphatidic acid during phagocytosis [text] / M. Corrotte, S. Chasserot-Golaz, P. Huang et al. // *Traffic*. — 2006. — N 7. — P. 365–377.
12. *Jenkins G. M.* Phospholipase D: a lipid centric review [text] / G. M. Jenkins, M. A. Frohman // *Cell Mol. Life Sci.* — 2005. — N 6. — P. 2305–2316.
13. *Хассунех Л. Х. М.* Влияние  $\alpha$ -токоферола на индукцию L-тироксина обмена липидов в печени старых крыс [текст] / Л. Х. М. Хассунех // *Вісн. Харк. нац. унів.* — 2006. — № 729. — С. 287–290. — (Серія «Біологія»).
14. *Bance J. E.* Phosphatidylserine и Phosphatidyl ethanolamine in mammalian cells: two metabolically related aminophospholipids syndrome [text] / J. E. Bance // *J. Lipid Res.* — 2008. — № 49. — P. 1377–1387.
15. *Эллиот В.* Биохимия и молекулярная биология [текст] / В. Эллиот, Д. Эллиот ; под ред. А. И. Арчакова, М. П., Кирпичникова, Е. А. Медведева, В. П. Скулачева. — М. : МАИК «Наука/Интерпериодика», 2002. — 446 с.
16. *Hodgkin M.* Diacylglycerols and phosphatidates: which molecular species are intracellular messengers? [text] / M. Hodgkin, T. Pettitt, A. Martin et al. // *Biochem. Sci.* — 1998. — № 23 (6). — P. 387–393.
17. *Shivendra D. Shukla* Metabolic turnover of ethanol into cellular lipids and platelet activating factor [text] / D. Shivendra // *Alcohol Clin. Exp. Res.* — 2001. — Vol. 25, N 5, Suppl ISBRA. — P. 33–39.
18. *Зинченко В. П.* Внутриклеточная сигнализация [текст] / В. П. Зинченко, Л. П. Долгачева // Пушино : Электронное издательство «Аналитическая микроскопия». — 2003. — 85 с.
19. *Hirai H.* Reversal by phosphatidylglycerol and cardiolipin of inhibition of transcription and replication by histones in vitro [text] / H. Hirai, S. Natori, K. Sekimizu // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1992. — № 298. — P. 458–463.
20. *Мельничук Д.* Метаболізм ліпідів в організмі жуйних тварин [текст] / Д. Мельничук, Л. Калачнюк, Г. Калачнюк та ін. // *Вісн. Львів. ун-ту.* — 2003. — Вип. 34. — С. 41–51. — (Серія «Біологія»).
21. *Томчук В. А.* Природа і склад жирних кислот ліпідів крові новонароджених телят при диспепсії [текст] / В. А. Томчук, Д. О. Мельничук // *Укр. біохім. журн.* — 2003. — Т. 75, № 1. — С. 72–77.

**Рецензент:** головний науковий співробітник лабораторії екологічної фізіології та якості продукції, доктор сільськогосподарських наук, с. н. с. Рівіс Й. Ф.