

УДК 619:547.953:615.3:611.3.018:612.017:636.2

ВПЛИВ ЛІПОСОМАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ ПЛАЗМАЛЕМИ ЕНТЕРОЦИТІВ НОВОНАРОДЖЕНИХ ТЕЛЯТ У ПЕРІОД ФОРМУВАННЯ КОЛОСТРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ

Маринюк М.О., асистент, marynyuk_mo@nubip.edu.ua

Цвіліховський В.І. к. біол. н., доцент,

Якимчук О.М., к. біол. н., доцент

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

Анотація. Жирнокислотний склад ліпідів визначає морфо-функціональний стан клітинних мембран. Насиченість жирних кислот ліпідів плазмалеми ентероцитів може впливати на проходження молозивних імуноглобулінів у незмінному вигляді через епітелій тонкого кишечника в період формування колострального імунітету. Тому метою цієї роботи було дослідити вплив нативних ліпосом та препарату Мембраностабіл на жирнокислотний склад ліпідів плазмалеми ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят у період формування колострального імунітету. Результати досліджень вказують на те, що плазмалема ентероциту тонкого кишечника максимально включається в процес всмоктування Ig молозива з першого випоювання його новонародженому теляті. На думку авторів це може пояснюватись більш легким розривом зв'язків ненасичених жирних кислот ліпідів плазмалеми ентероцитів при формуванні піноцитозного пухирця.

Ключові слова: *новонароджені телята, колостральний імунітет, жирні кислоти, ліпосоми, ентероцити, тонкий кишечник*

Актуальність проблеми. Морфо-функціональний стан плазмалеми ентероцитів тонкого кишечника в певній мірі визначається жирнокислотним складом ліпідів мембрани, а саме наявністю в них насичених і ненасичених жирних кислот і їх співвідношенням [5, 6]. Насиченість жирних кислот ліпідів може бути одним із факторів, що впливає на проходження молозивних Ig у незмінному вигляді через епітелій тонкого кишечника в період формування колострального імунітету [3, 5, 6]. Разом з тим, вказаний фактор має бути регульованим, оскільки плазмалема ентероцитів тонкого кишечника вже в першу добу після народження теляти набуває певної жорсткості для того, щоб протистояти потраплянню в організм новонародженого небажаних патогенних чинників [4].

Виходячи з означеного вище, **метою роботи** було дослідити вплив нативних ліпосом та препарату Мембраностабіл на жирнокислотний склад ліпідів плазмалеми ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят у період формування колострального імунітету.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проводились на телятах чорно-рябої породи в період від їх 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 години протягом першої доби.

Телята першої дослідної групи двічі, за 15 хвилин до першого випоювання молозива, а потім через 12 годин, за 15 хвилин до чергового випоювання молозива, отримували нативні ліпосоми у вигляді макрокапсул (середній розмір ліпосом 46,5 нм) у дозі по 5 мл з теплою водою (t37°C) в кількості 50 мл. Телята другої дослідної групи двічі, за 15 хвилин до першого випоювання молозива, а потім через 12 годин, за 15 хвилин 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 Мембраностабіл.

Визначення вмісту жирних кислот у дослідних зразках проводили після народження телят, до першої годівлі їх молозивом та через 6 і 24 години життя тварин з використанням відомих методичних підходів [1, 2].

Результати дослідження. З використанням методу газорідинної хроматографії нами здійснено розділення жирних кислот плазмалеми ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят при їх народженні, до випоювання молозива, а також телят контрольної та дослідних груп у віці 6 та 24 години. Було виявлено 21 жирну кислоту з довжиною вуглецевого ланцюга від C10 (капринова кислота) до C24 (лігноцерінова кислота). Серед виявлених жирних кислот 9 були насиченими, а 12 ненасиченими (табл. 1).

Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини

Отримані нами дані вказують на суттєві зміни в плазмалемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят після випоювання їм молозива, які спрямовані в бік підвищення в ній рівня окремих насичених жирних кислот.

Так, у плазмалемі ентероцитів порожньої кишки телят контрольної групи у віці 6 годин порівняно з телятами після народження, до першого випоювання їм молозива, встановлено достовірне ($p \leq 0,01$ – $p \leq 0,001$) підвищення вмісту 5-ти із 9-ти насичених жирних кислот з довжиною вуглецевого ланцюга до С16, а саме капринової, лауринової, міристинової, пентадеканової та пальмітинової в 1,77, 4,17, 5,75, 2,17 та 1,55 рази, відповідно. Натомість, вміст насичених жирних кислот з довжиною вуглецевого ланцюга від С18 і більше, а саме стеаринової (С18:0) та арахінової (С20:0), у плазмалемі ентероцитів телят контрольної групи був достовірно нижчим у 1,38 та 1,24 рази, відповідно, порівняно з телятами до випойки молозива.

Звертає на себе увагу також те, що в плазмалемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят контрольної групи у віці 6 год був достовірно вищим вміст 3-х ненасичених жирних кислот з вуглецевим ланцюгом до С20:1, а саме міристоолеїнової (С14:1), γ -ліноленової (С18:3n6) та гадолеїнової (С20:1) у 3,0, 1,36 і 4,3 рази, відповідно, порівняно з телятами до випойки молозива.

Таблиця 1

Вміст жирних кислот у плазмалемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят, %, $M \pm m$, $n=5$

Жирні кислоти	Новонароджені телята						
	До випоювання молозива	Вік 6 годин			Вік 24 години		
		Контрольна група	Перша дослідна група	Друга дослідна група	Контрольна група	Перша дослідна група	Друга дослідна група
1	2	3	4	5	6	7	8
Капринова С10:0	0,13±0,01	0,23±0,01*	0,38±0,01 ^Δ	0,14±0,01 ^{Δ□□}	2,30±0,08 ^{□□}	1,44±0,13 ^Δ	0,71±0,01 ^{Δ□□}
Лауринова С12:0	0,23±0,01	0,96±0,02*	1,41±0,01 ^Δ	0,82±0,01 ^{Δ□□}	3,26±0,08 ^{□□}	2,30±0,13 ^Δ	1,53±0,04 ^{Δ□□}
Міристинова С14:0	1,07±0,01	6,15±0,01*	9,78±0,04 ^{ΔΔ}	6,90±0,09 ^{□□}	7,97±0,18 [□]	6,90±0,14	6,82±0,14
Міристолеїнова С14:1	0,14±0,01	0,42±0,03*	0,66±0,04 ^{**Δ}	0,39±0,01 ^{□□□}	0,77±0,02 ^{□□}	Сліди	0,63±0,02
Пентадеканова С15:0	0,36±0,01	0,78±0,01*	0,88±0,01 ^{**}	0,93±0,03 ^{**}	0,92±0,04 [□]	Сліди	0,73±0,01
Пальмітинова С16:0	20,01±0,13	31,06±0,05 ^{**}	38,02±0,34 ^{**Δ}	31,02±0,33 [□]	20,71±0,05 ^{□□}	23,15±0,39	28,36±0,04 ^{Δ□}
Пальмітоолеїнова С16:1	1,94±0,06	1,96±0,03	2,22±0,05	1,95±0,04	2,25±0,04	2,55±0,06	2,20±0,25
Гептадеканова С17:0	1,30±0,01	1,13±0,01	1,00±0,01	1,18±0,04	0,71±0,01 ^{□□}	Сліди	0,91±0,04 ^Δ
Гептадеценова С17:1	0,83±0,03	0,83±0,01	0,77±0,04	0,89±0,01 [□]	0,75±0,01	Сліди	0,76±0,00
Стеаринова С18:0	19,36±0,05	14,08±0,02*	9,51±0,17 ^{ΔΔ}	12,45±0,16 [□]	13,37±0,06	14,81±0,12	13,45±0,21
1	2	3	4	5	6	7	8
Олеїнова С18:1n9c	18,42±0,21	19,57±0,19	20,24±0,11	20,79±0,06	21,88±0,25	23,97±0,25	25,62±0,04 ^Δ
Лінолева С18:2n6c	11,48±0,20	10,33±0,12	6,85±0,07 ^{ΔΔ}	10,91±0,10 ^{□□}	15,62±0,11 ^{□□}	13,57±0,91	11,40±0,09 ^Δ
Арахінова С20:0	0,39±0,02	0,16±0,04*	0,17±0,01 ^{**}	0,23±0,01 ^{**}	0,21±0,01	Сліди	0,14±0,01 ^Δ
γ -ліноленова С18:3n6	0,25±0,02	0,34±0,01	0,27±0,01 ^Δ	0,50±0,02 ^{**Δ□□}	1,88±0,02 ^{□□}	0,14±0,01 ^{ΔΔ}	0,95±0,01 ^{Δ□□}
Гадолеїнова С20:1	0,10±0,03	0,43±0,05*	0,31±0,01 ^{**Δ}	0,30±0,04 ^{**Δ}	0,43±0,01	Сліди	0,53±0,02
Ейкозадієнова С20:2	4,42±0,01	2,18±0,04*	1,59±0,07 ^{**Δ}	2,07±0,01 ^{**□}	1,02±0,01 ^{□□}	1,37±0,03	1,23±0,01
Арахідонова С20:4n6	17,34±0,18	8,21±0,11*	5,02±0,08 ^{**ΔΔ}	7,12±0,12 ^{**□}	5,02±0,03 ^{□□}	8,63±0,4 ^{ΔΔ}	3,42±0,05 ^{Δ□□}
Докозадієнова С22:2	0,73±0,04	0,35±0,04*	0,26±0,01 ^{**Δ}	0,38±0,01 ^{**□}	0,41±0,01	0,23±0,01 ^{ΔΔ}	0,24±0,01 ^{ΔΔ}

Лігноцерінова C24:0	0,20±0,0 2	0,20±0,02	0,12±0,0 1** ^Δ	0,16±0,0 1	0,14±0,0 1	Сліди	0,11±0,01
Ейкозапентаєнова C20:5n3	0,21±0,0 3	0,20±0,02	0,12±0,0 2	0,17±0,0 1	0,15±0,0 1	Сліди	0,11±0,01
Докозагексаєнова C22:6n3	1,14±0,0 4	0,49±0,07* *	0,47±0,0 3**	0,76±0,0 1** ^Δ ^{□□}	0,29±0,0 2 ^{°□}	0,94±0,0 2 ^{ΔΔ}	0,20±0,03 ^{□□}
Всього	100	100	100	100	100	100	100

Примітки: * $p \leq 0,01$, ** $p \leq 0,001$ між показниками телят віком 6 год. та телятами до випоювання молозива

^Δ $p \leq 0,01$, ^{ΔΔ} $p \leq 0,001$ між показниками телят дослідних груп та телят контрольної групи віком 6 год., а також між показниками цих груп тварин віком 24 год.

[□] $p \leq 0,01$, ^{□□} $p \leq 0,001$ між показниками телят другої та першої дослідних груп віком 6 год., а також між показниками цих груп тварин віком 24 год.

[°] $p \leq 0,01$, ^{°°} $p \leq 0,001$ між показниками телят контрольної групи віком 6 та 24 год.

З іншого боку, вміст у плазмалемі ентероцитів порожньої кишки телят контрольної групи 4-х із 12-ти ненасичених жирних кислот з довжиною вуглецевого ланцюга C20:2 і більше на 6-ту годину життя тварин достовірно знизився для ейкозадієнової (C20:2), арахідонової (C20:4n6), докозадієнової (C22:2) та докозагексаєнової (C22:6n3) жирних кислот у 2,03, 2,11, 2,09 і 2,33 раза, відповідно (див. табл. 1).

У телят першої дослідної групи, під впливом застосованих нами нативних ліпосом, зміни жирнокислотного складу ліпідів плазмалемі ентероцитів порожньої кишки на 6-ту годину життя тварин виявилися ще більш вираженими. Так, крім достовірних змін щодо вмісту в плазмалемі ентероцитів вказаних вище жирних кислот порівняно з періодом до першого випоювання молозива, у телят першої дослідної групи встановлені достовірні відмінності порівняно з контролем. А саме, в плазмалемі ентероцитів порожньої кишки цих тварин, порівняно з телятами контрольної групи, встановлено достовірний вищий ($p \leq 0,01$ – $p \leq 0,001$) вміст насичених жирних кислот з вуглецевим ланцюгом до C16 – капринової (C10:0), лауринової (C12:0), міристинової (C14:0) та пальмітинової (C16:0) у 1,65, 1,47, 1,59 і 1,22 раза, відповідно, та достовірно нижчий вміст стеаринової (C18:0) жирної кислоти в 1,48 раза ($p \leq 0,001$). Натомість, серед ненасичених жирних кислот у плазмалемі ентероцитів порожньої кишки телят першої дослідної групи встановлено вищий вміст міристоолеїнової (C14:1) жирної кислоти в 1,57 раза ($p \leq 0,001$), тоді як вміст інших ненасичених жирних кислот з довжиною вуглецевого ланцюга більше C18, а саме лінолевої (C18:2n6c), γ -лінолевої (C18:3n6), гадолієнової (C20:1), ейкозадієнової (C20:2), арахідонової (C20:4n6) та докозадієнової (C22:2), був достовірно нижчим ($p \leq 0,01$ – $p \leq 0,001$) у 1,51, 1,26, 1,39, 1,37, 1,64 та 1,35 раза, відповідно (див. табл. 1).

Показники жирнокислотного складу ліпідів плазмалемі ентероцитів порожньої кишки телят другої дослідної групи, під впливом застосованого нами препарату Мембраностабіл, на 6-ту годину життя тварин мали подібну закономірність, що спостерігалась у телят контрольної групи цього ж віку, з незначними відмінностями щодо вмісту в мембрані окремих жирних кислот.

У віці 24 години, порівняно з 6-ю годиною життя тварин, у плазмалемі ентероцитів порожньої кишки телят контрольної групи встановлено достовірне зростання вмісту ряду жирних кислот з довжиною вуглецевого ланцюга до C15, а саме – капринової, лауринової, міристинової та пентадеканої в 10,0, 3,40, 1,30 та 1,18 раза, відповідно, за достовірного зниження вмісту пальмітинової та гептадеканої насичених жирних кислот у 1,50 та 1,59 раза, відповідно, ($p \leq 0,001$).

При цьому в плазмалемі ентероцитів порожньої кишки телят контрольної групи спостерігалось достовірне підвищення вмісту ненасичених жирних кислот з довжиною вуглецевого ланцюга до C18, а саме міристоолеїнової, лінолевої та γ -лінолевої в 1,83, 1,51 та 5,53 раза, відповідно, за достовірного зниження вмісту ненасичених жирних кислот з довжиною вуглецевого ланцюга від C20 і більше – ейкозадієнової, арахідонової та докозагексаєнової в 2,14, 1,64 та 1,69 раза, відповідно, ($p \leq 0,001$), (див. табл. 1).

У плазмалемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят першої та другої дослідних груп, під впливом застосованих нами нативних ліпосом та препарату Мембраностабіл, відповідно, на 24-у годину життя тварин встановлено подібну закономірність жирнокислотного складу, що й в телят контрольної групи, за винятком кількісного вмісту окремих жирних кислот. Це може вказувати на стабілізацію плазмалемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят в період зниження піку всмоктування імуноглобулінів молозива в 1-добовому віці тварин.

Висновки

1. Внаслідок випоювання молозива новонародженим телятам в ліпідному складі плазмалемі ентероцитів порожньої кишки відбуваються зміни, що характеризуються достовірним підвищенням вмісту окремих насичених та зниженням вмісту ненасичених жирних кислот. Це

вказує на те, що з кожним послідовним випоюванням молозива новонародженому теляті інтенсивність всмоктування колостральних імуноглобулінів значно зменшується.

2. Застосування новонародженим телятам нативних ліпосом та препарату Мембраностабіл у період формування колострального імунітету сприяє подовженню часу ненасиченості жирних кислот ліпідів плазмалеми ентероцитів. Це забезпечує максимальне всмоктування імуноглобулінів молозива в кишечнику новонароджених телят, що можна пояснити легким розривом зв'язків ненасичених жирних кислот ліпідів плазмалеми ентероцитів при формуванні піноцитозного пухирця.

Література

1. ДСТУ ISO 5508:2001 Жири та олії тваринні та рослинні. Аналіз методом газової хроматографії метилових ефірів жирних кислот.
2. ДСТУ ISO 5509:2002 Жири та олії тваринні і рослинні. Приготування метилових ефірів жирних кислот (ISO 5509:2000, IDT).
3. 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.
4. Marinyuk M. Effect of native and saturated vitamin liposomes on the formation of maternal immunity of newborn calves // *Animal biology*. — 2015. — Vol. 17. — №3. — P. 79–85.
5. Nakamura M. T. Structure, function and dietary regulation of delta-6, delta-5 and delta-9 desaturases / M. T. Nakamura, T. Y. Nara // *Annual Review of Nutrition*. — 2004. — Vol. 24. — P. 345-376.
6. Uauy R. Essential fatty acids as determinants of lipid requirements in infants, children and adults / R. Uauy, P. Mena, D. Valenzuela // *Eur. J. Clin. Nutr.* — 1999. — №53. — Suppl. 1. — P. 66–77.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ ПЛАЗМАЛЕММЫ ЭНТЕРОЦИТОВ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ В ПЕРИОД ФОРМИРОВАНИЯ КОЛОСТРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА

Марынюк Н.А., Цвиліховський В.І., Якимчук О.Н.

Анотация. Жирнокислотный состав липидов определяет морфо-функциональное состояние клеточных мембран. Насыщенность жирных кислот липидов плазмалеми энтероцитов может влиять на проникновение молозивных иммуноглобулинов в нативном состоянии сквозь эпителий тонкого кишечника в период формирования колострального иммунитета. Поэтому целью этой работы было исследовать влияние нативных липосом и препарата Мембраностабил на жирнокислотный состав липидов плазмалеми энтероцитов тощей кишки новорожденных телят в период формирования колострального иммунитета. Результаты исследований указывают на то, что плазмалемма энтероцита тощей кишки максимально включается в процесс всасывания Ig молозива с первой выпойки его новорожденному теленку. С точки зрения авторов, это объясняется более легким разрывом связей ненасыщенных жирных кислот липидов мембраны во время формирования пиноцитозного пузырька.

Ключевые слова: новорожденные телята, колостральный иммунитет, жирные кислоты, липосомы, энтероциты, тощий кишечник.

INFLUENCE OF DRUGS ON FATTY ACID LIPOSOMAL COMPOSITION OF LIPIDS OF ENTEROCYTES PLASMOLEMMMA OF NEWBORN CALF DURING COLOSTRAL IMMUNITY FORMATION

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

Morphological and functional state of enterocytes plasmalemma of the small intestine is determined by the fatty acid composition of membrane lipids to some extent, namely the presence of saturated and unsaturated fatty acids and their ratio. The saturation fatty acid lipids may be one of the factors influencing the passage colostric Ig unchanged through the epithelium of the small intestine during the formation of colostral immunity.

Based on the above, the aim was to investigate the effect of native liposomes and drug Membranostabil to fatty acid composition lipids of enterocytes plasmalemma of newborn calf during colostral immunity formation. Materials and methods. Research conducted on calves black-motley breed from their birth till 1-day age. It was formed three groups of calves (control and two experimental) of 5 animals each. Calves all groups were watered 2 liters of colostrum after birth, and then 1.5 liters every 4 hours during the first day.

Calves from the first experimental group twice for 15 minutes before the first watering colostrum and then in 12 hours, 15 minutes before watering colostrum received native liposomes as makrokapsul (average size of liposomes 46.5 nm) at a dose of 5 ml of warm water (t37°C) of 50 ml.

Calves from the second experimental group twice for 15 minutes before the first watering colostrum and then in 12 hours, 15 minutes before watering colostrum received the same amount of liposomes with the Vitamin A (4,000 IU) and E (15 mg), which patented by us as drug called Membranostabil. Determination the content of lipids and proteins in the experimental samples was carried out after the birth of calves, the first feeding of colostrum and after 6 and 24 hours of animals life using known methodological approaches.

Визначення вмісту жирних кислот у дослідних зразках проводили після народження телят, до першої годівлі їх молозивом та через 6 і 24 години життя тварин з використанням відомих методичних підходів. Research results. The separation of fatty acids in enterocytes plasmalemma of the jejunum of newborn calves was carried out by gas chromatography method. There were found 21 fatty acids: 9 saturated and 12 unsated.

Our data indicate significant changes in enterocytes plasmalemma of the jejunum of newborn calves after watered of colostrum, directed upward most of it saturated fatty acids. The significant content increasing of capric, lauric, myristic, pentadecanoic, palmitic fatty acids and significant reduction of stearic and arachidic fatty acids were found in 6 hours old calves from control group .

The significantly higher content of myristoleic, γ -linolenic, gondoic fatty acids and significantly decreased content of eicosadienoic, arachidonic, docosadienoic and docosahexaenoic fatty acids were found in 6 hours old calves, compared to calves with colostrum watering.

The significantly higher content of capric, lauric, myristic, palmitic, myristoleic fatty acids and significantly decreased content of stearic, linoleic, γ -linolenic, gondoic, eicosadienoic, arachidonic and docosadienoic fatty acids compared to control were found under the influence of the applied native liposomes in calves from the first research group.

These indicators have a similar pattern on 6 hours of animal life under the influence of the applied drug Membranostabil in calves from the second research group as observed in the control calves.

The significantly increasing content of capric, lauric, myristic, myristoleic, linoleic, γ -linolenic and pentadecanoic fatty acids and significantly decreasing content of palmitic, heptadecanoic, eicosadienoic, arachidonic and docosahexaenoic fatty acids in enterocytes plasmalemma of the jejunum of newborn calves from control group in 24 hours old compared to 6 hours of animal life.

The similar pattern of fatty acid composition was found in enterocytes plasmalemma of the jejunum of calves from the first and the second research group on 24 hours of life under the influence of the applied native liposomes and drug Membranostabil as in control calves. This may indicate a stabilization enterocytes plasmalemma of the jejunum of newborn calves during peak decrease absorption of colostrum immunoglobulins in 1-day age animals.