

represented by two structural forms: diffuse and secondary lymphoid nodules, and in the tunica muscularis – by only secondary lymphoid nodules.

Keywords: ducks, immunity, intestines, cecum, caecal (apical) diverticula, tunica mucosa, tunica muscularis, tunica serosa, lymphoid tissue, diffuse lymphoid tissue, secondary lymphoid nodules.

УДК 547.953:615.3:611.3.018:612.017:636.2

ВПЛИВ ЛІПОСОМ НА ІНТЕГРАЛЬНІ ПОКАЗНИКИ ПЛАЗМОЛЕМИ ЕНТЕРОЦИТІВ НОВОНАРОДЖЕНИХ ТЕЛЯТ У ПЕРІОД ФОРМУВАННЯ КОЛОСТРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ

М. О. МАРИНЮК, аспірант* кафедри терапії і клінічної діагностики
О. М. ЯКИМЧУК, кандидат біологічних наук, доцент кафедри терапії і
клінічної діагностики

М. І. ЦВІЛІХОВСЬКИЙ, доктор біологічних наук, професор кафедри
терапії і клінічної діагностики

**Національний університет біоресурсів і природокористування
України**

E-mail: marynyuk_mo@nubip.edu.ua, yakymchuk_om@nubip.edu.ua,
m_tsvilikhovsky@ukr.net

Анотація. У зв'язку з особливостями будови плаценти корів, що не передбачає передачу імуноглобулінів від матері до плода в утробний період, телята народжуються «беззахисними» до впливу патогенних факторів зовнішнього середовища. Відсутність імуноглобулінів у крові телят при народженні може призвести до виникнення імунодефіцитного стану. Надходження імуноглобулінів у кров новонародженого теляти забезпечується завдяки пасивному перенесенню імуноглобулінів молозива через плазмолему ентероцитів тонкого кишечника, морфо-функціональний стан якої забезпечують ліпіди та білки. Кількісний склад ліпідів і білків плазматичної мембрани ентероцитів тонкого кишечника має вікові особливості. Тому, метою цієї роботи було дослідити вплив нативних ліпосом і ліпосом насичених вітамінами (препарат «Мембраностабіл») на вміст ліпідів і білків та їх співвідношення в плазмолемі ентероцитів тонкого кишечника новонароджених телят у період активного формування колострального імунітету. Результати досліджень вказують на значний вплив нативних ліпосом та препарат «Мембраностабіл» на вміст ліпідів і білків та їх співвідношення в плазмолемі ентероцитів у період активного формування колострального імунітету, а також на стабілізацію морфо-функціонального стану

© М.О. МАРИНЮК, О. М. ЯКИМЧУК, М. І. ЦВІЛІХОВСЬКИЙ, 2017

*Науковий керівник – доктор біологічних наук, професор М. І. Цвіліховський

плазмолеми ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят на 24-ту годину їх життя.

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

Актуальність. Народження телят «беззахисними» до впливу факторів зовнішнього середовища за недостатнього рівня колостральних (молозивних) імуноглобулінів (Ig) в їх крові призводить до виникнення імунодефіцитних станів і системних захворювань у цих тварин вже з перших діб життя. Наприклад, однією з патологій травної системи, що виникають у новонароджених телят у перші доби їх життя, є розлади травлення. За цієї патології значна дегідратація і втрата організмом електролітів і води призводять до змін у мембранах клітин тонкого кишечника, внаслідок чого порушується процес пасивного та активного транспорту іонів через слизову оболонку тонкого кишечника в кров [4 – 8].

Основними структурними елементами плазмолеми ентероцитів є ліпіди та білки. Утворюваний ними бішар необхідний для чіткої регуляції фізіолого-біохімічних процесів, які відбуваються в клітині, та підтримання оптимальних умов функціонування мембранних ферментів, білків-транспортерів, білків-рецепторів тощо [1]. Найважливішою характеристикою ліпідної складової мембрани є показники, які визначають в'язкість її бішару.

Відомо, що якісний і кількісний склад ліпідів плазматичної мембрани ентероцитів тонкого кишечника має вікові особливості, а також може змінюватися внаслідок захворювань [2]. Враховуючи це, досить важливим є дослідження загальних показників плазмолеми ентероцитів порожньої кишки, а саме визначення вмісту в ній ліпідів, білків і ліпід/білкового співвідношення.

Виходячи з викладеного вище, метою роботи було дослідити вплив нативних і насичених вітамінами ліпосом на вміст ліпідів і білків та їх співвідношення в плазмолемі ентероцитів тонкого кишечника новонароджених телят у період активного 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 випоювання молозива, отримували нативні ліпосоми у вигляді макрокапсул (середній розмір ліпосом 46,5 нм) у дозі по 5 мл з теплою водою ($t37^{\circ}\text{C}$) 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 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».

Визначення вмісту ліпідів і білків 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, 3, 4].

Результати дослідження та їх обговорення. До випоювання молозива вміст ліпідів і білків у плазмолемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят складав $2,31 \pm 0,14$ та $1,82 \pm 0,11$ мкмоль/мг білка, відповідно. При цьому співвідношення ліпід/білок становило 1,27 (табл. 1), що вказує на переважання ліпідної частини. Можемо припустити, що такий уміст ліпідів і білків у плазмолемі ентероциту та їхнє співвідношення є оптимальними для пасивного проникнення імуноглобулінів молозива через плазмолему ентероцитів порожньої кишки шляхом піноцитозу в клітину, а потім – у кров'яне русло тварини.

Внаслідок випоювання молозива новонародженим телятам відбувалися зміни в ліпідному та білковому складі плазмолемі ентероцитів тонкого кишечника, що супроводжувалися змінами співвідношення ліпід/білок.

Так, через 6 годин після народження в плазмолемі ентероцитів тонкого кишечника телят контрольної групи вміст ліпідів залишався майже на тому самому рівні, тоді як вміст білків був у 1,30 раза меншим ($p \leq 0,01$), ніж після народження тварин, і становив $1,40 \pm 0,07$ мкмоль/мг (див. табл. 1).

1. Вміст ліпідів, білків та їх співвідношення в плазмолемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят, мкмоль/мг білка, $M \pm m$, $n=5$

Показник	Новонародженні телята						
	До випоювання молозива	Віком 6 годин			Віком 24 години		
		Контрольна група	Перша дослідна група	Друга дослідна група	Контрольна група	Перша дослідна група	Друга дослідна група
Ліпіди	$2,31 \pm 0,14$	$2,36 \pm 0,12$	$2,25 \pm 0,12$	$2,17 \pm 0,13$	$2,17 \pm 0,13$	$2,40 \pm 0,14$	$2,60 \pm 0,15 \square \circ$
Білки	$1,82 \pm 0,11$	$1,40 \pm 0,07^*$	$2,64 \pm 0,14^{**\Delta}$	$2,93 \pm 0,17^{**\Delta}$	$3,20 \pm 0,19 \square \square$	$3,16 \pm 0,18 \square$	$3,29 \pm 0,19$
Ліпід/Білок	1,27	1,68	0,85	0,74	0,68	0,76	0,79

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

$\Delta p \leq 0,001$ між показниками телят дослідних груп та телят контрольної групи віком 6 год

$\square p \leq 0,05$ між показниками телят першої/другої дослідних груп віком 24 години до телят першої/другої дослідних груп віком 6 годин

$\square \square p \leq 0,001$ між показниками телят контрольної групи віком 6 та 24 години

$\circ p \leq 0,05$ між показниками телят другої дослідної групи та телят контрольної групи віком 24 год

Одержані нами дані вказують на зміну в'язкості плазмолемі ентероцитів порожньої кишки впродовж перших 6-ти годин життя телят.

На це вказує й показник ліпід/білкового співвідношення, який у плазмолемі ентероцитів телят контрольної групи в 6-ти годинному віці становив 1,68, проти 1,27 при їх народженні.

Отримані нами дані свідчать про швидку динаміку змін морфо-функціонального стану плазмолемі ентероцитів тонкого кишечника новонароджених телят у зв'язку з початком живлення їх молозивом. Варто зазначити, що в цей час має відбуватися найбільш інтенсивне всмоктування Ig молозива шляхом піноцитозу. Це передбачає втрату ліпідної компоненти плазмолемі ентероциту (разом із вбудованими в неї інтегральними білками) на формування піноцитозного пухирця, в якому міститься певна кількість молозивних імуноглобулінів.

У 6-ти годинному віці в плазмолемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят першої дослідної групи, які перед випоюванням молозива, отримували ліпосоми у вигляді макрокапсул, встановлено достовірно вищий вміст білків у 1,45 та 1,89 раза ($p \leq 0,001$), порівняно з цим показником до першої випойки телятам молозива і тваринами контрольної групи у віці 6 годин, відповідно. При цьому ліпід/білкове співвідношення в плазмолемі ентероцитів телят першої дослідної групи становило 0,85.

Переважання вмісту білків над ліпідами у плазмолемі клітини може впливати на формування деяких відмінностей від типових для суто ліпідного бішару. В результаті появи локальних флуктацій значний вміст білків впливає на активність ліпідного бішару плазмолемі ентероцитів [1]. У нашому випадку можна припустити, що у вказаний віковий період, застосування новонародженим телятам ліпосом сприяє підтриманню високої проникної здатності плазмолемі ентероцитів щодо транспорту Ig молозива, яка за ефективністю може дорівнювати, або й перевищувати таку, що є безпосередньо при народженні тварин, до першого випоювання їм молозива.

У плазмолемі ентероцитів порожньої кишки телят другої дослідної групи, яким ми застосовували ліпосоми з вітамінами А та Е, також встановлено достовірно вищий у 1,61 та 2,10 раза ($p \leq 0,001$) вміст білків порівняно з цим показником у них до першого випоювання молозива і з телятами контрольної групи, відповідно. Співвідношення ліпід/білок склало 0,74, що в 1,72 та 2,27 раза менше, ніж до випойки молозива та в телят контрольної групи 6 годинного віку. Одержані нами дані можуть вказувати на посилення ефективності дії ліпосом на морфо-функціональні характеристики плазмолемі ентероцитів при їх застосуванні в комплексі з вітамінами А та Е.

Через 24 години після народження вміст ліпідів у плазмолемі ентероцитів телят контрольної групи майже не змінювався, тоді як вміст білків вірогідно збільшився в 2,29 раза ($p \leq 0,001$), а співвідношення ліпід/білок склало 0,68.

Вміст ліпідів і білків у плазмолемі ентероцитів порожньої кишки телят першої та другої дослідних груп на 24-ту годину їх життя мав незначну тенденцію до зростання, порівняно з цими показниками у 6-ти

годинному віці, а співвідношення ліпід/білок складало 0,76 і 0,79, відповідно.

Висновки і перспективи. Морфо-функціональний стан плазмолемі ентероцитів порожньої кишки новонароджених телят стабілізується на 24-ту годину їх життя. В цей час нативні та насичені вітамінами А та Е ліпосоми справляють значно менший вплив на ліпідний і білковий склад та їх співвідношення у плазмолемі ентероцитів, порівняно з періодом інтенсивного формування колострального імунітету у новонароджених телят. Результати досліджень є важливими з точки зору обґрунтування застосування нативних і насичених вітамінами А та Е ліпосом для посилення та пролонгування колострального імунітету у новонароджених телят.

Список використаних джерел

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. Цвилюховский Н. И. Выделение, химический состав и транспортные АТФазы щеточной каймы 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.
4. 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.
5. Hurley W. L. Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk / W. L. Hurley, P. K. Theil // Nutrients. – 2011. – №3 (4). – P. 442–474.
6. Lorenz I. Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves / I. Lorenz, J. Fagan, S. J. More // Irish Veterinary Journal. – 2011. – №1. – P. 9–14.
7. 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-de la Nuez, D. Sánchez-Macías etc.] // J. Dairy Sci. – 2015. – V. 98. – №1. – P. 204–210.
8. Quercetin Feeding in Newborn Dairy Calves Cannot Compensate Colostrum Deprivation: Study on Metabolic, Antioxidative and Inflammatory Traits [Електронний ресурс] / [J. Gruse, E. Kanitz, J. M. Weitzel etc.]. – 2016. – Режим доступу до ресурсу: <http://journals.plos.org/sci-hub/cc/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0146932>.

References

1. Buhai, A. O. (2008). Lipidnyi sklad plazmolemy absorbtitsiynykh 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 jejunum of different age cattle]. Biochemical Journal, 62, 3, 87–94.

3. Tsvylykhovskiy N. Y. (1989). Videlenye, khymicheskyi sostav y transportnie ATFazy shchetochnoi kaimy y bazolateralnykh membran kletok kyshechnoho epytelyia vzrosloho krupnogo rohatoho skota, novorozhdennykh zdorovykh y bolnykh dyspepsyey 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.

4. Tsvilikhovskiy M. I. (1998). Bilyi plazmatychnoi membrany tonkoho kyshechnyky velykoi rohatoi khudoby [Proteins plasma membrane of the small intestine of cattle]. National Agricultural University. Kyiv, 38 s.

5. Hurley W. L. (2011) Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk. Nutrients, 3 (4), 442–474. doi: 10.3390/nu3040442

6. Lorenz I. (2011) Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves. Irish Veterinary Journal, 1, 9–14. doi: 10.1186/2046-0481-64-9

7. Hernández-Castellano, L. E., Morales-de-laNuez, 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

8. Gruse, J., Kanitz, E., Weitzel, J. M., Tuchscherer, A., Stefaniak, T., Jawor, P., Wolfram, S., Hammon H.M. (2016). Quercetin Feeding in Newborn Dairy Calves Cannot Compensate Colostrum Deprivation: Study on Metabolic, Antioxidative and Inflammatory Traits. Available at: <http://journals.plos.org/sci-hub.cc/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0146932>.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМ НА ИНТЕГРАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЛАЗМАЛЕММЫ ЭНТЕРОЦИТОВ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ В ПЕРИОД ФОРМИРОВАНИЯ КОЛОСТРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА

Н. А. Марынюк, О. Н. Якимчук, Н. И. Цвиликховский

Аннотация. В связи с особенностями строения плаценты коров, которая не предусматривает передачу иммуноглобулинов от матери к плоду в утробный период, телята рождаются «беззащитными» к влиянию патогенных факторов внешней среды. Отсутствие иммуноглобулинов в кров телят при рождении может привести к возникновению иммунодефицитного состояния. Поступление иммуноглобулинов в кровь новорожденного теленка обеспечивается с помощью пассивного переноса иммуноглобулинов молозива через плазмалемму энтероцитов тонкого кишечника, морфо-функциональное состояние которой обеспечивают липиды и белки. Количественный состав липидов и белков плазматической мембраны энтероцитов имеет возрастные особенности. Поэтому, целью этой работы было исследовать влияние нативных липосом и липосом насыщенных витаминами (препарат Мембраностабил) на содержание липидов и белков и их соотношение в плазмалемме энтероцитов тонкого

кишечника новорожденных телят в период активного формирования колострального иммунитета.

Результаты исследований указывают на значительное влияние нативных липосом и препарата Мембраностабил на содержание липидов и белков и их соотношение в плазмалемме энтероцитов в период активного формирования колострального иммунитета, а также на стабилизацию морфо-функционального состояния плазмалеммы энтероцитов тощей кишки новорожденных телят к 24-м часам их жизни.

Ключевые слова: новорожденные телята, колостральный иммунитет, липосомы, энтероциты, тонкий кишечник

THE LIPOSOME INFLUENCE ON INTEGRAL INDICATORS OF ENTEROCYTES' PLASMOLEMMMA OF NEWBORN CALF DURING COLOSTRAL IMMUNITY FORMATION

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

Summary. *In connection with structural features of cow placenta, that does not provide transfer of immunoglobulins from mother to fetus in fetal period, calves are born vulnerable to pathogenic influence of environmental factors. The lack of immunoglobulin in calves' blood at birth can lead to occurrence of immunodeficiency state. The entry of immunoglobulins to blood of newborn calf is provided by passive transfer of colostrum immunoglobulin through enterocytes' plasmalemma of the small intestine, which morphological and functional state is provided by lipids and proteins. The size of the lipids and proteins of plasma membrane of enterocytes of the small intestine has age features. Therefore the purpose of the work was to research the effect of native and saturated with vitamins liposomes (drug Membranostabil) on the content of lipids and proteins and their ratio in enterocytes plasmalemma of the small intestine of newborn calves during active colostral immunity formation. The research results show a significant influence of native liposomes and drug Membranostabil on the content of lipids and proteins and their correlation in enterocytes plasmalemma during active colostral immunity formation and on stabilisation of the morphological and functional state of enterocytes' plasmalemma in newborn calves' jejunum at 24th hour of their life.*

Keywords: *Newborn calves, colostral immunity, liposomes, enterocytes, small intestine*