

## ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДНОГО КОМПЛЕКСУ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ ПОРОСЯТ, ХВОРИХ НА КОЛІЕНТЕРОТОКСЕМІЮ

М. І. Рацький<sup>1</sup>, О. І. Віщур<sup>1</sup>, І. В. Кичун<sup>1</sup>, Н. А. Брода<sup>1</sup>, Н. М. Лешовська<sup>1</sup>,  
Д. І. Мудрак<sup>1</sup>, І. Є. Соловодзінська<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут біології тварин УААН

<sup>2</sup>Львівський національний аграрний університет

*Наведені дані про вміст холестеролу і жирнокислотний склад загальних ліпідів лімфоцитів крові клінічно здорових і хворих на колієнтеротоксемію поросят. Встановлено вірогідно більший вміст вільного холестеролу у лімфоцитах крові поросят хворих на колієнтеротоксемію, порівняно з клінічно здоровими. При цьому виявлено вірогідно менший вміст арахідонової і пальмітоолеїнової жирних кислот та більший — лауринової і міристинової кислот у складі загальних ліпідів лімфоцитів крові, у хворих на колієнтеротоксемію поросят. У загальних ліпідах лімфоцитів крові поросят, хворих на колієнтеротоксемію, відбувалось зниження десатураційних процесів, а саме — індекс десатурації (ІД) ненасичених жирних кислот, визначений за співвідношенням вмісту арахідонової і лінолевої кислот, зменшувався в 1,3 рази, порівняно з клінічно здоровими тваринами.*

**Ключові слова:** ПОРОСЯТА, КОЛІЕНТЕРОТОКСЕМІЯ, ЛІМФОЦИТИ, ЖИРНІ КИСЛОТИ, ХОЛЕСТЕРОЛ, ЛІПІДИ, ІНДЕКС ДЕСАТУРАЦІЇ, ПРОСТАГЛАНДИНИ.

В останні роки у дослідях на різних тваринах встановлено зв'язок між рівнем імунної відповіді та жирнокислотним складом ліпідів плазматичних мембран імунокомпетентних клітин за норми та патології [1–3]. Цей зв'язок зумовлений тим, що мембранні комплекси на поверхні лімфоцитів приймають участь у розпізнаванні антигенів, індукції клонів, у процесах активації і кооперації клітин, регуляції імунної відповіді. Склад ліпідів, ступінь ненасиченості жирних кислот, що входять до їх складу, значною мірою впливають на функціональну активність імунокомпетентних клітин. Саме ліпіди вважаються сполуками, які детермінують ультраструктурну організацію і функціональну активність мембранних структур. Про це свідчить специфічний склад структурних ліпідів та їх жирнокислотний спектр у різних видах клітинних мембран та пов'язана з ним функціональна спеціалізація мембранних органел і плазмолемі лімфоцитів [4].

Ліпіди в лімфоцитах входять до складу двох клітинних структур — мембран та цитоплазматичних жирових включень [4]. Жирові включення являють собою оточені моношаром фосfolіпідів вакуолі, що містять триацилгліцероли та ефіри холестеролу [5]. Особливістю ліпідів жирових включень у лейкоцитах є високий вміст у них поліненасичених жирних кислот. Встановлено, що кількість жирових включень і кількість поліненасичених жирних кислот у ліпідах лімфоцитів збільшується при стимулюванні імунної функції в організмі [4]. При цьому у їхньому складі збільшується вміст поліненасичених жирних кислот, особливо арахідонової (20:4 n-6), ейкозапентаєнової (20:5 n-3) та докозагексаєнової (22:6 n-3). Жирові включення у лейкоцитах, на відміну від жирових включень в інших клітинах, зокрема адипоцитах, не виконують функції енергетичного депо (або ж вона є не основною), а депонують поліненасичені жирні кислоти. Крім того, вони містять ферменти,

що забезпечують синтез ейкозаноїдів, жирних кислот (ацетил-КоА-карбоксилаза), холестеролу (сквален-епоксидаза, 17- $\beta$ -гідроксистероїлдегідрогеназа, ланостеринсинтаза) [4].

Поліненасичені жирні кислоти впливають на формування імунної відповіді організму, діючи як внутрішньоклітинні та міжклітинні медіатори [6–10]. Концентрація вільних жирних кислот у мембранах лімфоцитів у 10 разів більша, ніж в еритроцитах, що свідчить про високий рівень їх метаболізму в імунокомпетентних клітинах і важливу роль в реалізації імунних реакцій [1].

З арахідонової та ейкозапентаєнової кислот, які є похідними відповідно лінолевої та ліноленої кислот, в організмі синтезуються біологічно активні сполуки, частина з яких пов'язана із запальними процесами та імунною функцією [11–13]. Зокрема, встановлено, що зменшення вмісту лінолевої і арахідонової та збільшення вмісту стеаринової і олеїнової жирних кислот у фосфоліпідах мембран клітин слизової дванадцятипалої кишки поросят при запаленні призводить до підвищення плинності мембран і до різкого збільшення їх проникності при діарейному синдромі [14]. Виявлені порушення плинності мембран лімфоцитів, які обумовлені збільшенням вмісту насичених жирних кислот у ліпідному комплексі мембран за умов стафілокової інфекції [15].

У зв'язку з цим метою нашої роботи було порівняльне дослідження жирнокислотного складу загальних ліпідів лімфоцитів крові та вміст вільного холестеролу у клінічно здорових і хворих на колієнтеротоксемию поросят, які значно різняться за активністю лімфоцитів крові.

### **Матеріали і методи**

Дослід проведено у фермерському підприємстві «Едем», Жовківського р-ну Львівської обл. на клінічно здорових і хворих на ентеротоксемию поросятах великої білої породи. Для проведення біохімічних досліджень від клінічно здорових (контрольна група) і хворих на колієнтеротоксемию поросят (дослідна група) брали кров з краніальної порожнистої вени. Лімфоцити отримували із стабілізованої гепарином крові шляхом центрифугування у градієнті густини фікол-верографіну. Ліпіди лімфоцитів екстрагували за методом Блая і Даєра [16]. Жирні кислоти метилювали метилатом натрію за кімнатної температури з наступним підкисленням сірчаною кислотою і продовженням метилювання за температури 70 °С [17–19]. Жирнокислотний склад загальних ліпідів лімфоцитів визначали методом газорідної хроматографії на газовому хроматографі Hewlett Packard HP-6890 з полум'яно-іонізаційним детектором, обладнаному капілярною колонкою SP-2380, довжиною 100 м (Supelco). Програмували температуру термостату колонок від 40 °С до 260 °С. Температура дозатора 280°С. Температура детектора 290 °С. Газ-носій — гелій. Для ідентифікації хроматографічних піків та обрахунку хроматограм використовували стандарти метилових ефірів жирних кислот (Supelco).

Статистичну обробку одержаних даних проводили за комп'ютерною програмою Microsoft Excel.

### **Результати й обговорення**

З наведених у таблиці результатів досліджень видно, що у поросят, хворих на колієнтеротоксемию, порівняно з клінічно здоровими тваринами, вміст вільного холестерину в лімфоцитах крові був більшим у 1,6 раза ( $p < 0,05$ ). Отримані результати становлять значний інтерес у зв'язку з тим, що холестерол входить до складу клітинних мембран, а збільшення його вмісту у мембранах приводить до їх ущільнення і зниження функціональної активності.

Істотні зміни виявлено також у жирнокислотному спектрі загальних ліпідів лімфоцитів крові поросят при захворюванні колієтеротоксемією. Так, вміст арахідонової кислоти у загальних ліпідах лімфоцитів крові поросят, хворих на колієтеротоксемію, був менший на 23,4 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з її вмістом у загальних ліпідах лімфоцитів крові поросят контрольної групи (табл.). Пояснення цього слід шукати у підвищенні використання арахідонової кислоти в організмі поросят для синтезу простагландинів, у зв'язку з запальним процесом, обумовленим патогенною дією  $\beta$ -гемолітичних колібактерій. Разом з тим, вміст арахідонової кислоти у ліпідах клітинних мембран значною мірою залежить від активності десатураз, які каталізують їх синтез з лінолевої кислоти шляхом десатурації і елонгації жирних кислот [20].

Таблиця

**Вміст вільного холестеролу і жирнокислотний склад загальних ліпідів лімфоцитів поросят ( $M \pm m$ , %,  $n=5$ )**

Показники	Групи тварин	
	контрольна	дослідна
ВХ, нмоль/10 – клітин	2,34 $\pm$ 0,24	3,89 $\pm$ 0,11*
Капринова 10:0	—	0,57 $\pm$ 0,13
Лауринова 12:0	3,74 $\pm$ 0,51	7,98 $\pm$ 1,37*
Міристинова 14:0	5,30 $\pm$ 0,38	7,80 $\pm$ 0,81*
Міристоолеїнова 14:1	—	0,66 $\pm$ 0,08
Пентадеканова 15:0	—	1,01 $\pm$ 0,04
Пальмітинова 16:0	24,36 $\pm$ 0,62	26,25 $\pm$ 1,10
Пальмітоолеїнова 16:1	2,91 $\pm$ 0,53	1,39 $\pm$ 0,40*
Гептодеканова 17:0	0,33 $\pm$ 0,04	0,41 $\pm$ 0,05
Стеаринова 18:0	8,06 $\pm$ 0,54	7,56 $\pm$ 0,37
Олеїнова 18:1	21,4 $\pm$ 1,45	25,33 $\pm$ 0,61
Лінолева 18:2	9,34 $\pm$ 0,98	9,00 $\pm$ 0,49
Ліноленова 18:3	0,28 $\pm$ 0,09	0,31 $\pm$ 0,11
Нонандеканова 19:0	1,18 $\pm$ 0,55	0,74 $\pm$ 0,31
Ейкозадиснова 20:2	1,17 $\pm$ 0,30	0,78 $\pm$ 0,24
Арахідонова 20:4	12,52 $\pm$ 0,92	9,59 $\pm$ 0,51*
Ейкозапентаєнова 20:5	—	0,52 $\pm$ 0,11
Докозадиснова 22:2	5,82 $\pm$ 1,81	4,12 $\pm$ 0,94
Докозагексаєнова 22:6	1,45 $\pm$ 0,23	1,14 $\pm$ 0,32

*Примітка:* у цій таблиці різниці статистично вірогідні між поросятами контрольної та дослідної груп позначені: \* —  $p < 0,05$ .

Про зниження десатурації лінолевої кислоти в організмі хворих на колієтеротоксемію поросят свідчить менший у 1,3 раза індекс десатурації ненасичених жирних кислот, який характеризує співвідношення кількості арахідонової і лінолевої кислот у ліпідах лімфоцитів, порівняно з індексом десатурації у клінічно здорових тварин. Ці дані свідчать про супресію утворення арахідонової кислоти, попередником якої є лінолева кислота в лімфоцитах крові хворих на колієтеротоксемію поросят. Такі зміни характерні для клітин з ущільненою плазмолемою і зниженою чутливістю рецепторів лімфоцитарних мембран до відповідних антигенів.

З даних, наведених у таблиці, видно, що у загальних ліпідах лімфоцитів крові поросят дослідної групи відносна кількість лауринової і міристинової жирних кислот була відповідно в 2,1 ( $p < 0,05$ ) і 1,5 ( $p < 0,05$ ) раза більшою, а кількість пальмітоолеїнової в 2 рази меншою ( $p < 0,05$ ), ніж у лімфоцитах крові тварин контрольної групи. Зростання відносної кількості лауринової (12:0) і міристинової (14:0) жирних кислот у загальних ліпідах лімфоцитів крові поросят, хворих на колієтеротоксемію, можна пояснити їх стимулювальним впливом на

активність макрофагів і лімфоцитів та на утворення запальних цитокінів за умов патології [21, 22].

Отримані результати свідчать, що захворювання поросят на коліентеротоксемию спричиняє зниження відносного вмісту поліненасичених жирних кислот, зокрема арахідонової, і збільшенням насичених — лауринової і міристинової жирних кислот у складі загальних ліпідів лімфоцитів крові. Результати цих досліджень вказують на те, що за умов коліентеротоксемії у лімфоцитах поросят відбувається пригнічення елонгації поліненасичених жирних кислот та значне підвищення вмісту вільного холестеролу.

Вказані зміни показників стану ліпідного комплексу лімфоцитів крові поросят при захворюванні коліентеротоксемиєю дозволяють пояснити виявлене зниження функціональної активності лімфоцитів [23]. Виходячи з цього, можна логічно припустити, що жирнокислотний склад фосфоліпідів мембран лімфоцитів, як основного матричного компоненту, в яких відбувається більшість імунологічних реакцій, може визначати індивідуальну реактивність клітин.

У цілому, отримані результати свідчать про наявність зв'язку між жирнокислотним складом лімфоцитів і їх функціональною активністю при захворюванні поросят коліентеротоксемиєю. Встановлені закономірності обґрунтовують необхідність корегуючого впливу на ліпідний склад імунокомпетентних клітин у хворих на коліентеротоксемию поросят, з метою забезпечення умов для клітинної авторегенерації та дальшої реабілітації імунної системи в цілому.

## **Висновки**

1. При захворюванні поросят коліентеротоксемиєю в ліпідах лімфоцитів крові вірогідно зменшується кількість арахідонової кислоти і збільшується кількість лауринової і міристинової кислот.

2. Вміст вільного холестеролу в крові хворих на коліентеротоксемию поросят вірогідно менший, ніж у крові клінічно здорових поросят.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення біохімічних механізмів перебігу коліентеротоксемії у поросят та підвищення резистентності їх організму.

*M. Ratskiy, O. Vishchur, I. Kychun, N. Broda, N. Leshovska, D. Mudrak, I. Solovodzinska*

## **FATTY ACID COMPOSITION OF LIPID COMPLEX OF LYMPHOCYTE OF BLOOD OF PIGLINGS, PATIENTS SUFFERED FROM COLLIENTEROTOXEMIYA**

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

The results are given about maintenance of cholesterol and fatty acid composition of general lipids of lymphocytes of blood of clinically healthy and ill piglings suffered from collienterotoxemiya. Established credibly greater content of free cholesterol in lymphocytes of blood of ill piglings suffered from collienterotoxemiya, comparatively with clinically healthy. Thus found out for certain less content of arachidonic and pal'mitoleic fat acids and greater content of laurinic and myristic acids in composition of general lipids of limphocytes of blood, with ill piglings suffered from collienterotoxemiya. In general lipids of limphocytes of blood of piglings, suffered from collienterotoxemiya, there was a reduction of desaturate processes, especially the index of desaturase (ID) of the unsaturated fat acids, determined according to the correlation of content of arachidonic and linoleic acids, was diminishing 1, 3 times, comparatively with clinically healthy animals.

М. И. Рацкий, О. И. Вишур, И. В. Кичун, Н. А. Брода, Н. М. Лешовская, Д. И. Мудрак,  
И. Е. Соловдовинская

## ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДНОГО КОМПЛЕКСА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПОРОСЯТ, БОЛЬНЫХ НА КОЛИЭНТЕРОТОКСЕМИЮ

### А н н о т а ц и я

Предоставлены данные о содержании холестерина и жирнокислотном составе общих липидов лимфоцитов крови клинически здоровых и больных на колиэнтеротоксемию поросят. Достоверно установлено большее содержание свободного холестерина в лимфоцитах крови поросят больных на колиэнтеротоксемию, сравнительно с клинически здоровыми. При этом обнаружено достоверно меньшее содержание арахидоновой и пальмитоолеиновой жирных кислот и большее — лауриновой и миристиновой кислот в составе общих липидов лимфоцитов крови, у больных на колиэнтеротоксемию поросят. В общих липидах лимфоцитов крови поросят, больных на колиэнтеротоксемию, происходило снижение десатурационных процессов, а именно — индекс десатурации (ИД) ненасыщенных жирных кислот, определенный по соотношению содержания арахидоновой и линолевой кислот, уменьшался в 1,3 раза, сравнительно с клинически здоровыми животными.

1. Извекова В. А. Липиды мембран и функции иммунокомпонентных клеток в патологии / В. А. Извекова // Успехи соврем. биолог. — 1991. — Т. III, вып. 4. — С. 577–591.

2. Харази А. И. Роль производных арахидоновой кислоты в системе иммунитета и ее изменениях при старении / А. И. Харази, И. И. Нишель // Физиологический журнал. — 1990. — Т. 36, № 1. — С. 107–113.

3. Квачов В. Г. Стан ліпідного комплексу мембран лімфоцитів при запальному процесі у свиней / В. Г. Квачов, Т. О. Сокирко, В. Герега, О. І. Вішур // Наук. вісник Львівської держ. акад. вет. медицини. — 2000. — Т. 2, № 2, Ч. 1. — С. 76–78.

4. Bozza P. T. Mechanisms of leukocyte lipid body formation and function in inflammation / P. T. Bozza, C. V. Melo // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. — 2005. — Vol. 100, suppl. 1. — P. 113–120.

5. Tauchi-Sato K. The surface of lipid droplets is a phospholipid monolayer with a unique fatty acid composition / K. Tauchi-Sato, S. Ozeki, T. Houjou et al. // J. Biol. Chem. — 2002. — Vol. 277, N. 46. — P. 44507–44512.

6. Pompéia C. Effect of fatty acids on leukocyte function / C. Pompéia, L. R. Lopes, C. K. Miyasaka et al. // Braz. J. Med. Biol. Res. — 2000. — Vol 33. — P. 1255–1268.

7. Yaqoob P. Lipids and the immune response: from molecular mechanisms to clinical applications / P. Yaqoob // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. — 2003. — Vol. 6. — P. 133–150.

8. Horrocks L. A. Docosahexaenoic acid in the diet: its importance in maintenance and restoration of neural membrane function / L. A. Horrocks, A. A. Faroqui // Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. — 2004. — Vol. 70. — P. 361–372.

9. Doshi M. Effect of dietary enrichment with n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) or n-9 PUFA on arachidonate metabolism in vivo and experimentally induced inflammation in mice / M. Doshi, S. Watanabe, T. Niimoto et al. // Biol. Pharm. Bull. — 2004. — Vol. 27, N 3. — P. 319–323.

10. Das U. N. Essential fatty acids and their metabolites could function as endogenous HMG-CoA reductase and ACE enzyme inhibitors, anti-arrhythmic, anti-hypertensive, anti-atherosclerotic, anti-inflammatory, cytoprotective, and cardioprotective molecules / U. N. Das // Lipids in Health and Disease. — 2008. — Vol. 7. — P. 37–54.

11. *McCowen K. C.* Essential fatty acids and their derivatives / K. C. McCowen, B. R. Bistrian // *Curr. Opin. Gastroenterol.* — 2005. — Vol. 21. — P. 207–215.
12. *Calder P. C.* Long-chain polyunsaturated fatty acids and inflammation / P. C. Calder // *Scandinavian J. Food Nutr.* — 2006. — Vol. 50, suppl. 2. — P. 54–61.
13. *Das U. N.* Essential fatty acids and their metabolites could function as endogenous HMG-CoA reductase and ACE enzyme inhibitors, anti-arrhythmic, anti-hypertensive, anti-atherosclerotic, anti-inflammatory, cytoprotective, and cardioprotective molecules / U. N. Das // *Lipids in Health and Disease.* — 2008. — Vol. 7. — P. 37–54.
14. *Попова Е. М.* Фізіологія і біохімія тварин : тр. всеукр. конф. / Е. М. Попова, В. Г. Янович, Т. О. Сокирко— Львів, 1994. — С. 116.
15. *Afonina G. B.* Intern. Symp. on. Chromatography, 17-th. : abstract. / G. B. Afonina, V. G. Bordonos, T. S. Bryuzgina et al. — 1988. — V 1. — P. 125.
16. *Bligh E. G.* A rapid method for total lipid extraction and purification / E. G. Bligh, W. J. Dyer // *Can. J. Biochem. Physiol.* — 1959. — Vol. 37. — P. 911–917.
17. *Ichihara K.* An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids / K. Ichihara, A. Shibahara, K. Yamamoto et al. // *Lipids.* — 1996. — Vol. 31, N 5. — P. 535–539.
18. *Cert A.* Methods of preparation of fatty acid methyl esters (FAME). Statistical assesment of the precision characteristics from a collaborative trial / A. Cert, W. Moreda, M. C. Pérez-Camino // *Grasas y Aceites.* — 2000. — Vol. 51, N 6. — P. 447–456.
19. *Shaikh S. R.* Immunosuppressive effects of polyunsaturated fatty acids on antigen presentation by human leukocyte antigen class I molecules / S. R. Shaikh, M. Edidin // *J. Lipid Res.* — 2007. — Vol. 48. — P. 127–138.
20. *Янович В. Г.* Обмен липидов у животных в онтогенезе. / В. Г. Янович, П. З. Лагодюк. — М. : Агропромиздат, 1991. — 316 с.
21. *Smith C. W.* Diet and leukocytes / C. W. Smith // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2007. — Vol. 86. — P. 1257–1258.
22. *Легеза В. И.* Цитокины как средства ранней патогенетической терапии радиационных поражений. Эффективность и механизм действия / В. И. Легеза, Н. Г. Чигарева, Ю. А. Абдуль, И. Ш. Галеев // *Радиационная биология, радиозкол.* — 2000. — Т. 40, № 4. — С. 420–424.
23. *Рацький М. І.* Формування клітинного імунітету у поросят за умов колієнтеротоксемії / М. І. Рацький // *Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.* — Львів, 2009. — Вип. 10, № 1–2. — С. 408–411.

**Рецензент:** головний науковий співробітник Інституту біології тварин УААН, д. б. н., професор Янович В. Г.