

ЖИРНІ КИСЛОТИ ФОСФОЛІПІДІВ НАТИВНОЇ КРОВІ, ПЛАЗМИ ТА СИРОВАТКИ НОВОНАРОДЖЕНИХ ТЕЛЯТ, ХВОРИХ НА ДИСПЕПСІЮ

**В.А. Томчук,
Д.О. Мельничук**

Україна, Національний аграрний університет

Вперше вивчено склад жирних кислот ліпідів, екстрагованих з нативної крові, плазми та сироватки телят, хворих на диспепсію. Показано відмінності в кількісному співвідношенні насичених, мононенасичених та поліненасичених жирних кислот, яка заключається в зменшенні довголанцюгових поліненасичених жирних кислот при захворюванні телят на диспепсію. Інтенсивність зменшення залежить від компонентів крові, з яких екстрагувались ліпіди.

Ліпіди і особливо фосфоліпіди відіграють важливу роль у забезпеченні життєдіяльності організмів всіх рівнів організації, про що опубліковано в багатьох монографіях та експериментальних роботах. Ці компоненти беруть участь в розвитку інфекційних та соматичних патологічних процесах. Дякуючи успіхам ліпідології, стало відомо, що ліпіди є не тільки основним елементом ядерної мембрани, а і важливими компонентами

таких ядерних структур як хромосоми, хроматин і ядерний матрикс. Виявлені ДНК – пов'язані ліпіди, де домінують нейтральні ліпіди над фосфоліпідами. Крім того, такі ліпіди збагачені кардіоліпіном, ефірами холестерину та дігліцеридами. Серед жирних кислот великий інтерес мають кислоти з довгим вуглецевим ланцюгом. Такі жирні кислоти відіграють роль ендогенних роз'єднувачів окислювального фосфоритування, беруть участь в термогенезі, при пошкодженні клітин і тканин, при різних патологічних станах.

Мета даної роботи – вивчити склад жирних кислот фосфоліпідів, очищених від нейтральних ліпідів, екстрагованих з нативної крові, плазми та сироватки телят хворих на диспепсію.

Таблиця 1

**Природа і кількісний вміст окремих жирних кислот в фосфоліпідах
нативної крові телят, хворих на диспепсію**

Жирні кислоти	Здорові телята N=5	Хворі телята N=5
Лауринова C _{12:0}	0,12±0,02	0,54±0,05
Міристинова C _{14:0}	0,43±0,02	0,64±0,02
Миристолеїнова C _{14:1}	0,07±0,02	0,13±0,01
Пентадеканова C _{15:0}	0,07±0,02	0,10±0,01
Ізопальмітинова C _{16:0}	0,04±0,02	0,61±0,02
Пальмітинова C _{16:0}	27,7±2,2	34,70±3,0
Пальмітолеїнова C _{16:1}	7,28±2,2	5,76±1,2
Маргарінова C _{17:0}	0,24±0,02	0,17±0,04
Гептадеценова C _{17:1}	0,11±0,02	0,09±0,03
Ізостеаринова C _{18:0}	0,43±0,03	0,15±0,04
Стеаринова C _{18:0}	9,73±1,5	7,93±0,04
Олеїнова C _{18:1}	15,1±1,3	20,0±4,5
Лінолева C _{18:2}	18,7±0,06	24,2±2,5
Ліноленова C _{18:3}	0,20±0,04	0,80±0,04
Арахідова C _{20:0}	0,66±0,04	0,29±0,06
Гондова C _{20:1}	0,35±0,06	0,50±0,02
Генеїкозанова C _{21:0}	0,10±0,02	0,20±0,06
Ейкозантраснова C _{20:3}	3,10±0,02	0,19±0,04
Арахідонова C _{20:4}	3,59±0,9	2,50±0,08
Бегенова C _{22:0}	0,17±0,03	0,19±0,09
Докозантриєнова C _{22:3}	0,31±0,04	0,20±0,02
Докозанпентаєнова C _{22:5}	0,60±0,02	0,23±0,04
Докозангексаєнова C _{22:6}	0,30±0,04	0,23±0,03
Сума насичених	33,29	41,22
Сума ненасичених	66,71	58,78
Коефіцієнт насиченості	0,48	0,69

Для досліджень були сформовані дві групи новонароджених телят здорових (n=5) та хворих на диспепсію (n=5) з однаковими клінічними характеристиками перебігу хвороби. Кров брали з яремної вени в стерильні пробірки з гепарином та без нього. Гепаринізовану кров використовували для одержання плазми, а кров без гепарину для одержання сироватки. Нативну кров, плазму та сироватку перед екстракцією ліпідів ліофільно висушували, а потім екстрагували ліпіди за Фолчу. Для повної екстракції аніонних фосфоліпідів використовували метод. Фосфоліпіди з загальної фракції ліпідів відділяли від нейтральних ліпідів шляхом тонкошарової хроматографії використовуючи розчинники: толуол, діетиловий ефір, мурашину кислоту (40:60:1). У місці старту знаходились фосфоліпіди, пляму округляли пастерівською піпеткою, збирали спеціальним пристроєм разом з силікагелем в пробірку, де знаходився хлороформ з метанолом (26:1 %), центрифугували для осадження силікагелю, хлороформ-метаноловий розчин зливали в іншу пробірку. Потім для одержання концентрату фосфоліпідів

їх опарювали в тоці азоту і використовували для одержання метилових жирних кислот. Метиллові ефіри одержували 3H NCl в метанолі при 100°C , або за методом, де використовували метилування жирних кислот $1\% \text{H}_2\text{SO}_4$ в метанолі. Одержані метиллові ефіри чистили методом тонкошарової хроматографії на скляних пластинках 6×9 см з шаром силікагелю L – 5/40 (Lachemo, Чехія). Аналіз жирних кислот проводили або методом газорідинної хроматографії на хроматографі “Carlo Erba” (Італія) зі скляними набивними колонками ($2,5 \text{ м} \times 3 \text{ мм}$) на носії “Silar 5 CP” (Serva, Германія), або на хроматографі “Цвет-110” (Росія) згідно з методом. Кількість окремих жирних кислот фосфоліпідів визначали методом внутрішньої нормалізації.

Таблиця 2

**Природа і кількісний вміст жирних кислот в фосфоліпідах
сироватки крові телят, хворих диспепсією**

Жирні кислоти	Здорові телята N=5	Хворі телята N=5
Лауринова $\text{C}_{12:0}$	0,49±0,05	0,40±0,05
Міристинова $\text{C}_{14:0}$	0,69±0,05	0,77±0,06
Миристолеїнова $\text{C}_{14:1}$	0,08±0,02	0,10±0,02
Пентадеканова $\text{C}_{15:0}$	0,17±0,03	0,17±0,03
Ізопальмітинова $\text{C}_{16:0}$	0,55±0,05	0,53±0,05
Пальмітинова $\text{C}_{16:0}$	30,76±3,4	30,00±3,4
Пальмітолеїнова $\text{C}_{16:1}$	4,76±0,8	6,28±0,8
Маргарінова $\text{C}_{17:0}$	0,10±0,02	0,26±0,03
Гептадеценова $\text{C}_{17:1}$	0,27±0,03	0,28±0,02
Ізостеаринова $\text{C}_{18:0}$	0,13±0,02	0,48±0,02
Стеаринова $\text{C}_{18:0}$	6,95±1,2	6,02±0,6
Олеїнова $\text{C}_{18:1}$	21,00±2,2	24,19±1,6
Лінолева $\text{C}_{18:2}$	27,11±2,7	23,1±2,2
Ліноленова $\text{C}_{18:3}$	0,60±0,05	0,40±0,04
Арахінова $\text{C}_{20:0}$	0,39±0,03	0,30±0,02
Гондова $\text{C}_{20:1}$	0,50±0,05	0,60±0,05
Генеїкозанова $\text{C}_{21:0}$	0,21±0,09	0,30±0,05
Ейкозантраєнова $\text{C}_{20:3}$	0,14±0,02	0,09±0,03
Арахідонова $\text{C}_{20:4}$	3,60±0,5	2,90±0,5
Бегєнова $\text{C}_{22:0}$	0,08±0,02	0,09±0,03
Докозантриєнова $\text{C}_{22:3}$	0,30±0,04	0,15±0,03
Докозанпентаєнова $\text{C}_{22:5}$	0,18±0,02	0,08±0,04
Докозангексаєнова $\text{C}_{22:6}$	0,34±0,04	0,23±0,03
Сума насичених	34,05	42,9
Сума ненасичених	66,91	57,1
Коефіцієнт насиченості	0,46	0,76

У табл.1 наведені дані щодо природи та кількісного вмісту жирних кислот в фосфоліпідах крові здорових та хворих на диспепсію телят. Як і в інших компонентах крові виявлено 23 насичені, мононенасичені, поліненасичені та ізокислоти. Домінуюче положення займають в хворих та здорових насичена пальмітинова ($\text{C}_{16:0}$) жирна кислота, але в крові хворих цієї кислоти значно більше. В ліпідах крові здорових цієї кислоти знаходиться 27,7 відсотних відсотка, то в крові хворих – 34,70 відсотків. Пальмітолеїнової ($\text{C}_{16:1}$) жирної кислоти більше в крові здорових 7,28 відсотка, а в ліпідах хворих – 5,76 відсотків. Звертає на себе увагу зменшення ейкозантраєнової жирної кислоти, арахідонової ($\text{C}_{20:4}$), докозантраєнової ($\text{C}_{22:3}$), докозанпентаєнової ($\text{C}_{22:5}$), докозангексаєнової ($\text{C}_{22:6}$) жирних кислот.

У крові хворих загальна сума насичених жирних кислот становить 41,21 відсотка, мононенасичених + поліненасичених 58,78 відсотка, а коефіцієнт насиченості становить 0,69

проти 33,29 відсотків насичених, 66,71 відсотка моно-та поліненасичених і коефіцієнта насиченості 0,48, що більш ніж на 30 відсотків менше.

У табл.2 наведені дані про природу та кількісний вміст жирних кислот в фосфоліпідах, одержаних з сироватки крові телят хворих на диспепсію в порівнянні з здоровими. Як і в фосфоліпідах нативної крові домінуюче положення займають пальмітинова, пальмітолеїнова, стеаринова, олеїнова, лінолева та в якійсь мірі арахідонова жирні кислоти. У фосфоліпідах сироватки крові телят, хворих на диспепсію збільшується загальна кількість насичених жирних кислот і зменшується загальна кількість ненасичених, коефіцієнт насиченості загальної фракції фосфоліпідів сироватки крові хворих телят становить 0,76 проти 0,46 у здорових.

Таблиця 3

Природа і кількісний вміст жирних кислот в фосфоліпідах плазми крові телят, хворих диспепсією

Жирні кислоти	Здорові телята N=5	Хворі телята N=5
Лауринова C _{12:0}	0,29±0,02	0,50±0,05
Міристинова C _{14:0}	0,40±0,05	0,68±0,06
Миристолеїнова C _{14:1}	0,07±0,02	0,10±0,02
Пентадеканова C _{15:0}	0,08±0,02	0,16±0,02
Ізопальмітинова C _{16:0}	0,29±0,04	0,55±0,05
Пальмітинова C _{16:0}	27,7±2,5	32,7±3,5
Пальмітолеїнова C _{16:1}	10,6±2,1	5,40±0,8
Маргаринава C _{17:0}	0,24±0,04	0,47±0,04
Гептадеценова C _{17:1}	0,31±0,05	0,18±0,02
Ізостеаринова C _{18:0}	0,06±0,02	0,18±0,02
Стеаринова C _{18:0}	4,00±0,5	7,20±0,8
Олеїнова C _{18:1}	26,2±3,4	24,1±2,4
Лінолева C _{18:2}	19,0±2,5	22,0±1,4
Ліноленова C _{18:3}	5,60±1,2	2,90±0,4
Арахідова C _{20:0}	0,35±0,05	0,09±0,03
Гондова C _{20:1}	0,50±0,06	0,61±0,05
Генеїкозанова C _{21:0}	0,35±0,05	0,29±0,03
Ейкозантриєнова C _{20:3}	0,10±0,02	0,20±0,02
Арахідонова C _{20:4}	3,59±0,5	2,56±0,5
Бегенова C _{22:0}	0,17±0,03	0,25±0,03
Докозантриєнова C _{22:3}	0,21±0,03	0,10±0,04
Докозанпентаєнова C _{22:5}	0,16±0,02	0,11±0,03
Докозангексаєнова C _{22:6}	0,30±0,04	0,23±0,03
Сума насичених	33,29	42,21
Сума ненасичених	66,7	58,78
Коефіцієнт насиченості	0,54	0,67

У табл.3 наведені дані про жирні кислоти фосфоліпідів плазми крові здорових та хворих на диспепсію телят. Встановлена аналогічна ситуація. Домінуюче за кількістю положення займають ті ж кислоти, що і в фосфоліпідах нативної крові та сироватки. Збільшується в фосфоліпідах плазми крові хворих загальна кількість насичених жирних кислот і коефіцієнт насиченості. У крові хворих цей параметр становить 0,67, а у крові здорових 0,54.

Таким чином, одержані дані свідчать про зміну вмісту окремих жирних кислот в фосфоліпідах нативної крові, сироватці та плазмі телят хворих на диспепсію. Показано, що при диспепсії в фосфоліпідах відбуваються порушення кількості окремих жирних кислот, що заключається в першу чергу в збільшенні загальної кількості насичених та зменшенні загальної кількості моно- та поліненасичених. Особливо виражені зміни в фосфоліпідах сироватки. Порушення змін відбувається найбільш активно у відношенні довголанцюгових жирних

кислот – арахідонової ($C_{20:4}$), докозантриєнової ($C_{22:3}$), докозанпентаєнової ($C_{22:6}$). Кількість цих жирних кислот зменшується. Зменшується кількість і ліноленової ($C_{18:3}$) жирної кислоти.

Слід відмітити, що фосфоліпіди нативної крові, сироватки та плазми здорових телят також мають між собою кількісні відмінності.

Встановлені порушення в кількісному відношенні вмісту окремих жирних кислот є новим в патогенезі диспепсії новонароджених телят. Про роль жирних кислот в нативній крові лейкоцитах та еритроцитах ми обговорювали в одній із наших попередніх робіт.

Але слід доповнити про велике значення жирних кислот як розмежувачів окислювального фосфоритування, механізм якого заключається в стимуляції дихання при відсутності АТФ-ази, активації латентної АТФ-ази. Ці ефекти залежать від довжини вуглецевого ланцюга. Вони зростають зі збільшенням довжини ланцюга з 8 до 12 атомів і зменшується при довжині ланцюга 18-20 атомів. Крім того, кількість окремих жирних кислот в фосфоліпідах, які є фізіологічно-активними компонентами біологічних мембран, впливає на активну і пасивну дифузію іонів та інших компонентів як у клітину, так і з неї. Фосфоліпіди, їх кількість та склад впливають на регуляцію реплікації і транскрипції, стимулюють чи інгібують синтез РНК. Наші дані свідчать про важливу роль жирних кислот при такому патологічному явищі як диспепсія новонароджених телят і можуть бути використані при розробці нових методів та підходів в лікуванні цього захворювання. Слід відмітити, що при лікуванні ентеросорбентами в фосфоліпідах вказаних компонентів крові відбувається значна стабілізація цих порушень.

Вперше вивчено склад та природу фосфоліпідів, виділених з загальної фракції ліпідів нативної крові, сироватки та плазми. У фосфоліпідах крові та її компонентах вперше зареєстровано 23-насичені, мононенасичені, поліненасичені та ізокислоти.

Домінуюче положення за кількістю займають пальмітинова, пальмітолеїнова, олеїнова, лінолева, ліноленова та арахідонова жирні кислоти.

У хворих на диспепсію телят в фосфоліпідах крові відбувається життєвий перерозподіл кількості окремих жирних кислот. Вперше показано збільшення кількості насичених жирних кислот та зменшення кількості моно- та поліненасичених. Збільшується коефіцієнт насиченості. Найбільш виражені зміни виявлені в фосфоліпідах сироватки.