

## ЗМІНИ ЛІПІДНОГО СПЕКТРУ КЛІТИННИХ МЕМБРАН КОПИТНОЇ ДЕРМИ ЗА АСЕПТИЧНОГО ЇЇ ЗАПАЛЕННЯ В КОНЕЙ

**Лазоренко А.Б.**

*У статті викладено результати дослідження обміну ліпідів клітинних мембран копитної дерми за асептичного її запалення в коней. Встановлено, що розвиток гострого пододерматиту та хронічного ламініту в коней супроводжується зростанням у основі шкіри копит рівня фосфорилхоліну, холестеролу, двох залишків пальмітинової, пальмітинової і олеїнової, олеїнової і стеаринової кислот та появою і зростанням піків квазімолекулярних іонів не ідентифікованих речовин ліпідної природи в діапазонах молекулярних мас -  $m/z$  200-300. В умовах хронічного ламініту копитна дерма втрачає фосфоліпідні та тригліцеридні ліпідні комплекси, рівень яких істотно знижується порівняно із клінічно здоровими кіньми, тоді як за гострого пододерматиту їх вміст, навпаки, зростає.*

Постановка проблеми у загальному вигляді. Основа шкіри (дерма) копит є сполучнотканним утворенням із інтенсивним обміном речовин, що потребує значної кількості пластичних компонентів (протеїнів, білково-вуглеводних сполук та ліпідів) для забезпечення своїх метаболічних потреб [1].

Окрім позаклітинного білково-вуглеводного матриксу, колагенових та еластичних волокон, основа шкіри містить сполучнотканні клітини з істотною функціональною активністю, що продукують складний за складом та високо упорядкований морфологічний субстрат – позаклітинний матрикс копитної дерми.

Важливим компонентом клітин є її мембрана, в структурній організації якої, істотна роль належить ліпідним комплексам, особливість молекулярної будови котрих, визначають щільність упаковки ліпідів у мембранах та характер взаємодії з іншими мембранними компонентами [2,3].

Ліпідний подвійний шар виконує функцію структурної матриці для всіх білкових, ліпопротеїдних, білково-вуглеводних та гліколіпідних компонентів клітинних мембран чим зумовлює їх в'язкість, поверхневий заряд, полярність та забезпечує активність мембранних ензимів, функціонування рецепторів, контроль клітинного росту, утворення та дифузії поверхневих антигенів [3-5]. Пошкодження ліпідного шару призводить до загибелі клітин, втрачає здатності її до адгезії з іншими клітинами та зміни імунних властивостей клітинної поверхні [5-6].

Зв'язок роботи з важливими науковими чи практичними завданнями. У доступній літературі інформація щодо вивчення обміну структурних ліпідів клітинних біомембран копитної дерми в коней за гострих та хронічних асептичних пододерматитів є мізерною, що потребує подальшого з'ясування ролі порушення метаболізму ліпідів у механізмах розвитку запальної реакції в основі шкіри та опрацювання на цій основі патогенетично обґрунтованих методів лікування.

Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми. Дослідження ряду показників ліпідного обміну в

свиней та коней за гнійних і операційних ран вказують на зростання рівня жирних кислот (пальмітинової, олеїнової, стеаринової), холестеролу, фосфоліпідів та фосфорилхоліну в плазмі крові хворих тварин, що свідчить про істотне пошкодження клітинних мембран [7,8]. У тварин із запальною хірургічною патологією виявляються значні порушення обміну холестеролу, загальних ліпідів та бета-ліпопротеїдів за одночасної ініціації процесів ліпопероксидації [9].

Окрім гнійної хірургічної інфекції у тварин, порушенням метаболізму ліпідів у плазмі крові та синовіальній рідині супроводжується й розвиток асептичних артритів [10], а також хронічних асептичних пододерматитів у коней, що характеризується зниженням у копитному епідермісі рівня фосфорилхоліну, за одночасного зростання вмісту сумарної фракції фосфоліпідів [11].

Постановка завдання. Метою наших запланованих досліджень було визначення в копитній дермі ліпідної фракції клітинних біомембран за гострого асептичного пододерматиту та хронічного ламініту, що дозволить з'ясувати роль порушення ліпідного метаболізму в розвитку запальної реакції основи шкіри копит у коней.

Матеріал і методика дослідження. Матеріалом для досліджень були фрагменти основи шкіри стінок та підшви копит коней української верхової та російської рисистої порід, а також безпородних з копитами анатомічно правильної форми, без ортопедичної патології ( $n=12$ ), із гострими асептичними пододерматитами ( $n=10$ ) та хронічними ламінітами ( $n=8$ ). Зразки основи шкіри (3-10г) відбирали після забою тварин на м'ясокомбінатах із ділянки копитної стінки та підшви.

В отриманих зразках копитної дерми визначали вміст фосфорилхоліну ( $m/z$  184), холестеролу ( $m/z$  370), залишки пальмітинової кислоти ( $m/z$  551), пальмітинової та олеїнової кислот ( $m/z$  578), олеїнової та стеаринової кислот ( $m/z$  606), сумарної фракції фосфоліпідів ( $m/z$  700-800) та фракцію тригліцеридів ( $m/z$  800-900) методом атомно-адсорбційної мас-спектрометрії (PDMS) на мас-спектрометрофотометрії вітчизняного виробництва "МСБХ" (BAT Selmi,

Суми, Україна). У мас-спектрометрії (PDMS) іонізацію органічних молекул викликають високоенергетичні (до 100 MeV) уламки поділу радіонукліду  $^{252}\text{Cf}$ , що утворюються в результаті безперервного поділу. Виходячи із великою швидкістю в поверхневі шари зразку, уламки поділу викликають локальне (діаметр кратеру 30-50 нм) підвищення температури до 2000-3000  $^{\circ}\text{C}$  [12].

Таким чином, всі молекули органічних речовин і разом з ними аналітичні молекули які опинились в зоні розжареної плазми набувають заряду і виходять у газову фазу. Надалі вони розподіляються по заряду та підходять по черзі до детектору: спочатку найбільш легкі, потім середньої маси і нарешті важкі (для PDMS це 15000-20000 Да).

Тканинний хлороформ-метанольний екстракт зі зразку (10мкл) наносили на позолочений зразконесучій диск, розподіляли тefлоновою платівкою на поверхні площею 0,5  $\text{cm}^2$ , підсушували в атмосфері азоту і вміщували в аналітичний блок приладу. Мас-спектри реєстрували при використанні прискорюючої напруги Уприскорення+10 кВ, кількість стартів 60000. В якості контролю використовували фосфоліпідні стандарт-еталони виробництва фірми «Sigma» (США). Якісний склад та кількісний вміст ліпідних фрагментів у зразках визначали, виходячи із значень молекулярної маси в атомних одиницях маси за інтенсивністю піків квазімолекулярних іонів, що відповідають зазначеним речовинам і їх фрагментам [13].

Отримані результати піків квазімолекулярних іонів ліпідів, що відповідають значенням молекулярної маси виражали у відсотках від пула мас-спектрів клінічно здорових коней.

Отриманий цифровий матеріал оброблено методами варіаційної статистики. Оцінку вірогідності різниці середніх показників двох варіаційних рядів проводили за t-критерієм Ст'юдента.

Результати власних досліджень та їх обговорення. Попередніми нашими дослідженнями було з'ясовано, що запальні процеси основи шкіри супроводжуються зниженням умісту в копитному епідермісі фосфорилхоліну, що свідчить про розвиток дистрофічних уражень клітинних елементів рогової капсули. Окрім цього, перебіг хронічних пододерматитів та ламінітів у коней характеризується істотним зростанням концентрації сумарної фракції фосфоліпідів у роговому шарі копит, що, очевидно, пов'язане із інфільтрацією епідермісу ексудатом, який вміщує фосфоліпідні компоненти [11].

Розвиток гострого пододерматиту та хронічного ламініту в коней супроводжується зростанням у основі шкіри копит рівня фосфорилхоліну та холестеролу порівняно із показником інтактних тварин майже у 2 та 1,7 рази,

відповідно, що свідчить про істотну дестабілізацію клітинних мембран (табл. 1, рис 1-3).

Відомо, що розвиток запалення супроводжується накопиченням у тканині фосфорилхоліну та холестеролу. Функціонуючі фагоцити елімінують з пошкоджених тканин денатуровані білкові макромолекули, ефіри холестеролу та ліпідні комплекси, що накопичуються у лізосомах клітин. За деструкції лізосом та наступного аутолізу фрагменти фосфорилхоліну та холестеролу вивільнюються в запальний осередок поглиблюючи перебіг запальної реакції. Місцеве порушення асоціативної взаємодії клітин сполучної тканини призводить до зміни фенотипу з секрецією аномальних компонентів екстрацелюлярного матриксу [6].

В умовах хронічного ламініту копитна дерма втрачає фосфоліпідні та тригліцеридні ліпідні комплекси, рівень яких знижується відносно клінічно здорових коней у 1,7 та 1,8 рази, тоді як за гострого пододерматиту їх вміст, навпаки, зростає у 1,5 рази для сумарної фракції фосфоліпідів та майже в 2,3 рази для фракції тригліцеридів, відповідно.

Зростання вмісту в основі шкіри копит сумарної фракції фосфоліпідів та тригліцеридів у разі гострого пододерматиту, очевидно, пов'язане з дестабілізацією клітинних мембран та активацією процесів перекисного окислення ліпідів не тільки сполучнотканинних, а й гематогенних клітин, що надходять в копитну дерму внаслідок ексудації. Водночас, зниження рівня фракції фосфоліпідів та тригліцеридів за хронічного ламініту можна пояснити склеротичними змінами сполучнотканинного матриксу та істотним зменшенням кількості фібробластів у копитній дермі на тлі хронічної запальної реакції [14].

Розвиток гострого пододерматиту та хронічного ламініту характеризується посиленням перетворенням тригліцеридів біомембран на фракції вільних жирних кислот.

Зокрема, концентрація залишків пальмітинової, пальмітинової і олеїнової та олеїнової і стеаринової кислот у копитній дермі за гострих пододерматитів зростає порівняно із інтактними тваринами у 1,9; 2,1 та 1,5 рази, відповідно, тоді як у разі хронічного ламініту це зростання склало 1,4 рази для пальмітинової, 1,5 рази для пальмітинової і олеїнової кислот та 1,9 рази для олеїнової і стеаринової кислот. Зростання піків квазімолекулярних іонів жирних кислот у копитній дермі коней за її гострого та хронічного запалення, свідчить про істотне пошкодження ліпідів клітинних мембран.

Вміст ліпідних фракцій у основі шкіри копит коней за гострого пододерматиту та хронічного ламініту, (M±m)

Показник	Клінічно здорові, (n=12)	Гострий пододерматит, (n=10)	Хронічний ламініт, (n=8)
Фосфорилхолін – m/z 184, %	100,0±2,13 90,32 – 111,83	197,85±4,97 172,04 – 215,05 <i>p</i> < 0,001	169,89±3,98 154,84 – 189,25 <i>p</i> < 0,001
Холестерол – m/z 370, %	100,98±3,95 82,35 – 117,65	282,55±16,07 211,76 – 352,94 <i>p</i> < 0,001	154,41±7,17 117,65 – 176,47 <i>p</i> < 0,001
Залишки пальмітинової кислоти – m/z 551, %	100,0±3,93 85,70 – 128,57	191,43±10,48 142,86 – 228,57 <i>p</i> < 0,001	135,34±6,88 110,34 – 165,52 <i>p</i> < 0,001
Залишки пальмітинової та олеїнової кислот – m/z 578, %	98,24±4,73 84,20 – 126,32	209,09±15,54 126,32 – 294,74 <i>p</i> < 0,001	150,0±10,83 105,26 – 189,47 <i>p</i> < 0,001
Залишки олеїнової та стеаринової кислот – m/z 606, %	102,22±6,42 80,0 – 133,33	245,33±15,80 186,66 – 320,0 <i>p</i> < 0,001	190,0±11,73 160,0 – 240,0 <i>p</i> < 0,001
Сумарна фракція фосфоліпідів – m/z 700-800, %	101,28±5,82 76,92 – 123,08	154,04±10,33 123,08 – 215,38 <i>p</i> < 0,001	61,54±8,21 30,77 – 92,31 <i>p</i> < 0,001
Сумарна фракція тригліцеридів – m/z 800-900, %	98,33±5,19 80,0 – 120,0	224,0±18,09 160,0 – 320,0 <i>p</i> < 0,001	55,0±7,31 40,0 – 80,0 <i>p</i> < 0,001

Примітка. *p* – порівняно із клінічно здоровими тваринами.

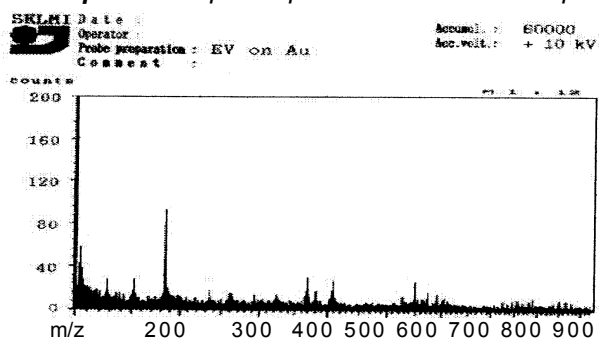


Рис. 1 Типові піки квазімолекулярних іонів ліпідної фракції копитної дерми клінічно здорових коней

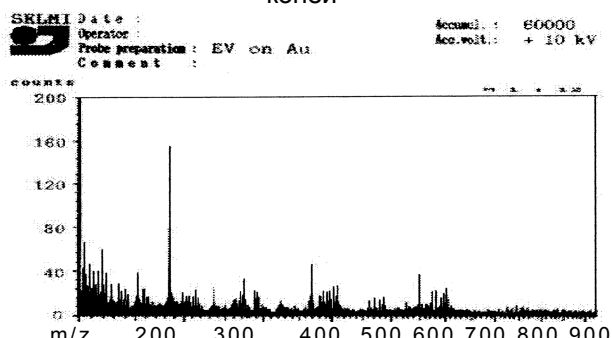


Рис. 2 - Типові піки квазімолекулярних іонів ліпідної фракції копитної дерми за хронічних ламінітів у коней

Слід зазначити, що запальна реакція у копитній дермі, поряд із істотними розладами обміну холестеролу, фосфорилхоліну, тригліцеридів та фосфоліпідів супроводжується появою та зростанням піків квазімолекулярних іонів не ідентифікованих речовин ліпідної природи в діапазонах молекулярних мас - m/z 200-300.

фікованих речовин ліпідної природи в діапазонах молекулярних мас - m/z 200-300.

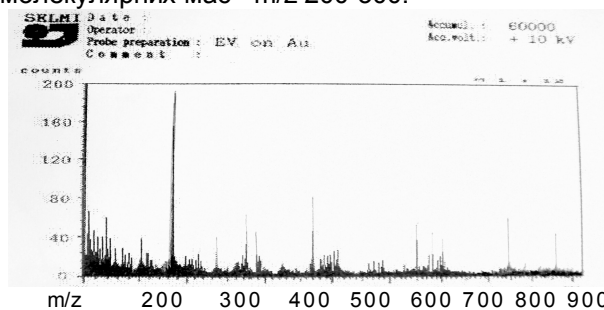


Рис. 3 Типові піки квазімолекулярних іонів ліпідної фракції копитної дерми за гострих пододерматитів у коней

Поява інтенсивних піків квазімолекулярних іонів не ідентифікованих речовин ліпідної природи в діапазонах молекулярних мас (m/z 200-300) за гострих пододерматитів та хронічних ламінітів, очевидно, пов'язане із накопиченням арахідонової кислоти та ініціацією синтезу простагландинів у вогнищі запалення.

Таким чином, за розвитку запальної реакції в копитній дермі в коней відбувається дестабілізація клітинних мембран, що проявляється зростанням рівня фосфорилхоліну, холестеролу та посиленням перетворення тригліцеридів на фракції вільних жирних кислот.

#### Перспективи подальших досліджень.

Перспективою подальших досліджень є опрацювання на цій основі патогенетично обґрунтованих методів лікування коней із ортопедичною патологією.

## Висновки.

1. Розвиток гострого пододерматиту та хронічного ламініту в коней супроводжується зростанням у основі шкіри копит рівня фосфорилхоліну, холестеролу, двох залишків пальмітинової, пальмітинової і олеїнової, олеїнової і стеаринової кислот та появою і зростанням піків квазімолекулярних іонів не ідентифікованих речо-

вин ліпідної природи в діапазонах молекулярних мас - m/z 200-300.

2. В умовах хронічного ламініту копитна дема втрачає фосфоліпідні та тригліцеридні ліпідні комплекси, рівень яких істотно знижується порівняно із клінічно здоровими кінями, тоді як за гострого пододерматиту їх вміст, навпаки, зростає.

## Література

1. Лазоренко А.Б. Зміни вмісту білково-вуглеводних сполук у основі шкіри копит коней за асептичних пододерматитів / А.Б. Лазоренко // Наук. вісник Білоцерк. націон. аграр. ун-ту.–2010.–Вип.4.(76).–С. 64–67.1.
2. Elmgreen J.P. Inhibitor of human neutrophils by auranofin: chemotaxis and metabolism of arachidonate via the 5-lipoxygenase pathway / J.P. Elmgreen, I.F. Anfelt-Ronne, O.N. Nielsen // Ann. Rheum. Dis. – 1989. – Vol. – 48. - №2. – P. 134 – 138.
3. Moriya K. Increase in the concentration of carbon 18 monounsaturated fatty acids in the liver with hepatitis C: analysis in transgenic mice and humans / K. Moriya [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2001. – Vol. – 281. - №5. – P. 1207 – 1212.
4. Химический состав клетки. Методические рекомендации / [Е.В. Садчикова, И.С. Селезнева] – Екатеринбург: ГОУ ВПО УГТУ – УПИ, 2005. – С. 34 -40.
5. Zibon V.A. Metabolism of polyunsaturated fatty acids by skin epidermal enzymes: generation of anti-inflammatory and antiproliferative metabolites / V.A. Zibon, C.C. Miller, Y.H. Cho // Amer. J. Clin. Nutr. – 2000. – Vol. – 71. – P. 361 – 366.
6. Турна А.А. Активность матриксных металлопротеиназ при различных патогенетических вариантах воспаления: автореф. дис. ... докт. мед. наук: 03.01.04; 14.10.10 / А.А. Турна – Москва, 2010. – 51 с.
7. Ільницький М.Г. Патогенетичне обґрунтування засобів детоксикаційної терапії і профілактики ранової інфекції у свиней: автореф. дис. ... докт. вет. наук: 16.00.05 / М.Г. Ільницький – Біла Церква, 2002.–39 с.
8. Стоцький О.Г. Вміст сумарної фракції фосфоліпідів та фосфорилхоліну в плазмі крові оперованих коней / О.Г. Стоцький, В.Д. Чиванов // Вісник Сумськ. націон. аграр. ун-ту. – Суми, 2008. – № 5(20). – С. 135 – 138.
9. Киричко Б.П. Патогенетичне обґрунтування лікування тварин із запальною хірургічною патологією препаратами з антиоксидантною дією: автореф. дис. ... докт. вет. наук: 16.00.05 / Б.П. Киричко – Київ, 2010.–36 с.
10. Стоцький О.Г. Зміни вмісту загального білка, ліпідів і протеїназно-інгібіторного потенціалу синовіальної рідини та плазми крові при асептичних артритах у коней: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.05 / О.Г. Стоцький – Біла Церква, 1999.–16 с.
11. Лазоренко А.Б. Вміст фосфоліпідних комплексів у копитному епідермісі коней при хронічних асептичних пододерматитах / А.Б. Лазоренко // Вісник Сумськ. націон. аграр. ун-ту. – Суми, 2009. – № 3(24). – С. 66 – 68.
12. Використання плазмово-десорбційної мас-спектрометрії в дослідженнях продуктів птахівництва та тваринництва: Методичні рекомендації / [О.Г. Бордунова, А.И. Краєвський, В.Д. Чиванов та ін.] – Суми: ТОВ «Еллада-S», 2009. – 35 с.
13. Киндя В.И. Оценка качества жирнокислотных смесей, полученных раскислением соапстоков щелочной рафинации с использованием метода мягкоионизационной масс-спектрометрии / В.И. Киндя, А.Н. Калинин // Материалы научно-практ. конф. [«Перспективы и проблемы развития биотехнологии в рамках единого экономического пространства стран дружества»], (Респ. Беларусь, Минск-Нарочь, 25-28 мая 2005 г.). – С. 95 – 96.
14. Хомин Н.М. Асептичні пододерматити у великої рогатої худоби (етіологія, патогенез, профілактика та лікування): автореф. дис. ... докт. вет. наук: 16.00.05 / Н.М. Хомин – Біла Церква, 2006.–38 с.

УДК 619: 636.52/ 58

## МОРФОЛОГІЯ ТРАХЕЇ ТА ЛЕГЕНЬ КУРЕЙ У РАНЬОМУ ПЕРІОДІ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗУ

Левчук О.К.

*Проведеними дослідженнями з'ясовано особливості гістологічної будови та органометричні показники органів дихання курчат 7-ми та 15-ти добового віку. За результатами дослідження, встановлено, що абсолютна маса легень у курчат 15-ти добового віку, порівняно з 7-ми добовими курчатами, достовірно зростає, а відносна маса зменшується. Довжина та ширина трахеї і легень, у зв'язку з ростом і розвитком організму, також збільшується.*

**Постановка проблеми у загальному вигляді.** Одним із першочергових завдань сільськогосподарства є забезпечення населення продуктами харчування і сировиною. У виробниц-

тві м'яса значна роль відводиться птахівництву, як одній з провідних галузей тваринництва. Ефективний розвиток птахівництва в Україні має велике економічне і соціальне значення, яке поля-