DOI: 10.37000/abbsl.2022.104.01

ВМІСТ НЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ПЛАЗМІ КОРІВ ЗАЛЕЖНО ВІД АВТОНОМНОЇ НЕРВОВОЇ РЕГУЛЯЦІЇ В ЗИМОВИЙ ПЕРІОД

І. Грищук[11], В. Карповський[1], О. Журенко[1], О. Данчук[2], Р. Постой[1], Д. Криворучко[1]
[1]Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ
[2]Одеський державний аграрний університет, м. Одеса

У статті наведено результати хроматографічного дослідження плазми крові корів з різним тонусом автономної нервової системи, в зимовий період. За допомогою кардіологічного дослідження за методом Баєвського було сформовано 3 групи тварин: нормотоніки, симпатотоніки та ваготоніки. За результатами хроматографічного дослідження було отримано дані щодо вмісту ненасичених жирних кислот у плазмі крові корів. За даними показниками було встановлено, що найбільший відсоток ненасичених жирних кислот у плазмі крові мали симпатотоніки, а найменший ваготоніки, що характеризується впливом тонусу автономної нервової системи на обмінні процеси. Було проаналізовано відношення мононенасичених жирних кислот та поліненасичених жирних кислот, за рахунок чого виявлено закономірність по зростанню їх концентраці в симпатотоніків та зменшення у ваготоніків в порівнянні з нормотоніками як тварин, в яких врівноважена дія симпатичної та парасимпатичної нервової системи.

Ключові слова: *корови, автономна нервова система, ненасичені жирні кислоти, кров.*

Вступ. На сьогодні дослідження факторів, що впливають на метаболізм організму тварини є досить актуальним. На великих виробництвах у роботі з високопродуктивними тваринами розуміння цих речей на пряму впливає на якість отримуваної сировини від сільськогосподарських тварин. Розглядаючи самі фактори, які можуть грати роль в цьому можна назвати досить чисельний список, до якого відносять і нервову систему, а саме тонус автономної нервової системи, що грає один з ключових моментів в регулюванні метаболізму в організмі тварин. Це є фундаментом для досліджень даних питань.

Автономна нервова система (АНС) представлена у вигляді нервової системи яка не підконтрольна свідомості, а грає роль автономної системи. Її зазвичай визначають як периферичну рухову систему, що іннервує гладенькі м'язи, серцевий м'яз, залози тканин і органів порожнини тіла, тобто всі органи, які мають непосмуговану мускулатуру. Основною функцією АНС є підтримка внутрішньої сталості організму або гомеостазу [1]. АНС іннервує органи, вона впливає на функціонування цих органів. Це впливає системно на метаболізм в організмі. Вегетативні нервові закінчення містять як аферентні волокна від периферичних органів до центральної нервової системи, так і еферентні волокна від центральної нервової системи до периферичних органів. Аферентні та еферентні сигнали передають метаболічну інформацію від периферичних органів до центральної нервової системи і модулюють функції периферичних внутрішніх органів, відповідно це призводить до регуляції системного метаболізму [2]. Наприклад, аферентні блукаючі нерви передають сигнали травному тракту, такі як глюкагоноподібний пептид-1, холецистокінін, грелін, а також механічні сигнали. Аферентні блукаючі нерви передають сигнали від гепатопортальної системи, таким чином регулюючи метаболізм глюкози. Еферентні блукаючи нерви регулюють системний гомеостаз глюкози, посилюючи стимулювання глюкозою секреції інсуліну в β-клітинах і активує синтез глікогену в печінці. Також еферентні симпатичні нерви беруть участь у регуляції енергетичного метаболізму шляхом сприяння ліполізу в білій жировій тканині і шляхом індукування термогенезу в бурій жировій тканині. Аналізується все більше даних, що підтверджують роль вегетативних нервових закінчень у регуляції енергетичного метаболізму. Аферентні нерви передають метаболічну інформацію від периферичних органів до ЦНС, завдяки цьому ЦНС може регулювати органи через волокна вегетативних нервів [3].

[1] Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор Карповський В. І.

Жирова тканина регулюється як нервовою так і імунною системою. Коли тварина відчуває нестачу енергії, норадреналін вивільняється із симпатичних нервових закінчень, що призводить до ліполізу триацилгліцеролу до вільної жирної кислоти і гліцеролу. У білій жировій тканині симпатичні нерви викликають ліполітичний ефект через β-адренорецептори. Норадреналін, який вивільняється з симпатинчих нервових закінчень активує адренілатциклазу і підвищує рівень цАМФ в цитоплазім. Зв'язку з тим, що цАМФ-залежна протеїнкіназа А активується, це призводить до активації гормон-чутливої ліпази. Відповідно ліпаза функціонує як фермент, що обмежує швидкість ліполітичної реакції, яка гідролізує триацилгліцерини до вільних жирних кислот і гліцерину [2].

Жирні кислоти (ЖК) – це органічні кислоти, які значною мірою визначаються довжиною та насиченістю аліфатичного бічного ланцюга, приєднаного до карбонової кислоти. У тварин бічні ланцюги містять парну кількість атомів карбону, а ЖК поділяються на коротко ланцюгові (2-6 атомів карбону), середньо ланцюгові (8-12 атомів карбону), довго ланцюгові (14-18 атомів карбону), дуже довго ланцюгові (20-26 атомів карбону). Основними типами ЖК в кровообігу та в тканинах ссавців є довголанцюгові та дуже довголанцюгові ЖК з різним степенем насичення. До них належать пальмітинова кислота (C16:0), пальмітолеїнова кислота (C16:1), стеаринова кислота (C:18:0), олеїнова кислота (C18:1n-9), лінолева кислота (C18:2n-6) і, зокрема у дрібних ссавців арахідонова кислота (20:4n-6) і докозагексаєнова кислота (22:6n-3). Ці ЖК є основними компонентами запасних тригліцеридів і клітинних мембран, і хоча ЖК C16–C18 також є компонентами деяких сигнальних молекул, отриманих з ЖК (діацилгліцеролів (DAG) і керамідів), багато основних сигнальних молекул ліпідів (простагландини та лейкотрієни) синтезуються з дуже довголанцюгових ненасичених ЖК (наприклад, арахідонової та докозагексаєнової кислот) [4].

Деякі тканини та клітини мають обов'язкову потребу в глюкозі (мозок, еритроцити і клітини сітківки), тоді як більшість тканин мають здатність використовувати як глюкозою так і ЖК. Внесок різних видів палива у виробництво енергії в конкретних тканинах і внесок різних тканин у загальне виробництво та використання енергії в цілому організмі досить помітно відрізняються. Через відносний розмір у людини та більшості тварин м'язи вважаються основною тканиною для утилізації як глюкози, так і жирних кислот. Уміння м'язів істотно збільшувати витрати енергії під час тренування, значною мірою впливає на здатність поглинати різні енергетичні субстрати. Інші тканини, такі як серце, мають подібну здатність збільшувати як кількість, так і тип окислення субстрату залежно від потреби, але через відносний розмір серця та м'язів в організмі загальний внесок серця в окислення субстрату всього тіла становить лише 5–10%. Печінка відіграє важливу роль в утилізації глюкози після їжі та в забезпеченні циркуляцією глюкози для підтримки рівня глюкози в крові, коли поживні речовини не всмоктуються з кишечника. Печінка також має здатність поглинати жирні кислоти, окислювати їх або упаковувати в ліпопротеїни для експорту та зберігання в інших тканинах, і тому є центральною в гомеостазі ліпідів і глюкози. Біла жирова тканина також має незначний вплив на окислення жирних кислот у всьому організмі, хоча в даний час існує значний дослідницький інтерес у дослідженні того, чи можуть білі адипоцити отримати більш окислювальний фенотип коричневих адипоцитів з більшим внеском в окислення субстрату всього тіла та витрати енергії [5].

Синтез жирних кислот починається в мітохондріях з утворенням ацетил-коензиму А, в результаті окислення CH_3-COOH і CH_3-CH_2-CH_2-COOH. Для вивільнення ацетил-коензима А з мітохондріальної мембрани, в роль вступає трикарбоксилатна система та цитратсинтетази, щоб перетворити його в цитрат для проходження в цитоплазму. При потраплянні в цитоплазму, цитрат знову трансформується в ацетил-коензим А за допомогою АТФ-цитрат-ліази, в подальшому утворюється оксалоацетат і аденозиндифосфат (АДФ). Зв'язку з тим синтез жирних кислот є ендергонічним (накопичує енергію з вуглецю), ацетил-коензим А представляє карбоксилювання, через її з'єднання з HCO_3 [7, 9].

Оксалоацетат відновлюється малатдегідрогеназою в малат, яка потім перетворюється в $C_3H_3O_3$ за допомогою малатдегідрогенази, що дає донору електронів нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат у відновленій формі. З малонід-коензиум А синтез

жирних кислот здійснюється шляхом елонгації за допомогою синтази жирних кислот. Цей білковий комплекс виконує синтез, відновлення, дегідратацію та знову відновлення конденсуючої групи малоніл-коензиум А з ацетил-коензимом А. Під час елонгації до жирної кислоти додають групи з двох карбонів, отримуючи пальмітинову (С16:0) як кінцеву жирну кислоту [6, 10].

Жирні кислоти можуть окислюватися до ацетил-коензиму А шляхом мітохондріального β-окислення, або етерифікування гліцерина з утворенням триацилгліцериду і функціонувати як основний енергетичний резерв організму. Триацилгліцерид синтезуватися починає гліцерол-3-фосфату ,пізніше ацил-коензим А жирна синтаза активує жирні кислоти і три з них етерифікуються до молекули [8].

Мета досліджень. Дослідити вміст ненасичених жирних кислот в плазмі крові корів за різного тонусу автономної нервової системи в зимовий період.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили на коровах української чорно-рябої молочної породи III-IV лактації. Типи автономної регуляції визначали за допомогою дослідження стану серцево-судинної системи за методом Баєвского. Суть методу полягає у тому, що тварині проводять електрокардіографію, після цього визначають моду в діапазоні значень кардіоінтервалу. Згідно отриманих результатів досліджень тонусу автономної нервової системи сформовано 3 групи тварин: нормотоніки – тип нервової діяльності з урівноваженою дією симпатичної і парасимпатичної нервової системи; симпатотоніки – тип нервової діяльності, де симпатична нервова система переважає над парасимпатичною; ваготоніки – тип нервової діяльності, де парасимпатична нервова діяльність переважає над симпатичною. Матеріалом для дослідження слугували зразки крові отримані з яремної вени зранку перед годівлею. Кров стабілізували гепарином, плазму отримували центрифугуванням.

Екстракцію ліпідів з плазми крові проводили за методом Фолча [12]. Наступним етапом підготовки проб було проведення гідролізу та метилювання жирних кислот ліпідів, отриманих з плазми крові. Для цього до 100 мг отриманого жиру додавали 4 $см^3$ метилового розчину гідроксиду натрію, приєднували зворотний холодильник до колби з вмістимим і кип’ятили до зникнення крапель жиру, помішуючи вміст колби з інтервалом 30–60 секунд. До вмістимого колби додавали 5 $см^3$ метилового розчину трифториду бору продовжуючи кип’ятіння до 1 год. У киплячу суміш через верхню частину зворотного холодильника додавали 3 $см^3$ гексану та знімали з елементу нагрівання. До ще гарячого розчину додавали 20 $см^3$ насиченого розчину хлориду натрію і перемішували 15 секунд. Відбирали верхній (гексановий) шар для дослідження [11]. Аналіз метилових ефірів жирних кислот проводили на газовому хроматографі Trace GC Ultra (США) з полум’яно-іонізаційним детектором. Умови хроматографування: температура колонки 140–240ºС, температура детектора 260 ºС. Проба у хроматограф вводилася за допомогою автосамплера TriPlus в дозі 1 мкл. Тривалість аналізу складала 65 хв.

Ідентифікування жирних кислот проводили за допомогою стандартного зразка Supelco 37 Component FAME Mix. Кількісну оцінку спектру жирних кислот ліпідів жовтків здійснювали методом внутрішньої нормалізації, визначаючи їх вміст у відсотках. Дослідження проводили у 3-х паралелях.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Вірогідність різниці показників оцінювали за t-критерієм Ст’юдента. Відмінності між показниками, що порівнювались, вважали вірогідними за рівня значимості $p\leq0,05$, $p\leq0,01$, $p\leq0,001$.

Результати досліджень. Вивчаючи жирнокислотний склад плазми крові тварин слід брати до уваги, що на їхній склад можуть впливати досить значна кількість факторів, таких як годівля тварини, їх вік, фізіологічний стан тощо. Слід відмітити, що при приформуванні груп тварин для досліду особливо уважно слідкували за їх раціоном, умовами утриманні та фізіологічним станом (у тварин усіх дослідних груп параметри були ідентичними). Розглядаючи питання щодо впливу на організм тонусу автономної нервової системи, було сформовано 3 групи тварин: нормотоніки, симпатотоніки і ваготоніки.

При дослідженні жирнокислотного стану плазми крові було отримано показники у відсотковому відношенні жирних кислот. З огляду на їх фізіологічне значення, основну увагу ми

зосередили на аналізі відносного вмісту ненасичених жирних кислот. У плазмі крові корів з різним тонусом автономної регуляції було виявлено 10 ненасичених жирних кислот, серед яких: мононенасичені жирні кислоти – міристенова, пальмітолеїнова, олеїнова, ціс-11-ейкозенова; поліненасичені жирні кислоти – лінолева, ліноленова, ціс-8,11,14-ейкозатрієнова, арахідонова, докозапентаєнова (табл. 1).

Таблиця 1. **Вміст ненасичених жирних кислот в плазмі корів з різним тонусом автономної регуляції (M±m, n=5)**

Ненасичені жирні кислоти	Тонус автономної регуляції		
	Нормотоніки	Симпатотоніки	Ваготоніки
Міристолеїнова, С14:1	0,42±0,01	0,41±0,01	0,54±0,02***
Пальмітолеїнова, С16:1n9	2,03±0,02	1,66±0,30	1,35±0,01***
Олеїнова, С18:1n9	21,10±0,02	19,78±0,03***	20,65±0,32
Лінолева, С18:2n6	24,54±0,47	25,12±0,03	23,26±0,62
Ліноленова, С18:3n3	1,05±0,01	1,45±0,01***	1,02±0,04
Ціс-11-ейкозенова, С20:1n9	0,55±0,03	0,59±0,01*	0,64±0,02**
Ціс-8,11,14-ейкозатрієнова, С20:3n6	0,08±0,01	0,11±0,01*	0,18±0,01***
Арахідонова, С20:4n6	6,55±0,13	7,41±0,37	5,56±0,16**
Докозапентаєнова, С22:5n3	0,23±0,01	0,39±0,01***	0,23±0,01
Ціс-4,7,10,13,16,19-докозагексаєнова, С22:6n3	0,72±0,01	0,97±0,01***	0,63±0,01***

Примітка. * p≤0,05, ** p≤0,01, ***p≤0,001 – відносно даних групи нормотоніків; дані представлено як масова частка ненасичених жирних кислоти у % від суми жирних кислот.

Визначаючи р-критерій Стьюдента ми порівнювали показники нормотоніків з іншими групами. Розглядаючи мононенасичені жирні кислоти, вміст в плазмі крові: міристоленової кислоти на 0,12% менший від ваготоніків (p≤0,001); пальмітолеїнової кислоти на 0,68% більше від ваготоніків (p≤0,001); олеїнова кислота на 1,32% більше від симпатотоніків (p≤0,001); цис-11-ейкозенова кислота на 0,04% менше від симпатотоніків (p≤0,05) та ваготоніків на 0,09% (p≤0,01).

Серед поліненасичених жирних кислот вміст у плазмі крові: ліноленової кислоти на 0,40% менше від симпатотоніків (p≤0,001); цис-8, 11, 14-ейкозатрієнової кислоти на 0,04% менше від симпатотоніків (p≤0,05) та на 0,10% від ваготоніків (p≤0,001); арахідонової кислоти на 0,99% більше від ваготоніків (p≤0,01); докозапентаєвої кислоти на 0,16% менше від симпатотоніків (p≤0,001); цис-4, 7, 10, 13, 16, 19-докозагексаєнової кислоти на 0,25% менше від симпатотоніків (p≤0,001) та на 0,09% більше від ваготоніків (p≤0,001).

Аналізуючи загальну кількість ненасичених жирних кислот у 3 дослідних групах тварин (Рис. 1), симпатотоніки мають найбільшу кількість поліненасичених жирних кислот, а найвищий вміст мононенасичених жирних кислот відмічається у нормотоніків, по загальній кількості ненасичених жирних кислот – ваготоніки мають найменшу кількість. Це може свідчити про відображення впливу тонусу автономної нервової системи на метаболізм жирних кислот в організмі корови.

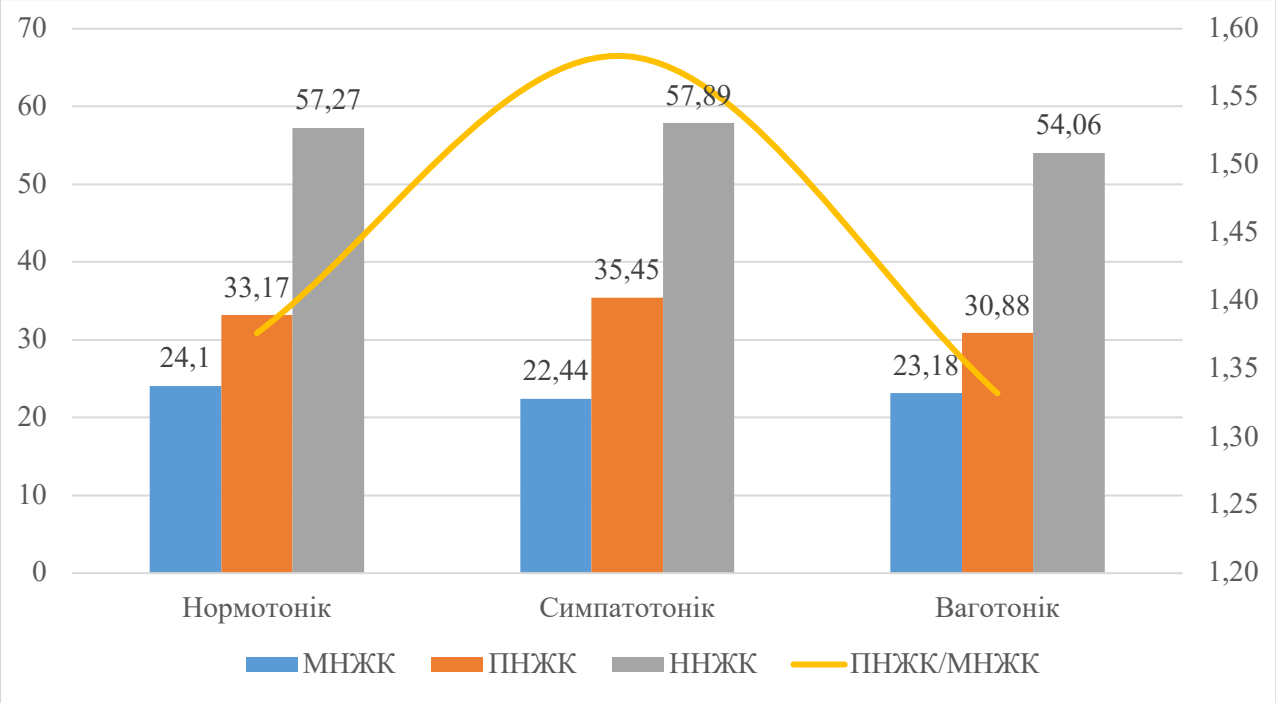

Рис. 1. Співвідношення ненасичених жирних кислот у корів з різною автономною нервовою регуляцією

Висновки. Дослідивши жирнокислотний склад плазми крові корів за різного тонусу автономної нервової системи та проаналізувавши отримані дані було виявлено відмінності щодо вмісту ненасичених жирних кислот. Було встановлено, що із трьох груп тварин найменшу кількість ненасичених жирних кислот мали ваготоніки, а найбільшу – симпатотоніки, що може свідчити про вплив тонусу автономної нервової системи на метаболізм, а саме на метаболізм ненасичених жирних кислот.

References

1. OpenStax, Anatomy and Physiology. OpenStax CNX. July 6, 2022. http://cnx.org/contents/14fb4ad7-39a1-4eee-ab6e-3ef2482e3e22@15.5.

2. Imai, J., & Katagiri, H. (2022). Regulation of systemic metabolism by the autonomic nervous system consisting of afferent and efferent innervation. International Immunology, 34(2), 67-79. https://doi.org/10.1093/intimm/dxab023

3. Bun, C., Watanabe, Y., Uenoyama, Y., Inoue, N., Ieda, N., Matsuda, F., ... & Pheng, V. (2018). Evaluation of heat stress response in crossbred dairy cows under tropical climate by analysis of heart rate variability. Journal of Veterinary Medical Science, 80(1), 181-185. https://doi.org/10.1292/jvms.17-0368

4. Kruger, M. C., Coetzee, M., Haag, M., & Weiler, H. (2010). Long-chain polyunsaturated fatty acids: selected mechanisms of action on bone. Progress in lipid research, 49(4), 438-449. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2010.06.002

5. Wu, J., Cohen, P., & Spiegelman, B. M. (2013). Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? Genes & development, 27(3), 234-250. https://doi.org/10.1101/gad.211649.112

6. Arias-Islas, E., Morales-Barrera, J., Prado-Rebolledo, O., & García-Casillas, A. (2020). Metabolismo en rumiantes y su asociación con analitos bioquímicos sanguíneos. Abanico veterinario, 10.

7. Brzozowska, A. M., & Oprządek, J. (2016). Metabolism of fatty acids in tissues and organs of the ruminants-a review. Animal Science Papers & Reports, 34(3).

8. Pires, J. A. A., & Grummer, R. R. (2008). Specific fatty acids as metabolic modulators in the dairy cow. Revista Brasileira de Zootecnia, 37(SPE), 287-298.

9. Chen, Z., Cao, X., Lu, Q., Zhou, J., Wang, Y., Wu, Y., ... & Yang, Z. (2021). circ01592 regulates unsaturated fatty acid metabolism through adsorbing miR-218 in bovine mammary epithelial cells. Food & function, 12(23), 12047-12058.

10. Carrara, E. R., Gaya, L. G., & Mourão, G. B. (2017). Fatty acid profile in bovine milk: Its role in human health and modification by selection. Archivos de zootecnia, 66(253), 151-158.

11. Синяк К.М., Оргель М.Я., Крук В.И. Метод приготовления липидов крови для газохроматографического исследования // Лаб. дело. 1976. № 1. 37-41.

12. Folch, J., Leez, M., & Stanley, G. A. (1957). Simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226(2), 497-501.

THE CONTENT OF UNSATURATED FATTY ACIDS IN THE PLASMA OF COWS DEPENDS ON AUTONOMIC NERVOUS REGULATION IN THE WINTER PERIOD

I. Hryschuk, V. Karpovskyi, O. Zhurenko, O. Danchuk, R. Postoi, D. Kryvoruchko

The article presents the results of a chromatographic examination of the blood plasma in cows with different tone of the autonomic nervous system in the winter period. According to the data of cardiological research obtained by Baevsky's method, 3 groups of animals were formed: normotonic, sympathotonic, and vagotonic. Data on unsaturated fatty acid content in bovine blood plasma were obtained based on the results of the chromatographic study. According to these indicators, it was found that sympathotonics had the highest percentage of unsaturated fatty acids in blood plasma, and vagotonics had the lowest percentage, which is characterized by the influence of the tone of the autonomic nervous system on metabolic processes. The ratio of monounsaturated fatty acids to polyunsaturated fatty acids was analyzed, as a result of which a regularity was revealed in the increase in their concentration in sympathotonics and a decrease in vagotonics compared to normotonics as

animals in which the action of the sympathetic and parasympathetic nervous systems is balanced.

Key words: *cows, autonomic nervous system, unsaturated fatty acids, blood.*