



Вплив цитрату Se на ліпідний і фосфоліпідний склад у плазмі крові кролів



О. Проданчук¹, А. Пилипець^{2*}, М. Цап², Г. Денис²

*pylyp-andriy@ukr.net

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького, вул. Пекарська 50, м. Львів, 79010, Україна

²Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

ORCID:

O. Prodanchuk <https://orcid.org/0009-0006-6564-2938>

A. Pylypets <https://orcid.org/0000-0002-4730-7339>

M. Tsap <https://orcid.org/0000-0002-1446-0409>

G. Denys <https://orcid.org/0000-0002-6708-4259>

Authors' Contributions:

PO: Conceptualization; Investigation; Visualization.

PA: Project administration; Supervision; Methodology; Writing — original draft, review & editing.

TM: Supervision; Methodology; Data curation.

DG: Investigation; Data curation; Formal analysis.

Declaration of Conflict of Interests:

None.

Ethical approval:

The experimental protocol was approved by the Bioethics Committee of the Institute of Animal Biology NAAS (protocol no. 154a from 02.07.2024).

Acknowledgements:

None.



Attribution 4.0 International
(CC BY 4.0)

Селен (Se) — це мікроелемент, який привертає значну увагу дослідників завдяки своєму потенційному використанню у профілактиці й лікуванні різних захворювань. Se впливає на ефективність біосинтезу жирних кислот у тканинах тварин і пом'якшує окисний стрес. Метою нашого дослідження було встановити зв'язок між вмістом загальних ліпідів, класів ліпідів і фосфоліпідів у плазмі крові кролів різної статі за додавання до питної води цитрату селену. Кролі контрольних груп отримували стандартний гранульований комбікорм і воду без обмеження. Кролі дослідних груп разом з питною водою отримували щодобово нанотехнологічний цитрат Se в кількості 200 мкг Se/л. Тривалість досліду — 30 діб. У плазмі крові кролів визначали вміст загальних ліпідів, співвідношення їх класів і фосфоліпідів методом тонкошарової хроматографії на 15-ту і 30-ту добу життя. Виявлені у плазмі крові кролів зміни ліпідного складу за використання цитрату Se можна вважати наслідком його дії на структуру й функцію окремих тканин та органів. Встановлено, що додавання цитрату Se приводить до достовірного зниження вмісту загальних ліпідів (на 24–26 % на 30-ту добу), що може свідчити про активізацію їх метаболізму й використання як енергосубстрату. Рівень вільного холестеролу знизився на 20,28 %, що вказує на пригнічення синтезу холестерину або посилення його виведення. Зростання рівня триацилгліцеролів наприкінці досліду (на 18–24 %) може бути компенсаторною реакцією або результатом посиленого ліполізу та окиснення жирних кислот під дією наночастинок селену. Зміни у вмісті фосфатидилхоліну і лізофосфатидилхоліну вказують на перебудову структури клітинних мембран та активацію сигнальних систем клітини. Зниження рівнів сфінгомієліну і фосфатидилетаноламіну свідчить про зміну латеральної структури мембран, що допомагає організму адаптуватися до чинників середовища.

Ключові слова: самці, самки, кролі, плазма крові, цитрат Se, ліпіди, класи ліпідів, фосфоліпіди

Вступ

Мінеральні елементи відіграють важливу роль в організмі людей і тварин — регулюють вуглеводний, жировий і білковий обмін, впливають на швидкість

біохімічних реакцій, метаболічні шляхи, процеси росту й розвитку.

Селен (Se) — один з біологічних активних елементів, який бере безпосередню участь у фізіологічних і біохімічних функціях, володіє потужними антиоксидантними

та протипухлинними властивостями, що сприяють роботі імунної, серцево-судинної, репродуктивної системи й залоз внутрішньої секреції [5, 16].

Селен виконує в організмі як структурну, так і каталітичну й регуляторну функції, активує дію багатьох ферментів, вітамінів і гормонів, забезпечуючи цим функціонування різних біологічних систем. Біологічні та хімічні функції Se визначають селенопротеїни, які містять селеноцистеїнову невід'ємну частину їхнього активного центру [18, 26]. Як природний елемент, що міститься в атмосфері, воді та ґрунті, а також у різноманітних харчових продуктах, селен поглинається через їжу. Тому його біодоступність та ефективність залежать і від його хімічної форми, і від дози [15].

Дефіцит Se у годівлі тварин призводить до його перерозподілу у тканинах і органах. У мозку, ендокринних і статевих органах вміст селену тривалий час залишається незмінним, тоді як тканини печінки, м'язів, шкіри швидко його втрачають. Нестача селену зазвичай часто дає про себе знати затримкою плаценти, метритом, маститом, абортами, зниженням фертильності й підвищеною сприйнятливістю до інфекцій [12]. У селенодефіцитних органах і тканинах Se швидко мобілізується із цитозольної глутатіонпероксидази, тоді як рівень фосфоліпідної глутатіонпероксидази, дейодинази і тіоредоксинредуктази суттєво не змінюється, а іноді навіть підвищується [26].

На теперішній час добавки Se доступні у двох формах: як неорганічні мінеральні солі (селеніт (Na_2SeO_3) або селенат натрію (Na_2SeO_4 ; SS)) та як органічні форми (селенометіонін (SeMet) або селеноцистеїн (SeCys)). Деякі дослідження показали, що Se з органічних джерел метаболізується за допомогою АТФ з утворенням аденозин-5'-селенофосфату, який або каталізується тіоредоксином чи тіоредоксинредуктазою (TrxR), або відновлюється до проміжного селенодіглутатіону глутатіонредуктазою. Se неорганічного походження рекомбінує з іншими поживними речовинами в кишківнику, утворюючи нерозчинні комплекси, які виводяться, що знижує всмоктування Se в тонкій кишці [3, 10, 13].

Відомо, що поглинання Se зі селенату й селеніту здійснюється шляхом активного транспортування та пасивної дифузії в тонкій кишці відповідно. Після поглинання селенат може зазнати ферментативної активації.

Se пом'якшує окислювальний стрес і перекисне пошкодження UFA та впливає на ефективність біосинтезу жирних кислот у тканинах тварин [3, 16]. Окрім того, додавання Se до кормів для тварин сприяє зміні складу жирних кислот у м'язовій тканині [20].

Найбезпечнішими технологіями, що дають можливість отримувати наближені до природних сполуки мікроелементів, сьогодні вважають біотехнологічні процеси з використанням різних штамів мікроорганізмів і нанотехнології.

Розвиток нанобіотехнологій сприяє вибору та розробленню стратегій на основі наночастинок, які можуть мати важливе практичне застосування в медицині,

ветеринарії, біології і т. д. За останні роки підвищилася активність розвитку нанотехнології з використанням мікро- і макроелементів високої хімічної чистоти з використанням харчових (лимонної, пропіонової, бурштинової) та інших органічних кислот [6, 29].

Використання нанотехнологій для отримання сполук мінеральних речовин є перспективним, оскільки кількість мінеральних речовин є важливим, але обмежувальним фактором їхньої біодоступності у травному тракті [1].

Проведені в ІБТ НААН у 2008–2021 роках дослідження з уведення до питної води лабораторним і продуктивним тваринам цитратів Cr, Fe, Ge, J, Se, S, Ni показали високу фізіологічну активність їх в організмі [7, 8].

Основна функція наносполук — забезпечення нормальної життєдіяльності організму завдяки біодоступності речовин раціону, які не засвоюються повністю. Вивчення властивостей наночастинок, які зумовлені їхніми специфічними фізико-хімічними властивостями, впливають на методи їх синтезу та відкривають перспективи фундаментального розуміння дії наноматеріалів на стан і функціональну активність клітин, тканин, організмів, а також їхнього практичного й ефективного застосування [27].

Отож метою нашого дослідження було встановити зв'язок між вмістом загальних ліпідів, класів ліпідів і фосфоліпідів у плазмі крові кролів різної статі за умови додавання до питної води цитрату Se протягом 15 та 30 діб.

Матеріали та методи

Під час роботи з тваринами ми дотримувалися вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях, Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Протокол № 154-а від 2.07.2024). Експеримент проведено на кролях Термонської породи, які перебували в умовах віварію Інституту біології тварин НААН. Тварин утримували у приміщенні з регульованим мікрокліматом і освітленням у клітках $50 \times 120 \times 30$ см згідно з чинними ветеринарно-санітарними вимогами. Кролів віком 45 діб поділили на дві контрольні групи (C1 — самки, C2 — самці) та дві дослідні групи (E1 і E2) відповідно по 5 голів у кожній, дібраних за принципом аналогів (маса тіла, клінічний стан). Кролі контрольних груп отримували стандартний гранульований комбікорм і вільний доступ до води. Кролі дослідних груп отримували з питною водою щодобово цитрат Se у кількості 200 мкг Se/л.

У дослідженні використовували Se у вигляді нанотехнологічного цитрату [17]. Тривалість випоювання цитрату Se — 30 діб. Для проведення фізіолого-біохімічних досліджень на 15-ту й 30-ту доби дослідного періоду з контрольних і дослідних груп брали

кров з крайової вушної вени. У плазмі крові визначали вміст загальних ліпідів, співвідношення їх класів і фосфоліпідів.

Для визначення вмісту загальних ліпідів 1 мл плазми крові екстрагували 20 мл суміші хлороформ–метанол у співвідношенні 2:1 за методом J. Folch et al. [9]. Ліпідні екстракти випарювали насухо, а потім зважували на аналітичних вагах і вираховували у грамах на 1 л. Вміст загальних фосфоліпідів визначали за кількістю неорганічного фосфору в ліпідному екстракті [28] і вираховували їхню масу у грамах на 1 л тканини.

Розділяли ліпіди на класи методом тонкошарової хроматографії на силікагелі (*Chemapol*, Чехія), як рухому фазу використовували петролейний етер–ацетон 85:15 за об'ємом. Для розділення фосфоліпідів використовували систему розчинників хлороформ–метанол–вода у співвідношенні 65:5:4 за об'ємом [14]. Пластини проявляли в парах кристалічного йоду. Ідентифікували ліпіди за величиною утримування (R_f), яку визначали як відношення відстані від точки нанесення плями до верхньої кромки плями після хроматографування до відстані, яку пройшов фронт розчинника від цієї точки нанесення. Кількісний аналіз і підрахунок вмісту окремих класів ліпідів здійснювали комп'ютерною обробкою фореграм з використанням програмного забезпечення *TotalLab TL120 (Non-linear Dynamics Limited, Великобританія)* і виражали у відсотках від загальної кількості.

Усі отримані цифрові результати опрацьовано за допомогою комп'ютерної програми *Statistica* з використанням методу варіаційної статистики [21]. Їх представлено як середнє арифметичне (M) та стандартна помилка ($\pm m$). Відмінності між групами вважали статистично достовірними при $P < 0,05$.

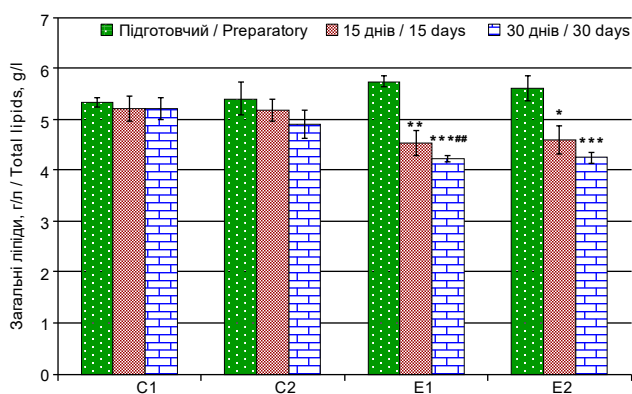


Рис. 1. Вміст загальних ліпідів у плазмі крові кролів за випоювання цитрату Se

Примітка. # — $P < 0,05$, ## — $P < 0,01$, ### — $P < 0,001$ — достовірні різниці між підготовчим і дослідним періодами за групами.

* — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$ — достовірні різниці між контрольним і дослідним періодами за групами.

Fig. 1. The content of total lipids in the blood plasma of rabbits after drinking Se citrate

Note. # — $P < 0,05$, ## — $P < 0,01$, ### — $P < 0,001$ — significant differences between the preparatory and experimental periods by groups.

* — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$ — significant differences between the control and experimental periods by groups.

Результати й обговорення

Ліпідний профіль є важливим показником стану здоров'я тварин, оскільки він надає інформацію про рівні різних типів ліпідів у крові. Аналізуючи отримані результати досліджень, ми встановили, що вміст загальних ліпідів і відносне співвідношення класів ліпідів у плазмі крові кролів дослідних груп змінювалися порівняно як з контрольною групою, так і з підготовчим періодом.

Вміст загальних ліпідів на 15-ту добу додавання цитрату Se достовірно знижувався у групах E1 і E2 на 21,16 % ($P < 0,01$) і на 17,86 % ($P < 0,01$), якщо порівнювати з тваринами підготовчого періоду. На 30-ту добу досліді вміст загальних ліпідів знизився у E1 і E2 групах на 26,35 % і на 24,28 % ($P < 0,001$), порівняно з тваринами підготовчого періоду, та знижувався у групі E1 на 18,85 % ($P < 0,01$), порівняно з контрольною групою (рис. 1).

Зміни у вмісті загальних ліпідів можуть вказувати на вплив Se цитрату на синтез і депонування ліпідів в організмі кролів.

Наші дослідження встановили деякі зміни у співвідношенні класів ліпідів у плазмі крові кролів. Зокрема, такі зміни стосуються: фосфоліпідів (ФЛ), естерифікованого холестеролу (ЕХ), триацилгліцеролу (ТГ), вільного холестеролу (ВХ), неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК) і моноацилгліцеролу (МАГ) (табл. 1). У підготовчий і дослідний період у плазмі крові кролів контрольних та дослідних груп переважають фосфоліпіди, які становлять 45–49 % загальної кількості ліпідів. Зниження вмісту ФЛ на 4,31 % ($P < 0,001$) спостерігали на 30-ту добу в E1 групі тварин, порівняно з підготовчим періодом, та зростання на 5,78 % ($P < 0,05$) на 15-ту добу, порівняно з контрольною групою тварин.

На 30-ту добу вміст ЕХ знижувався на 39,83 % ($P < 0,001$) у D1 та зростав на 40,90 % ($P < 0,01$) у групі E2, порівняно з підготовчим періодом, а також знижувався у групі E2 на 38,94 % ($P < 0,05$), якщо порівнювати з контрольним періодом. Очевидно, що за впливу цитрату Se естерифікований холестерол, який міститься здебільшого в цитозолі клітини, піддається гідролізу.

Вміст ТГ зростав на 30-ту добу в групі тварин E1 на 24,91 % ($P < 0,001$) та в дослідній групі E2 на 18,28 % ($P < 0,01$), порівняно з підготовчим періодом. Водночас вміст ТГ знижувався на 15-ту добу в E1 групі тварин на 18,89 % ($P < 0,01$), порівняно з підготовчим періодом, та зростав на 15-ту і 30-ту доби в E1 і E2 групах відповідно на 24,91 % і 26,91 % ($P < 0,01$), якщо порівнювати з контрольними групами. ТГ є основним компонентом ліпопротеїнів і відіграє вирішальну роль в енергетичному обміні. Крім того, механізм зниження рівня тригліцеридів можна пояснити здатністю наночастинок селену посилювати ліполіз і окислення жирних кислот, що спричиняє зниження синтезу та накопичення тригліцеридів [2, 22, 30].

Таблиця 1. Співвідношення класів ліпідів (%) у плазмі крові кролів за випоювання Цитрату Se (M±m, n=5)**Table 1.** Ratio of lipid classes (%) in the blood plasma of rabbits given Se Citrate (M±m, n=5)

Показники, періоди Indices, time	Контрольні групи / Control groups		Дослідні групи / Experimental groups	
	C1 (самки / females)	C2 (самці / males)	E1 (самки / females)	E2 (самці / males)
Естерифікований холестерол / Esterified cholesterol				
Підготовчий / Preparatory	7,13±0,85	7,33±0,60	5,62±0,19	7,09±0,52
15-та доба / 15 th day	7,46±0,66	6,61±0,86	6,65±0,57	7,18±0,45
30-та доба / 30 th day	7,31±0,64	7,19±0,71	7,83±0,25***	9,99±0,80***
Триацилгліцероли / Triacylglycerols				
Підготовчий / Preparatory	9,98±0,47	10,15±1,46	9,25±0,23	11,54±0,44
15-та доба / 15 th day	12,07±0,80	10,14±1,36	9,79±0,65#	10,01±0,18
30-та доба / 30 th day	10,88±0,90	10,81±0,92	13,59±0,47****	13,65±0,31****
Диацилгліцероли / Diacylglycerols				
Підготовчий / Preparatory	8,68±0,68	8,04±0,69	8,25±0,63	6,36±0,53
15-та доба / 15 th day	6,78±0,59	8,49±0,76	7,42±0,71	6,65±0,45
30-та доба / 30 th day	7,58±0,49	7,03±0,38	7,75±0,54	6,30±0,48
Вільний холестерол / Free cholesterol				
Підготовчий / Preparatory	11,88±0,41	13,88±0,52	11,28±0,57	11,98±0,82
15-та доба / 15 th day	13,73±0,87	11,69±0,62*	11,13±0,54#	12,16±0,91
30-та доба / 30 th day	11,09±0,45	11,44±0,51**	10,28±0,87	9,55±0,50*#
Неестерифіковані жирні кислоти / Non-esterified fatty acids				
Підготовчий / Preparatory	7,73±0,35	8,39±0,73	8,79±0,54	6,32±0,83
15-та доба / 15 th day	7,76±1,24	8,14±0,95	7,61±0,62	7,30±0,63
30-та доба / 30 th day	7,96±0,96	8,33±0,68	7,64±0,33	6,43±0,41#
Моноацилгліцероли / Monoacylglycerols				
Підготовчий / Preparatory	8,05±0,70	7,08±0,44	7,36±0,47	7,17±0,38
15-та доба / 15 th day	6,12±0,61	7,73±0,64	8,50±0,78#	7,73±0,65
30-та доба / 30 th day	9,18±0,67	8,22±0,40	5,59±0,36****	5,65±0,41****
Фосфоліпіди / Phospholipids				
Підготовчий / Preparatory	46,56±2,46	45,12±0,57	49,46±0,94	49,54±0,92
15-та доба / 15 th day	46,09±0,68	47,19±0,54	48,92±0,78##	48,98±0,84
30-та доба / 30 th day	46,00±1,74	46,99±0,70	47,33±0,81***	49,05±0,68

Примітка. У цій та наступній таблиці * — P<0,05, ** — P<0,01, *** — P<0,001 — достовірні різниці між підготовчим і дослідним періодами за групами; # — P<0,05, ## — P<0,01, ### — P<0,001 — достовірні різниці між контрольним і дослідним періодами за групами.

Note. In this and the following table * — P<0.05, ** — P<0.01, *** — P<0.001 — significant differences between the preparatory and experimental periods by groups; # — P<0.05, ## — P<0.01, ### — P<0.001 — significant differences between the control and experimental periods by groups.

Вміст МАГ на 30-ту добу знижувався у групах E1 і E2 на 24,05 % (P<0,01) та на 21,20 % (P<0,05), порівняно з підготовчим періодом. На 15-ту добу вміст МАГ зростав у групі E1 на 38,89 % (P<0,05) та знижувався на 30-ту добу у групах E1 і E2 відповідно на 39,11 % (P<0,01) і 31,26 % (P<0,001), порівняно з контрольними групами.

На 30-ту добу випоювання цитрату Se вміст ВХ знижувався у групі E2 на 20,28 % (P<0,01), порівня-

но з підготовчим періодом. Знижувався на 15-ту добу у групі E1 на 18,94 % (P<0,05) та на 30-ту добу у групі E2 на 16,52 % (P<0,05), якщо порівнювати з контрольними групами. На 15-ту і 30-ту доби випоювання цитрату Se вміст ВХ знижувався у групах тварин C1 і C2 на 14,54 % і 21,33 % (P<0,05), порівняно з підготовчим періодом. Ці дані узгоджуються з іншими дослідженнями, в яких повідомлено про зниження рівня холестерину в різних видів тварин внаслідок введення

добавок селену [11, 31]. Механізм дії цього ефекту може включати пригнічення синтезу холестерину або посилення екскреції холестерину. Для з'ясування точного механізму дії необхідні подальші дослідження.

Вміст НЕЖК знижувався на 30-ту добу у групі E2 на 22,57 % ($P<0,05$), порівняно з показниками контрольної групи тварин, що може бути зумовлене посиленням ліполізму.

Загалом ці дослідження показують, що селенопротеїни задіяні в регуляції метаболізму ліпідів, особливо у використанні ліпідів і окисненні жирних кислот, та можуть бути потенційною мішенню за порушень метаболізму ліпідів.

Отримані результати дослідження показують, що вміст загальних фосфоліпідів і відносне співвідношення класів ліпідів у плазмі крові кролів дослідних груп змінювалися порівняно як з контрольною групою, так і підготовчим періодом.

Вміст загальних фосфоліпідів на 15-ту і 30-ту добу додавання цитрату Se достовірно знижувався у групі E1 на 22,61 % ($P<0,01$) і на 29,32 % ($P<0,001$), порівняно з тваринами підготовчого періоду, та на 15,77 % і 16,32 % ($P<0,01$), порівняно з тваринами підготовчого періоду. У тварин групи E2 на 15-ту і 30-ту добу вміст загальних фосфоліпідів знижувався на 18,77 % і 24,91 % ($P<0,01$), порівняно з тваринами підготовчого періоду, та знижувався на 30-ту добу на 9,17 % ($P<0,05$), порівняно з контрольною групою (рис. 2).

Своєю чергою, від вмісту фосфоліпідів та їхнього жирнокислотного складу залежить функціонування нервової, імунної і відтворної систем, а також перебіг процесів окиснення.

У підкласах фосфоліпідів виявлено фосфатидну кислоту (ФК), фосфотидилетаноламін (ФЕА), фосфа-

тидилінозитол (ФІ), фосфатидилхолін (ФХ), фосфатидилсерин (ФС), сфінгомієлін (СМ) і лізофосфатидилхолін (ЛФХ) (табл. 2).

Зниження вмісту ФК на 30-ту добу випоювання цитрату Se спостерігали у групі E2 — на 20,80 % ($P<0,05$), порівняно з підготовчим періодом.

Вміст ФЕА знижувався на 30-ту добу в C1 і C2 групах тварин — на 30,74 % і 24,91 % ($P<0,05$), якщо порівнювати з підготовчим періодом. На 15-ту добу спостерігали зниження ФЕА у групі E1 на 25,07 % ($P<0,05$) і зростання ФЕА у групі E2 на 25,93 % ($P<0,05$), порівняно з підготовчим періодом, а також зниження ФЕА на 30-ту добу у групі E — на 4,24 % ($P<0,05$), порівняно з контролем.

Зниження вмісту ФІ спостерігали на 15-ту добу у групі C2 — на 34,08 % ($P<0,01$) та на 30-ту добу у групах C1 і C2 — на 49,43 % і 27,49 % ($P<0,01$), порівняно з підготовчим періодом. Відомо, що ФІ залучені у процеси сигнальної трансдукції та є джерелом таких важливих попередників, як діацилгліцероли, інозитолфосфати й арахідонова кислота [4]. Встановлені зміни можуть вказувати на зниження швидкості рецепторопосередкованого гідролізу фосфатидилінозиту фосфоліпазою C.

Вміст ФЕА знижувався на 30-ту добу у C1 і C2 групах тварин на 30,74 % і 24,91 % ($P<0,05$), порівняно з підготовчим періодом. На 15-ту добу спостерігали зниження ФЕА у групі E1 на 25,07 % ($P<0,05$) та зростання у групі E2 на 25,93 % ($P<0,05$), порівняно з підготовчим періодом, а також зниження на 30-ту добу у групі E2 на 4,24 % ($P<0,05$), порівняно з контролем.

Вміст ФС зростав на 15-ту і 30-ту добу як у групі C1 — на 37,31 % ($P<0,05$) і 38,55 % ($P<0,001$), так і в групі C2 — на 30,88 % ($P<0,05$) і на 41,04 % ($P<0,01$), порівняно з контролем. ФС утворюється через обмін в клітинах організму ссавців за допомогою фосфатидилсеринсинтаз; наприклад, фосфатидилсеринсинтаза 1 відповідає за обмін холіну головної групи з фосфатидилхоліну, а фосфатидилсеринсинтаза 2 — за обмін етаноламіну головної групи з ФЕА. Оскільки фосфатидилсеринсинтази 1 і 2 регулюються в мітохондріально-асоційованих мембранах ендоплазматичного ретикулу, ФС виробляється в ньому й переноситься до мітохондрій [19]. У мітохондріях частина фосфатидилсерину каталізується до фосфатидилетаноламіну за допомогою фосфатидилсерин-декарбоксилази у внутрішній стулці мітохондрій, тоді як інша частина входить до мітохондріальної мембрани. Для підтримки нормальної життєдіяльності клітини ФС розташований на внутрішній поверхні плазматичної мембрани.

Вміст СМ знижувався на 15-ту і 30-ту добу випоювання у групі C1 на 23,58 % ($P<0,01$) і на 18,09 % ($P<0,05$), порівняно з підготовчим періодом. На 15-ту і 30-ту добу випоювання цитрату Se вміст СМ знижувався у групі E1 на 24,40 % ($P<0,05$) і на 29,26 % ($P<0,05$), а у групі E2 на 3,43 % і 30,94 % ($P<0,001$), порівняно з підготовчим періодом. СМ є важливим компонентом біологічних мембран і однією з кінцевих елементів синтезу сфінголіпідів. Структура клітини та її різноманітність дають змогу чинити різний вплив та

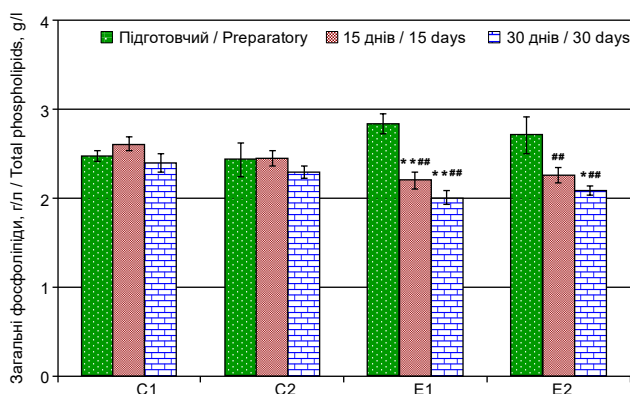


Рис. 2. Вміст загальних фосфоліпідів (г/л) у плазмі крові кролів за випоювання цитрату Se

Примітка. * — $P<0,05$, ** — $P<0,01$, *** — $P<0,001$ — достовірні різниці між підготовчим і дослідним періодами за групами.
— $P<0,05$, ## — $P<0,01$, ### — $P<0,001$ — достовірні різниці між контрольним і дослідним періодами за групами.

Fig. 2. The content of total phospholipids (g/l) in the blood plasma of rabbits after drinking Se citrate

Note. * — $P<0,05$, ** — $P<0,01$, *** — $P<0,001$ — significant differences between the preparatory and experimental periods by groups.
— $P<0,05$, ## — $P<0,01$, ### — $P<0,001$ — significant differences between the control and experimental periods by groups.

метаболізуватися в інші біоактивні сфінголіпіди. Тип і склад сфінголіпідів модулюють біофізичні властивості мембрани, які можуть бути організовані у двовимірні домени, що підвищує її жорсткість і компактність. У клітинних мембранах ссавців сфінгомієлін з різними ацильними ланцюгами разом з ненасиченими фосфоліпідами і холестерином клітина може використовувати для вдосконалення бічної структури мембран [24].

Зниження вмісту ФХ спостерігали 30-ту добу у групі E1 — на 14,28 % ($P<0,05$), порівняно з підготовчим періодом, а також на 14,19 % ($P<0,001$), порівняно

з контрольною групою. На 15-ту й 30-ту добу спостерігали зростання відносного вмісту ФХ у групах E1 і E2 — на 50,61 % і 53,86 % ($P<0,01$), порівняно з підготовчим періодом, та на 12,97 % ($P<0,05$) у групі E2 на 15-ту добу, порівняно з контрольною групою. Відомо, що синтез фосфатидилхоліну має вирішальне значення для функцій органел, а його зниження вказує на клітинний стрес, відомий як стрес ліпідного бішару [25]. Тому клітина розвиває адаптивний механізм, за якого втрата фосфатидилхоліну впливає на численні клітинні процеси через реакцію на стрес.

Таблиця 2. Вміст фосфоліпідів (%) у плазмі крові кролів за випоювання цитрату Se ($M\pm m$, $n=5$)

Table 2. Phospholipid content (%) in the blood plasma of rabbits given Se citrate ($M\pm m$, $n=5$)

Показники, періоди Indices, time	Контрольні групи / Control groups		Дослідні групи / Experimental groups	
	C1 (самки / females)	C2 (самці / males)	E1 (самки / females)	E2 (самці / males)
Фосфатидна кислота / Phosphatidic acid				
Підготовчий / Preparatory	6,30±0,47	7,10±0,81	6,04±0,16	6,73±0,40
15-та доба / 15 th day	7,45±0,42	7,42±0,92	7,69±0,35	6,27±0,70
30-та доба / 30 th day	5,96±0,34	6,57±0,69	6,92±0,81	5,33±0,53*
Фосфатидилетаноламін / Phosphatidylethanolamine				
Підготовчий / Preparatory	10,02±0,88	11,20±0,90	6,82±0,43	7,79±0,71
15-та доба / 15 th day	9,69±0,45	10,39±1,02	8,53±0,73*	9,81±0,66*
30-та доба / 30 th day	6,94±0,94*	8,41±0,59*	6,85±0,46	7,46±0,55
Фосфатидидінозитол / Phosphatidinositol				
Підготовчий / Preparatory	14,39±1,15	14,26±0,77	11,17±0,82	11,40±1,10
15-та доба / 15 th day	11,23±1,09	9,40±0,76**	9,99±0,72	11,27±6,91
30-та доба / 30 th day	9,63±0,66**	10,34±0,94**	9,54±0,88	12,01±0,77
Фосфатидилхолін / Phosphatidylcholine				
Підготовчий / Preparatory	17,82±0,48	17,28±0,63	18,25±0,98	11,40±1,10
15-та доба / 15 th day	18,41±1,91	19,73±0,82	18,27±0,32	17,17±0,46***
30-та доба / 30 th day	18,47±1,27	17,02±1,41	15,66±0,39*	17,54±0,46**
Фосфатидилсерин / Phosphatidylserine				
Підготовчий / Preparatory	16,11±0,70	15,74±1,20	20,63±2,44	19,71±1,00
15-та доба / 15 th day	22,12±2,15*	20,60±1,41*	21,31±1,51	22,27±1,28
30-та доба / 30 th day	22,32±1,11***	22,20±0,92**	23,19±2,05	21,82±1,34
Сфінгомієлін / Sphingomyelin				
Підготовчий / Preparatory	16,03±0,89	15,33±0,57	18,73±1,68	19,62±0,90
15-та доба / 15 th day	12,25±0,79**	13,24±1,73	14,16±0,91*	13,06±0,87***
30-та доба / 30 th day	13,13±1,20*	12,78±0,50**	13,25±1,07*	13,55±0,74***
Лізофосфатидилхолін / Lysophosphatidylcholine				
Підготовчий / Preparatory	19,33±1,28	19,08±0,90	17,96±1,45	17,76±1,10
15-та доба / 15 th day	18,85±0,89	19,23±1,71	20,05±1,06	20,16±1,63
30-та доба / 30 th day	23,54±1,53	21,69±1,55	24,38±1,00**	22,29±0,84**

На 30-ту добу випоювання цитрату Se спостерігали зростання вмісту ЛФХ у групах E1 і E2 — на 35,75 % і на 25,51 % ($P < 0,01$), порівняно з підготовчим періодом, та його зростання у E1 на 21,60 % ($P < 0,001$) на 30-ту добу, порівняно з контрольною групою тварин. ЛФХ — фосфоліпідний компонент окиснених ліпопротеїнів низької щільності (Ох-LDL). Ці фосфоліпіди утворюються внаслідок розщеплення фосфатидилхоліну фосфоліпазою A2 і катаболізується до інших речовин різними ферментативними шляхами. ЛФХ має плейотропний ефект, опосередкований його рецепторами, зв'язаними з G-білком сигнальними рецепторами, Toll-подібними рецепторами й іонними каналами для активації кількох вторинних месенджерів [23]. Встановлені зміни лізофосфатидилхоліну у плазмі крові кролів можна пояснити інгібуванням на розщеплення фосфатидилхоліну фосфоліпазою A2.

Отже, виявлені зміни ліпідного й фосфоліпідного складу плазми крові кролів за випоювання цитрату Se, можливо, є наслідком їх дії на структуру та функцію окремих тканин і органів. На це вказують зміни спектра різних фракцій фосфоліпідів у дослідних групах кролів різної статі як на 15-ту, так і на 30-ту добу випоювання цитрату Se, що може свідчити про стабілізацію компенсаторних механізмів підтримки клітинних мембран.

Випоювання цитрату Se приводить до достовірного зниження вмісту загальних ліпідів у крові (на 24–26 % на 30-ту добу), що свідчить про активізацію процесів катаболізму ліпідів, зниження їх синтезу або посилене використання його як енергетичного матеріалу.

Спостерігається чітка тенденція до зниження рівня ВХ і перерозподілу ЕХ. Зниження ВХ (до 20–21 %) узгоджується з гіпохолестеринемічною дією селену, що може бути пов'язане з пригніченням його синтезу або прискоренням екскреції з організму.

Динаміка ТГ має фазовий характер, зі зниженням на 15-ту добу і зростанням на 30-ту добу досліді. Це можна пояснити як активацією ліполізу під дією наночастинок селену, так і компенсаторною дією організму на зміну МАГ і ДАГ.

Фосфоліпіди залишаються домінантною фракцією (45–49 %), проте їхній загальний вміст під впливом цитрату Se достовірно знижується. Зростання його відносного вмісту ФХ на 30-ту добу свідчить про адаптаційну відповідь клітин на стрес ліпідного бішару і спробу стабілізувати органели. Значне зростання вмісту ЛФХ вказує на зміну активності фосфоліпази A2 та роль Se в регуляції сигнальних шляхів через вторинні месенджери. Зниження рівня СМ може вказувати на перебудову латеральної структури клітинних мембран, змінюючи їхню жорсткість і проникність.

Селенопротеїни, що утворюються за введення цитрату Se, виступають активними регуляторами метаболізму ліпідів. Встановлені зміни свідчать про стабілізацію компенсаторних механізмів підтримки цілісності клітинних мембран та оптимізацію використання ліпідів в енергетичному обміні тварин.

Джерела

1. Abd-Allah S, Hashem KS. Selenium nanoparticles increase the testicular antioxidant activity and spermatogenesis in male rats as compared to ordinary selenium. *Int J Adv Res.* 2015; 3 (1): 792–802. Available at: <https://www.journalijar.com/article/3605/selenium-nanoparticles-increase-the-testicular-antioxidant-activity-and-spermatogenesis-in-male-rats-as-compared-to-ordinary-selenium>
2. Ahmed WD, Zahrawi HM, Jassim MA. Effect of Selenium nanoparticles and almond aqueous extract on experimental animals. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2023; 1262 (6): 062030. DOI: 10.1088/1755-1315/1262/6/062030.
3. Bień D, Michalczyk M, Szkopek D, Kinsner M, Konieczka P. Changes in lipids metabolism indices as a result of different form of selenium supplementation in chickens. *Sci Rep.* 2022; 12: 13817. DOI: 10.1038/s41598-022-18101-2.
4. Blunsom NJ, Cockcroft S. CDP-Diacylglycerol synthases (CDS): Gateway to phosphatidylinositol and cardiolipin synthesis. *Front Cell Dev Biol.* 2020; 8: 63. DOI: 10.3389/fcell.2020.00063.
5. Boiko OV, Honchar OF, Lesyk YV, Kovalchuk II, Gutij BV, Dychok-Niedzielska AZ. Effect of consumption of I, Se, S and nanoaquacitrates on hematological and biochemical parameters of the organism of rabbits. *Reg Mech Biosys.* 2021; 12 (2): 335–340. DOI: 10.15421/022145.
6. El-Sayed A, Kamel M. Advanced applications of nanotechnology in veterinary medicine. *Environ Sci Pollut Res.* 2020; 27: 19073–19086. DOI: 10.1007/s11356-018-3913-y.
7. Fedoruk R, Kovalchuk I, Tsap M, Pylypets A, Tesarivska U, Shaian O, Koleschuk O. Biological influence of nanotechnological J, SE, S citrates in broiler chickens in the second period of rearing. *Anim Husb Steppe Ukraine.* 2022; 1 (2): 157–165. DOI: 10.31867/2786-6750.1.2.2022.157-165.
8. Fedoruk RS, Tesarivska UI, Kovalchuk II, Tsap MM, Kaplunenko VH, Koleschuk OI, Khrabko MI. Biological effects of iodine, selenium, sulfur citrates in broiler chickens. *Reg Mech Biosys.* 2021; 12 (3): 523–530. DOI: 10.15421/022172.
9. Folch J, Lees M, Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 1957; 226 (1): 497–509. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)64849-5.
10. Gu X, Gao CQ. New horizons for selenium in animal nutrition and functional foods. *Anim Nutr.* 2022; 11: 80–86. DOI: 10.1016/j.aninu.2022.06.013.
11. Guo L, Xiao J, Liu H, Liu H. Selenium nanoparticles alleviate hyperlipidemia and vascular injury in ApoE-deficient mice by regulating cholesterol metabolism and reducing oxidative stress. *Metallomics.* 2020; 12 (2): 204–217. DOI: 10.1039/c9mt00215d.
12. Hosnedlova B, Kepinska M, Skalickova S, Fernandez C, Ruttkay-Nedecky B, Malevu TD, Sochor J, Baron M, Melcova M, Zidkova J, Kizek R. A summary of new findings on the biological effects of selenium in selected animal species — A critical review. *Int J Mol Sci.* 2017; 18 (10): 2209. DOI: 10.3390/ijms18102209.
13. Hosny NS, Hashem NM, Morsy AS, Abo-Elezz ZR. Effects of organic selenium on the physiological response, blood metabolites, redox status, semen quality, and fertility of rabbit bucks kept under natural heat stress conditions. *Front Vet Sci.* 2020; 7: 290. DOI: 10.3389/fvets.2020.00290.
14. Kates M. *Techniques in Lipidology: Isolation Analysis and Identification of Lipids.* 2nd ed. Elsevier Press, 1986.
15. Kieliszek M, Błażej S, Bzducha-Wróbel A, Kot, AM. Effect of selenium on growth and antioxidative system of yeast cells. *Mol Biol Rep.* 2019; 46: 1797–1808. DOI: 10.1007/s11033-019-04630-z.
16. Kieliszek M, Dourou M. Effect of Selenium on the growth and lipid accumulation of *Yarrowia lipolytica* yeast. *Biol Trace Elem Res.* 2021; 199: 1611–1622. DOI: 10.1007/s12011-020-02266-w.
17. Kosinov MV, Kaplunenko VG. Method for metal carboxylates obtaining. Nanotechnology of obtaining metal carboxylates.

- UA patent 38391, ICP C 07C 51/41 Publ. 12.01.2009; Bull. No. 1. Available at: <https://sis.nipo.gov.ua/en/search/detail/276279>.
18. Lesyk Y, Ivanytska A, Kovalchuk I, Monastyrskaya S, Hoivanovych N, Gutyj B, Zhelavskiy M, Hulai O, Midyk S, Yakubchak O, Poltavchenko T. Hematological parameters and content of lipids in tissues of the organism of rabbit according to the silic on connection. *Ukr J Ecol.* 2020; 10 (1): 15–22. DOI: 10.15421/2020_5.
 19. Ma X, Li X, Wang W, Zhang M, Yang B, Miao Z. Phosphatidylserine, inflammation, and central nervous system diseases. *Front Aging Neurosci.* 2022; 14: 975176. DOI: 10.3389/fnagi.2022.975176.
 20. Mylostyva D, Gutyj B, Borshenko V, Marenkov O, Yaremko O, Lesnovska O, Izhboldina O, Mylostyvyi R, Farafonov S, Levytskyy T, Kushnir H, Ryvak H. Content of fatty acids and lipid peroxidation products in the blood serum of young ukrainian beef breed under the action salt of copper, selenium and manganese. *Fiziol Zh.* 2023; 69 (6): 60–68. DOI: 10.15407/fz69.06.060.
 21. Petrovska IR, Salyha YT, Vudmaska IV. Statistical methods in biological research. A monograph. Kyiv: Ahrana Nauka, 2022: 172 p. (in Ukrainian)
 22. Qiao L, Men L, Yu S, Yao J, Li Y, Wang M, Yu Y, Wang N, Ran L, Wu Y, Du J. Hepatic deficiency of selenoprotein S exacerbates hepatic steatosis and insulin resistance. *Cell Death Dis.* 2022; 13: 275. DOI: 10.1038/s41419-022-04716-w.
 23. Ren J, Lin J, Yu L, Yan M. Lysophosphatidylcholine: potential target for the treatment of chronic pain. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (15): 8274. DOI: 10.3390/ijms23158274.
 24. Sessa L, Nardiello AM, Santoro J, Concilio S, Piotta S. Hydroxylated Fatty Acids: The role of the sphingomyelin synthase and the origin of selectivity. *Membranes.* 2021; 11 (10): 787. DOI: 10.3390/membranes11100787.
 25. Shyu P, Ng BSH, Ho N, Chaw R, Seah YL, Marvalim C, Thibault G. Membrane phospholipid alteration causes chronic ER stress through early degradation of homeostatic ER-resident proteins. *Sci Rep.* 2019; 9 (1): 8637. DOI: 10.1038/s41598-019-45020-6.
 26. Sobolev O, Gutyj B, Petryshak R, Pivtorak J, Kovalskyi Y, Naumyuk A, Petryshak O, Semchuk I, Mateusz V, Shcherbaty A, Semeniv B. Biological role of selenium in the organism of animals and humans. *Ukr J Ecol.* 2018; 8: 654–665. DOI: 10.15421/2018_263.
 27. Swelum AA, Elbestawy AR, El-Saadony MT, Hussein EOS, Alhotan R, Suliman GM, Taha AE, Ba-Awad H, El-Tarabily KA, Abd El-Hack ME. Ways to minimize bacterial infections, with special reference to *Escherichia coli*, to cope with the first-week mortality in chicks: An updated overview. *Poult Sci.* 2021; 100 (5): 101139. DOI: 10.1016/j.psj.2021.101039.
 28. Vaskovsky VE, Kostetsky EY, Vasendin IM. A universal reagent for phospholipid analysis. *J Chromatogr A.* 1975; 114 (1): 129–141. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)85249-8.
 29. Vlizlo VV, Iskra RJ, Fedoruk RS. Nanobiotechnology. Present state and future prospectes. *Biol. Tvarin.* 2015; 17 (4): 18–29. Available at: <https://aminbiol.com.ua/index.php/106-archive/bt-17-4-2015/1386-nanobiotechnology-present-state-and-future-prospectes>.
 30. Xiao S, Mao L, Xiao J, Wu Y, Liu H. Selenium nanoparticles inhibit the formation of atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice by alleviating hyperlipidemia and oxidative stress. *Eur J Pharmacol.* 2021; 902: 174120. DOI: 10.1016/j.ejphar.2021.174120.
 31. Zhao M, Luo T, Zhao Z, Rong H, Zhao G, Lei L. Food chemistry of selenium and controversial roles of selenium in affecting blood cholesterol concentrations. *J Agr Food Chem.* 2021; 69 (17): 4935–4945. DOI: 10.1021/acs.jafc.1c00784.

Effect of Se citrate on lipid and phospholipid composition in rabbit blood plasma

O. Prodanchuk¹, A. Pylypets^{2*}, M. Tsap², G. Denys²

*pylyp-andriy@ukr.net

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, 50 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

²Institute of Animal Biology NAAS, 38 V. Stusa str., Lviv, 79034, Ukraine

Selenium is a trace element that has attracted considerable attention due to its potential use in the prevention and treatment of various diseases. It mitigates oxidative stress and affects the efficiency of fatty acid biosynthesis in animal tissues. The aim of our study was to establish the relationship between the content of total lipids, lipid classes and phospholipids in the blood plasma of rabbits of different sexes when selenium citrate was added to drinking water. Rabbits in the control group received standard granulated feed and water without restriction. Rabbits in the experimental groups received nanotechnological selenium citrate in the amount of 200 µg Se/L daily with drinking water. The duration of the experiment was 30 days. The content of total lipids, the ratio of their classes and phospholipids in blood plasma was determined by thin-layer chromatography on the 15th and 30th day of life. Changes in the lipid composition of the blood plasma of rabbits with the use of Se citrate were detected, possibly as a result of their multifactorial effect on the structure and function of individual tissues and organs. It was found that the addition of Se citrate leads to a significant decrease in the content of total lipids (by 24–26 % on the 30th day), which may indicate the activation of their metabolism and use as an energy substrate. The level of free cholesterol decreased by 20.28 %, which indicates the inhibition of cholesterol synthesis or increased excretion. The increase in the level of triacylglycerols at the end of the experiment (by 18–24 %) may be a compensatory reaction or the result of enhanced lipolysis and oxidation of fatty acids under the action of selenium nanoparticles. Changes in the content of phosphatidylcholine and lysophosphatidylcholine indicate the restructuring of the structure of cell membranes and the activation of cell signaling systems. A decrease in sphingomyelin and phosphatidylethanolamine levels indicates a change in the lateral structure of membranes, which helps the body adapt to environmental factors.

Keywords: males, females, rabbits, blood plasma, Se citrate, lipids, lipid classes, phospholipids