

Review articles

Modern concept of physiological signaling systems in cattle fetuses with the participation of FC- γ -receptors

D. M. Masiuk

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Received: 05 May 2020

Revised: 13 May 2020

Accepted: 24 May 2021

Dnipro State Agrarian and Economic
University, Sergii Efremov Str., 25, Dnipro,
49600, Ukraine

Tel.: +38-050-636-62-37

E-mail: dimasiuk@gmail.com

Cite this article: Masiuk, D. M. (2021).
Modern concept of physiological signaling
systems in cattle fetuses with the participation
of FC- γ -receptors *Theoretical and Applied
Veterinary Medicine*, 9(1), 59–65.
doi: 10.32819/2021.92010

Abstract. The article presents a literature review on the modification of expression and recycling of Fc- γ -receptors of fetal jejunal enterocytes in cattle. Based on the analyzed data, a modern concept of physiological signaling systems in cattle fetuses with the participation of Fc- γ receptors has been developed. These results indicated age-related modulation of Fc γ R intestinal cells expression during the entire fetal period of cattle, and the dynamics of changes in the content of polypeptides with different molecular weights that exhibit Fc- γ -binding activity in the basolateral and apical regions of the enterocyte's plasma membrane and have certain characteristic features for each groups of receptors for IgG. It has been proven that the regulation of Fc γ R expression by plasma membrane of jejunal enterocytes in cattle during the fetal period of ontogenesis is controlled by mechanisms associated with fetal development. The obtained research results and their in-depth analysis made it possible to propose a scientific concept on the physiological functions of Fc γ R during the fetal period of cattle ontogenesis. In particular, they translocate signals by the mother-placenta-fetus chain, form one of the key signaling systems for regulating the development of enterocytes, recognize specific signals from immunoglobulins and antigens, play an important role in the transcytosis and recycling of IgG from the amniotic fluid into fetal circulation, and form the immune mechanisms of the fetus for the intrauterine functioning body adaptation and prepare it for antigenic pressure after birth. So, the expression modulation, localization and identification of polypeptides on the plasma membrane that exhibit Fc- γ -binding activity, makes it possible to form a signaling system and control the development of barrier and immune functions in the fetus with the participation of Fc γ R.

Keywords: Fc γ R; IgG; fetus; cattle; physiological signaling systems

Сучасна концепція фізіологічних систем сигналізації у плодів великої рогатої худоби за участі FC- γ -рецепторів

Д. М. Масюк

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Анотація. Представлено літературний огляд стосовно модифікації експресії та рециклінг Fc- γ -рецепторів ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби. На підставі проаналізованих даних розроблено сучасну концепцію фізіологічних систем сигналізації у плодів великої рогатої худоби за участі Fc- γ -рецепторів. Наведені результати вказують на вікову модуляцію експресії Fc γ R кишкових клітин протягом усього плодового періоду великої рогатої худоби, при чому динаміка змін умісту поліпептидів із різною молекулярною масою, які проявляють Fc- γ -зв'язувальну активність на базолатеральних і апікальних ділянках плазмолемі ентероцитів мають певні характерні особливості для кожної групи рецепторів для IgG. Доведено, що регуляція експресії Fc γ R плазмолемі ентероцитів порожньої кишки великої рогатої худоби у фетальний період онтогенезу контролюються механізмами, асоційованими з розвитком плоду. Отримані результати досліджень та їх глибокий аналіз дозволили запропонувати наукову концепцію щодо фізіологічних функцій Fc γ R у плодів період онтогенезу великої рогатої худоби. Зокрема, вони транслюють сигнали ланцюгом мати-плацента-плід, формують одну з ключових сигнальних систем регуляції розвитку ентероцитів, розпізнають специфічні сигнали від імуноглобулінів та антигенів, відіграють важливу роль у трансцитозі та рециклінгу IgG із амніотичної рідини у фетальну циркуляцію, формують імунні механізми плода до адаптації внутрішньоутробного функціонування організму та готують його до антигенного пресингу після народження. Отже, модуляція експресії, локалізація і ідентифікація на плазмолемі поліпептидів, які проявляють Fc- γ -зв'язувальну активність, дозволяє сформувати систему сигналізації та контролювання розвитку бар'єрної та імунної функцій у плода за участі Fc γ R.

Ключові слова: Fc γ R; IgG; плід; велика рогата худоба; фізіологічні системи сигналізації

Вступ

Відповідно до сучасних уявлень становлення імунної системи багатьох ссавців проходить у пізній плодовий період онтогенезу. Особливу роль у забезпеченні імунного захисту і життєздатності плода відіграють молекулярні механізми, які контролюють розвиток імунокомпетентних клітин, синтез і транспорт імуноглобулінів (Mund, 2018). У цей час, одними з найбільш важливих регуляторів і транспортерів одночасно розглядаються рецепторні білки, які здатні специфічно розпізнавати Fc-фрагменти імуноглобулінів класу G (Fc- γ -рецептори) (Eisenreich et al., 2017).

Не дивлячись на те, що рецептори для імуноглобулінів були вперше ідентифіковані близько 40 років тому, їх провідна роль в імунній відповіді визначена лише в останні десятиліття (Nimmerjahn & Ravetch, 2006; Stelter et al., 2019). На сьогодні рецептори імуноглобулінів виявлені у різних типах клітин, однак їх роль у ентероцитах залишається не повністю зрозумілою. Fc- γ -рецептори є ключовими учасниками як аферентної, так і еферентної фази імунної відповіді. Встановлення порогу для V-клітинної активації вони регулюють розвиток дендритних клітин і закріплюють тонку специфічну відповідь антитіл на вроджені ефекторні шляхи такі як, фагоцитоз, антитілозалежну клітинну цитотоксичність та інші. Наявність Fc- γ -рецепторів у складі рецепторних пар індукуює активацію та інгібування метаболізму клітин і дозволяє встановити баланс позитивних і негативних сигналів, що визначають результат імунної відповіді (Schmidt & Gessner, 2005). Fc- γ -рецептори експресуються різними типами клітин, як складові критичних елементів модуляції імунної відповіді, і об'єднують ланки гуморальних та клітинних реакцій (Sibérl et al., 2006). Fc- γ -рецептори є чутливими сенсорами імунного статусу організму. Погіршення регуляції за участю Fc- γ -рецепторів може залишатися без відповіді або вести до гіперреактивності як до чужих, так і до своїх антигенів. Багато тваринних і клітинних моделей підтверджують важливу роль Fc-рецепторів як в активації, так і в супресії імунної відповіді (Nimmerjahn et al., 2007).

Інформація щодо закономірності організації білкових структур плазматичних мембран клітин в останні місяці внутрішньоутробного розвитку є на сьогодні фрагментарною та нечисельною. Дані щодо визначення імунофункціональної гетерогенності поліпептидних комплексів макромолекул ентероцитів плодів великої рогатої худоби відсутні. Розкриття особливостей динаміки експресії та поліпептидного складу Fc-рецепторів у апікальних і базолатеральних мембранах ентероцитів порожньої кишки у плодовий період відкривають як перспективу для подальшого дослідження формування загальних імунологічних механізмів у пренатальному онтогенезі продуктивних тварин, так і специфіку становлення окремих елементів, що відповідають за формування адаптивної взаємодії з біологічно активними компонентами молозива. Саме тому, подальшою метою нашої роботи було визначити особливості динаміки експресії та поліпептидний уміст Fc- γ -рецепторів апікальних і базолатеральних мембран ентероцитів порожньої кишки великої рогатої худоби у плодовому періоді онтогенезу.

Результати та їх обговорення

У деяких ссавців і птиці сліди імуноглобулінів виявляються вже в період внутрішньоутробного розвитку. Ще в 1969 р. F. Vrambell висловив гіпотезу про те, що окремі материнські глобуліни проникають через плаценту завдяки прикріпленню до специфічних рецепторів на поверхні плазматичної мембрани (Borthistle et al., 1977). З одного боку, це захищає імуноглобуліни від протеолітичного розщеплювання, а з іншого – є універсальним механізмом трансмембранної сигналізації. Сти-

муляція Fc- γ -рецепторів індукуює клітинну відповідь у клітин самих різних типів (Ravetch et al., 2001). Не дивлячись на те, що антитіла не проникають через плаценту корів, існують дані, які вказують про появу імунокомпетентних лімфоцитів і наявність власних імуноглобулінів у крові великої рогатої худоби бика свійського у плодовий період онтогенезу (Gavrilin et al., 2004; Lieshchova, 2007; Gavrilin et al., 2017).

Особливої уваги заслуговують вперше отримані нами дані відносно взаємозв'язків активності трансфераз і гідролаз з експресією Fc- γ -рецепторних білків апікальних і базолатеральних мембран ентероцитів. Важливо відзначити, що активність трансфераз та гідролаз у апікальній мембрані ентероцитів прямо пов'язана з вмістом Fc- γ -рецепторних білків з молекулярною масою 43 кДа ($P \leq 0,05-0,01$), а активність Mg²⁺-АТФази і лактази обернено корелює з вмістом у плазмолемі ентероцитів Fc- γ -рецепторних білків з молекулярною масою 87 кДа ($P \leq 0,05$). На протигагу цьому, у базолатеральній мембрані ентероцитів активність лужної фосфатази прямо пов'язана з вмістом Fc- γ -рецепторних білків з молекулярною масою 87 кДа ($P \leq 0,001$) та обернено пов'язана із вмістом білків з молекулярною масою 43 кДа ($P \leq 0,05$). Активність γ -глутамілтрансферази корелює з вмістом Fc- γ -рецепторних білків з молекулярними масами 87 кДа та 72 кДа ($P \leq 0,05$) та обернено з білками з молекулярною масою – 120 кДа ($r = -0,77$; $P \leq 0,05$). Активність лактази прямо пов'язана з вмістом у плазмолемі ентероцитів Fc- γ -рецепторних білків з молекулярною масою 72 кДа ($P \leq 0,05$) та обернено пов'язана з білками з молекулярною масою 120 кДа ($P \leq 0,05$).

Fc- γ -рецептори наявні не тільки в плаценті, але й на плазматичній мембрані епітеліальних клітин тонкої кишки плодів тварин різних видів, у тому числі і у жуйних, завдяки яким пасивний імунітет підтримується материнськими антитілами, що надходять із молозивом (Leary et al., 1982). Це може бути пов'язано з тим, що імуноглобуліни класу G володіють більш інтенсивною бактеріостатичною дією і вони є найбільш ефективними у пренатальному захисті організму від кишкових інфекцій.

Отримані нами результати імуноблотингу доводять (Masiuk, 2020a) загальну подібність складників Fc- γ -рецепторів екстрагованих з апікальних і базолатеральних мембран ентероцитів порожньої кишки великої рогатої худоби у плодовому періоді онтогенезу. Білки, які зв'язують IgG за умов інкубації нітроцелюлози після перенесення на неї розділених у ПААГ фракцій мембранних білків, були наведені поліпептидними зонами з молекулярними масами 120 кДа, 87 кДа, 72 кДа і 43 кДа.

У гризунів і приматів, у тому числі й у людини, пасивний імунітет створюється за рахунок прямого проникнення материнських антитіл до плоду (Rodewald & Kraehenbuhl, 1984). Проникність плаценти для антитіл різних класів неоднакова. Імуноглобуліни класів M і E практично не проходять через плаценту, а імуноглобуліни класу A проходять лише частково. В той же час, імуноглобулін G (особливо субклас G) має високу здатність проникати через плацентарний бар'єр, що зумовлено особливістю будови Fc-фрагмента її молекули. У тварин великої рогатої худоби наявність епітеліохоріального типу плаценти зумовлює інший, особливий шлях імунізації новонародженого організму, який полягає у передачі їм нативних імуноглобулінів із молозивом матері.

Молозиво – це єдине головне джерело материнських імуноглобулінів, що забезпечують захист новонароджених телят у неонатальний період розвитку. Максимальна концентрація антитіл у ньому виявляється в перші дні після отелення корови, а потім швидко знижується (Koghonen et al., 2000). Це може бути пов'язано з активним розвитком імунної системи плода в ранній постнатальний період і експресією імуноглобулінових генів імунокомпетентними В-лімфоцитами. У молозиві корів уміст імуноглобулінів G переважає над імуноглобулінами A і

М, оскільки вони ефективніше транспортуються у молочні залози та епітелій альвеол, клітини яких мають вищу щільність Fc- γ -рецепторів (Mayer et al., 2005).

Відомо, що родина Fc- γ -рецепторів до IgG, як і більшість рецепторів клітинної поверхні – це глікопротеїни. Спрямованість мультифакторіальної клітинної відповіді на стимуляцію Fc- γ -рецептора визначається їх класом і типом клітин. Існують дані, що кожному окремому підкласу імуноглобулінів у плазматичній мембрані еритроцитів відповідають рецептори з молекулярними масами – 28 кДа (IgG1), 46 кДа (IgG2), 70 кДа (IgG3) і 115 кДа (IgG4) (Hogarth, 2002). В той же час, є повідомлення про зв'язування декількох підкласів IgG одним типом Fc- γ -рецептора (Ravetch, 1997).

Аналіз динаміки змін відносного вмісту Fc- γ -рецепторних білків на обох макродоменах плазмолем еритроцитів доведено, що на апікальній мембрані загальна концентрація рецепторів до IgG достовірно підвищується у плодів 5-місячного віку в 1,3 рази, у плодів 7-місячного віку в 2,2 рази порівняно з плодами 3-місячного віку. У подальшому, у плодів 9-місячного віку вміст рецепторів у плазмолемі еритроцитів достовірно знижується майже втричі ($P \leq 0,001$) порівняно з плодами 7-місячного віку і, фактично, становить початковими даними плодів 3-місячного віку. На базолатеральній мембрані еритроцитів найвищий вміст Fc- γ -рецепторів виявляється у 5-місячних плодів. У подальшому, до 7- та 9-місячного віку плода, концентрація рецепторних білків поступово знижується в 1,7 та 2,8 рази ($P \leq 0,001$), відповідно, порівняно з плодами 7-місячного віку (Masiuk, 2020b). Порівнюючи вміст Fc- γ -рецепторів в різних полярних частинах плазматичної мембрани еритроцитів потрібно зазначити, що впродовж усього плодового періоду їх концентрація більша на базолатеральній мембрані, ніж на апікальній: у 3-місячному віці плода – на 42%, у 5-місячному – на 77%, у 9-місячному – на 16 %, за виключенням плодів 7-місячного віку, де їх локалізація переважає на апікальній мембрані еритроцитів (на 67%).

У той же час, кількісний аналіз окремих поліпептидних зон дозволив виявити достовірне зростання вмісту Fc- γ -рецепторних білків з молекулярною масою 87 кДа, що були екстраговані із апікальної мембрани еритроцитів плодів із третього по сьомий місяці плодового періоду. На відміну від апікальної мембрани, у фракції білків базолатеральної мембрани достовірних змін щодо вмісту рецепторного білка з цією молекулярною масою не виявлено. Найбільший вміст Fc- γ -рецепторів з молекулярною масою 72 кДа встановлений нами в фракції апікальної мембрани плодів 5-та 7-місячного віку. На відміну від апікальної мембрани, у базолатеральній мембрані еритроцитів максимальна концентрація цього білка є вищою у плодів 3- і 5-місячного віку.

На особливу увагу заслуговує факт однаковспрямованого зниження вмісту, як на апікальній, так і в базолатеральній мембрані еритроцитів. Fc- γ -рецепторних білків із молекулярними масами – 87 кДа, 72 кДа і 43 кДа плодів 9-місячного віку.

Останнім часом дослідниками наведені дані щодо складників і особливостей Fc- γ -рецепторів плазмолемі епітеліальних клітин кишечника мишей (Van Der Feltz et al., 2001), шурів (Garen, 1960) і людини (Dickinson et al., 1999). У цих роботах доведена значна гетерогенність поліпептидів указаних рецепторів.

Наведені в нашій роботі дані є першим повідомленням про експресію на плазмолемі еритроцитів плодів великої рогатої худоби білків з Fc- γ -рецепторними властивостями. Обговорюючи отримані результати важливо виділити, що трансплацентарне проникнення імуноглобулінів від матері до плоду у різних тварин залежить, перш за все, від специфіки плацентарного бар'єру та стану організму під час народження.

Зазначимо, що виявлена нами динаміка змін вмісту в плазмолемі еритроцитів плодів окремих поліпептидів з молекулярними масами 120 кДа, 87кДа, 72 кДа і 43 кДа, в цілому, співпадала з динамікою загального вмісту Fc- γ -рецепторних білків (Masiuk, 2020c). На нашу думку, це може бути наслідком спорідненості генів, які кодують дані поліпептиди та загальних фізико-хімічних властивостей сімейства цих білків. Отже, динаміка експресії та вміст Fc- γ -рецепторів у апікальній і базолатеральній мембранах еритроцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби відображає процеси диференціації клітин у пізній плодовий період онтогенезу. До того ж зміна концентрації Fc- γ -рецепторів на різних полюсах плазмолемі еритроцитів плода відповідає певній стадії розвитку та вказує про пренатальне становлення механізмів імунологічної реактивності у ссавців цього виду.

Наявність Fc- γ -рецепторів у апікальній і базолатеральній мембранах еритроцитів плодів вказує про активний рециклінг цих рецепторів. Існують дані, які вказують на те, що рециклінг Fc- γ -рецепторів індукується специфічними лігандами, а саме – IgG (Leary et al., 1982). Доведено, що трансцитоз за участю Fc- γ -рецепторів еритроцитів шурів індукється IgG різних біологічних видів із подібною, але не еквівалентною активністю (Kacsokovics et al., 2000). Цей факт підтверджує відносну видонеспецифічність спорідненості Fc- γ -рецепторів до γ ланцюгів. Оскільки антитіла матері не проходять крізь плаценту, отримані нами дані вказують на наявність IgG та імунокомпетентних клітин, які здатні їх синтезувати на 3–5 місяці розвитку плода великої рогатої худоби.

Відомі насьогодні дані дозволяють передбачити надзвичайно вагомую роль Fc- γ -рецепторів не лише в транспорті імуноглобулінів G, але й у багатьох механізмах регуляції захисних реакцій у плодовий період онтогенезу великої рогатої худоби. Нині досить детально вивчені структура та фізико-хімічні властивості багатьох рецепторних білків. З'ясовано, що, незалежно від класової належності, Fc- γ -рецептори розподіляються на два типи – активуючі та інгібуючі метаболічну активність клітин (Maltais et al., 2006). Родина Fc- γ -рецепторів виконує важливу біологічну роль у регуляції балансу цих ефектів на імунну систему. Проте роль Fc- γ -рецепторів різних гістотипів залишається не повністю зрозумілою. Існують розрізнені дані щодо функцій Fc- γ -рецепторів різних клітинних ліній, які включають тромбоцити, нейтрофіли, еозинофіли, моноцити, макрофаги, гранулярні лімфоцити і В-лімфоцити. У всіх цих типах клітин стимуляція Fc- γ -рецепторів викликає певну клітинну відповідь. Рецептори Fc- γ фрагментів імуноглобуліну G відіграють надзвичайно важливу роль у перетворенні гуморальних сигналів імунної відповіді в активацію різних ефекторних клітин. Клітинна відповідь, яка опосередкована Fc- γ -рецепторами, виявляється у вигляді ендцитозу, фагоцитозу, антигеннезалежної клітинної взаємодії, генерації супероксидних радикалів, секретії лізосомальних ензимів і цитокінів (Hogarth, 2002).

Складність механізмів контролювання над розвитком імунної системи у плодовий період підтверджується даними про взаємодію Fc- γ -рецепторів з іншими модуляторами клітинної відповіді. Відомо, що Fc- γ -рецептори кооперативно взаємодіють з іншими гуморальними і клітинними рецепторами, які регулюють імунну відповідь (Hamaguchi et al., 2006). Модуляція клітинної активності через Fc- γ -рецептори додатково контролюється взаємодією із C5 компонента системи комплементу, а також з антигензв'язуючими рецепторами, за цих умов кооперативний сигнал про взаємодію знижує активність В-лімфоцитів.

Цілком можливо, що визначені нами зміни експресії Fc- γ -рецепторів на апікальній і базолатеральній мембранах еритроцитів тонкої кишки плодів великої рогатої худоби відображають певні стадії формування імунітету плода (Masiuk & Tsvilikhovskiy, 2011).

Зростання концентрації FC- γ -рецепторів на апікальній мембрані ентероцитів упродовж перших двох триместрів пренатального розвитку з піком їх умісту у плодів 7-місячного віку, ймовірно, пов'язане з наявністю специфічних індукторів в амніотичній рідині, яка безпосередньо контактує з апікальною ділянкою ентероцитів. Загальний уміст FC- γ -рецепторів значно вищий на базолатеральній мембрані ентероцитів майже протягом усього плодового періоду, на відміну від апікальної мембрани, з найвищою експресією у 5-місячних плодів. Визначені зміни експресії FC- γ -рецепторів асоційовані зі зміною фосфоліпідного складу плазматичних мембран (базолатерального полюсу) саме у цей період пренатального онтогенезу, особливо фосфатидилінозитулу (Buhai & Tsvilikhovskiy, 2010), який є вторинним месенджером внутрішньоклітинної сигналізації.

Отже, відмінності періодів, на які припадає максимальний уміст FC- γ -рецепторів на полярних макродоменах плазмолемі ентероцитів, відображають особливості функціонального навантаження і фізіологічний стан цих клітин.

Стимуляція FC- γ -рецепторів є важливим ланцюгом ініціації і контролювання ефекторних імунних функцій, до яких залучаються антиген-презентуючі клітини, в першу чергу, макрофаги і різні дендритні клітини. Висока концентрація цих рецепторів спостерігається на клітинах, які мають на мембрані значний рівень глікопротеїнів клітинного розпізнавання (MHC-II, DEC205, CD40 і CD86), що підтверджує їх активність у руйнуванні та представленні (процесінгу та презентації) антигенів (Tan et al., 2003).

Зміна умісту і складників FC- γ -рецепторів можливо пов'язана з фізіологічно потребою плода у захисті від реакцій Ig матері з антигенами головного комплексу гістологічної сумісності (MHC) плода, які він успадковує від одного з батьків. Зниження умісту рецепторів, що було виявлено нами у фракціях апікальної і базолатеральної мембран на 9-му місяці плодового періоду може бути пов'язано з тим, що в організмі плода в цей час розвитку вже наявні власні імунокомпетентні лімфоцити, які здатні відповідати на антигенну стимуляцію синтезом специфічних антитіл. Враховуючи цей факт, а також те, що для епітеліальних і ендотеліальних клітин властива надзвичайно висока концентрація MHC-антигенів, можна припустити функціональний зв'язок FC- γ -рецепторів із процесом презентації IgG-імунних комплексів із амніотичної рідини.

Наявність FC- γ -рецепторів на плазмолемі ентероцитів у плодів період онтогенезу вказує про те, що, на додаток до їх ефекторної функції, вони забезпечують трансцитоз вільних IgG та в комплексі з антигеном. Зворотній обмін (рециклінг) IgG за участю FC- γ -рецепторів між тканиною плода та кишковою порожниною забезпечує захист і передродову імунізацію антигенами з амніотичної рідини. Цей транспорт може бути зв'язувальною ділянкою між уродженим і набутим імунітетом шляхом розпізнавання і презентації антигенів плода як T-незалежних імунних комплексів.

Визначені зміни експресії FC- γ -рецепторів і їх гетерогенність в апікальних і базолатеральних макродоменах плазмолемі ентероцитів великої рогатої худоби у плодів період вказує про певні особливості розвитку та формування імунних механізмів плода, починаючи з третього місяця пренатального онтогенезу. Імунні реакції за участю FC- γ -рецепторів забезпечують потенційні адаптивні можливості внутрішньоутробного функціонування організму та готують його до антигенного пресінгу після народження. Отримані нами дані можуть бути корисними під час визначення імунного статусу та дефектів розвитку імунної системи *Bos primigenius taurus L.* у фетальний період.

Достатньо детально вивчені механізми передачі Ig через плаценту до плоду (Dickinson et al., 1999) та через тонку кишку у новонароджених ссавців (Melnichuk et al., 1998). Наведені результати вказують на вікову модуляцію експресії всіх вияв-

лених типів FC γ R кишкових клітин протягом усього плодового періоду великої рогатої худоби. Потрібно відзначити, що динаміка змін умісту поліпептидів із різною молекулярною масою, які проявляють FC- γ -зв'язувальну активність на базолатеральних і апікальних ділянках плазмолемі ентероцитів мають певні характерні особливості для кожної групи рецепторів для IgG.

Результати розрахунку окремих поліпептидів FC γ R на протилежних ділянках плазмолемі ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби доводять, що білки з молекулярними масами 120, 87 і 72 кДа переважають за вмістом на базолатеральній мембрані до середини фетального періоду (плоди 5-місячного віку). Така специфіка розподілення, можливо, відображає функціональну спеціалізацію мембран під час внутрішньоутробного розвитку. У цей же час відсутній безпосередній зв'язок кишкової трубки із навколишнім середовищем, що обумовлює відповідну специфіку фетального кровообігу та позначається гемотрофним типом живлення. Незважаючи на те, що антитіла не проникають через плаценту корів, існують дані, які вказують про появу імунокомпетентних лімфоцитів і наявність власних імуноглобулінів у крові в плодів період онтогенезу великої рогатої худоби (Leary et al., 1982).

Експресія поліпептиду з молекулярною масою 43 кДа, який проявляє FC- γ -зв'язувальну активність, має зворотну залежність порівняно з FC γ R з молекулярними масами 87 і 72 кДа та характеризується апікальною приналежністю у ранній плодівий період великої рогатої худоби. Можна припустити, що за аналогією з людиною (Mostov et al., 2000), в плодівий період великої рогатої худоби цей тип FC γ R має важливу роль (є тригером) у транспортуванні IgG із амніотичної рідини у фетальну циркуляцію. Отже, дані розподілення окремих класів FC γ R на плазмолемі кишкових клітин, на нашу думку, вказують про механізм рециклінгу IgG і IgG-антиген комплексів плодів великої рогатої худоби крізь ентероцити. Це вказує на важливу роль FC γ R у реалізації IgG функцій в імунному нагляді, захисті слизової оболонки порожньої кишки та резистентності плода.

Отримані нами дані узгоджуються із сучасними уявленнями, відповідно до яких, на поверхні плазматичних мембран клітин ссавців наявні чотири групи FC-рецепторів IgG: FC γ RI (CD64), FC γ RII (CD32), FC γ RIII (CD16) та FC γ RIV (Alipour et al., 2018). Усі вони мають позаклітинні домени, які значною мірою гомологічні V-ділянками імуноглобулінів, тобто відносяться до імуноглобулінової суперродини молекул (Masiuk, 2008). Ці представники гетерогенної родини рецепторних молекул здатні зв'язувати імуноглобуліни окремих підкласів.

Імуноблотинг проводили в умовах, що дозволяють відновити нативну структуру білків і виявити їх в реакції специфічного розпізнавання рецептор-ліганд (Masiuk, 2020a). Результати імуноблотингу доводять, що поліпептидні складники FC γ R екстрагованих із плазмолемі кишкових епітеліальних клітин із посмугованою облямівки протягом усього плодового періоду великої рогатої худоби мали ідентичний поліпептидний склад, як на апікальному так і базолатеральному домені. Ідентифіковані мембранні білки з FC- γ -зв'язувальною активністю наведені поліпептидними зонами з молекулярними масами 120 і 87 кДа. Виявлені нами поліпептиди плазматичної мембрани ентероцитів відносяться до родини FC γ R, оскільки афінно зв'язували в імуноблотингу Ig класу G та їх FC- γ -фрагменти. Існують дані, що кожному окремому підкласу Ig у плазмолемі відповідають рецептори з різними молекулярними масами (Melnichuk et al., 1995). Тому ймовірно, що поліпептид з Mr 87 кДа відноситься до групи FC γ RIII (Masiuk, 2020b). Поліпептид з Mr 120 кДа, на нашу думку, є видоспецифічним рецепторним білком плодів великої рогатої худоби і ми позначаємо його, як FC γ RI.

Наведені результати вказують на локалізацію експресії всіх виявлених типів FC γ R кишкових клітин упродовж усього плодового періоду великої рогатої худоби. Принагідно підкреслимо, що динаміка змін умісту поліпептидів із різною молеку-

лярною масою, які проявляють Fc- γ -зв'язувальну активність на базолатеральних і апікальних ділянках ентероцитів мають певні характерні особливості для кожної групи рецепторів для IgG (Masiuk, 2019).

Кінетика поліпептиду з Mr 120 кДа, який проявляє Fc- γ -зв'язувальну здатність, характеризується загальною збіжністю експресії його вмісту на апікальному і базолатеральному домені ентероцитів упродовж плодового періоду. Динаміка вмісту Fc γ R з Mr 87 кДа кишкових епітеліальних клітин із посмугованою облямівкою протягом усього фетального періоду характеризується десинхронністю його експресії на апікальній і базолатеральній мембрані. Вікова динаміка Fc γ R з Mr 87 кДа характеризується інверсними змінами його експресії між апікальним і базолатеральним доменом кишкових клітин великої рогатої худоби.

Відомо, що у ранній плодовий період онтогенезу відсутній безпосередній зв'язок кишкової трубки з довкіллям, що обумовлює відповідну специфіку фетального кровообігу та позначається гемотрофним типом живлення. Незважаючи на те, що антитіла не проникають крізь плаценту корів, існують дані, які вказують про появу імунокомпетентних лімфоцитів і синтез власних імуноглобулінів у плодів великої рогатої худоби (Kaifu & Nakamura, 2017). Цей факт дозволяє припустити, що у ранній плодовий період великої рогатої худоби Fc γ RIII і Fc γ Rf базолатеральної мембрани беруть участь у зв'язуванні з різними підкласами фетальних IgG у базолатеральних ендосомах ентероцитів і за допомогою яких транспортують їх на апікальну поверхню плазмолемі для участі в імунних механізмах захисту. Варто зазначити, що, ймовірно, механізм проникнення IgG з базолатерального боку, де рН середовища нейтральний або слаболужний (7,0–7,5 одиниць) відбувається рецепторно-незалежним способом за допомогою рідинно-фазового ендцитозу, після чого зв'язується з відповідним Fc γ R у кислій ендосомі, подібний до відомого шляху, який проникає IgG у мишей, щурів, приматів і людини у жовтковому мішку та плаценті (Simmons, 2018).

На початку пізнього плодового періоду відзначається початок перерозподілу полярності експресії Fc γ RIII, яка позначилась збільшенням її вмісту на АМ. Такий розподіл Fc γ RIII на протилежних сторонах ентероцитів, імовірно, пов'язані з процесами трансцитозу IgG у цей період онтогенезу за рахунок розвитку травного каналу, збільшенням навколоплодової рідини та заковтуванням її плодом. Ці фізіологічні закономірності, перш за все, призводять до зміни спрямованості та інтенсивності напрямку транспортування IgG (апикально-базолатеральний). Такий напрям трафіку антитіл пояснюється тим, що рН середовища порожнини тонкої кишки є слабо кислотним (6,0–6,5), а тільки за таких умов Fc γ R зв'язуються з IgG на апікальній мембрані ентероцитів і здійснює їх ефективний односторонній транспорт. Незалежно від механізму інтерналізації ліганда комплекс FcRn-IgG вивільняється за допомогою екзоцитозу на базолатеральну поверхню клітини, де нейтральне значення рН середовища сприяє дисоціації IgG від свого рецептора (Varol et al., 2015).

Інтенсивність експресії Fc γ Rf залишалась без зміни напрямку кінетики та також як і у ранній плодовий період характеризувалась базолатеральною приналежністю (Masiuk et al., 2019). Така тривала, переважна локалізація Fc γ Rf на БМ, імовірно, може бути пов'язана з важливою функцією даного рецепторного білка у транспорті IgG у кишкових клітинах плодів великої рогатої худоби. Fc γ Rf можливо генерує сигнал, що ініціює ендцитоз, а також сприяє зміні рідинно-кристалічної властивості клітинної мембрани, везикуляції або зворотній інвагінації окремих ділянок, створюючи ендосоми (Junker et al., 2020). Не виключено, що однією з причин домінуючої експресії на базолатеральній поверхні ентероцитів Fc γ Rf є також

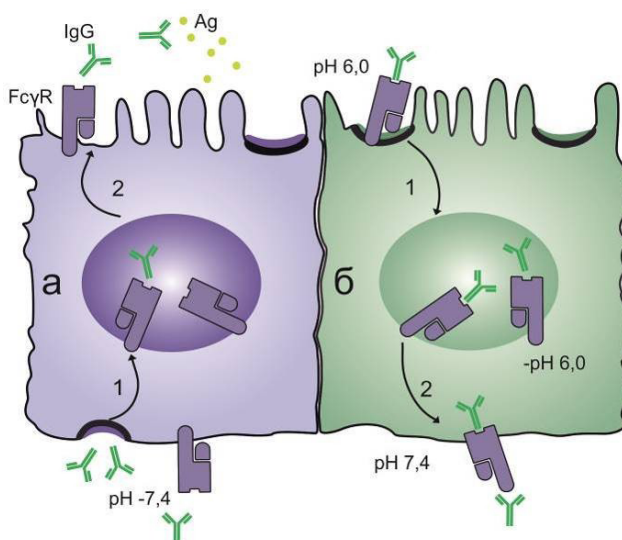


Рисунок. Оригінальна схема трансцитозу IgG за допомогою Fc γ R в ентероцитах порожньої кишки плодів великої рогатої худоби; а – Fc γ Rf (поліпептид з Mr 120 кДа), б – Fc γ RIII (поліпептид з Mr 87 кДа)

і, трансцитоз, або їх участь в активному рециклінгу та повторному їх вбудовуванні на базолатеральній мембрані (Cassard et al., 2008).

Отже, наведені дані вказують, що Fc γ R ентероцитів порожньої кишки плодів великої рогатої худоби експресуються протягом усього пренатального періоду онтогенезу. Поліпептиду з Mr 87 кДа характерний інверсний розподіл, модуляція експресії з базолатеральної поверхні кишкової клітини (у ранній плодовий період) на апікальну (у пізній плодовий період). Локалізація поліпептиду з Mr 120 кДа проявляється більш інтенсивною експресією на базолатеральному домені ентероцитів упродовж усього фетального періоду (Masiuk, 2020c). Усе це дає можливість передбачити важливу роль різних класів Fc γ R у розвитку трансцитозу імуноглобулінів та імунних комплексів, а також встановленню специфічних імунних функцій у плодовий період великої рогатої худоби.

Виявлена динаміка вмісту для кожного класу Fc γ R дає можливість припустити існування певної рецепторної взаємодії антитіленого складу навколоплодової рідини зі стимуляцією імунної системи плоду (Masiuk, 2019). Запропоновано оригінальну схему трансцитозу IgG за допомогою Fc γ R в ентероцитах порожньої кишки плодів великої рогатої худоби за участю Fc γ Rf та Fc γ RIII (рисунок).

Висновки

Регуляція експресії Fc γ R плазмолемі ентероцитів порожньої кишки великої рогатої худоби у фетальний період онтогенезу контролюються механізмами, асоційованими з розвитком плоду. Отримані результати досліджень та їх глибокий аналіз дозволили запропонувати наукову концепцію щодо фізіологічних функцій Fc γ R у плодовий період онтогенезу великої рогатої худоби. Зокрема, вони транслюють сигнали ланцюгом мати-плацента-плід, формують одну з ключових сигнальних систем регуляції розвитку ентероцитів, розпізнають специфічні сигнали від імуноглобулінів та антигенів, відіграють важливу роль у трансцитозі та рециклінгу IgG із амніотичної рідини у фетальну циркуляцію, формують імунні механізми плода до адаптації внутрішньоутробного функціонування організму та

готують його до антигенного пресингу після народження. Отже, модуляція експресії, локалізація та ідентифікація на плазмолемі поліпептидів, які проявляють Fc γ -зв'язувальну активність, дозволяє сформувати систему сигналізації та контролювання розвитку бар'єрної та імунної функцій у плода за участі Fc γ R.

References

- Alipour, M. J., Jalanka, J., Pessa-Morikawa, T., Kokkonen, T., Satokari, R., Hynönen, U., & Niku, M. (2018). The composition of the perinatal intestinal microbiota in cattle. *Scientific Reports*, 8(1).
- Borthistle, B. K., Kubo, R. T., Brown, W. R., & Grey, H. M. (1977). Studies on receptors for IgG on epithelial cells of the rat intestine. *Journal of Immunology*, 119(2), 471–476.
- Buhai, A. O., & Tsvilikhovskiy, M. I. (2010). Enzymatyvna aktyvniyst transportnykh ATFaz plazmolemy absorbtitsiynykh enterotsytiv kurchat–broileriv za vplyvu likopeny. *Biolohiia Tvaryn*, 12(2), 96–105 (in Ukrainian).
- Cassard, L., Cohen-Solal, J. F. G., Fournier, E. M., Camilleri-Broët, S., Spatz, A., Chouaib, S., & Sautès-Fridman, C. (2008). Selective expression of inhibitory Fc γ receptor by metastatic melanoma impairs tumor susceptibility to IgG-dependent cellular response. *International Journal of Cancer*, 123(12), 2832–2839.
- Dickinson, B. L., Badizadegan, K., Wu, Z., Ahouse, J. C., Zhu, X., Simister, N. E., & Lencer, W. I. (1999). Bidirectional FcRn-dependent IgG transport in a polarized human intestinal epithelial cell line. *Journal of Clinical Investigation*, 104(7), 903–911.
- Eisenreich, W., Rudel, T., Heesemann, J., & Goebel, W. (2017). To eat and to be eaten: mutual metabolic adaptations of immune cells and intracellular bacterial pathogens upon infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7.
- Garen, A., & Levinthal, C. (1960). A fine-structure genetic and chemical study of the enzyme alkaline phosphatase of *E. Coli* I. Purification and characterization of alkaline phosphatase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 38, 470–483.
- Gavrilin, P. M., Kryshchuk, B. V., Masiuk, D. M., & Biben, I. A. (2004). Kontseptsiia pidvyshchennia zhyttiezdatnosti novonarodzhennykh teliat. *Visnyk Dnipropetrovskoho Derzhavnogo Ahrarnoho Universytetu*, 1, 96–98 (in Ukrainian).
- Gavrilin, P. N., Lieshchova, M. A., Gavrilina, O. G., & Boldyreva, T. F. (2018). Prenatal morphogenesis of compartments of the parenchyma of the lymph nodes of domestic cattle (*Bos taurus*). *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(1), 95–104.
- Hamaguchi, Y., Xiu, Y., Komura, K., Nimmerjahn, F., & Tedder, T. F. (2006). Antibody isotype-specific engagement of Fc γ receptors regulates B lymphocyte depletion during CD20 immunotherapy. *Journal of Experimental Medicine*, 203(3), 743–753.
- Hogarth, P. M. (2002). Fc-receptors are major mediators of antibody based inflammation in autoimmunity. *Current Opinion in Immunology*, 14(6), 798–802.
- Junker, F., Gordon, J., & Qureshi, O. (2020). Fc gamma receptors and their role in antigen uptake, presentation, and t cell activation. *Frontiers in Immunology*, 11.
- Kacsokovics, I., Wu, Z., Simister, N. E., Frenyó, L. V., & Hammarström, L. (2000). Cloning and characterization of the bovine mhc class i-like fc receptor. *The Journal of Immunology*, 164(4), 1889–1897.
- Kaifu, T., & Nakamura, A. (2017). Polymorphisms of immunoglobulin receptors and the effects on clinical outcome in cancer immunotherapy and other immune diseases: a general review. *International Immunology*, 29(7), 319–325.
- Korhonen, H., Mamilä, P., & Gill, H. S. (2000). Milk immunoglobulins and complement factors. *British Journal of Nutrition*, 84(S1), 75–80.
- Leary, H. L., Larson, B. L., & Nelson, D. R. (1982). Immunohistochemical localization of IgG1 and IgG2 in prepartum and lactating bovine mammary tissue. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 3(5), 509–514.
- Lieshchova, M. O. (2007). Features of the morphogenesis of bovine fetal lymphoid organs. Kyiv, Natsionalnyi Ahrarnyi Universytet (in Ukrainian).
- Maltais, L. J., Lovering, R. C., Tarantin, A. V., Colonna, M., Ravetch, J. V., Dalla-Favera, R., & Davis, R. S. (2006). New nomenclature for Fc receptor–like molecules. *Nature Immunology*, 7(5), 431–432.
- Masiuk, D. M. (2008). Fc γ -retseptory apikalnykh membran enterotsytiv velykoi rohatoi khudoby u rannii plodovyi period: poliptydnyi sklad ta yikh dynamika. *Naukovo-Tekhnichniy Biuletyn Instytutu Bioloiii Tvaryn i DNDKI Veterynarnykh Preparativ ta Korm. Dobavok*, 9(3), 73–78 (in Ukrainian).
- Masiuk, D. M. (2019). Structural proteins of plasmolemma of the jejunum absorbing enterocytes of cattle fetus in early fetal period. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 2(3), 32–38.
- Masiuk, D. M. (2020a). Expression of plasmolemma proteins of the absorptive enterocytes of the cattle in the late fetal period. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 3(1), 52–57.
- Masiuk, D. (2020b). Vzaiemozviazok ekspresii fc γ -retseptornykh proteiniv z aktyvnistiu okremykh enzymiv u plazmolemi enterotsytiv porozhnoi kyshky plodiv velykoi rohatoi khudoby. *Ukrainskyi Chasopys Veterynarnykh Nauk*, 11(1), 70–80 (in Ukrainian).
- Masiuk, D. M., Kokariiev, A. V., Vasilenko, T. O., & Krutii, K. O. (2019). The formation of colostrum immunity and its duration in calves during the first months of life. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 2(1), 3–6.
- Masiuk, D., & Tsvilikhovskiy, M. (2011). Modulatsiia ekspresii Fc γ -retseptoriv enterotsytiv velykoi rohatoi khudoby u plodovyi period. *Naukovi Pratsi Pivdennoho Filialu Natsionalnoho Universytetu Bioresursiv i Pryrodo-korystuvannia Ukrainy «Krymskyi Ahrotekhnolohichniy Universytet»*, 139, 222–227 (in Ukrainian).
- Masiuk, D. M. (2020c). Strukturno-funktsionalna kharakterystyka bilkiv plazmolemy enterotsytiv porozhnoi kyshky velykoi rohatoi khudoby u plodovyi period ontogenezu. Extended abstract of Doctor's thesis. Kyiv (in Ukrainian).
- Mayer, B., Doleschall, M., Bender, B., Bartyik, J., Böszö, Z., Frenyó, L. V., & Kacsokovics, I. (2005). Expression of the neonatal Fc receptor (FcRn) in the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Research*, 72(1), 107–112.
- Melnichuk, D. O., Tereshchenko, M. I., Tsvilikhovskiy, M. I., & Usatiuk, P. V. (1995). Vidminnosti bilkovoho skladu dvokh dilianok plazmatychnoi membrany epiteliu tonkoho kyshechnyaka. *Dopovidi AN URSR. Ser. B*, 9, 104–106 (in Ukrainian).
- Melnichuk, D. O., Usatiuk, P. V., & Tsvilikhovskiy, M. I. (1998). Ról bilkovykh struktur plazmatychnoi membrany kyshkovoho epiteliu u formuvanni kolostralnoho imunitetu novonarodzhennykh teliat. *Visnyk Natsionalnoho Ahrarnoho Universytetu*, 6, 13–20 (in Ukrainian).
- Mostov, K. E., Verges, M., & Altschuler, Y. (2000). Membrane traffic in polarized epithelial cells. *Current Opinion in Cell Biology*, 12(4), 483–490.
- Mund, M. E., Quail, L. K., Cook, C. L., Neuendorff, D. A., Banta, J. P., Welsh, Jr, T. H., & Randel, R. D. (2018). 91 Influence of cell mediated immune response of brahman cows on postpartum interval, colostrum immunoglobulin concentration, and growth of their calves. *Journal of Animal Science*, 96(1), 48–49.

- Nimmerjahn, F., & Ravetch, J. V. (2006). Fc γ receptors: old friends and new family members. *Immunity*, 24(1), 19–28.
- Nimmerjahn, F., Anthony, R. M., & Ravetch, J. V. (2007). Agalactosylated IgG antibodies depend on cellular Fc receptors for in vivo activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(20), 8433–8437.
- Ravetch, J. V. (1997). Fc receptors. *Current Opinion in Immunology*, 9(1), 121–125.
- Ravetch, J. V., & Bolland, S. (2001). IGG FC-receptors. *Annual Review of Immunology*, 19(1), 275–290.
- Rodewald, R., & Kraehenbuhl, J. P. (1984). Receptor-mediated transport of IgG. *Journal of Cell Biology*, 99(1), 159–164.
- Schmidt, R. E., & Gessner, J. E. (2005). Fc receptors and their interaction with complement in autoimmunity. *Immunology Letters*, 100(1), 56–67.
- Sib ril, S., Dutertre, C. A., Boix, C., Bonnin, E., M enez, R., Stura, E., Jorieux, S., Fridman, W. H., & Teillaud, J. L. (2006). Molecular aspects of human Fc γ RI interactions with IgG: functional and therapeutic consequences. *Immunology Letters*, 106(2), 111–118.
- Simmons, C. Q., Thompson, C. H., Cawthon, B. E., Westlake, G., Swoboda, K. J., Kiskinis, E., Ess, K. C., & George, A. L., Jr (2018). Direct evidence of impaired neuronal Na/K-ATPase pump function in alternating hemiplegia of childhood. *Neurobiology of Disease*, 115, 29–38.
- Stelter, S., Paul, M. J., Teh, A. Y.-H., Grandits, M., Altmann, F., Vanier, J., & Ma, J. K. (2019). Engineering the interactions between a plant-produced HIV antibody and human Fc receptors. *Plant Biotechnology Journal*, 18(2), 402–414.
- Tan, P. S., Gavin, A. L., Barnes, N., Sears, D. W., Vremec, D., Shortman, K., Amigorena, S., Mottram, P. L., & Hogarth, P. M. (2003). Unique monoclonal antibodies define expression of Fc γ RI on macrophages and mast cell lines and demonstrate heterogeneity among subcutaneous and other dendritic cells. *The Journal of Immunology*, 170(5), 2549–2556.
- Van Der Feltz, M. J. M., De Groot, N., Bayley, J.-P., Lee, S. H., Verbeet, M. P., & De Boer, H. A. (2001). Lymphocyte homing and ig secretion in the murine mammary gland. *Scandinavian Journal of Immunology*, 54(3), 292–300.
- Varol, C., Mildner, A., & Jung, S. (2015). Macrophages: development and tissue specialization. *Annual Review of Immunology*, 33(1), 643–675.