

## СИНТЕЗ ЛІПІДІВ IN VITRO У ПЕЧІНЦІ МОРСЬКИХ СВИНОК З ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЄЮ ПРИ ДОДАВАННІ ДО ЇХ РАЦІОНУ СОНЯШНИКОВОЇ ОЛІЇ І РИБ'ЯЧОГО ЖИРУ

О. С. ПОКОТИЛО<sup>1</sup>, В. Г. ЯНОВИЧ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Тернопільський державний медичний університет імені І. Горбачевського

<sup>2</sup>Інститут біології тварин УААН

*У статті наведені дані про вплив соняшникової олії і риб'ячого жиру на синтез окремих класів ліпідів у печінці морських свинок з гіперхолестеринемією in vitro при використанні як попередника ліпідів [6-<sup>14</sup>C] глюкози і [1-<sup>14</sup>C] пальмітинової кислоти.*

**Ключові слова:** МОРСЬКІ СВИНКИ, ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЯ, ЛІПІДИ, СИНТЕЗ, ПЕЧІНКА, ГЛЮКОЗА, ПАЛЬМІТИНОВА КИСЛОТА.

Гіперхолестеринемія у людини тісно пов'язана із атеросклерозом, який відіграє ключову роль у патогенезі ішемічних хвороб серця [1]. Згідно сучасних уявлень, в основі патогенезу атеросклерозу лежить порушення рецепції ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) клітинами сполучної тканини, зокрема клітинами ендотелію судин артерій серця внаслідок їх окисної модифікації. В результаті цього екзогенний етерифікований холестерол, який міститься у ЛПВЩ і характеризується високим вмістом поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), не засвоюється клітинами ендотелію судин, що приводить до їх дефіциту і порушення синтезу простагландинів, які є вазодилаторами [2, 3]. Підвищення рівня ПНЖК родини  $\omega$ -6 і особливо родини  $\omega$ -3 проявляє антихолестериногенну дію в організмі людини і лабораторних тварин [4 - 7]. У зв'язку з цим в останні роки в багатьох країнах інтенсивно вивчається метаболізм ПНЖК в організмі людини і тварини при гіперхолестеринемії різної етіології. Проте в літературі відсутні дані про вплив ПНЖК родин  $\omega$ -6 і  $\omega$ -3, які значно відрізняються між собою за структурою і метаболізмом та впливом на гіперхолестеринемію у людини і тварин [8], на синтез холестеролу і інших класів ліпідів у найбільш холестериногенних і ліпогенних органах і тканинах. У зв'язку з цим, метою даної роботи було дослідження впливу соняшникової олії, як джерела лінолевої кислоти та риб'ячого жиру, як джерела ейкозапентасенової і докозагексаенової кислот на синтез окремих класів у печінці, головному мозку, слизовій тонких кишок і жировій тканині морських свинок при гіперхолестеринемії, яку викликали шляхом навантаження їх екзогенним холестеролом.

### Матеріали і методи

Дослід проведено на 4 групах самців морських свинок живою масою 340 - 380 г, по 4 тварини у кожній групі. Усі тварини отримували стандартний раціон, який забезпечував їх потребу в основних елементах живлення згідно норми, протягом 7-ми тижнів. Тварини 1-ї групи були контрольними. До раціону тварин 2-, 3-, 4-ї груп додавали холестерол у кількості 100 мг на тварину на добу з метою викликання у них гіперхолестеролемії. При цьому до раціону тварин 2-ї групи додавали соняшкову олію (2 мл на тварину на добу), як джерело ПНЖК родини  $\omega$ -6, до раціону тварин 3-ї групи – риб'ячий жир (2 мл на тварину на добу), як джерело ПНЖК родини  $\omega$ -3, до раціону тварин 4-ї групи – риб'ячий жир і лляну олію (по 1 мл на тварину на добу). У кінці досліду тварин піддавали декапітації під ефірним наркозом і одержані від них зразки півкуль головного мозку, печінки, слизової тонких кишок і жирової тканини використовували у дослідженнях. Зрізи вказаних тканин (100 мг) розміром приблизно 1x1x1 мм переносили в інкубаційні посудинки з фосфатним буфером Кребс-Рінгера рН - 7,4, відношення маси тканини до об'єму буферу - 1:2. Потім в інкубаційні посудинки додавали 1 мкКюрі [6-<sup>14</sup>C] глюкози або [1-<sup>14</sup>C] пальмітинової кислоти і інкубували протягом 60 хв в ультратермостаті при температурі 38 °С [9]. Після закінчення

інкубації зразки тканин відмивали від залишків ізотопів і екстрагували з них ліпіди сумішшю хлороформ–метанолу 2:1 за методом Фолча [10]. Розділення ліпідів на окремі класи проводили шляхом тонкошарової хроматографії на силікагелі у системі гексан–діетиловий ефір–льодова оцтова кислота у відношенні 70:30:1 [10] і визначали їх радіоактивність на сцинтиляційному лічильнику LKB (Швеція) у толуоловому сцинтиляторі. Одержані цифрові дані опрацьовували статистично.

### Результати й обговорення

З наведених у таблиці даних видно, що  $[6-^{14}\text{C}]$  глюкоза в умовах *in vitro* використовується у синтезі всіх класів ліпідів у печінці морських свинок з гіперхолестеринемією.

Таблиця 1

#### Радіоактивність окремих класів ліпідів синтезованих зрізами печінки зрізів досліджуваних тварин при інкубації з $[6-^{14}\text{C}]$ глюкозою, $\beta$ -розпадів / 100 мг сирової тканини ( $M \pm m, n=4$ )

Класи ліпідів	Групи тварин			
	1	2	3	4
Фосфоліпіди	836±57,9	1455±117	750±61,5	642±55,3
Моно-і диацилгліцероли + вільний холестерол	491±34,4	512±39,2	476±43,3	480±37,4
Вільні жирні кислоти	542±41,8	736±57,3	581±25,4	534±40,8
Триацилгліцероли	442±38,6	640±42,4	468±40,0	566±27,3
Етерифікований холестерол	460±39,5	552±47,9	461±34,3	476±23,6
Загальні ліпіди	2777±221	3836±303	2791±237	2698±229

Найбільша радіоактивність при інкубації зрізів печінки морських свинок 1-ї групи з  $[6-^{14}\text{C}]$  глюкозою виявлена у фосфоліпідах, далі йдуть вільні жирні кислоти, диацилгліцероли + вільний холестерол, етерифікований холестерол і триацилгліцероли. З цих даних випливає, що у результаті метаболізму  $[6-^{14}\text{C}]$  глюкози в печінці морських свинок утворюється ацетил–CoA, котрий використовується в синтезі жирних кислот, які використовуються в синтезі фосфоліпідів, триацилгліцеролів і етерифікації холестеролу, а також у синтезі холестеролу. На жаль, проведені дослідження не дозволяють кількісно оцінити вклад  $[6-^{14}\text{C}]$  глюкози у продукцію жирних кислот і гліцерол-3-фосфату, які використовуються у синтезі ліпідів. Загалом, інтенсивність синтезу всіх класів ліпідів при використанні як попередника  $[6-^{14}\text{C}]$  глюкози в печінці тварин в умовах *in vitro*, як показали дослідження, проведені на білих щурах [11] при навантаженні холестеролом, різко знижується, що зумовлено інгібуючим впливом екзогенного холестеролу на утворення ацетил–CoA, що приводить до зниження інтенсивності синтезу жирних кислот і їх використання у синтезі ліпідів, а також до зниження інтенсивності синтезу холестеролу.

Таблиця 2

#### Радіоактивність окремих класів ліпідів синтезованих зрізами печінки зрізів досліджуваних тварин при інкубації з $[1-^{14}\text{C}]$ пальмітиновою кислотою, $\beta$ -розпадів / 100 мг сирової тканини ( $M \pm m, n=4$ )

Класи ліпідів	Групи тварин			
	1	2	3	4
Фосфоліпіди	1550±94,3	1720±95,5	1887±129	1496±98,7
Моно-і диацилгліцероли +	1478±105	508±38,7	547±41,2	758±56,6

вільний холестерол				
Вільні жирні кислоти	1706±77,9	884±62,4	852±49,9	801±60,4
Триацилгліцероли	1518±114	930±77,6	793±52,7	875±42,2
Етерифікований холестерол	1536±132,0	1118±83,0	1029±81,4	877±79,9
Загальні ліпіди	7788±495	5160±369	5108±384	4347±304

Згодовування морським свинкам соняшникової олії, як джерела лінолевої кислоти, шляхом додавання її до раціону привело до підвищення інтенсивності синтезу жирних кислот і використання їх у синтезі ліпідів. Про це свідчить вірогідно більша радіоактивність вільних жирних кислот ( $P<0,05$ ), триацилгліцеролів ( $P<0,01$ ) і особливо фосфоліпідів ( $P<0,001$ ) при інкубації зрізів печінки тварин 2-ї групи, порівняно до радіоактивності цих класів ліпідів, синтезованих зрізами печінки тварин 1-ї (контрольної) групи. Ці дані свідчать про дерепресуючий вплив соняшникової олії на синтез жирних кислот і ліпідів у печінці морських свинок з гіперхолестеринемією, що можна пояснити дією наявною в олії лінолевої кислоти. Дерепресуючий вплив соняшникової олії на синтез жирних кислот і ліпідів виявлено нами раніше також у печінці білих щурів з експериментальною гіперхолестеринемією [12].

Різниця у загальній радіоактивності ліпідів і радіоактивності окремих їх класів, синтезованих зрізами печінки тварин 3-ї і 4-ї груп при інкубації з  $[6-^{14}\text{C}]$  глюкозою, порівняно до загальної радіоактивності ліпідів і радіоактивності окремих їх класів, синтезованих зрізами тварин 1-ї (контрольної) групи невірогідні ( $P<0,05$ ). Ці дані свідчать про різниця у впливі соняшникової олії, як джерела лінолевої кислоти (ПНЖК родини  $\omega$ -6) і риб'ячого жиру, як джерела ПНЖК родини  $\omega$ -3 (ейкозапентаєнової і докозагексаєнової кислот), на синтез окремих класів ліпідів у печінці морських свинок. Зокрема, ПНЖК родини  $\omega$ -6 знімають депресуючий вплив гіперхолестеринемії на синтез окремих класів ліпідів з  $[6-^{14}\text{C}]$  глюкози у печінці морських свинок, що узгоджується з результатами, одержаними нами у дослідях на білих щурах [13].

$[1-^{14}\text{C}]$  пальмітинова кислота також використовується у синтезі всіх класів ліпідів у печінці морських свинок за умов *in vitro*, у тому числі в синтезі холестеролу, що свідчить про інтенсивне окиснення її у цьому органі і використання утвореного ацетил-СоА у синтезі холестеролу.

Загальна радіоактивність ліпідів і радіоактивність всіх їх класів, за винятком фосфоліпідів, при інкубації зрізів печінки тварин 2-ї групи була вірогідно менша, ніж при інкубації зрізів печінки тварин 1-ї (контрольної) групи. З цих даних випливає, що наявна в соняшниковій олії лінолева кислота проявляє інгібуючий вплив на синтез нейтральних ліпідів. Ще більший аналогічний інгібуючий вплив соняшникової олії на синтез ліпідів виявлено у тканинах білих щурів при гіперхолестеринемії [13].

Загальна радіоактивність ліпідів і радіоактивність окремих їх класів, за винятком фосфоліпідів, синтезованих зрізами печінки тварин 3-ї і особливо 4-ї груп при інкубації з  $[1-^{14}\text{C}]$  пальмітиною кислотою була вірогідно менша, ніж при інкубації зрізів печінки тварин 1-ї групи ( $P<0,05 - 0,001$ ). Ці дані свідчать, з одного боку, про інгібуючий вплив наявних у риб'ячому жирі ейкозапентаєнової і докозагексаєнової кислот на синтез нейтральних ліпідів у печінці морських свинок при гіперхолестеринемії, що узгоджується з результатами, одержаними нами раніше в дослідях на білих щурах [14]. З другого боку, одержані нами результати свідчать про підвищення інгібуючої дії риб'ячого жиру на синтез ліпідів з  $[1-^{14}\text{C}]$  пальмітиною кислотою при додаванні його до раціону морських свинок з гіперхолестеринемією разом з лляною олією. З цих даних випливає, що інгібуюча дія ейкозапентаєнової та ейкозагексаєнової кислот, які містяться в риб'ячому жирі, на синтез ліпідів у печінці тварин при гіперхолестеринемії посилюється при одночасній дії лінолевої кислоти, яка міститься у лляній олії. Вказані поліненасичені жирні кислоти відносяться до ПНЖК родини  $\omega$ -3, які проявляють антиліпогенну дію в організмі тварин.

Загалом, одержані нами результати свідчать про різниця у впливі соняшникової олії і риб'ячого жиру на синтез ліпідів у печінці щурів при гіперхолестеринемії при використанні як попередника ліпідів  $[6-^{14}\text{C}]$  глюкози і  $[1-^{14}\text{C}]$  пальмітинової кислоти.

## Висновки

Додавання до раціону морських свинок з гіперхолестеринемією соняшникової олії як джерела лінолевої кислоти приводить до вірогідного підвищення синтезу всіх класів ліпідів з [6-<sup>14</sup>C] глюкози у печінці за умов *in vitro*, а додавання риб'ячого жиру як джерела ейкозапентаєнової і докозагексаєнової кислот, істотно не впливає на їх синтез.

Додавання до раціону морських свинок з гіперхолестеринемією обох жирів проявляє інгібуючий вплив на синтез всіх класів ліпідів, за винятком фосфоліпідів, у печінці за умов *in vitro*.

*O. S. Pokotylo, V. G. Yanovych*

### LIPID SYNTHESIS *IN VITRO* IN LIVER OF GUINEA PIGS UNDER HYPERCHOLESTEROLEMIA WHEN THE SUNFLOWEL OIL AND FISH OIL ARE ADDED TO THEIR DIET

#### Summary

Data on the sunflower and fish oil influence on the synthesis of the certain classes of lipids *in vitro* in guinea pigs liver under hypercholesterolemia by using [1-<sup>14</sup>C] glucose and [1-<sup>14</sup>C] palmitic oil as precursors have been presented.

Ternopil State Medical Academy named after I. Gorbachevski  
The Institute of Animal Biology of the Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

1. *Климов А. Н., Никульчева Н. Г.* Обмен липидов и липопротеинов и его нарушения. – СПб: Питер Ком, 1999.- 512 с.
2. *Тумов В. Н.* Внутриклеточный дефицит полиеновых жирных кислот в патологии атеросклероза // Кардиология.- 1998.- № 1.- С. 44-48.
3. *Тумов Н. В., Кухарук В. В.* Блокада рецепторного поглощения клетками эссенциальных полиеновых жирных кислот как основа патогенеза атеросклероза // Артериальная гипертензия.- 2001.- Т.7, № 2.- С. 11-19
4. *Eristland J.* Safety considerations of polyunsaturated fatty acids // Am. J. Clin. Nutr.- 2000.- V. 71.- P. 197S-201S.
5. *Погожева А. В.* Клинико-патогенетическое обоснование применения ПНЖК омега-3 у больных ишемической болезнью сердца, гипертонической болезнью и гиперлипидемией // Автореф. дис... докт. мед. наук. –М., 1995.- 45 с.
6. *Ciniqlio J.* How does fish oil lowers plasma triglycerides ? // Nutr. Rev.- 1995.- V.- 50.- P. 195-197.
7. *Drevon C.* Marine oils and their effect // Nutr. Rev.- 1992.- V.50.- P. 38-45.
8. *Trant N., Retterstul K., Christophersen B/O.* Differences in the conversion of the polyunsaturated fatty acids 1-14 C 22:4 (n-6) and 1-14C 22:5 (n-3) to 1-14C 22:5 (n-6) and 1-14C 22:6 (n-3) in isolated rat hepatocytes // Biochem. Biophys. Acta.- 2001.- V. 1532.- P. 137-147.
9. *Прохорова М. И.* Методы биохимических исследований.- ЛГУ.- 1982.
10. *Кейтс М.* Техника липидологии.- М.: Мир, 1978.-260 с.
11. *Покотило О. С.* Використання [6-<sup>14</sup>C] глюкози в синтезі ліпідів у тканинах білих щурів *in vitro*. Чернівці, 2006 .
12. *Покотило О. С., Янович В.Г.* Синтез ліпідів у тканинах білих щурів при навантаженні холестеролом // Біологія тварин. - 2005.- Т.7, № 1-2. С. 37-40.
13. *Покотило О. С.* Використання [1-<sup>14</sup>C] пальмітинової кислоти у синтезі окремих класів ліпідів *in vitro* у тканинах білих щурів // Міжнародна наукова конференція «Сучасний стан і проблеми експериментальної біохімія», Чернівці 13-14 квітня 2005 р. // Буковинський медичний вісник.- 2005.-Том 9, № 2.- С. 203-205.
14. *Покотило О. С.* Вплив риб'ячого жиру при додаванні його до раціону білих щурів на використання [1-<sup>14</sup>C] пальмітинової кислоти в синтезі ліпідів в їх тканинах *in vitro* //Здобутки клінічної і експериментальної медицини.- 2005.- № 1.- С. 135-138.