

О. С. Покотило¹, О. О. Покотило², Т. Я. Ярошенко², М. І. Коваль²
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ПУЛЮЯ¹
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО²

ВПЛИВ РИБ'ЯЧОГО ЖИРУ НА ВИКОРИСТАННЯ [1-¹⁴C] ПАЛЬМІТИНОВОЇ КИСЛОТИ В СИНТЕЗІ ЛІПІДІВ У ТКАНИНАХ МОРСЬКИХ СВИНОК З ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЄЮ *IN VITRO*

Досліджено *in vitro* інтенсивність синтезу ліпідів різних класів (жирних кислот, холестеролу, фосфоліпідів і ацилгліцеролів) у гомогенатах печінки, головного мозку, слизовій оболонці тонкої кишки та жировій тканині після щоденного одноразового введення морським свинкам холестеролу (300 мг/кг маси тіла) впродовж 30 діб. Для цього в гомогенатах вказаних тканин морських свинок, які інкубували з [1-¹⁴C] пальмітиноювою кислотою, визначали радіоактивність ліпідних фракцій. Встановлено інгібуючий вплив екзогенного холестеролу за підвищення його рівня в раціоні тварин на синтез діацилгліцеролів і вільного холестеролу в слизовій оболонці тонкої кишки та триацилгліцеролів у жировій тканині при використанні як попередника [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти. Відзначено достовірне зниження інтенсивності синтезу загальних ліпідів і окремих класів ліпідів при застосуванні як попередника [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти за умов *in vitro* в головному мозку, печінці, слизовій оболонці тонкої кишки та жировій тканині морських свинок з гіперхолестеринемією при згодовуванні їм рибачого жиру.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ліпіди, холестерол, гіперхолестеринемія, морські свинки, жирова тканина, печінка, головний мозок, кишечник, пальмітинова кислота.

ВСТУП. У патогенезі ішемічних захворювань серця важливу роль відіграє атеросклероз, що посилюється при гіперхолестеринемії [1, 2]. Гіперхолестеринемія, як встановлено в досліджах на лабораторних тваринах, попереджується чи зменшується при згодовуванні їм рибачого жиру або поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) родини ω -3, особливо ейкозапентаєнової і докозапентаєнової кислот, які проявляють антихолестериногенну й антиліпогенну дію [3–5]. Про антихолестериногенну й антиліпогенну дію ПНЖК родини ω -3 судять за рівнем холестеролу і триацилгліцеролів у плазмі крові лабораторних тварин при додаванні до їх раціону рибачого жиру, який містить докозапентаєнову і докозагексаєнову кислоти. Вплив рибачого жиру, при додаванні його до раціону лабораторних тварин, на синтез холестеролу й інших класів ліпідів в їх органах, зокрема в печінці, яка займає центральне положення в синтезі холестеролу і триацилгліцеролів, що транспортуються в периферійні органи і тканини у складі ліпопротеїнів плазми крові, вивчено мало.

З огляду на сказане вище, метою даної роботи було дослідити інтенсивність синтезу окре-

мих класів ліпідів у печінці, головному мозку, слизовій оболонці тонкої кишки і жировій тканині морських свинок при використанні як попередника [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти та згодовуванні їм рибачого жиру, як джерела ω -3 поліненасичених жирних кислот, у вигляді добавок до раціону. Така схема дослідження зумовлена інтенсивним синтезом ліпідів у печінці та слизовій оболонці кишечника й високим їх вмістом у головному мозку і жировій тканині [6, 7].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на трьох групах морських свинок масою 340–360 г, по 4 тварини в кожній, яких утримували в умовах віварію. Тварини 1-ї групи, які одержували стандартний раціон, правили за контроль відносно тварин 2-ї групи, в яких викликали гіперхолестеринемію шляхом додавання до їх раціону холестеролу в кількості 300 мг/кг живої маси на голову на добу. Тварини 2-ї групи правили за контроль щодо тварин 3-ї групи, в яких також викликали гіперхолестеринемію вказаним способом, до їх раціону додавали рибачий жир у кількості 1 мл для тварини на добу. Тривалість дослідження – 30 днів. Після закінчення експерименту тварин усіх груп забивали шляхом декапітації під ефірним наркозом і одержані від

© Т. Я. Ярошенко, О. С. Покотило, О. О. Покотило, М. І. Коваль, 2016.

них зрізи тканин використовували під час досліджень. Зрізи печінки, головного мозку, слизової оболонки тонкої кишки і жирової тканини розміром приблизно 1×1×1 мм у кількості 100 мг переносили в інкубаційні посудинки з фосфатним буфером Кребса–Рінгера (відношення маси тканин до об'єму буфера 1:10, рН 7,4, газова фаза – повітря, кількість коливань – 60 за 1 хв), до якого додавали 1 мккюрі [6-¹⁴C] глюкози, й інкубували протягом 60 хв в ультратермостаті за температури 38 °С при постійному перемішуванні [8]. Після закінчення інкубації зрізи тканин відмивали від залишків ізотопу й екстрагували з них ліпіди сумішшю хлороформ-метанолу 2:1 за методом Фолча [9], розділяли їх на класи методом тонкошарової хроматографії на силікагелі в системі гексан – діетиловий ефір – льодова оцтова кислота у співвідношенні 70:30:1 [10] та визначали їх радіоактивність на рідинному сцинтиляційному лічильнику LKB (Швеція) у толуоловому сцинтиляторі. Одержані цифрові дані опрацьовували статистично.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З наведених у таблиці даних видно, що загальна радіоактивність ліпідів, синтезованих зрізами досліджуваних органів і тканин морських свинок 1-ї (контрольної) групи, при інкубації з [1-¹⁴C] пальмітиновою кислотою, зменшується в ряді: головний мозок, печінка, жирова тканина, сли-

зова оболонка порожньої кишки. При цьому майже 50 % радіоактивності загальних ліпідів у головному мозку зумовлені радіоактивністю фракції вільних жирних кислот, внаслідок чого найбільша інтенсивність синтезу ліпідів має місце в печінці досліджуваних тварин. Отримані дані свідчать про відмінності у ступені використання [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти в синтезі ліпідів у досліджуваних органах і тканинах морських свинок, що може бути спричинено відмінностями у ступені використання ендо- й екзогенних жирних кислот у синтезі ліпідів.

Найбільшою мірою використовується [1-¹⁴C] пальмітинова кислота майже у всіх досліджуваних органах і тканинах морських свинок у синтезі фосфоліпідів та триацилгліцеролів. Так, радіоактивність фосфоліпідів, синтезованих зрізами головного мозку, печінки, слизової оболонки тонкої кишки і жирової тканини морських свинок 1-ї (контрольної) групи, становила, відповідно, 17,2; 18,8; 34,2; 23,6 %, радіоактивність триацилгліцеролів – 16,3; 23,0; 27,0; 18,5 % загальної радіоактивності ліпідів. Сумарна радіоактивність діацилгліцеролів і вільного холестеролу, синтезованих зрізами вказаних органів і тканин, при цьому становила, відповідно, 8,8; 18,8; 11,0; 18,5 %, радіоактивність вільних жирних кислот – 47,9; 20,8; 17,5; 23,7 %, радіоактивність етерифікованого холестеролу – 9,5; 18,7; 10,1; 15,8 % радіоактивності загальних ліпідів.

Таблиця – Радіоактивність окремих класів ліпідів, синтезованих зрізами тканин досліджуваних морських свинок, при інкубації з [1-¹⁴C] пальмітиновою кислотою (M±m, β-розпади/100 мг тканини/хв, n=4)

Клас ліпідів	Головний мозок	Печінка	Слизова оболонка порожньої кишки	Жирова тканина
1-ша група – контрольна				
Фосфоліпіди	1695±44	1325±84	1289±84	976±79
Моно- і діацилгліцероли	874±76	1288±76	415±39	776±64
Вільний холестерол	4722±30	1473±90	658±66	992±89
Вільні жирні кислоти	1614±103	1659±98	1015±77	773±38
Триацилгліцероли	949±60	1321±70	384±19	661±53
Етерифікований холестерол	9854±604	7066±475	3761±189	4178±343
2-га група – тварини з гіперхолестеринемією				
Фосфоліпіди	1780±108*	1550±94	1352±85	1116±65
Моно- і діацилгліцероли	948±57	1478±105	360±25*	860±99
Вільний холестерол	4508±292*	1706±80	572±15	1080±68
Вільні жирні кислоти	1404±77*	1518±114	940±24	580±19*
Триацилгліцероли	1012±66	1536±132	328±17	784±44
Етерифікований холестерол	10052±501	7788±521	3652±154	4420±267
3-тя група – тварини з гіперхолестеринемією+риб'ячий жир				
Фосфоліпіди	1980±141	1887±129	632±56 [#]	948±59
Моно- і діацилгліцероли	896±50	547±41*	484±35 [#]	748±20
Вільний холестерол	2800±178 [#]	852±90*	568±58	646±34 [#]
Вільні жирні кислоти	1172±59*	793±53*	608±30 [#]	624±42 [#]
Триацилгліцероли	1008±67	1029±81*	488±30 [#]	672±22 [#]
Етерифікований холестерол	6856±316 [#]	4908±354*	2780±161 [#]	3668±194 [#]

Примітка. * – величини, що статистично достовірно відрізняються від 1-ї (контрольної) групи (* – p<0,05); # – величини, що статистично достовірно відрізняються від 1-ї (контрольної) групи (* – p<0,05).

З наведених у таблиці даних видно, що відмінності в інтенсивності синтезу ліпідів у досліджуваних органах і тканинах морських свинок 2-ї групи з гіперхолестеринемією при використанні як попередника ліпідів [$1-^{14}\text{C}$] пальмітинової кислоти, порівняно з інтенсивністю їх синтезу в органах і тканинах тварин 1-ї групи, не вірогідні. Ці дані свідчать про відсутність інгібуючого впливу гіперхолестеринемії на синтез ліпідів з [$1-^{14}\text{C}$] пальмітинової кислоти у тканинах морських свинок.

У результаті проведеного дослідження встановлено, що загальна радіоактивність ліпідів, синтезованих зрізами органів і тканин тварин 3-ї групи, при інкубації з [$1-^{14}\text{C}$] пальмітиною кислотою значно менша, ніж при інкубації зрізів органів і тканин тварин 2-ї групи. Ці дані свідчать про інгібуючий вплив наявних у рибу'ячому жиру ПНЖК родини ω -3 (ейкозапентаєнової, докозагексаєнової) на синтез ліпідів у тканинах морських свинок при гіперхолестеринемії. Ступінь такого впливу залежить, з одного боку, від регуляторної дії ПНЖК родин ω -3 та ω -6, а з іншого – від метаболічних особливостей органів і тканин. Так, радіоактивність загальних ліпідів, синтезованих зрізами головного мозку морських свинок 3-ї групи, при інкубації з [$1-^{14}\text{C}$] пальмітиною кислотою була меншою в 1,61 ($p < 0,001$) раза, при інкубації зрізів печінки – у 1,58 ($p < 0,01$) раза, при інкубації зрізів жирової тканини – у 1,20 ($p < 0,05$) раза, ніж радіоактивність загальних ліпідів, синтезованих зрізами вказаних органів і тканин тварин 2-ї групи.

При інкубації з [$1-^{14}\text{C}$] пальмітиною кислотою зрізів головного мозку морських свинок 3-ї групи, порівняно з тваринами 2-ї групи, виявлено вірогідно меншу радіоактивність фосфоліпідів ($p < 0,01$), вільних жирних кислот і триацилгліцеролів ($p < 0,05$), при інкубації зрізів печінки – меншу радіоактивність діацилгліцеролів та вільного холестеролу, вільних жирних кислот, триацилгліцеролів ($p < 0,001$) і етерифікованого холестеролу ($p < 0,05$), при інкубації зрізів слизової оболонки

порожньої кишки – меншу радіоактивність фосфоліпідів і триацилгліцеролів ($p < 0,001$), при інкубації зрізів жирової тканини – меншу радіоактивність вільних жирних кислот ($p < 0,01$). Ці дані вказують на те, що наявні в рибу'ячому жиру ПНЖК родини ω -3 інгібують процеси ацилювання при синтезі фосфоліпідів і триацилгліцеролів та етерифікації холестеролу в організмі тварин. Про це свідчить інгібуючий вплив ейкозапентаєнової кислоти на активність ацил-КоА діацилгліцерол-ацилтрансферази – ключового ферменту синтезу триацилгліцеролів у печінці морських свинок, а також зміна активності ферментів, які беруть участь у синтезі триацилгліцеролів у печінці морських свинок при зміні вмісту ПНЖК родини ω -3 в їх раціоні [11].

Загалом, одержані результати свідчать про відсутність інгібівання синтезу ліпідів у досліджуваних органах і тканинах морських свинок з гіперхолестеринемією *in vitro* при використанні як попередника ліпідів [$1-^{14}\text{C}$] пальмітинової кислоти та про виражений інгібуючий вплив рибу'ячого жиру при додаванні його до раціону тварин з гіперхолестеринемією.

ВИСНОВКИ. 1. У морських свинок з експериментальною гіперхолестеринемією зростає інтенсивність синтезу фосфоліпідів, вільних жирних кислот, при використанні як попередника [$1-^{14}\text{C}$] пальмітинової кислоти, в печінці, триацилгліцеролів – у головному мозку, знижується інтенсивність синтезу діацилгліцеролів і вільного холестеролу в слизовій оболонці тонкої кишки, триацилгліцеролів – у жировій тканині.

2. Згодовування морським свинкам з гіперхолестеринемією протягом 7 тижнів рибу'ячого жиру у вигляді добавки до раціону приводить до достовірного зниження інтенсивності синтезу загальних ліпідів і окремих класів ліпідів за умов *in vitro* в головному мозку, печінці, слизовій оболонці тонкої кишки та жировій тканині при використанні як попередника [$1-^{14}\text{C}$] пальмітинової кислоти.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ness G. C. Physiological feedback regulation of cholesterol biosynthesis: role of translational control of hepatic hmg-coa reductase and possible involvement of oxysterols / G. C. Ness // *Biochim Biophys Acta.* – 2015. – **1851** (5). – P. 667–673.
2. Титов В. Н. Внутриклеточный дефицит полиеновых жирных кислот в патогенезе атеросклероза / В. Н. Титов // *Кардиология.* – 1998. – № 1. – С. 43–49.
3. Breslow J. L. ω -3 Fatty acids and cardiovascular disease / J. L. Breslow // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2006. – **83**. – P. 1477–1482.

4. Simoponlos A. L. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development / A. L. Simoponlos // *Amer. J. Clin. Nutr.* – 1991. – **54**. – P. 438–463.
5. Up-Regulation of Mitochondrial Antioxidant Superoxide Dismutase Underpins Persistent Cardiac Nutritional-Preconditioning by Long Chain ω -3 Polyunsaturated Fatty Acids in the Rat / Grace G. Abdukeyum, Alice J. Owen, Theresa A. Larkin, Peter L. McLennan // *J. Clin. Med.* – 2016. – **5** (3). – P. 32.
6. Янович В. Г. Обмен липидов животных в онтогенезе / В. Г. Янович, П. З. Лагодюк. – М. : Агропромиздат. – 1991. – 316 с.

7. Gibbons J. F. Biochemistry of cholesterol / J. F. Gibbons, K. A. Mitropoulos, N. B. Myant. – Amsterdam, New York, Oxford : Elsevier Biomedical Press, 1982. – 369 p.
8. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований / М. И. Прохорова. – Л. : Изд-во ЛГУ, 1982. – 222 с.
9. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G. Sloane-Stanley // J. Biol. Chem. – 1957. – 226. – P. 497–509.
10. Кейтс М. Техника липидологии / М. Кейтс. – М. : Мир, 1975. – 242 с.
11. Eicosopentaenic acid reduces hepatic synthesis and secretion of triacylglycerol by decreasing the activity of acyl-coenzyme A: 1,2 diacylglycerol acyltransferase / A. C. Rustan, J. O. Nessen, S. C. Christansen [et al.] // J. Lipids Res. – 1988. – 9. – P. 1417–1426.

О. С. Покотило¹, Е. А. Покотило², Т. Я. Ярошенко², М. И. Коваль²
 ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИВАНА ПУЛЮЯ¹
 ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО²

ВЛИЯНИЕ РЫБЬЕГО ЖИРА НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ [1-¹⁴C] ПАЛЬМИТИНОВОЙ КИСЛОТЫ В СИНТЕЗЕ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ МОРСКИХ СВИНОК С ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИЕЙ *IN VITRO*

Резюме

Исследовано *in vitro* интенсивность синтеза липидов различных классов (жирных кислот, холестерина, фосфолипидов и ацилглицеролов) в гомогенатах печени, головного мозга, слизистой оболочке тонкой кишки и жировой ткани после ежедневного однократного введения морским свинкам холестерина (300 мг/кг массы тела) в течение 30 суток. Для этого в гомогенатах указанных тканей морских свинок, которые инкубировали с [1-¹⁴C] пальмитиновой кислотой, определяли радиоактивность липидных фракций. Установлено ингибирующее влияние экзогенного холестерина при повышении его уровня в рационе животных на синтез диацилглицеролов и свободного холестерина в слизистой оболочке тонкой кишки и триацилглицеролов в жировой ткани при использовании в качестве предшественника [1-¹⁴C] пальмитиновой кислоты. Отмечено достоверное снижение интенсивности синтеза общих липидов и отдельных классов липидов при применении в качестве предшественника [1-¹⁴C] пальмитиновой кислоты в условиях *in vitro* в головном мозге, печени, слизистой оболочке тонкой кишки и жировой ткани морских свинок с гиперхолестеринемией при скармливании им рыбьего жира.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липиды, холестерол, гиперхолестеринемия, морские свинки, жировая ткань, печень, головной мозг, кишечник, пальмитиновая кислота.

O. S. Pokotylo¹, O. O. Pokotylo², T. Ya. Yaroshenko², M. I. Koval²
 IVAN PULIUY TERNOPIIL NATIONAL TECHNICAL UNIVERSITY¹
 I. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY²

INFLUENCE OF FISH OIL ON USAGE OF [1-¹⁴C] PALMITIC ACID IN THE SYNTHESIS OF LIPIDS IN THE TISSUES OF GUINEA PIGS UNDER HYPERCHOLESTEROLEMIA *IN VITRO*

Summary

It's studied *in vitro* the intensity of lipid synthesis of various classes (fatty acids, cholesterol, phospholipids and acylglycerols) in homogenates of liver, brain, small intestinal mucosa and adipose tissue after daily single injection of guinea pigs with cholesterol (300 mg/kg body weight) for 30 days. For this purpose, it's determined the radioactivity of the lipid fractions of the referred above tissue homogenates of guinea pigs that was incubated with [1-¹⁴C] palmitic acid. It's established the inhibitory effect of exogenous cholesterol, under increase its level in the diet of guinea pigs, on the diacylglycerol synthesis and on the free cholesterol in the small intestine mucosa and on the triacylglycerol synthesis in adipose tissue under usage as a precursor – [1-¹⁴C] palmitic acid. It's determined a significant reduction in the intensity of total lipids and individual lipid classes by using as a precursor [1-¹⁴C] palmitic acid in *in vitro* conditions in the brain, liver, small intestinal mucosa and adipose tissue of guinea pigs with hypercholesterolemia when it's given them fish oil as feed.

KEY WORDS: lipids, cholesterol, hypercholesterolemia, rats, guinea pigs, adipose tissue, hepar, brain, intestine, palmitic acid.

Отримано 18.02.16

Адреса для листування: О. С. Покотило, Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, вул. Руська, 56, Тернопіль, 46001, Україна.