

## СТАН ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ДІЄТИНДУКОВАНОМУ АЛІМЕНТАРНОМУ ОЖИРІННІ

*У статті наведено результати дослідження пероксидного окиснення ліпідів у щурів на моделі дієтиндукованого ожиріння. Встановлено підвищення вмісту дієнових кон'югатів і продуктів тіобарбітурової кислоти в крові, гомогенаті печінки і жировій тканині проти даних контролю ( $p < 0,05$ ). При цьому виявлено, що запускають процеси пероксидного окиснення ліпідів активні метаболіти оксигену, рівень яких значно зростає стосовно контролю, а найбільшим джерелом кисневих радикалів при надмірній масі тіла є жирова тканина.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** експериментальне ожиріння, пероксидне окиснення ліпідів.

**ВСТУП.** Ожиріння є однією з важливих проблем охорони здоров'я в усьому світі, оскільки збільшує частоту серцево-судинних захворювань, цукрового діабету і раку товстої кишки [9, 10]. По суті ожиріння – результат надмірного споживання енергії порівняно з тією енергією, що витрачається [12]. Відповідно до сучасної концепції патогенезу ожиріння, головною патогенетичною ланкою цього процесу, згідно з даними S. Weisberg та співавт., є системний оксидативний стрес, що ініціює дефекти мітохондріального окиснення субстратів у жировій тканині [8]. Дані Н. С. Леоненко вказують на те, що при вільнорадикальній патології перш за все відбувається окиснення ліпідів, інтенсивність якого значною мірою залежить від стану антиоксидантного захисту, тоді як білки окиснюються на другому етапі, й у цей процес включаються не тільки активні форми кисню, а й інші продукти, в тому числі пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [4].

Метою даної роботи було дослідити вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів при дієтиндукованому експериментальному ожирінні.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях масою від 160,0 до 180,0 г згідно з Женевською конвенцією "International Guiding principles for Biochemical research involving animals" (Geneva, 1990) та Загальними принципами експериментів на © І. В. Антонишин, М. І. Марущак, О. В. Денефіль, 2014.

тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001). Щури перебували в належних санітарно-гігієнічних умовах віварію ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України".

Експериментальну модель аліментарного ожиріння відтворювали шляхом застосування індуктора харчового потягу – натрієвої солі глутамінової кислоти у співвідношенні 0,6:100,0 та висококалорійної дієти, яка складалась із стандартної їжі (47 %), солодкого концентрованого молока (44 %), кукурудзяної олії (8 %) і рослинного крохмалю (1 %). Відтворення аліментарного ожиріння контролювали шляхом зважування тварин.

Тварин поділили на три групи: контрольну групу – інтактні тварини (6 щурів); дослідну групу № 1 – термін спостереження через 14 діб від початку експерименту при ІМТ > 25 (6 щурів); дослідну групу № 2 – через 28 днів від початку експерименту при ІМТ > 30 (6 щурів).

Для дослідження особливостей вільнорадикального окиснення при експериментальному ожирінні спектрофотометрично визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-реактивів (ТБК-АП) [2]. Для дослідження використовували плазму крові, супернатант гемолізованих еритроцитів, 10 % гомогенат тканини печінки і жирової тканини готували на фізіологічному розчині при температурі 35 °С.

Для дослідження активних метаболітів оксигену (АМО) використовували лізати моноцитів, попередньо виділених за допомогою

центрифугування на подвійному градієнті щільності 1,077 і 1,093 фіколу-верографіну. Після 40 хв центрифугування при температурі 4 °С і швидкості 1500 об./хв утворювалися дві інтерфази. Верхня інтерфаза (на межі плазма-верифікол щільністю 1,077) складалася з мононуклеарних клітин – 80 % лімфоцитів, 15–18 % моноцитів і незначного (2–3 %) додатка гранулоцитів. Розділення лімфоцитів і моноцитів здійснювали методом ізокінетичного центрифугування протягом 5 хв при 400 об./хв у градієнті фіколу-верографіну щільністю 1,060 [7]. Аналіз зразків проводили на проточному цитометрі Erics XL (“Beckman Coulter”, США) за допомогою дихлорфлюоресцеїну діацетату, значення досліджуваного параметра виражали у відсотках (інтенсивність світіння на клітину) [1].

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою критерію Манна–Уїтні.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Як свідчать дані, наведені в таблиці, вміст ДК у супернатанті гемолізатів еритроцитів, плазмі крові та гомогенаті печінки щурів з дієтіндукованим ожирінням мав тенденцію до зростання через

14 діб спостереження, тоді як у гомогенаті жирової тканини виявлено статистично значиме підвищення рівня первинних продуктів ПОЛ на 30,08 % відносно контрольної групи. За умови аліментарного ожиріння (через 28 діб від початку експерименту) вміст ДК достовірно збільшився в усіх досліджуваних біологічних субстратах, зокрема у супернатанті гемолізату еритроцитів – на 61,52 %, у плазмі крові – на 89,72 %, у гомогенаті печінки – на 89,29 %, у гомогенаті жирової тканини – на 81,59 % відносно показників інтактних тварин та, відповідно, на 40,22, 99,80, 70,44 і 39,60 % стосовно даних дослідної групи № 2 ( $p < 0,05$ ).

Ініціація ПОЛ призводить до утворення малоальдегідоподібних продуктів, які викликають порушення впорядкованої орієнтації молекул фосfolіпідів, ліпопротеїдних міжмолекулярних взаємодій та конфігурацію базальної мембрани, що підвищує в'язкість, змінює фазові властивості й електричний опір мембрани [13]. При аналізі динаміки змін ТБК-АП у різних біологічних рідинах було встановлено тенденцію до їх зростання через 14 діб моделювання дієтіндукованого ожиріння з наступним вірогідним збільшенням через 21 добу експерименту проти даних контролю і показників дослідної групи № 1 ( $p < 0,05$ ) (табл.).

Процес ПОЛ відбувається за ланцюговим механізмом. Обов'язковою його умовою є наявність у системі вільних радикалів, які являють собою молекули або фрагменти

Таблиця – Показники пероксидного окиснення ліпідів щурів за умови дієтіндукованого ожиріння ( $M \pm m$ )

Показник	Контрольна група (n=6)	Дослідна група № 1 (n=6)	Дослідна група № 2 (n=6)
1	2	3	4
Супернатант гемолізатів еритроцитів			
ДК, мкмоль/дц <sup>3</sup>	2,63±0,09	3,03±0,09	4,25±0,23 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
ТБК-АП, мкмоль/дц <sup>3</sup>	7,15±0,53	8,96±0,15	12,08±0,61 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Плазма крові			
ДК, мкмоль/дц <sup>3</sup>	1,78±0,10	1,69±0,12	3,38±0,11 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
ТБК-АП, мкмоль/дц <sup>3</sup>	2,33±0,13	2,60±0,12	5,13±0,14 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Гомогенат печінки			
ДК, мкмоль/г тканини	2,40±0,15	2,66±0,10	4,54±0,30 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
ТБК-АП, мкмоль/г тканини	4,41±0,14	4,75±0,13	6,23±0,17 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

1	2	3	4
Гомогенат жирової тканини			
ДК, мкмоль/г тканини	5,40±0,40	7,02±0,14 $p_1 < 0,05$	9,80±0,22 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
ТБК-АП, мкмоль/г тканини	7,74±0,12	8,79±0,11	11,13±0,17 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примітки:

1.  $p_1$  – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами.
2.  $p_2$  – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами.

молекул з неспареним електроном і мають високу хімічну активність. Відомо, що у фізіологічно повноцінній клітині АМО утворюються постійно у невеликій кількості, які клітина інактивує за допомогою антиоксидантної системи. За умови досліджуваного нами експериментального дієтіндукованого ожиріння АМО моноцитів (макрофагів) перевищують захисні можливості клітини, що проявляється достовірним зростанням їх рівня в обох дослідних групах у всіх біологічних рідинах стосовно контролю, при цьому показники дослідної групи № 2 були більшими від показників групи № 1 ( $p < 0,05$ )

(рис.). Потрібно відмітити, що при надмірній масі тіла (через 14 днів спостереження) найбільшим джерелом АМО виступає жирова тканина. Надмірний потік нутрієнтів в адипоцитах зумовлює порушення внутрішньоклітинного енергетичного балансу в бік збільшення надходження енергії, що компенсується, згідно з даними С. Bouchard та співавт., підвищенням оксидативних процесів і витрачанням, таким чином, надлишку енергії [13]. Граничне напруження клітинної ферментної архітекτονіки при дієтіндукованому ожирінні призводить до оксидативного стресу.

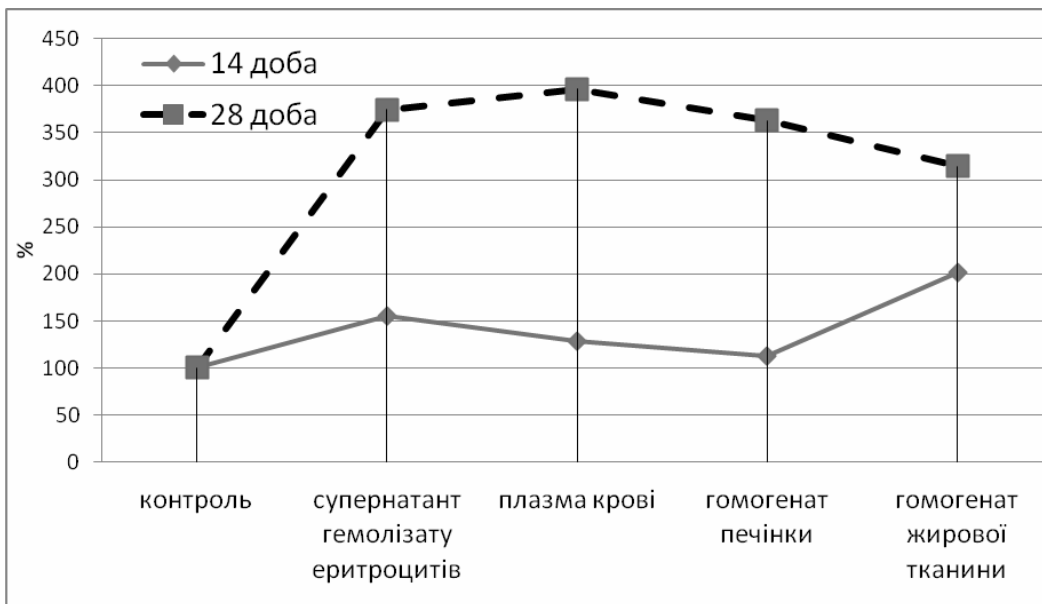


Рис. 1. Динаміка рівня вільних радикалів за умови дієтіндукованого ожиріння в щурів.

**ВИСНОВКИ.** 1. Активізація пероксидного окиснення ліпідів у щурів за умови дієтіндукованого ожиріння проявляється вірогідним збільшенням дієнових кон'югатів і продуктів тіобарбітурової кислоти в крові, гомогенаті печінки і жировій тканині проти даних контролю ( $p < 0,05$ ).

2. За умови експериментального дієтіндукованого ожиріння активні метаболіти кисню перевищують захисні можливості клітини, що проявляється достовірним зростанням їх рівня в усіх біологічних рідинах стосовно контролю, при цьому найбільшим джерелом кисневих радикалів при надмірній масі тіла є жирова тканина.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Волосовець О. П. Патогенетична роль оксиду азоту та ендотеліальної дисфункції в розвитку захворювань серцево-судинної системи у дітей / О. П. Волосовець, С. П. Кривоустов, Т. С. Мороз // Здоровье ребенка. – 2007. – № 2 (5). – Режим доступу : <http://www.mif-ua.com/archive/article/716>.
2. Кисеньзалежні функції фагоцитів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / Є. М. Нейко, П. Р. Герич, М. М. Островський, Л. М. Томащук // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2010. – № 1. – С. 100–104.
3. Кіхтяк О. П. Механізми розвитку інсулінорезистентності та її мішені / О. П. Кіхтяк // Укр. мед. часопис. – 2013. – № 5 (97). – Режим доступу : <http://www.umj.com.ua/article/65455/mexanizmi-rozvitku-insulinorezistentnosti-ta-ii-misheni>.
4. Леоненко Н. С. Стан перекисного окислення ліпідів та окислювальної модифікації білків в організмі щурів при дії метсульфурон-метилу в малих дозах [Електронний ресурс] / Н. С. Леоненко. – Режим доступу : [http://www.medved.kiev.ua/arhiv\\_mg/st\\_2005/05\\_4\\_9.htm](http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2005/05_4_9.htm).
5. Федорова Т. Н. Реакции с тиобарбитуровой кислотой для определения малонового диальдегида крови методом флюориметрии / Т. Н. Федорова, Т. С. Коршунова, Э. Г. Ларский // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 25–28.
6. Barquera S. Obesidad: La epidemia mundial. / S. Barquera, L. Tolentino, J. Rivera // Instituto Nacional de Salud Publica: Mexico. – Mexico, 2006.
7. Caveolin-1 Inhibits Expression of Antioxidant Enzymes through Direct Interaction with Nuclear Erythroid 2 p45-related Factor-2 (Nrf2) / W. Li, H. Liu, J. S. Zhou [et al.] // J. Biol. Chem. – 2012. – **287**, № 25. – P. 20922–20930.
8. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding / S. P. Weisberg, D. Hunter, R. Huber [et al.] // J. Clin. Invest. – 2006. – **116** (1). – P. 115–124.
9. Is obesity associated with increased plasma lipid peroxidacyn and oxidative stress in women / F. Amirkhizi, F. Siassi, S. Minaie [et al.] // ARYA Atheroscler. J. – 2007. – **2**. – P. 189–192.
10. Leptin and hypertension in obesity / P. Bravo, S. Morse, D. Borne [et al.] // Vasc. Health Risk Manage. – 2006. – № 2. – P. 163–169.
11. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation // World Health Organ. Tech. Rep. Ser. – 2000. – **894**. – P. 1–253.
12. Sikaris K. The clinical biochemistry of obesity / K. Sikaris // Clin. Biochem. Rev. – 2004. – **25**. – P. 165–181.
13. The response to long-term overfeeding in identical twins / Bouchard C., Tremblay A., Despres J. P. [et al.] // N. Engl. J. Med. – 1990. – **322** (21). – P. 1477–1482.

**И. В. Антонишин, М. И. Марущак, О. В. Денефиль**

*ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО*

## **СОСТОЯНИЕ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИЕТИНДУЦИРОВАННОМ АЛИМЕНТАРНОМ ОЖИРЕНИИ**

### **Резюме**

*В статье приведены результаты исследования пероксидного окисления липидов у крыс на модели диетиндуцированного ожирения. Установлено повышение содержания диеновых конъюгатов и продуктов тиобарбитуровой кислоты в крови, гомогенате печени и жировой ткани против данных контроля ( $p < 0,05$ ). При этом выявлено, что запускают процессы пероксидного окисления липидов активные метаболиты кислорода, уровень которых значительно возрастает относительно контроля, а крупнейшим источником кислородных радикалов при избыточной массе тела выступает жировая ткань.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** экспериментальное ожирение, пероксидное окисление липидов.

I. V. Antonyshyn, M. I. Marushchak, O. V. Denefil  
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

## LIPID PEROXIDATION STATUS IN EXPERIMENTAL DIET-INDUCED ALIMENTARY OBESITY

### Summary

*The results of the study of lipid peroxidation in rat model of diet-induced obesity was demonstrated. The increase of content of diene conjugates and products of thiobarbituric acid were observed in the blood, liver homogenate and adipose tissue compared with control data ( $p < 0.05$ ). It was established that the process of lipid peroxidation initiated by reactive oxygen metabolites, the level of which increases significantly on the control group and the adipose tissue is greatest source of oxygen radicals in overweight.*

KEY WORDS: **experimental obesity, lipid peroxidation.**

Отримано 17.07.14

Адреса для листування: І. В. Антонішин, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.