



УДК 577.161.2:636.92:616.37-036

25-ОН-ВІТАМІН D₃-СИНТЕЗУВАЛЬНА ЗДАТНІСТЬ І СКЛАД ЖИРНИХ КИСЛОТ ЕСТЕРИФІКОВАНОГО ХОЛЕСТЕРОЛУ ПЕЧІНКИ КРОЛИКІВ ЗА ГОСТРОГО АРГІНІНОВОГО ПАНКРЕАТИТУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ ЛЛЯНОЮ ОЛІЄЮ

О. О. Гопаненко, Й. Ф. Рівіс

*Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН
вул. Грушевського, 5, с. Оброшино, Пустомитівський р-н, Львівська обл. 81115, Україна
e-mail: hopenenko@gmail.com*

У даній роботі досліджували рівень 25-ОН-вітаміну D₃ у плазмі крові та склад жирних кислот естерифікованого холестеролу в печінці кроликів за гострого аргінінового панкреатиту і його корекції лляною олією. Встановлено, що у плазмі крові кроликів за гострого аргінінового панкреатиту знижується рівень 25-ОН-вітаміну D₃. Виявлено, що у складі естерифікованого холестеролу печінки цих кроликів зростає відносна кількість насичених і мононенасичених жирних кислот, але знижується вміст поліненасичених жирних кислот. Згодовування кроликам лляної олії приводить до підвищення рівня 25-ОН-вітаміну D₃ у плазмі крові за гострого аргінінового панкреатиту порівняно з контролем. Одночасно нормалізується склад жирних кислот естерифікованого холестеролу печінки цих кроликів.

Ключові слова: кролики, гострий аргініновий панкреатит, кров, печінка, вітамін D₃, естерифікований холестерол, жирнокислотний склад.

ВСТУП

Печінка людини і тварин здатна із холестеролу синтезувати 25-ОН-вітамін D₃, який містить ОН-групу в 25-положенні циклофенантренового кільця [1]. Водночас у розщепленні ліпідів у травному каналі людини і тварин бере участь підшлункова залоза [12, 14]. Остання активно екскретує ліпазу у просвіт травного каналу [13]. Крім того, підшлункова залоза через глюкагон та інсулін впливає на рівень глікогену в печінці та глюкози у крові [7]. До того ж за підвищеної активності інсуліну глюкоза активно включається у склад насичених і мононенасичених жирних кислот у тканинах організму людини і тварин [6]. У свою чергу, окиснення жирних кислот веде до утворення ацетату, з якого синтезується холестерол. Залежно від того, з якою жирною кислотою, насиченою чи ненасиченою, є зв'язаний холестерол, змінюється інтенсивність обміну його в організмі людини і тварин. Холестерол, зв'язаний з насиченою жирною кислотою, легко відкладається на стінках кровоносних судин.

На функціонування підшлункової залози та секрецію нею ензимів і гормонів мають вплив аліментарні та хімічні фактори [16]. Зокрема, за гострого аргінінового панкреатиту в плазмі крові щурів змінюється вміст окремих класів ліпідів [9].

Метою нашої роботи було встановити рівень 25-ОН-вітаміну D₃ у плазмі крові залежно від вмісту й жирнокислотного складу естерифікованого холестеролу в печінці кроликів за гострого аргінінового панкреатиту і його корекції багатою на лінолену та, особливо, ліноленову кислоти лляною олією.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослід проведено в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького на трьох групах (по 5 тварин у кожній) кроликів-самців породи Сірій велетень живою масою 3,8–4,0 кг. Кролики контрольної, I та II дослідних груп протягом одного місяця отримували стандартний гранульований комбікорм. За цей період кролики II дослідної групи щоденно отримували комбікорм із нанесеною на нього лляною олією в розрахунку 1 мл/кг живої маси. Крім того, за п'ять днів до завершення досліду для моделювання гострого панкреатиту кроликам I та II дослідних груп інтраперитонально у складі 2 мл фізіологічного розчину одноразово ввели L-аргінін у дозі 4 г/кг живої маси [5]. У кінці досліду піддослідні кролики під ефірним наркозом були забиті шляхом декапітації. Матеріалом для досліджень слугували зразки крові та печінки.

Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням вимог „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей” (Страсбург, 1985) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

Вміст 25-ОН-вітаміну D₃ у плазмі крові визначали імуноферментним методом аналізу за допомогою тест-системи фірми „Immunodiagnostic” (Німеччина). У екстрактах печінки методом хроматографії в тонкому шарі силікагелю визначали концентрацію естерифікованого холестеролу. Виділений наведеним вище методом естерифікований холестерол піддавали швидкій переестерифікації для отримання метилових ефірів жирних кислот [10].

Для досліджень метилових ефірів жирних кислот використано газорідний хроматографічний апарат „Chrom-5” (Laboratorni pristroje, Praha), який має нержавіючу сталеву колонку довжиною 3700 мм із внутрішнім діаметром 3 мм. Колонку заповнювали Chromaton-N-AW, зерніням 0,120–0,140 мм, силанізованим гексаметилдисиланом і покритим полідіетиленглікольадипінатом у кількості 10%.

Ідентифікацію піків на хроматограмі проводили методом розрахунку „Карбонових чисел”, а також використанням хімічно чистих, стандартних, гексанових розчинів метилових ефірів жирних кислот. Розрахунок вмісту окремих жирних кислот за результатами газохроматографічного аналізу проводили за формулою, яка включає в себе поправкові коефіцієнти для кожної досліджуваної жирної кислоти [10].

$$X, \% = (A \times K) / S(B_1 \times K_1) + (C_2 \times K_2) + (D_n \times K_n) \times 100,$$

де X – кількісна відносна концентрація досліджуваної довголанцюгової жирної кислоти, %; A – параметри піка (площа або висота) досліджуваної довголанцюгової жирної кислоти, мм² або мм; K – поправковий коефіцієнт для досліджуваної довголанцюгової жирної кислоти; B₁, C₂, D_n – параметри піків (площі або висоти) досліджуваних довголанцюгових жирних кислот, мм² або мм; K₁, K₂, K_n – поправкові коефіцієнти для досліджуваних довголанцюгових жирних кислот; S(B₁×K₁) + (C₂×K₂) + (D_n×K_n) – сума кількісних відносних концентрацій усіх довголанцюгових жирних кислот; 100 – коефіцієнт переводу у відносні одиниці (в %).

Поправкові коефіцієнти знаходили як відношення площ піків (зокрема, висот піків) гептадеканової (внутрішній стандарт) і досліджуваної кислоти за концентрації 1:1 та ізотермічному режимі роботи газорідного хроматографічного апарату.

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента [8]. Вираховували середні арифметичні значення (M), похибку середнього арифметичного (m) та вірогідність різниць між досліджуваними середньоарифметичними значеннями (p). Зміни вважали вірогідними за $p < 0,05$. Для розрахунків використано спеціальну комп'ютерну програму Microsoft Exel for Windows XP.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що у плазмі крові кроликів за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з інтактними кроликами, знижується рівень 25-ОН-вітаміну D₃ (рис. 1) на 17,2% ($p < 0,001$, $n=5$). Згодовування лляної олії викликає підвищення рівня 25-ОН-вітаміну D₃ у плазмі крові кроликів за наведеного вище захворювання. Дані літератури вказують на те, що 25-ОН-вітамін D₃ так само, як і жовчні кислоти, синтезується у печінці людини і тварин насамперед із естерифікованого холестеролу [1]. Тому цікаво дослідити вміст естерифікованого холестеролу в печінці кроликів за гострого аргінінового панкреатиту і його корекції згодовуваною лляною олією.

Зафіксовано, що у печінці кроликів за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з інтактними кроликами, зростає вміст естерифікованого холестеролу на 8,6% ($p < 0,001$, $n=5$) (рис. 2). Очевидно, естерифікований холестерол за даного захворювання важко перетворюється у 25-ОН-вітамін D₃ і жовчні кислоти. Ми встановили,

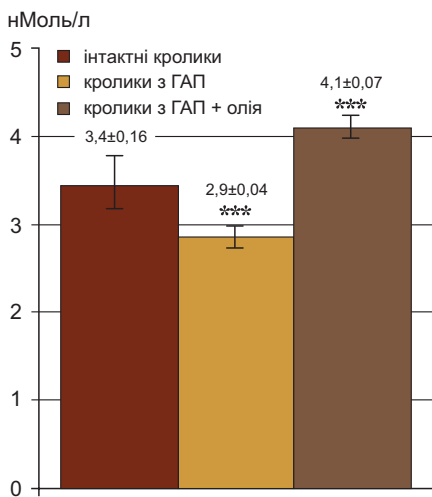


Рис. 1. Вміст 25-ОН-вітаміну D₃ у плазмі крові кроликів за гострого аргінінового панкреатиту і його корекції (M±m, n=5)

Примітка: *** – $p < 0,001$.

Fig. 1. Content of 25-OH-vitamin D₃ in blood plasma of rabbits with acute arginine pancreatitis and its correction (M±m, n=5)

Comments: *** – $p < 0,001$.

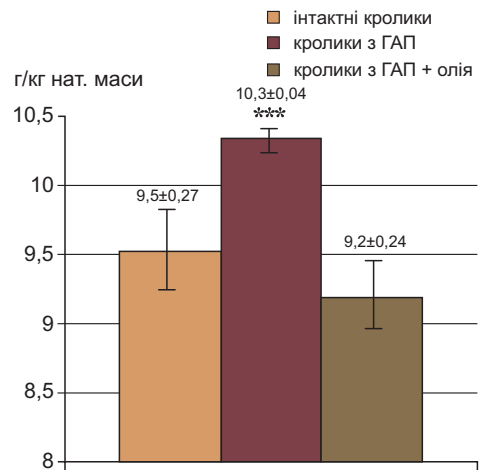


Рис. 2. Вміст естерифікованого холестеролу в печінці кроликів за гострого аргінінового панкреатиту і його корекції (M±m, n=5)

Примітка: *** – $p < 0,001$.

Fig. 2. Content of esterified cholesterol in liver of rabbits with acute arginine pancreatitis and its correction (M±m, n=5)

Comments: *** – $p < 0,001$.

що згодовування лляної олії викликає нормалізацію вмісту естерифікованого холестеролу в печінці кроликів за даної патології. Можливо, за згодовування лляної олії зростає інтенсивність перетворення естерифікованого холестеролу в 25-ОН-вітамін D₃ і жовчні кислоти в печінці тварин за гострого аргінінового панкреатиту.

Крім того, в літературі також є дані про те, що синтез 25-ОН-вітаміну D₃, як і жовчних кислот, у печінці людини і тварин залежить від складу жирних кислот естерифікованого холестеролу [15]. Склад жирних кислот визначає здатність естерифікованого холестеролу до обмінних процесів [2]. Виходячи з цього, важливо дослідити склад жирних кислот естерифікованого холестеролу в печінці кроликів за гострого аргінінового панкреатиту і його корекції лляною олією.

Нами встановлено, що у складі жирних кислот естерифікованого холестеролу печінки кроликів із гострим аргініновим панкреатитом, порівняно з інтактними кроликами, є підвищений відносний рівень насичених і мононенасичених жирних кислот, але знижений – поліненасичених (див. таблицю). Відносний вміст насичених жирних кислот зростає за рахунок жирних кислот із парною (каприлової, капринової, міристинової, пальмітинової, стеаринової й арахінової) та непарною (пентадеканової) кількістю атомів Карбону в ланцюгу, а вміст мононенасичених жирних кислот – за рахунок жирних кислот родин ω -7 (пальмітоолеїнової) і ω -9 (ейкозаєнової). Відносна концентрація поліненасичених жирних кислот у складі естерифікованого холестеролу печінки кроликів за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з інтактними кроликами, є меншою за рахунок жирних кислот родин ω -6 (лінолевої, ейкозадієнової, ейкозатриєнової, ейкозатетраєнової-арахідонової, докозадієнової та докозатетраснової) і, особливо, ω -3 (ліноленової, ейкозапентаєнової, докозатриєнової, докозапентаєнової та докозагексаєнової).

Переважаюча естерифікація холестеролу печінки кроликів насиченими та мононенасиченими жирними кислотами за гострого аргінінового панкреатиту може вказувати на підвищення його кристалічності й погіршення міжтканинного транспорту [4]. Холестерол із таким складом жирних кислот важко перетворюється у печінці в 25-ОН-вітамін D₃. Такий холестерол, імовірно, легко відкладається на стінках кровоносних судин [17], проявляючи атерогенні властивості [11].

Після згодовування лляної олії ми виявили, що у складі жирних кислот естерифікованого холестеролу печінки кроликів із гострим аргініновим панкреатитом, порівняно з інтактними кроликами, зменшується відносна кількість мононенасичених жирних кислот, але збільшується – поліненасичених (див. таблицю). З таблиці видно, що при цьому не змінюється відносна концентрація насичених жирних кислот у печінці тварин.

Відносна концентрація мононенасичених жирних кислот у складі естерифікованого холестеролу печінки кроликів з гострим аргініновим панкреатитом, корегованою згодовуваною лляною олією, порівняно з інтактними кроликами, зменшується в основному за рахунок жирних кислот родини ω -9 (олеїнової). Відносна кількість поліненасичених жирних кислот у складі естерифікованого холестеролу печінки вказаних кроликів збільшується з боку жирних кислот родин ω -6 (докозатетраєнової) і, особливо, ω -3 (ліноленової, ейкозапентаєнової, докозатриєнової, докозапентаєнової та докозагексаєнової). Наведене вище призводить до зростання відношення поліненасичених жирних кислот родини ω -3 до поліненасичених жирних кислот родини ω -6 (див. таблицю). Тим самим зростає здатність естерифікованого холестеролу до метаболічних перетворень.

Склад жирних кислот естерифікованого холестеролу печінки кроликів, % (M±m, n=5)
Fatty acid composition of esterified cholesterol of rabbit liver, % (M±m, n=5)

Жирні кислоти та їх код	Інтактні кролики	Кролики з гострим аргініновим панкреатитом	Кролики з гострим аргініновим панкреатитом, корегованим згодовуваною лляною олією
Каприлова, 8:0	0,16±0,01	0,22±0,01***	0,18±0,01
Капринова, 10:0	0,20±0,01	0,25±0,01***	0,22±0,01*
Лауринова, 12:0	0,29±0,01	0,34±0,01***	0,32±0,01*
Міристинова, 14:0	0,52±0,02	0,62±0,02***	0,55±0,02
Пентадеканова, 15:0	0,31±0,01	0,40±0,02***	0,34±0,01
Пальмітинова, 16:0	8,46±0,22	9,69±0,21***	8,79±0,22
Пальмітоолеїнова, 16:1	0,95±0,02	1,00±0,03	0,99±0,02
Стеаринова, 18:0	8,82±0,22	9,78±0,11***	8,55±0,23
Олеїнова, 18:1	29,08±1,04	34,33±1,01	25,09±1,09
Лінолева, 18:2	14,51±0,30	13,14±0,09***	15,05±0,39
Ліноленова, 18:3	6,48±0,14	5,87±0,07***	7,14±0,09***
Арахінова, 20:0	0,34±0,01	0,40±0,01***	0,28±0,01***
Ейкозаєнова, 20:1	0,19±0,01	0,21±0,01*	0,20±0,01
Ейкозадієнова, 20:2	0,30±0,01	0,24±0,01***	0,32±0,01
Ейкозатрієнова, 20:3	1,95±0,05	1,64±0,04***	2,04±0,05
Ейкозатетраєнова-арахідонова, 20:4	7,07±0,09	6,59±0,06***	7,34±0,09
Ейкозапентаєнова, 20:5	1,85±0,06	1,48±0,05***	2,20±0,06***
Докозадієнова, 22:2	0,95±0,02	0,82±0,02***	0,97±0,02
Докозатрієнова, 22:3	1,30±0,06	0,99±0,03***	1,58±0,04***
Докозатетраєнова, 22:4	3,21±0,07	2,85±0,04***	3,43±0,07*
Докозапентаєнова, 22:5	6,13±0,17	5,42±0,07***	6,84±0,06***
Докозагексаєнова, 22:6	6,93±0,14	6,19±0,08***	7,57±0,08***
Загальна кількість жирних кислот	100,00	100,00	100,00
У т. ч. насичені	19,10	21,70	19,23
мононенасичені	30,23	33,07	26,29
поліненасичені	50,67	45,23	54,48
n-3/n-6	0,81	0,79	0,87

Примітка: * – p<0,02-0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

Comments: * – p<0,02-0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

Переважаюча естерифікація холестеролу печінки кроликів поліненасиченими жирними кислотами за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, може вказувати на зменшення його кристалічності й покращення міжквантинного транспорту. Холестерол із великою відносною кількістю

поліненасичених жирних кислот у своєму складі, як уже згадувалося вище, в печінці легко перетворюється у 25-ОН-вітамін D₃. Такий холестерол, можливо, легко транспортується кров'ю та не відкладається на стінках кровонесних судин [11]. Завдяки цьому, зменшуються атерогенні властивості естерифікованого холестеролу, багатого на поліненасичені жирні кислоти [3].

Отже, згодовувана пляна олія нормалізує вміст естерифікованого холестеролу та склад його жирних кислот у печінці кроликів за гострого аргінінового панкреатиту. Ми припускаємо, що це приводить до інтенсифікації 25-ОН-вітамін D₃-синтезуючої функції печінки кроликів за даного захворювання.

ВИСНОВКИ

1. У плазмі крові кроликів за гострого аргінінового панкреатиту знижується рівень 25-ОН-вітаміну D₃ на 17,2% (p<0,001, n=5). При цьому в печінці зростає вміст естерифікованого холестеролу на 8,6% (p<0,001, n=5). Одночасно у складі естерифікованого холестеролу печінки зростає відносна кількість насичених і мононенасичених жирних кислот, але знижується вміст поліненасичених жирних кислот.
2. Згодовування кроликам пляної олії приводить до підвищення рівня 25-ОН-вітаміну D₃ у плазмі крові за гострого аргінінового панкреатиту. Одночасно нормалізується склад жирних кислот естерифікованого холестеролу печінки цих кроликів.

1. *Влізло В.В., Куртяк Б.М., Янович В.Г.* та ін. Біохімічні основи нормування вітамінного живлення корів. 1. Жиророзчинні вітаміни. **Біологія тварин**, 2007; 9(1–2): 25–42.
2. *Длябога Ю.З.* Корекція жирнокислотного складу етерифікованого холестеролу в організмі та ріст щурів за експериментальної гіперхолестеринемії. **Вісн. Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Медицина**, 2012; 3(1): 29–37.
3. *Дрогомирецька М.С., Макаренко О.А., Сукманський О.І.* Корекція ліпідного обміну у щурів при аліментарній гіперліпідемії. **Дентальные технологии**, 2010; 44(1): 53–57.
4. *Загайко А.Л., Вороніна Л.М., Каліман П.А., Стрельченко Е.В.* Вплив хронічного соціального стресу на метаболізм ліпідів у золотистих сирійських хом'ячків. **Укр. біохім. журнал**, 2008; 80(4): 120–129.
5. *Іващук І.О., Давиденко І.С., Морар І.К.* Морфологічне та біохімічне обґрунтування деяких способів моделювання гострого деструктивного панкреатиту на дрібних лабораторних тваринах. **Клінічна та експериментальна патологія**, 2011; 38(4): 40–45.
6. *Іскра Р.Я.* Вміст інсуліну і ліпідів у плазмі крові свиней при підвищенні рівня хрому в раціоні. **Біологія тварин**, 2009; 11(1–2): 176–179.
7. *Копельнюк В., Галенова Т., Кот Л.* та ін. Роль інсуліну у регуляції вуглеводного та ліпідного обміну за умов метаболічного синдрому. **Вісник Київ. нац. ун-ту ім. Т. Шевченка. Біологія**, 2010; 56: 15–16.
8. *Лопач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н.* **Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel**. К.: Мартон, 2001. 408 с.
9. *Привроцька І. Б., Покотило О.С.* Жирнокислотний склад ліпідів крові за гострого аргінінового панкреатиту у щурів. **Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія**, 2011; 4: 19–24.
10. *Рівіс Й. Ф. Федорук Р. С.* **Кількісні хроматографічні методи визначення окремих ліпідів і жирних кислот у біологічному матеріалі**. Львів: Сполом, 2010. 109 с.
11. *Смоляр В.І.* Аліментарні ефектори ліпідного обміну. **Проблеми харчування**, 2003; 1: 8–14.

12. Чернобровий В.М., Феджага І.В. Роль шлункової секреції в патогенезі хронічного панкреатиту. **Буковинський мед. вісник**, 2008; 12(1): 156–162.
13. Шманько В.В., Мерецька І.В. Клініко-фармакологічні аспекти застосування ферментних препаратів у гастроентерології. **Ліки України**, 2008; 119(3): 82–84.
14. Carola V. Santana, María B. López, María A. Martínez-Burgos et al. Influence of dietary lipid composition on the pancreatic lipid profile. **AgroFood Industry Hi-tech**, 2009; 20(6): 48–51.
15. Eaton S. Multiple roles for lipids in the Hedgehog signalling pathway. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, 2008; 9: 437–445.
16. Konturek S.J., Pepera J., Zabielski K. et al. Brain-gut axis in pancreatic secretion and appetite control. **Journ. of Physiology and Pharmacology**, 2003; 54(3): 293–317.
17. van der Steeg W. A., Hovingh G. K., Klerkx A. H. et al. Cholesteryl ester transfer protein and hyperalphalipoproteinemia in Caucasians. **Journ. of Lipid Research**, 2007; 48(3): 674–682.

25-OH-VITAMIN D₃-SYNTHESIZING ABILITY AND FATTY ACID COMPOSITION IN LIVER OF RABBITS WITH ACUTE ARGININE PANCREATITIS AND ITS CORRECTION WITH LINSEED OIL

O. O. Hopanenko, Y. F. Rivis

*Institute for Agriculture of Carpathian Region National Academy of Agricultural Sciences of Ukraine
5, Hrushevskyi St., Obroshyno, Lviv Region 81115, Ukraine
e-mail: hopanenko@gmail.com*

In this paper, we measured the level of 25-OH-vitamin D₃ in blood plasma and fatty acid composition of esterified cholesterol in the liver of rabbits with acute arginine pancreatitis and its correction with linseed oil. It was found that the level of 25-OH-vitamin D₃ decreased in blood plasma of rabbits with acute arginine pancreatitis. The relative amount of saturated and monounsaturated fatty acids of esterified cholesterol increased, while the content of polyunsaturated fatty acids of esterified cholesterol decreased in liver of these rabbits. Feeding with linseed oil leads to an increased level of 25-OH-vitamin D₃ in blood plasma of rabbit with acute arginine pancreatitis compared with the control. Simultaneously, the fatty acid composition of esterified cholesterol was normalized in liver of the rabbits.

Keywords: rabbits, acute arginine pancreatitis, blood, liver, vitamin D₃, esterified cholesterol, fatty acid composition.

25-OH-VITAMIN D₃-СИНТЕЗИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ И СОСТАВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ЭСТЕРИФИЦИРОВАННОГО ХОЛЕСТЕРОЛА ПЕЧЕНИ КРОЛИКОВ ПРИ ОСТРОМ АРГИНИНОВОМ ПАНКРЕАТИТЕ И ЕГО КОРРЕКЦИИ ЛЬНЯНЫМ МАСЛОМ

О.О. Гопаненко, Й.Ф. Ривис

*Институт сельского хозяйства Карпатского региона НААН Украины
ул. Грушевского, 5, с. Оброшино, Пустомытовский р-н, Львовская обл. 81115, Украина
e-mail: hopanenko@gmail.com*

В данной работе исследовали уровень 25-OH-витамина D₃ в плазме крови и состав жирных кислот эстерифицированного холестерина в печени кроликов при остром аргининовом панкреатите и его коррекции льняным маслом. Установлено,

что в плазме крови кроликов при остром аргининовом панкреатите снижается уровень 25-ОН-витамина D₃. Выявлено, что в составе эстерифицированного холестерина печени этих кроликов возрастает относительное количество насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот, но снижается содержание полиненасыщенных жирных кислот. Скармливание льняного масла кроликам приводит к повышению уровня 25-ОН-витамина D₃ в плазме крови при остром аргининовом панкреатите по сравнению с контролем. Одновременно нормализуется состав жирных кислот эстерифицированного холестерина печени этих кроликов.

Ключевые слова: кролики, острый аргининовый панкреатит, кровь, печень, витамин D₃, эстерифицированный холестерол, жирнокислотный состав.

Одержано: 14.01.2013