

УДК 612.015.11 +612.111.2]-02.612.397.23-092.9

СИНТЕЗ ЛІПІДІВ У СЛИЗОВІЙ ПОРОЖНЬОЇ КИШКИ МОРСЬКИХ СВИНОК ПРИ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ IN VITRO

О. С. Покотило

Synthesis Of Lipids In Small Intestine Mucous Of Guinea-Pigs At Hypercholesterolemia In Vitro. — O. S. Pokotylo. — It is investigated synthesis of lipids in the small intestine mucous of guinea-pigs with hypercholesterolemia at use as the predecessor lipids [6-14C] glucose, [2-14C] lysine and [1-14C] palmitic acids. The inhibition of fatty acids synthesis, cholesterol and other classes lipids in vitro in the small intestine mucous of guinea-pigs is established at hypercholesterolemia by the usage as the lipids predecessor [6-14C] glucose and [2-14C] lysine. At using as lipids predecessor [1-14C] palmitic acids the inhibition of lipids synthesis in the small intestine mucous of guinea-pigs at hypercholesterolemia is absent.

Address: Ternopil State Medical University by I.YA.Horbachevsky, Ternopil, Ukraine

У синтезі ліпідів у тканинах тварин використовуються, з одного боку, екзогенні жирні кислоти, які утворюються в результаті розщеплення ліпідів корму, а з другого – ендогенні жирні кислоти, котрі синтезуються з різних попередників – глюкози, амінокислот, кетонів тіл [1, 7, 13]. Ступінь використання глюкози, амінокислот та жирних кислот у синтезі ліпідів значною мірою залежить від шляхів їх метаболізму, типу тканин та виду тварин [1, 7, 8]. Слизова оболонка тонких кишок, як і печінка, характеризується у тварин високою метаболічною активністю, в тому числі по відношенню до обміну ліпідів [2, 3, 13]. Це пояснюється інтенсивним всмоктуванням жирних кислот з хімусу тонкого кишечника, синтезом у ентероцитах як власних ліпідів (структурних ліпідів), так і ліпопротеїнів плазми крові [8, 13]. У зв'язку з цим, становить інтерес дослідження кількісної сторони використання різних попередників у субстратному забезпеченні синтезу жирних кислот і окремих класів ліпідів у слизовій оболонці тонких кишок.

Разом з тим, порушення метаболізму екзогенного холестеролу в організмі тварин в основному пов'язують з гіперхолестеринемією та змінами співвідношення окремих класів ліпопротеїнів у крові [5, 12]. При цьому не враховується вплив гіперхолестеринемії на синтез холестеролу і інших класів ліпідів у слизовій оболонці тонких кишок. Вивчення цього питання становить інтерес у зв'язку з інгібуючим впливом холестеролу при підвищенні його рівня у клітині на активність ключових ферментів холестериногенезу і синтезу жирних кислот [9, 10]. Виходячи з цього, метою нашої роботи було дослідження інтенсивності синтезу окремих класів ліпідів у слизовій порожній кишці морських свинок з гіперхолестеринемією in vitro з різних попередників, мічених радіоактивним вуглецем.

Матеріали та методи досліджень

Досліди проводили на двох групах клінічно здорових статевозрілих самців морських свинок масою 340–380г, по 4 тварини в групі. Тварини 1-ї групи були контрольними і одержували стандартний раціон. У тварин 2-ї групи викликали гіперхолестеринемію шляхом додавання до їхнього раціону холестерол в кількості 300мг/кг живої маси на голову на добу. Через 30 днів тварин декапітували під ефірним наркозом. Отримані від тварин зрізи слизової порожньої кишки розміром приблизно 1x1x1 мм в кількості 100мг переносили в інкубаційні посудинки з фосфатним буфером Кребс-Рінгера (відношення маси тканин до об'єму буферу 1:10, рН-7,4, газова фаза – повітря, кількість коливачів – 60 на хвилину), до якого додавали 1мккюрі [6-¹⁴C] глюкози і інкубували їх протягом 60-ти хвилин в ультратермостаті при температурі 38⁰С при постійному перемішуванні [6]. Після закінчення інкубації, зрізи тканин відмивали від залишків ізотопу і екстрагували з них ліпідні сумішшю хлороформ-метанол 2:1 за методом Фолча [11], розділяли їх на класи методом тонкошарової хроматографії на силікагелі у системі гексан – діетиловий ефір – льодова оцтова кислота у відношенні 70:30:1 [4] та визначали їх радіоактивність на рідинному сцинтиляційному лічильнику ЛКВ (Швеція) у толуоловому сцинтиляторі. Одержані цифрові дані опрацьовували статистично.

Результати досліджень та їх обговорення

З наведених у таблиці даних видно, що радіоактивність загальних ліпідів синтезованих зрізами слизової порожньої кишки морських свинок контрольної групи in vitro залежить від досліджуваного міченого радіоактивним вуглецем субстрату і змінюється в ряді: [6-¹⁴C]глюкоза, [2-¹⁴C]лізин, [1-¹⁴C]пальмітинова кислота.

Таблиця 1. Радіоактивність окремих класів ліпідів, синтезованих зрізами слизової порожньої кишки морських свинок при інкубації з [6-¹⁴C] глюкозою, [2-¹⁴C] лізином та [1-¹⁴C] пальмітиновою кислотою (M±m, β-розпадів/100мг сирої тканини/хвилину, n=4)

Класи ліпідів	[6- ¹⁴ C] глюкоза	[2- ¹⁴ C] лізин	[1- ¹⁴ C] пальмітинова кислота
Контрольна група			
Фосфоліпіди	1569±74	1914±146	1289±84
Діацилгліцероли + вільний холестерол	911±52	836±69	415±39
Вільні жирні кислоти	1437±98	1918±133	658±66
Триацилгліцероли	2409±164	1177±63	1015±77
Етерифікований холестерол	845±60	918±59	384±19
Загальні ліпіди	7171±446	6263±499	3761±189
Дослідна група			
Фосфоліпіди	1008±60**	1504±99*	1352±85
Діацилгліцероли + вільний холестерол	448±43***	464±30**	360±25
Вільні жирні кислоти	592±34***	864±47***	572±15
Триацилгліцероли	520±27***	512±28***	940±24
Етерифікований холестерол	456±19***	464±29***	328±17
Загальні ліпіди	3024±136***	3808±133***	3652±154

Примітка: * - достовірні різниці у досліджуваних показниках у тварин дослідної групи порівняно до тварин контрольної групи (*-P<0,05; **-P<0,01; ***- P<0,001).

Додавання до раціону морських свинок холестеролу приводить до зменшення радіоактивності загальних ліпідів синтезованих зрізами слизової порожньої кишки при інкубації з вказаними субстратами. При цьому вони використовуються у синтезі загальних ліпідів майже однаковою мірою.

Проведені дослідження показали, що радіоактивність фосфоліпідів, діацилгліцеролів + вільного холестеролу, вільних жирних кислот, триацилгліцеролів і етерифікованого холестеролу, синтезованих зрізами слизової оболонки порожньої кишки морських свинок дослідної групи при інкубації з [6-¹⁴C] глюкозою була менша відповідно у 1,55; 2,03; 2,42; 4,63 і 1,85 разів, ніж у тварин контрольної групи. З цих даних випливає, що найбільше інгібується в тканинах тварин при гіперхолестеринемії синтез триацилгліцеролів, які є резервними ліпідами. Причиною цього є інгібуючий вплив екзогенного холестеролу на синтез жирних кислот у тварин при підвищенні його рівня в раціоні внаслідок зменшення утворення ацетил-СоА в результаті метаболізму глюкози.

З наведених у таблиці даних видно, що інтенсивність синтезу загальних ліпідів у слизовій порожньої кишки морських свинок з гіперхолестеринемією при використанні як попередника ліпідів [2-¹⁴C] лізину була нижча в 2,8 рази, порівняно до інтенсивності їх синтезу в тварин контрольної групи. При цьому інгібуючий вплив гіперхолестеринемії на синтез всіх класів ліпідів зумовлений насамперед її впливом на синтез жирних кислот. Так, радіоактивність фосфоліпідів, діацилгліцеролів + холестеролу, вільних жирних кислот, триацилгліцеролів і етерифікованого холестеролу, синтезованих зрізами слизової порожньої кишки тварин дослідної групи при інкубації з [2-¹⁴C] лізином була менша – у 3,22; 1,20; 2,22; 2,30; 1,96 (P<0,001) разів, ніж у тварин контрольної групи.

Отримані результати узгоджуються з результатами, одержаними в досліді про інгібування синтезу жирних кислот і ліпідів в досліджуваних органах і тканинах білих щурів при гіперхолестеринемії при інкубації їх зрізів з [2-¹⁴C] лізином [2]. Це можна пояснити інгібуючим впливом холестеролу на утворення ацетил-СоА не тільки з пірувату, що утворюється в результаті метаболізму глюкози, а й на утворення ацетил-СоА, що утворюється з амінокислот, в результаті їх катаболізму. Ці дані становлять інтерес у зв'язку з відсутністю в літературі даних про роль механізму зворотного зв'язку в регуляції утворення ацетил-СоА в результаті катаболізму амінокислот. Особливо виражений вплив гіперхолестеринемії на синтез ліпідів, що утворюється в результаті катаболізму [2-¹⁴C] лізину, в слизовій порожньої кишки морських свинок, що зумовлено інтенсивним катаболізмом амінокислот в цій тканині і використанням утворених вуглецевих метаболітів у синтезі жирних кислот [8].

У слизовій оболонці порожньої кишки морських свинок контрольної групи [1-¹⁴C] пальмітинова кислота найбільшою мірою використовувалась у синтезі фосфоліпідів і триацилгліцеролів. Так, радіоактивність фосфоліпідів, синтезованих зрізами слизової оболонки порожньої кишки морських свинок контрольної групи становила відповідно 34,2%, радіоактивність триацилгліцеролів – 27,0% загальної радіоактивності ліпідів. Сумарна радіоактивність діацилгліцеролів і вільного холестеролу, синтезованих зрізами слизової порожньої кишки при цьому становила 11,0%, радіоактивність вільних жирних кислот – 17,5%, радіоактивність етерифікованого холестеролу – 10,1% радіоактивності загальних ліпідів.

З наведених у таблиці даних видно, що різниці в інтенсивності синтезу ліпідів у слизовій оболонці порожньої кишки морських свинок з гіперхоле-

стеринемією при використанні як попередника ліпідів [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти порівняно до інтенсивності їх синтезу в органах і тканинах морських свинок контрольної групи не вірогідні ($P < 0,5$). Ці дані свідчать про відсутність інгібуючого впливу гіперхолестеринемії на синтез ліпідів у слизовій оболонці порожньої кишки морських свинок з екзогенних жирних кислот, що узгоджується з одержаними нами результатами про відсутність інгібуючої дії гіперхолестеринемії на синтез ліпідів з [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти у тканинах білих щурів [3].

Висновки

Інтенсивність синтезу загальних ліпідів і окремих їх класів *in vitro* в морських свинок з гіперхолестеринемією при використанні як попередника ліпідів [6-¹⁴C] глюкози і [2-¹⁴C] лізину була в декілька разів нижча ($P < 0,001$), а при використанні [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти приблизно однакова, як у слизовій порожньої кишки тварин контрольної групи.

1. Бродін С.В., Янович В.Г., Корняк С.Б. Використання амінокислот у синтезі ліпідів у тканинах тварин // Біологія тварин. – 1999. – Т.1, №2. – С.54-61.
2. Покотило О.С. Використання [2-¹⁴C] лізину в синтезі окремих класів ліпідів *in vitro* в тканинах білих щурів при навантаженні холестеролом // Медична хімія. – 2005. – № 4, Т.7. – с. 66-69.
3. Покотило О.С. Використання [1-¹⁴C] пальмітинової кислоти у синтезі окремих класів ліпідів *in vitro* у тканинах білих щурів // Буковинський медичний вісник. – 2005. – Том 9, №2. – С. 203-205.
4. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1975. – 260с.
5. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. – СПб: Питер Ком, 1999. – 512 с.
6. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. Л.: Изд. ЛГУ. – 1982. – 222с.
7. Янович В.Г., Лагодюк П.З. Обмен липидов у животнох в онтогенезе. – М.: Агропромиздат, 1991. – 316 с.
8. Янович В.Г., Сологуб Л.І. Біологічні основи трансформації поживних речовин у жуйних тварин. Львів, „Триада плюс“, 2000. – 384 с.
9. Brousseau M.E., Schaefer E.J., Wolfe M.L., Bloedon L.T., Digenio A.G., Clark R.W., Mancuso J.P., Rader D.J. Effects of an inhibitor of cholesteryl ester transfer protein on HDL cholesterol // N. Engl. J. Med. 2004. – V.350(15): P.1505-15.
10. Carr T.P., Cai G., Lee Ji-Y., Schneider C.L. Cholesterol ester enrichment of plasma low-density lipoproteins in hamsters fed cereal-based diets containing cholesterol // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 2000. – V. 223. – P.96-101.
11. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol.226. – P.497-509.
12. Gatto L., Lyons M., Brown A., Samman S. Trans fatty acids and cholesterol metabolism: mechanistic studies in rats and rabbits fed semipurified diets // Int. J. Food Sci. Nutr. – 2001. – 52, №5. – С. 435-441.
13. Vance D.E., Vance J.E. // Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes. - Elsevier. – 1991. – 611p.

Отримано: 16 січня 2007 р.

Прийнято до друку: 12 лютого 2007 р.