

Вплив лляної олії на вміст продуктів ПОЛ у тканинах щурів різного віку за умов адаптації до тривалих фізичних навантажень плаванням

Кременецький обласний гуманітарно-педагогічний інститут імені Тараса Шевченка (м. Кременець);
Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя (м. Тернопіль)

Постановка наукової проблеми та її значення. Аналіз останніх досліджень. На сьогодні в дієтотерапії та профілактиці різних захворювань, особливо серцево-судинної системи, широко використовуються поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) родини ω -3. У численних клінічних та експериментальних дослідженнях встановлено позитивний ефект застосування цих жирних кислот, який зумовлений їх впливом на ліпідний обмін, імунологічну реактивність і механізми згортання крові. Більшість таких досліджень [3, 4] присвячено вивченню ефективності ПНЖК родини ω -3, які входять до складу риб'ячого жиру. Рослинним жирам у цьому плані приділено менше уваги, хоча традиційною в Україні сировиною для отримання олії, багатой альфа-ліноленовою кислотою (родина ПНЖК ω -3), є насіння льону.

За умов підвищеного фізичного навантаження відбувається інтенсифікація обміну речовин, у тому числі процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Це пояснюється тим, що збільшення вдихуваного кисню призводить до десятикратного збільшення кількості перекисів у печінці [13], еритроцити ж здійснюють транспорт кисню й містять потужний каталізатор ПОЛ-гемоглобін [7]. Між тим більшість тканин у нормі містить незначну кількість ліпідних перекисів [13]. Насамперед процесам ПОЛ піддаються ПНЖК, які, маючи подвійні зв'язки, є високореактивними при взаємодії з активними радикалами. При цьому в організмі міняється жирнокислотний спектр ліпідних мембран клітин і їхніх структур, з одного боку, а з другого – порушується синтез протизапальних ейкозаноїдів, попередником яких є ω -3 ПНЖК, у тому числі альфа-ліноленова кислота.

Завдання статті – дослідити зміни вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів у низці тканин 6- та 18-місячних білих щурів за умов тривалого фізичного навантаження плаванням та при згодовуванні лляної олії як джерела альфа-ліноленової кислоти (родина ПНЖК ω -).

Матеріали та методи дослідження. Досліди проведено на безпородних 6- та 18-місячних самцях білих щурів, яких методом рандомізації розділили на чотири групи кожного вікового періоду по шість тварин у кожній групі: 1-ша – контрольні тварини; 2-га – тварини з тривалим фізичним навантаженням плаванням; 3-тя – тварини, яким вводили лляну олію внутрішньошлунково за допомогою зонда з розрахунку 0,5 мл/кг маси тіла один раз на добу впродовж 14 днів; 4-та – тварини з тривалим фізичним навантаженням плаванням, яким вводили лляну олію внутрішньошлунково за допомогою зонда з розрахунку 0,5 мл/кг маси тіла один раз на добу впродовж 14 днів. Тварини 3- та 4-ї груп піддавалися фізичному навантаженню плаванням із навантаженням 10 % від маси тіла до повного виснаження одноразово на добу впродовж 14 діб [10].

Після закінчення експерименту тварин витримували 12 годин без корму, потім наркотизованих тіопенталом натрію в дозі 6 мг на 100 г ваги, після чого розкривали черевну порожнину, пунктиривали черевну аорту й збирали кров у пробірки з гепарином, центрифугували 15 хв при 2000 об / хв. Готові гемолізати еритроцитів (розведення 1:1) і плазму потім заморожували та зберігали при -18 – 20°C до дослідження. Потім перфузували печінку *in situ* через сполучення порожнистої вени охолодженим фізіологічним розчином. Далі витягували печінку, промивали охолодженим фізіологічним розчином і готували гомогенат. Печінку гомогенізували в скляному гомогенізаторі Поттера-Ельвейма з тефлоновим товчачиком (зазор 0,18-0,2 мм) протягом 90 с при 1200 об./хв.

Уміст дієнових кон'югатів (ДК) в еритроцитах визначали класичним методом у модифікації В. Б. Гаврилова [9], у плазмі крові й печінці – за методом Ю. А. Владимірова та співавт. [7]. Визначення вмісту ТБК-АП в еритроцитах проводили за методом Ernster et al [2] у модифікації для еритроцитів, у плазмі крові та печінки за основу взято класичний метод Mihara et al. [5].

Усі досліди на щурах проводили згідно з Правилами використання лабораторних експериментальних тварин [11]. Одержані експериментальні дані опрацьовували статистично із застосуванням коефіцієнта Стюдента за стандартною методикою [12].

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. У наведених у таблиці 1 даних показано, що при дослідженні продуктів ПОЛ виявлено достовірне збільшення концентрації ДК у плазмі, еритроцитах і печінці у тварин різного віку, які піддавалися тривалим фізичним навантаженням через плавання.

Таблиця 1

Уміст ДК у тканинах білих щурів різного віку при навантаженні плаванням і згодовуванні лляної олії ($M \pm m$, $n=6$)

Вік тварин	Група тварин	Показник		
		ДК плазми, нмоль/мл	ДК еритроцит, нмоль/мл	ДК печінки, нмоль/г
6-місячні	I контрольна	3,03±0,16	11,24±0,27	23,45±0,42
	II дослідна	3,61±0,20*	16,52±0,61*	29,28±0,84*
	III дослідна	2,83±0,11 [#]	10,65±0,48 [#]	22,32±0,65 [#]
	IV дослідна	3,14±0,14 [#]	13,05±0,32 [#]	26,78±0,52 [#]
18-місячні	I контрольна	3,31±0,15	13,43±0,28	26,23±0,41
	II дослідна	4,12±0,26*	18,52±0,62*	32,81±0,62*
	III дослідна	3,18±0,21 [#]	12,62±0,48 [#]	27,85±0,54 [#]
	IV дослідна	3,60±0,18 [#]	14,95±0,32 [#]	29,65±0,61 [#]

Примітка: * - $p < 0,05$ відносно дослідної групи 1-ї контрольної групи

- $P < 0,05$ відносно 2-ї дослідної групи

Так, уміст ДК у плазмі, еритроцитах і печінці 6-місячних білих щурів 2-ї групи був, відповідно, у 1,19; 1,47 та 1,25 раза більшим, порівняно із тваринами 1-ї контрольної групи. При цьому уміст ДК у плазмі, еритроцитах і печінці 18-місячних білих щурів 2-ї групи відносно тварин 1-ї групи був більшим, відповідно, в 1,24; 1,38 та 1,25 раза. Це знову ж пояснюється тим, що при фізичному навантаженні зростає об'єм вдихуваного кисню, що призводить до десятикратного збільшення кількості перекисів насамперед у печінці [13], і, як видно з результатів наших досліджень, у плазмі та еритроцитах.

Потрібно відзначити, у взятих для досліджень тканинах у нормі кількість ліпідних перекисів також має достовірні різниці, що показано і в інших дослідженнях [13]. Так, за даними Нейфаха й Кагана, у печінці, мозку, сальнику щурів виявляється від 15 до 80 нмоль перекисів на 1 г ліпідів або від 1 до 4,5 нмоль перекисів на 1 г тканини [13]. Отже, уміст ДК як первинних продуктів ПОЛ, зростає в ряді: плазма > еритроцити > печінка. Накопичення ДК у клітинах призводить до того, що в мембранах з'являються ділянки («пори»), через які назовні виходить уміст самих клітин та органел, а в еритроцитах зростає перекисний і осмотичний гемоліз.

Таблиця 2

Уміст ТБК-АК у тканинах білих щурів різного віку при навантаженні плаванням і згодовуванні лляної олії ($M \pm m$, $n=6$)

Вік тварин	Група тварин	Показник		
		ТБК-АК плазми, нмоль/мл	ТБК-АК еритроцит, нмоль / мл	ТБК-АК печінки, нмоль/г
6-місячні	I контрольна	6,14±0,24	17,58±0,52	26,17±0,14
	II дослідна	9,18±0,27*	21,33±0,67*	33,64±0,61*
	III дослідна	5,46±0,35 [#]	16,49±0,39 [#]	25,07±0,46 [#]
	IV дослідна	6,96±0,32 [#]	19,16±0,44 [#]	28,14±0,37 [#]
18-місячні	I контрольна	8,27±0,31	19,06±0,41	29,45±0,36
	II дослідна	11,72±0,41*	24,50±0,54*	38,25±0,57*
	III дослідна	8,02±0,28 [#]	20,13±0,38 [#]	28,16±0,42 [#]
	IV дослідна	9,15±0,37 [#]	21,62±0,40 [#]	32,06±0,51 [#]

ДК є нестійкими й перетворюються в ТБК-АП [9]. Так, із даних результатів проведених нами досліджень, які наведені в таблиці 2, видно, що уміст ТБК-АП у плазмі, еритроцитах і печінці 6-місячних білих щурів 2-ї групи був, відповідно, 1,50; 1,21 та в 1,29 раза більшим, порівняно із тваринами з 1-ї контрольної групи. Уміст ТБК-АП у плазмі, еритроцитах і печінці 18-місячних білих щурів 2-ї групи при цьому був, відповідно, в 1,42; 1,29 й 1,30 раза більшим, порівняно із тваринами 1-ї контрольної

групи. Уведення білим щурам різного віку лляної олії приводило до достовірного зниження вмісту ДК і ТБК-АП у плазмі, еритроцитах і печінці на тлі тривалого фізичного навантаження через плавання (4-та група), порівняно із тваринами 2-ї групи. Такий позитивний ефект лляної олії обумовлений наявністю в ній великою кількістю (50-65 %) альфа-ліноленової кислоти, яка, як відомо, володіє антиоксидантною дією. Цей ефект можна пояснити наявністю в цій кислоті подвійних зв'язків, які є пасткою для вільних радикалів. Таким чином, поступаючи в організм, альфа-ліноленова кислота деякою мірою віддає себе в жертву заради виживання клітини [1]. З іншого боку, альфа-ліноленова кислота при дії ферменту дельта-6-десатурази перетворюється в стеаридонову кислоту, а остання шляхом елонгації й десатурації – в ейкозапентаєнову і в подальшому – в докозагексаєнову кислоти, які є попередниками низки біологічно активних речовин – ейкозаноїдів, лейкотриєнів, тромбоксанів [6]. Останні сукупно чинять позитивний ефект на стабілізацію всіх процесів у клітині, у тому числі й опосередковано, зменшуючи інтенсивність процесів ПОЛ.

Водночас потрібно зазначити й вікові особливості змін вмісту продуктів ПОЛ у плазмі, еритроцитах і печінці 6- та 18-місячних білих щурів у нормі, при тривалому фізичному навантаженні плаванням і при згодовуванні лляної олії. Так, у дорослих тварин (6-місячні) вміст ДК і ТБК-АП у плазмі, еритроцитах і печінці був достовірно менший, порівняно зі старими (18-місячними) тваринами. Тривале фізичне навантаження призводило до більшого зростання первинних і вторинних продуктів ПОЛ у плазмі, еритроцитах і печінці старих щурів, порівняно з дорослими. Внутрішньошлункове введення лляної олії як джерела альфаліноленової кислоти білим щурам на тлі тривалого фізичного навантаження призводило до однакового позитивного ефекту – зниження вмісту продуктів ПОЛ у плазмі, еритроцитах і печінці як дорослих, так і старих щурів.

Висновки. В експериментальному дослідженні на 6- та 18-місячних білих щурах встановлено вікові й тканинні особливості вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів у їхній плазмі, еритроцитах і печінці в нормі, при тривалому фізичному навантаженні плаванням та згодовуванні лляної олії.

Установлено, що в дорослих (6-місяців) і старих (18-місячних) щурів вміст дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів у нормі зростає в ряді плазма > еритроцити > печінка.

При тривалому фізичному навантаженні вміст дієнових кон'югатів у дорослих щурів зростає в ряді: плазма > печінка > еритроцити, а в старих – у ряді: печінка > еритроцити > плазма.

Внутрішньошлункове введення лляної олії, як джерела альфа ліноленової кислоти, білим щурам на тлі тривалого фізичного навантаження плаванням призводило до зниження вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів у плазмі, еритроцитах і печінці як дорослих, так і старих щурів.

Перспективи подальших досліджень – на основі експериментальних досліджень на лабораторних тваринах встановити вікові особливості впливу різних джерел поліненасичених жирних кислот родини омега-3 на оксидантно-антиоксидантний статус організму за нормального стану й при фізичних навантаженнях.

Список використаної літератури

1. Aleynik S. I. Increased circulating products of lipid peroxidation in patients with alcoholic liver disease / Aleynik S. I., Leo M. A., Aleynik M. K., Lieber C. S. // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 1998. – Feb, 22 (1). – P. 19–26.
2. Ernster L. Microsomal lipid peroxidation / L. Ernster, K. Nordenbrandt // Methods Enzymol. – 1967. – Vol. 10. – P. 575–576.
3. Fan Y. Y. Importance of Dietary γ -Linolenic Acid in Human Health and Nutrition / Y. Y. Fan, R. S. Chapkin // The Journal of Nutrition. – 1998. – Vol.128. – P. 1411–1414.
4. Frenoux JM. R. Polyunsaturated Fatty Acid How us Blood Pressure and Improves Antioxidant Status in Spontaneously Hypertensive Rats / JM. R. Frenoux, ED Prost, JL Belleville, JL Prost // The Journal of Nutrition – 2001. – Vol.131. – P.39–45.
5. Michara M. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid peroxidation in aging, CCL4 intoxication, and vitamin E deficiency / M. Michara, M. Uchiyama, K. Fukuzava // Biochem. Med. 1980. – Vol. 23 (3). P. 302–311.
6. Nannicini F. Alpha-linolenic acid and cardiovascular diseases Omega-3 fatty acids beyond eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid / F. Nannicini, F. Sofi, G. Avanzi et. al. // Minerva Cardioangiol. – 2006. – V. 4(4). – P. 431–442.
7. Владимиров Ю. А. Перекисне окислення ліпідів у біологічних мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Наука, 1972. – С. 237–238.
8. Камишніков В. С. Довідник з клініко-біохімічної лабораторній діагностиці / В. С. Камишніков. – К. : Білорусь, 2000. – Т. 1–2.

9. Коцюруба А. В. Вікові особливості змін аргіназо-NO-синтазної системи в серці щурів в умовах адаптації до тривалих фізичних навантажень плаванням / А. В. Коцюруба, Ю. П. Корнач, С. О. Таланов, О. В. Базілюк // Фізіол. журн. – 2012. – Т. 58. – № 1. – С. 27–35.
10. Кожем'якін Ю. М. Науково-методичні рекомендації з утримання лабораторних тварин / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : «Авіцена» .– 2002 – 156 с.
11. Ланкин Т. Ф. Биометрия / Т. Ф. Ланкин. – М. : Высш. шк. – 1990. – 352 с.
12. Нейфила Е. А. Біохімія / Е. А. Нейфила, Каган В. Е. – 1969. – С. 34–511.

Анотації

Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в організмі залежить від його фізіологічного стану, типу тканин, віку й екзогенного надходження чинників, які регулюють ці процеси. Велике значення в процесах ПОЛ належить поліненасиченим жирним кислотам, особливо родини омега-3. В експериментальному дослідженні на 6- та 18-місячних білих щурах установлені вікові й тканинні особливості вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів у їхній плазмі, еритроцитах і печінці в нормі, при тривалому фізичному навантаженні плаванням із 10 % навантаженням від маси тіла впродовж 14 діб та при внутрішньошлунковому введенні їм лляної олії в дозі 0,5 мл/кг маси тіла впродовж 14 діб. Установлено, що в дорослих (6-місяців) і старих (18-місячних) щурів уміст дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів у нормі зростає в ряді плазма > еритроцити > печінка. При тривалому фізичному навантаженні вміст дієнових кон'югатів у дорослих щурів зростає в ряді плазма > печінка > еритроцити, а в старих – у ряді печінка > еритроцити > плазма.

Ключові слова: щурі, перекисне окиснення ліпідів, вік, лляна олія, плавання.

Андрей Хмара, Олег Покотило. Влияние льняного масла на содержание продуктов ПОЛ в тканях крыс разного возраста в условиях адаптации к длительным физическим нагрузкам плаванием. *Інтенсивність перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) в організмі залежить від його фізіологічного стану, типу тканин, віку, віку та екзогенного надходження чинників, які регулюють ці процеси. Велике значення в процесах ПОЛ належить поліненасиченим жирним кислотам, особливо з родини омега-3. В експериментальному дослідженні на 6- та 18-місячних білих щурах установлені вікові й тканинні особливості вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів у їхній плазмі, еритроцитах і печінці в нормі, при тривалому фізичному навантаженні плаванням із 10 % навантаженням від маси тіла впродовж 14 діб та при внутрішньошлунковому введенні їм лляної олії в дозі 0,5 мл/кг маси тіла впродовж 14 діб. Установлено, що в дорослих (6-місяців) і старих (18-місячних) щурів уміст дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів у нормі зростає в ряді плазма > еритроцити > печінка. При тривалому фізичному навантаженні вміст дієнових кон'югатів у дорослих щурів зростає в ряді плазма > печінка > еритроцити, а в старих – у ряді печінка > еритроцити > плазма.*

Ключевые слова: крысы, перекисное окисление липидов, возраст, льняное масло, плавание.

Andrey Khmara, Oleg Pokotilo. Influence of Linseed Oil on Keeping Products of Lipid Peroxidation in Tissue of Rats of Different Age Under Conditions of Adaptation to Long Physical Loads by Swimming. *Intensity of lipid peroxidation in an organism depends on its physiological condition, tissues types, age and ecogenic factors that regulate these processes. Great importance in processes of lipid peroxidation is given to polyunsaturated fatty acids especially from the family Omega-3. In an experimental research on white rats aged 6 and 18 months it was established age and tissue peculiarities of keeping of diene conjugates in their plasma, red blood cells and liver in normal condition, after long-period physical loads by swimming with 10% loads from body mass within 14 days and intragastric introduction of linseed oil in dose of 0,5 ml/kg of body mass during 14 days. It was found out that among mature (6 months) and old (18 months) rats keeping of diene conjugates in norm grow in a row: plasma > red blood cells > liver. In case of long-term physical loads keeping of diene conjugates among mature rats grows in a row: plasma > liver > red blood cells, and among old one: liver > red blood cells > plasma.*

Key words: rats, lipid peroxidation, age, linseed oil, swimming.