

Ліпідний та жирнокислотний склад клітин підшлункової залози за умов експериментального ульцерогенезу

А.Г.Вишневська, В.А.Ковальова, Я.О.Руденко, Ю.В.Степанов

Навчально-науковий центр «Інститут біології», науково-дослідна лабораторія фізико-хімічної біології
Київ, Україна

Робота присвячена дослідженню ліпідного та жирнокислотного складу клітин підшлункової залози за умов етанолової та стресової моделей експериментальної виразки шлунка у щурів. Дослідження проводились на білих щурах лінії Вістар. Стресову виразку шлунка створювали методом «соціального імобілізаційного стресу», а етанолову — за методом Окабе. Екстракцію ліпідів проводили за методом Кейтса. Кількісний вміст ліпідних фракцій оцінювали за допомогою денситометра. Аналіз вмісту жирних кислот здійснювали методом газорідинної хроматографії. Встановлено зростання вмісту холестеролу та вільних жирних кислот за умов обох досліджуваних моделей, а також зростання вмісту триацилгліцеролів за умов стресової моделі виразки шлунка. Також встановлено зменшення вмісту фосfolіпідів за умов експериментальної виразки шлунка. У результаті дослідження жирнокислотного складу клітин підшлункової залози за умов експериментального ульцерогенезу було встановлено різнонаправлені зміни. Отримані дані доводять залучення у процес виразкоутворення підшлункової залози та підтверджують необхідність комплексної терапії виразки, що охоплює не тільки слизову оболонку шлунка.

Ключові слова: виразка шлунка, підшлункова залоза, ліпіди, жирні кислоти.

ВСТУП

Однією з найактуальніших проблем медицини є виразкова хвороба шлунка. Це захворювання за поширеністю у світі посідає третє місце,

поступаючись тільки серцево-судинним та онкологічним патологіям. За різними даними вона вражає 1-15% населення [1].

Виразкова хвороба не є лише локальним деструктивним процесом у слизовій оболонці шлунка (СОШ). Це загальне системне захворювання, обумовлене порушенням регулюючих систем [2]. При морфологічному вивченні таких органів, як печінка та підшлункова залоза, виявлені істотні зміни. Так, мікроскопічним дослідженням середовища в біоптатах тканин печінки у хворих з хронічною виразковою хворобою були виявлені виражені патологічні зміни: жирової й білкової дистрофії, гіперхромазії й поліморфізм гепатоцитів. При морфологічному вивченні пунктів підшлункової залози у хворих на виразкову хворобу шлунка виявлялися різні патологічні процеси. Було відзначено надлишкове розростання сполучної тканини в паренхімі залози з ділянками склерозу й атрофії часток, ліпоматоз і круглоклітинна інфільтрація [3].

Розвиток дистрофічних процесів у підшлунковій залозі при виразковій хворобі потребує проведення специфічної терапії.

Із попередніх досліджень відомо, що виразкова хвороба супроводжується активацією процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) не тільки в клітинах СОШ, а й у підшлунковій залозі [4].

При надлишковій появі вільнорадикальних форм кисню прискорене ПОЛ призводить до повного руйнування ненасичених ліпідів, порушення структури і функції білків та інших молекул і, як наслідок, до загибелі клітини [5].

Активация процесу ПОЛ в мембранах, особливо виражена і довготривала, супроводжується появою в їх структурі лізоформ фосfolіпідів (лізофосфатидилхоліну), альдегідів, кетонів, що порушують структуру ліпідного бішару і сприяють підвищенню проникності і текучості мем-

ТАБЛИЦЯ 1

Вміст нейтральних ліпідів у клітинах підшлункової залози щурів при стресовій та етаноловій моделях виразки шлунка (M±m; n=10)

Група тварин	Холестерол, мкг/мг білка	Триацилгліцероли, мкг/мг білка	Жирні кислоти, % відносно контролю
Контроль	48,7±4,2	42,3±3,8	100
Стрессова модель	76,2±6,1*	59,6±4,7*	164,9*
Етанолова модель	94,6±8,5*	39,9±3,2	125,6*

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно контролю.

бран. У відповідь розвивається адаптивна перебудова структури ліпідного бішару мембран.

Метою дослідження було оцінити ліпідний та жирнокислотний склад клітин підшлункової залози за умов етанолової та стресової експериментальних моделей виразки шлунка у щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою 150-200 г. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію. За добу до проведення дослідів щури мали доступ лише до води. Для отримання нейродистрофічних уражень шлунка використовували модель імобілізаційного стресу в модифікації С.Д.Гройсмана та Т.Г.Каревіної [6]. Етанолову модель виразки шлунка створювали за методом Окабе [7]. Клітини підшлункової залози отримували перегіранням її через 4 шари нейлонової сітки у фізіологічний розчин (0,9% NaCl). Екстракцію ліпідів з клітин проводили за методом Кейтса [8]. Аналіз спектра жирних кислот здійснювали методом газової хроматографії.

Статистичну обробку даних проводили загальноприйнятими методами статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Основними структурними компонентами клітинних мембран є фосфоліпіди і хо-

лестерол. Зміни їх кількісного складу при різних патологіях можуть зумовлювати порушення проникності мембран та активності мембранозв'язаних ферментів.

У результаті досліджень у клітинах підшлункової залози щурів за умов стресової моделі виразки шлунка встановлено значне підвищення вмісту холестеролу та вільних жирних кислот. За умов етанолової виразки вміст холестеролу збільшився в 1,9 разу, а за умов стресової – в 1,7 разу. Встановлено підвищення вмісту вільних жирних кислот в 1,6 разу за умов стресової моделі та в 1,3 разу за умов етанолової. Також за умов виразкоутворення, викликаного стресом, підвищився вміст триацилгліцеролів в 1,4 разу відносно контролю (табл. 1).

Ці дані підтверджують залучення нейтральних ліпідів у розвиток патологічних процесів за умов виразкової хвороби.

У клітинах підшлункової залози за умов стресової моделі виразки шлунка у щурів відзначено зменшення вмісту деяких фосфоліпідів: фосфатидилінозитоли (ФІ) – в 1,5 разу, фосфатидилсерину (ФС) – в 2 рази. При цьому встановлено збільшення вмісту лізофосфатидилхоліну (ЛФХ) в 3,5 разу. За умов етанолової моделі відзначено зменшення вмісту ФС – у 2,2 разу, та збільшення вмісту ЛФХ у 2,7 разу (табл. 2).

Важливу роль у стабілізації молекулярної організації та забезпечення нормального функціонування клітин відіграє склад мембранних жирних кислот. Кількість жирних кислот у складі ліпідів визначає функціональні власти-

ТАБЛИЦЯ 2

Вміст фосфоліпідів у клітинах підшлункової залози щурів при стресовій моделі виразки шлунка, мкг/мг білка (M±m; n=10)

Група тварин	ЛФХ	ФІ	ФС	ФЕА
Контроль	2,32±0,2	19,07±1,7	41,32±3,3	15,18±1,4
Стрессова модель	8,12±0,7*	12,87±1,5*	20,23±1,6*	11,05±0,9
Етанолова модель	6,27±0,5*	13,07±1,1	19,07±1,8*	11,37±0,9

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно контролю.

ТАБЛИЦЯ 3

**Жирнокислотний склад загальної фракції ліпідів клітин підшлункової залози щурів
(% від суми всіх кислот) за умов експериментальних виразок (M±m, n=10)**

Символ жирної кислоти	Контроль	Етанол	Стрес
12:0	0,07±0,006	0,09±0,002	0,07±0,001
14:0	0,99±0,03	1,14±0,05*	1,01±0,04
15:0	0,32±0,02	0,28±0,02	0,29±0,03
16:0	17,5±1,42	19,04±1,51	18,62±1,49
16:1	1,46±0,09	1,38±0,11	1,26±0,1*
17:0	0,76±0,05	0,59±0,04*	0,57±0,03*
17:1	0,22±0,02	0,23±0,02	0,19±0,01
18:0	16,45±1,32	14,78±1,18	13,82±1,12*
18:1	12,9±1,03	14,71±1,78	13,63±1,09
18:2	19,76±1,78	21,29±1,71	20,17±1,61
18:3	0,64±0,05	0,58±0,04	0,46±0,04*
20:0	0,86±0,08	0,82±0,07	0,79±0,08
20:4	23,63±2,13	20,57±2,06	24,98±2,25
21:0	0,84±0,06	0,68±0,05*	0,66±0,05*
22:0	0,56±0,04	0,5±0,04	0,45±0,04*
22:2	0,47±0,04	0,45±0,03	0,41±0,04
22:3	0,21±0,01	0,18±0,01*	0,17±0,01*
22:4	1,02±0,08	1,19±0,03*	1,08±0,09
22:5	0,31±0,03	0,33±0,02	0,29±0,02
22:6	1,03±0,08	1,17±0,02	1,08±0,09
Насичені	38,35±3,07	37,92±3,03	36,28±2,9
Ненасичені	61,65±4,93	62,08±4,97	63,72±5,73

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно контролю.

вості клітини та може змінюватись за умов патологій. Жирні кислоти впливають на текучість мембрани і на процеси обміну в клітині. Кількісний та якісний склад жирних кислот у мембранах визначає спосіб пакування мембранних ліпідів, ліпід-ліпідні та білок-ліпідні взаємодії.

Проведені дослідження показали, що за умов етанолової моделі виразки шлунка в клітинах підшлункової залози було встановлено зростання вмісту тетрадеканової (міристинової, С 14:0) та докозатетраєнової (С 22:4) кислот в 1,2 разу, а також зменшення вмісту гептадеканової (маргаринової, С 17:0) кислоти в 1,3 разу, генейкозаної (С 21:0) та докозатрієнової (С 22:3) кислот в 1,2 разу. За умов стресової моделі виразки шлунка встановлено зменшення вмісту гексадеценної (пальмітолеїнової, С 16:1), октадеканової (стеаринової, С 18:0), докозаної (бегенової, С 22:0) та докозатрієнової (С 22:3) кислот в 1,2 разу, гептадеканової (маргаринової, С 17:0) та генейкозаної (С 21:0) кислот в 1,3 разу, а октадекатрієнової (гліноленої, С 18:3) в 1,4 разу.

Зростання вмісту міристинової кислоти (С:14) за умов етанолової моделі виразки

шлунка може бути опосередкованим критерієм інтенсивності запальних реакцій, а також ознакою мобілізації механізмів антиоксидантного захисту [9].

Різонаправлені зміни складу жирної кислоти за умов етанолової та стресової моделей виразки шлунка можуть свідчити про різний механізм розвитку та впливу на організм таких чинників, як стрес та етанол.

ВИСНОВОК

На основі отриманих результатів можна зробити висновок, що за умов виразкової хвороби шлунка відбуваються зміни складу ліпідів та співвідношення жирних кислот у клітинах підшлункової залози. Що свідчить про порушення нормального функціонування плазматичної мембрани.

ЛІТЕРАТУРА

1. Василенко В.Х., Гребенев А.Л., Шептулин А.А. Язвенная болезнь. – М.: Медицина. – 1987. – 285 с.
2. Дегтярева И.И., Харченко Н.В. Язвенная болезнь. – Київ: Здоров'я, 1995. – С. 5-18.

3. Азаров Г.В., Соколов Л.К., Гуленков С.И. Особенности клинико-эндоскопической диагностики в условиях диспансеризации // Рос. журнал гастроэнтерологии. — 1995. — Т.5. — С. 50-53.
4. Вишневська А.Г., Ковальова В.А., Цудзевич Б.О. Вміст продуктів пероксидації ліпідів у клітинах підшлункової залози за умов експериментальної виразки шлунка // Вісник Київського національного університету ім. Тараса Шевченка. Біологія. — 2009. — №54. — С. 16-17.
5. Morozov V.P., Pereygin V.G., Savranski V.M., Shabunovich Y.V. Lipid peroxidation in the blood and tissues of patients with peptic ulcer. // Klin. Med. (Moscow). — 1992. — P. 700-757.
6. Гройсман С.Д., Каревина Т.Г. О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс // Библ. Указ. ВИНТИ. Деп. Рукописи. — 1979. — №12. — 131 с.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К., 2001. — 528 с.
8. Kates M. Techniques of lipidology. Isolation, analysis and identification of lipids. — Amsterdam: Elsevier, 1986. — 464 p.
9. Ільницький Р.І. Жирнокислотний спектр біологічних мембран та гемореологія у хворих на хронічне обструктивне захворювання на тлі лікування фенспіридом // Український пульмонологічний журнал. — 2007. — №4. — 49 с.

А.Г.Вишневская, В.А.Ковалева, Я.А.Руденко, Ю.В.Степанов. Липидный и жирнокислотный состав клеток поджелудочной железы при условии экспериментального ulceration. Киев, Украина.

Ключевые слова: язва желудка, поджелудочная железа, липиды, жирные кислоты.

Работа посвящена исследованию липидного и жирнокислотного состава клеток поджелудочной железы при условии этаноловой и стрессовой моделей экспериментальной язвы желудка у крыс. Исследования проводили на белых крысах линии Вистар. Стрессовую модель создавали методом «социального иммобилизационного стресса», а этаноловую — по методу Окабе. Экстракцию липидов проводили по методу Кейтса. Количественное содержание липидных фракций оценивали при

помощи денситометра. Анализ состава жирных кислот проводили методом газожидкостной хроматографии. Установлено увеличение содержания холестерина и свободных жирных кислот в условиях обеих исследуемых моделей, а также увеличение содержания триацилглицеролов в условиях стрессовой модели язвы желудка. Также установлено уменьшение содержания фосфолипидов в условиях экспериментальной язвы желудка. В результате исследования жирнокислотного состава клеток поджелудочной железы в условиях экспериментального ulceration были установлены разнонаправленные изменения. Полученные данные доказывают вовлечение в процесс язвообразования поджелудочной железы, и подтверждают необходимость комплексной терапии, которая охватывает не только слизистую оболочку желудка.

A.G.Vyshnevskaya, V.A.Kovalyova, Ya.A.Rudenko, Yu.V.Stepanov. Content of lipids and fatty acids in pancreatic cells under experimental ulceration. Kyiv, Ukraine.

Key words: gastric ulcer, pancreas, lipids, fatty acids.

In the submitted work we investigated lipids and fatty acids content of pancreatic cells under ethanol and stress models of experimental ulceration in rats. White Wistar rats were used in the experiments. Research was carried out using ethanol by Okabe method and stressful («social stress») model of experimental ulceration. Lipids were extracted by Kates. Quantitative content of lipids fractions was examined on densitometer. The fatty acids content was evaluated by gas-liquid chromatography. Obtain data show increased cholesterol and free fatty acids contents under stress and ethanol ulceration under both models, and increased level of triacylglycerol under stress ulcer. Also it was determined increased level of phospholipids under experimental ulceration. Fatty acids content of pancreatic cells was changed in different. Obtain data proved that under experimental ulceration damaged not only gastric mucosal cells, but pancreatic cells too. These data confirm necessity of complex therapy, which includes not only gastric mucosa.

Надійшла до редакції 16.08.2011 р.