

## ТРАНСФОРМАЦІЯ ХОЛЕСТЕРОЛУ В ОРГАНАХ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ

Ю. Дябога

*Інститут біології тварин НААН  
вул. В. Стуса, 38, Львів 79034, Україна  
e-mail: inenbiol@mail.lviv.ua*

Гіперхолестеринемію у щурів створювали шляхом щоденного, впродовж 90 днів, згодовування у складі корму хімічно чистого холестеролу в кількості 300 мг/кг живої маси. Експериментальну гіперхолестеринемію корегували додаванням до корму фармакопейного риб'ячого жиру в кількості 1 мл/кг живої маси. Риб'ячий жир також згодовували впродовж зазначеного вище терміну. В результаті проведених досліджень встановлено, що згодовуваний риб'ячий жир прискорює трансформацію холестеролу в жовчні кислоти, тестостерон, 25–ОН–вітамін D<sub>3</sub>, кортизол і альдостерон у відповідних органах щурів за експериментальної гіперхолестеринемії. Тим самим, збільшується концентрація жовчних кислот, тестостерону, 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, кортизолу й альдостерону в крові щурів.

*Ключові слова:* експериментальна гіперхолестеринемія, жовчні кислоти, тестостерон, вітамін D<sub>3</sub>, кортизол, альдостерон, щури.

В останні десятиліття провідне місце займають серцево-судинні захворювання. Відома ціла низка факторів ризику атеросклерозу й ішемічної хвороби серця у людей. Основним все-таки вважається високий рівень холестеролу в плазмі крові [5, 8], хоча дана концепція доповнюється новими положеннями, зокрема про те, що порушується поглинання етерифікованого холестеролу клітинами коронарних судин [6, 10, 12].

Важливу роль при гіперхолестеринемії та метаболічних перетвореннях холестеролу в організмі людини і тварин відіграють поліненасичені жирні кислоти родин ω-6 і, особливо, ω-3, які містяться в риб'ячому жирі та проявляють антихолестериногенну і антиліпогенну дію, що сприяє зменшенню концентрації холестеролу і триацилгліцеролів у плазмі крові [11].

Відомо, що холестерол є попередником цілого ряду похідних, які мають у своїй основі циклопентанпергідрофенантренове кільце, зокрема жовчних кислот, вітаміну D, статевих гормонів і гормонів наднирників [1, 17, 18]. Для цього, в першу чергу, використовується етерифікований холестерол. Однак невідомим залишається питання зміни концентрації наведених вище похідних у крові тварин за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції згодовуванням риб'ячим жиром.

З огляду на це метою нашої роботи було дослідження змін концентрації жовчних кислот, 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, тестостерону, альдостерону й кортизолу в крові щурів за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції згодовуванням риб'ячим жиром.

### Матеріали та методи

Дослідження проведено в умовах віварію на статевозрілих самцях білих щурів живою масою 180–200 г. Було сформовано три групи щурів по три тварини, аналогів за віком і живою масою. Щури контрольної групи отримували стандартний розсипний комбікорм, а I і II дослідної – такий самий комбікорм, але з додаванням відповідно хімічно чистого холестеролу ("Merck", Німеччина) в кількості 300 мг/кг живої маси на добу для викли-

кання гіперхолестеринемії та суміші цього ж холестеролу з фармакопейним препаратом “Риб’ячий жир” (“Галичфарм”, м. Львів), який додавали в кількості 1,0 мл/кг живої маси. Перед додаванням кристалів холестеролу до комбікорму їх ретельно розтирали до борошноподібного стану у фарфоровій ступці. Після цього холестерол і риб’ячий жир додавали до комбікорму та добре перемішували. Дослід тривав 90 днів. У кінці досліду провели забій щурів шляхом декапітації під ефірним наркозом. Отримані від тварин зразки сироватки та плазми крові використали для лабораторних досліджень.

Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням вимог “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986) і “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Концентрацію жовчних кислот у сироватці крові визначали методом хроматографії на папері [2], а 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, тестостерону, альдостерону та кортизолу в плазмі крові – загальноприйнятим імуноферментним методом.

Отриманий цифровий матеріал оброблено методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента [7]. Розраховували середні арифметичні значення та похибки середніх арифметичних. Зміни вважалися вірогідними при  $p < 0,05$ . Для розрахунків використано спеціальну комп’ютерну програму Origin 6.0, Excel (Microsoft, USA).

#### Результати і їхнє обговорення

Констатовано, що за умов експериментальної гіперхолестеринемії є тенденція до збільшення концентрації таурохолевої, глікохолевої, глікодезоксихолевої, холевої та дезоксихолевої кислот у сироватці крові щурів. З даних, наведених у таблиці, видно, що концентрація вказаних жовчних кислот у сироватці крові щурів збільшується на 25,7–152,2% ( $p < 0,05–0,01$ ) за експериментальної гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риб’ячим жиром, порівняно з тваринами, які споживали основний раціон (комбікорм).

Відзначено, що у плазмі крові щурів за експериментальної гіперхолестеринемії є також тенденція до зростання вмісту тестостерону. Вірогідне зростання вмісту тестостерону в плазмі крові щурів на 38,9% ( $p < 0,05$ ), порівняно зі щурами контрольної групи, існує за умов експериментальної гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риб’ячим жиром.

Крім того, встановлено, що в плазмі крові щурів за експериментальної гіперхолестеринемії, порівняно з тваринами контрольної групи, підвищується на 57,6% ( $p < 0,01$ ) рівень 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, на 10,7% ( $p < 0,01$ ) – альдостерону та на 44,1% ( $p < 0,05$ ) – кортизолу. Більше виражене зростання рівня названих показників відзначено у щурів за умов експериментальної гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риб’ячим жиром (відповідно на 65,4%,  $p < 0,01$ ; на 17,8%,  $p < 0,05$ ; на 49,8%,  $p < 0,01$ ). Причому підвищення вмісту 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, альдостерону та кортизолу в плазмі крові щурів за умов експериментальної гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риб’ячим жиром (II дослідна група), проходить дещо інтенсивніше, ніж у плазмі крові щурів за умов експериментальної гіперхолестеринемії (відповідно на 4,9%,  $p < 0,05$ ; на 6,4%,  $p < 0,01$ ; на 3,9%,  $p < 0,05$ ) – I дослідна група.

У попередніх дослідженнях нами було показано, що за експериментальної гіперхолестеринемії в крові та тканинах щурів зростає вміст етерифікованого переважно з насиченими та мононенасиченими жирними кислотами холестеролу [3, 4]. За експериментальної гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риб’ячим жиром, у крові та тканинах щурів підвищується рівень етерифікованого холестеролу, головним чином, з поліненасиченими жирними кислотами.

Концентрація жовчних кислот, тестостерону, 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, альдостерону та кортизолу в крові щурів за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції, (M±m, n=3)

Досліджувані показники та одиниці виміру	Групи тварин		
	Контрольна (комбікорм)	I дослідна (комбікорм+холестерол)	II дослідна (комбікорм+холестерол+риб'ячий жир)
Жовчні кислоти в сироватці крові			
Таурохолева, г <sup>-3</sup> /л	0,42±0,023	0,45±0,026	0,54±0,029*
Глікохолева, г <sup>-3</sup> /л	0,57±0,029	0,65±0,035	0,72±0,037*
Глікодезоксихолева, г <sup>-3</sup> /л	0,23±0,011	0,43±0,113	0,58±0,018**
Холева, г <sup>-3</sup> /л	0,20±0,052	0,28±0,020	0,37±0,023*
Дезоксихолева, г <sup>-3</sup> /л	0,74±0,037	0,83±0,037	0,93±0,049*
Статеві гормони в плазмі крові			
Тестостерон, нмоль/л	6,45±1,045	8,77±0,168	8,96±0,185*
Жиророзчинні вітаміни в плазмі крові			
25–ОН – вітамін D <sub>3</sub> , нг/мл	3,47±0,254	5,47±0,323**	5,74±0,292**
Кортикостероїди в плазмі крові			
Альдостерон, пг/мл	997,1±12,49	1104,0±17,83**	1175,0±58,01*
Кортизол, нмоль/л	54,6±3,396	78,7±4,302*	81,8±3,389**

**Примітка.** \* – різниця порівняно з контролем вірогідна з p<0,05; \*\* – p<0,01.

Переважаюча етерифікація холестеролу крові та тканин щурів насиченими і мононенасиченими жирними кислотами за гіперхолестеринемії може вказувати на підвищення його кристалічності й погіршення міжтканинного транспорту. Холестерол із підвищеною, за рахунок наведених вище жирних кислот, кристалічністю легко відкладається на стінках кровоносних судин [9, 13, 14]. Навпаки, переважаюча етерифікація холестеролу крові та тканин щурів поліненасиченими жирними кислотами за гіперхолестеринемії, корегованої згодовуванням риба́чим жиром, може вказувати на зменшення його кристалічності й покращення міжтканинного транспорту [15, 16]. Холестерол зі зниженою, за рахунок наведених вище жирних кислот, кристалічністю легко транспортується кров'ю до тканин. У печінці, шкірі, наднирниках і статевих залозах він частково трансформується відповідно до жовчних кислот, вітаміну D<sub>3</sub>, кортикостероїдів і статевих гормонів [1, 17, 18].

Згодовуваний риба́чий жир прискорює трансформацію холестеролу в жовчні кислоти, тестостерон, 25–ОН–вітамін D<sub>3</sub>, кортизол і альдостерон в органах щурів за умов експериментальної гіперхолестеринемії, внаслідок чого збільшується концентрація жовчних кислот, тестостерону, 25–ОН–вітаміну D<sub>3</sub>, кортизолу й альдостерону в крові.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бауман В. К. Биохимия и физиология витамина D<sub>3</sub>. Рига: Зинатне, 1989. 480 с.
2. Громашевская Л. Л., Неборачко В. С., Счастливцев В. Н. Флюорометрическое определение желчных кислот в сыворотке крови с использованием хроматографии // Лабораторное дело. 1971. № 4. С. 195–202.
3. Гураль А. Л., Співак М. Я. Практичний посібник з імуноферментного аналізу // НАН України. Технологічний парк ІМК. Наук.-вироб. компанія “Діапроф-Мед”. 2005. 63 с.
4. Дябога Ю. З. Ліпідний склад плазми крові, печінки та скелетних м'язів щурів за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції риба́чим жиром // Біологія тварин. 2011. Т. 13. № 1–2. С. 91–98.
5. Дябога Ю. З. Вплив різного вмісту та жирнокислотного складу етерифікованого холестеролу в організмі щурів на концентрацію жовчних кислот у їхній крові // Наук. вісн. Волин. ун-ту. Сер. біол. науки. 2012. № 2 (227). С. 50–55.

6. Журавлева М. В. Коррекция нарушенных липидного обмена // *Consilium medicum*. 2010. № 5. С. 113–118.
7. Климов А. Н., Никульчева Н. Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. СПб.: Питер Пресс, 1995. 304 с.
8. Лопач С. Н., Губенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excel. К.: Мартон, 2001. 410 с.
9. Мітченко О. І., Лутай М. І. Дисліпідемії: Діагностика, профілактика та лікування // Міжнар. ендокринолог. журнал. 2011. № 6 (38). С. 115–129.
10. Мороз О. Ф., Весельський С. П., Леценко Т. П., Нурищенко Н. Є. Зміни співвідношення ліпідних компонентів жовчі щурів при застосуванні нейропептиду бомбезину // Укр. біохім. журнал. 2009. Т. 81. № 1. С. 52–58.
11. Перова Н. В., Метельская В. А. Коррекция нарушенных липопротеидного спектра крови как фактора развития атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний // *Здравоохранение*. 2011. № 1. С. 31–46.
12. Покотило О. С. Вплив поліненасичених жирних кислот родини  $\omega$ -3 і  $\omega$ -6 на ліпогенез і холестериногенез в організмі морських свинок і білих щурів за нормальних умов і при холестериновому навантаженні: дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.04. Львів, 2008. 263 с.
13. Савицький І. В. Біологічна хімія. К.: Вища школа, 1973. 486 с.
14. Талаєва Т. В., Амброскіна В. В., Крячок Т. А., Братусь В. В. Системний характер порушень обміну ліпопротеїдів крові як основа патогенезу атеросклерозу // Журнал АМН України. 2007. Т. 13. № 1. С. 45–64.
15. Cullis P. R., Fenske D. B., Hope M. J. Physical properties and functional roles of lipids in membranes. In: *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Amsterdam: Elsevier Science B. Vol. 1996. P. 1–32.
16. Faidley T. D., Luchman C. M., Galloway S. T. et al. Dietary beef tallow alters the fatty acid profiles of bile and liver membranes, but not secretion of cholesterol in bile // *Nutr. Res*. 1999. Vol. 19. Is. 7. P. 1027–1039.
17. Fernandez M. L., West K. L. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids // *J. Nutr*. 2005. Vol. 135. P. 2075–2078.
18. Geelen M. J. H., Schoots W. J., Bijleveld C., Beynen A. C. Dietary medium-chain fatty acid raise and (n-3) polyunsaturated fatty acids lower hepatic triacylglycerol synthesis in rats // *J. Nutr*. 1995. Vol. 125. P. 2449–2456.
19. Holick M. F. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets // *J. Clin. Invest*. Vol. 116. N 8. P. 2062–2072.
20. Jolley C. D., Dietschy J. M., Turley S. D. Induction of bile acid synthesis by cholesterol and cholestyramine feeding is unimpaired mice deficient in apolipoprotein AI // *Hepatology*. 2003. Vol. 32. P. 1309–1316.
21. Kamisako T., Ogawa H. Effect of cholesterol, cholic acid and cholestyramine administration on the intestinal mRNA expression related to cholesterol and bile acid metabolism in the rat // *Gastroenterol. and Hepatol*. 2007. Vol. 22. N 11. P. 1832–1837.

Стаття: надійшла до редакції 06.02.13

доопрацьована 16.05.13

прийнята до друку 17.05.13

## TRANSFORMATION OF CHOLESTEROL IN RATS' ORGANS WITH EXPERIMENTAL HYPERCHOLESTERINEMIA AND ITS CORRECTION

Yu. Dlyaboha

*Institute of Animals Biology, NAS of Ukraine  
38, V. Stus St., Lviv 79034, Ukraine  
e-mail: inenbiol@mail.lviv.ua*

*Hypercholesterinemia* in rats created daily, for 90 days, feeding in the food chemically pure cholesterol in quantities of 300 mg/kg body weight. The experimental hypercholesterinemia corrected feeding pharmacopoeial fish oil in quantities of 1 ml/kg body weight. Fish oil is also fed during the above period. As a result of studies found, that fed fish oil accelerates cholesterol transformation into bile acids, testosterone, 25-OH-vitamin D<sub>3</sub>, cortisol and aldosterone in rats' organs with experimental hypercholesterinemia. Thus, the concentrations of bile acids, testosterone, 25-OH-vitamin D<sub>3</sub>, cortisol and aldosterone in rats' blood were increased.

*Keywords:* experimental hypercholesterinemia, bile acids, testosterone, vitamine D<sub>3</sub>, cortisol, aldosterone, rats.

## ТРАНСФОРМАЦИЯ ХОЛЕСТЕРОЛА В ОРГАНАХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ И ЕЕ КОРЕКЦИИ

Ю. Длябога

*Институт биологии животных НААН  
ул. В. Стуса 38, Львов 79034, Украина  
e-mail: inenbiol@mail.lviv.ua*

Гиперхолестеринемия у крыс создавали путем ежедневного, в течение 90 дней, скармливания в составе корма химически чистого холестерина в количестве 300 мг/кг живой массы. Экспериментальную гиперхолестеринемия коррегировали добавлением к корму фармакопейного рыбьего жира в количестве 1 мл/кг живой массы. Рыбий жир также скармливали в течение указанного выше срока. В результате проведенных исследований установлено, что скармливаемый рыбий жир ускоряет трансформацию холестерина в желчные кислоты, тестостерон, 25-OH-витамин D<sub>3</sub>, кортизол и альдостерон в органах крыс при экспериментальной гиперхолестеринемии. Тем самым увеличивается концентрация желчных кислот, тестостерона, 25-OH-витамина D<sub>3</sub>, кортизола и альдостерона в крови крыс.

Ключевые слова: экспериментальная гиперхолестеринемия, желчные кислоты, тестостерон, витамин D<sub>3</sub>, кортизол, альдостерон, крысы.