
doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2017.03.085>

УДК 615.322: 612.36

**Г.М. Кузнєцова¹, Є.О. Деніс¹,
Т.З. Москалець², В.К. Рибальченко¹**

¹ Київський національний університет ім. Тараса Шевченка

² Білоцерківський національний аграрний університет

E-mail: biophys@gmail.com

Ефекти олій розторопші та льону холодного і гарячого пресування на стан товстої кишки щурів за умов гострого коліту

Представлено членом-кореспондентом НАН України М.Ю. Євтушенком

Досліджено ефекти олій з насіння льону та розторопші плямистої, отриманих способом холодного (43–45 °С) та гарячого (до 95 °С) пресування, на розвиток гострого коліту у щурів при споживанні з кормом. Встановлено, що ляна (як холодного, так і гарячого пресування) та олія розторопші гарячого пресування значною мірою запобігають розвитку запальних, деструктивних та дистрофічних змін слизової оболонки товстої кишки. Ці властивості олій реалізуються частково завдяки наявності в їх складі ненасичених жирних кислот, зокрема $\omega 3$, у тому числі міnorних.

Ключові слова: ляна олія, олія розторопші, гострий коліт.

Виразковий коліт є поширеним невизначеної етіології захворюванням шлунково-кишкового тракту (50–200 випадків на 100 000 населення в Європі [1]). Основним принципом корекції даної патології є зменшення запалення та пригнічення аномальної проліферації клітин при регенерації слизової оболонки. Для терапії виразкового коліту, залежно від тяжкості захворювання, традиційно використовують протизапальні засоби, зокрема препарати на основі 5-аміносаліцилової кислоти, кортикостероїди, імунодепресанти [2]. Проте традиційні засоби мають низку недоліків, а саме побічні ефекти у вигляді: ерозій, крововиливів та порушення функцій шлунково-кишкового тракту, гепатитів, панкреатитів, пригнічення кровотворення, зростання ризику інфекцій, гормональних розладів, алергічних реакцій. При цьому ризик та тяжкість побічних ефектів зростають при тривалому прийомі препаратів. У зв'язку з цим важливим елементом стратегії сучасної медицини, спрямованої на зменшення негативних наслідків виразкового коліту та його лікування для організму, є профілактика цієї патології, зокрема за допомогою харчових добавок природного походження [3]. Перспективними в цьому плані є олії з насіння льону та розторопші плямистої, які застосовуються в народній медицині, в тому числі при запальних захворюваннях органів травлення. Так, насіння льону багате на $\omega 3$ поліненасичену α -ліноленову жирну кислоту,

© Г.М. Кузнєцова, Є.О. Деніс, Т.З. Москалець, В.К. Рибальченко, 2017

ISSN 1025-6415. Допов. Нац. акад. наук Укр. 2017. № 3

85

що має широкий спектр біологічної активності [4]. Насіння розторопші плямистої містить силібінін — флавонолігнан з визнаними протизапальними та гепатопротекторними властивостями [5]. Крім того, за результатами порівняння біологічної активності олій, отриманих різними способами пресування, перевага здебільшого належить оліям, отриманим холодним способом пресування [6]. Тому метою дослідження було оцінити ефекти олій з насіння льону та розторопші плямистої, отриманих різними способами пресування, на розвиток гострого коліту у щурів.

Піддослідних тварин утримували на раціонах, збагачених рослинними оліями (10 % раціону), протягом 18 діб. Використовували олії з насіння льону (*Linum usitatissimum*) та розторопші плямистої (*Sylibum marianum*), отримані способами холодного (43–45 °С) та гарячого (до 95 °С) пресування, надані Білоцерківським національним аграрним університетом. Жирнокислотний склад олій оцінювали хроматографічно. Було сформовано 12 груп, які утримувалися на таких раціонах: 1, 7 — стандартному; 2, 8 — збагаченому рафінованою соняшниковою олією (СО); 3, 9 — збагаченому лляною олією холодного (ЛХ) і 4, 10 — гарячого (ЛГ) пресування; 5, 11 — збагаченому олією розторопші холодного (РХ) і 6, 12 — гарячого (РГ) пресування. Гострий коліт моделювали шляхом ректального введення 0,5 мл 10 % оцтової кислоти [7] на 15-ту добу експерименту у тварин груп 7–12. Щури груп 1–6 отримували фізіологічний розчин.

Щурів виводили з експерименту шляхом інгаляції CO₂ з подальшою цервікальною дислокацією. Оцінювали: стан внутрішньої поверхні товстої кишки за 10-бальною шкалою [8], стан слизової оболонки ободової кишки на гістологічних оглядових препаратах за 11-бальною шкалою [9] та за морфометричними показниками.

При аналізі жирнокислотного складу досліджуваних олій перед та наприкінці досліду, тобто з інтервалом у 18 діб (таблиця), було встановлено, що склад олій гарячого пресування здебільшого лишається стабільним, тоді як у оліях холодного пресування зменшується від-

Жирнокислотний склад олій з насіння льону та розторопші плямистої, отриманих методами холодного чи гарячого пресування, % від загальної маси проби

| Жирні кислоти | РХ | | РГ | | ЛХ | | ЛГ | |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | до | після | до | після | до | після | до | після |
| Насичені | 14,3 | 14,7 | 12,7 | 12,7 | 9,04 | 13,44 | 11,9 | 11,08 |
| Ненасичені | 84,6 | 79,05 | 85,9 | 86,1 | 87,26 | 83,87 | 85,51 | 88,17 |
| С 14:1 | 0,07 | 0,58 | 0,05 | 0,12 | 0,11 | 1,79 | 0,07 | 0,11 |
| С 15:1 | 0,02 | 0,09 | 0,02 | 0,02 | 0,01 | 0,38 | 0,02 | 0,02 |
| С 16:1 | 0,15 | 0,15 | 0,12 | 0,11 | 0,17 | 0,76 | 0,19 | 0,18 |
| С 17:1 | 0,04 | 0,01 | 0,04 | 0,04 | 0,06 | 0,09 | 0,04 | 0,04 |
| С 18:1 | 24,73 | 24,8 | 26,96 | 27,1 | 22,5 | 21,28 | 19,93 | 21,14 |
| С 18:2n6 | 56,58 | 50,83 | 55,08 | 55,83 | 13,09 | 15,22 | 13,03 | 13,27 |
| С 18:3n3 | 0,24 | 1,25 | 0,38 | 0,43 | 51,02 | 43,9 | 51,99 | 53,2 |
| С 18:3n6 | 0,04 | — | 0,04 | 0,06 | — | — | — | — |
| С 20:1 | 0,92 | 0,48 | 1,09 | 0,98 | 0,15 | 0,21 | 0,13 | 0,17 |
| С 20:3n3 | 1,8 | 0,84 | 2,11 | 1,39 | 0,11 | 0,22 | 0,11 | 0,06 |

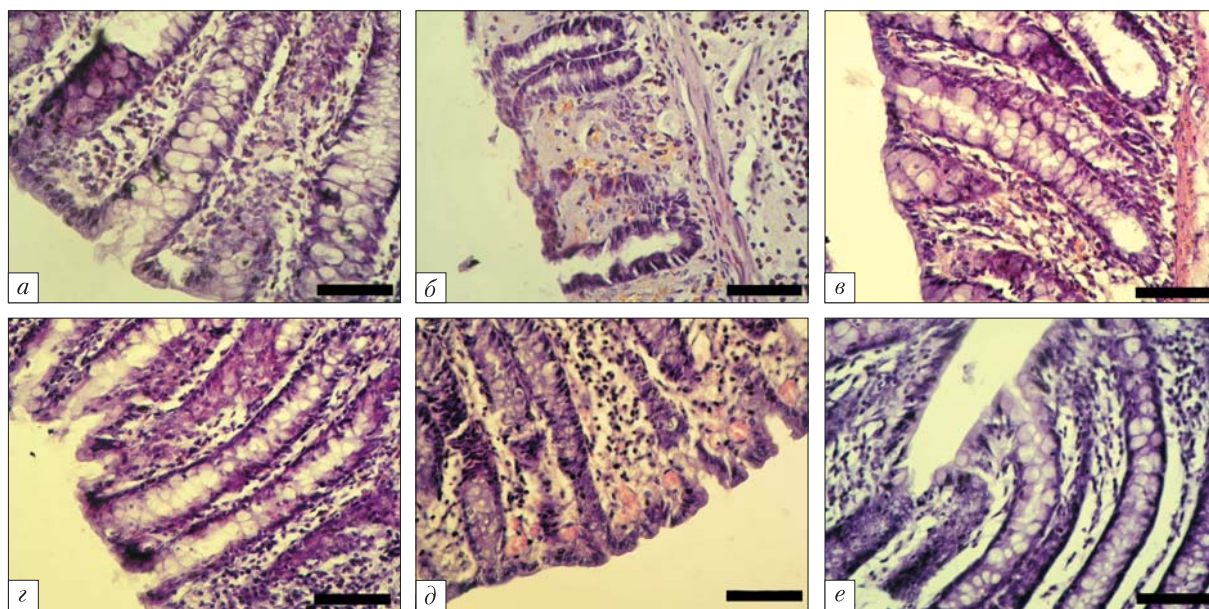


Рис. 1. Мікрофотографії слизової оболонки низхідної ободової кишки щурів, що утримувалися на раціонах, збагачених рослинними оліями, за умов індукції гострого коліту; *a* – контроль; *b* – коліт; *в* – коліт + ЛХ; *г* – коліт + ЛГ; *д* – коліт + РХ; *е* – коліт + РГ. Зб. 400. Шкала 40 мкм. Забарвлення гематоксилін-еозин-оранж

носна кількість ненасичених жирних кислот (ЖК), переважно за рахунок С 18:2n6 (олія розторопші) або С 18:3n3 (олія льону). При зменшенні кількості поліненасичених ЖК спостерігаємо зростання відносної кількості ненасичених ЖК з меншою кількістю подвійних зв'язків, тобто, імовірно, має місце їх часткове взаємоперетворення і/чи окиснення.

У здорових тварин, що утримувалися на раціонах, збагачених дослідними оліями, порівняно з контролем (стандартний раціон) макро- і мікроскопічних змін слизової оболонки товстої кишки не спостерігалось. У тварин з індукованим колітом товста кишка була набряклою, гіперемованою, її внутрішня поверхня була кровоточивою, мала виразки та нашарування некротичних мас. Крипти слизової оболонки часто були зруйнованими і не містили келихоподібних клітин, а сама вона – інфільтрована лейкоцитами та еритроцитами по всій товщині, зі сплосненим чи десквамованим поверхневим епітелієм на збережених ділянках (рис. 1). М'язова оболонка була значно потовщена, що може свідчити про спазм. Сумарна оцінка ураження товстої кишки в балах наведена на рис. 2. У тварин цієї групи у збережених ділянках слизової оболонки також спостерігалось збільшення площі перетину ядер колоноцитів (на 29 %), що може свідчити про інтенсифікацію їх функції як компенсаторно-приспосувальну реакцію слизової на її пошкодження (рис. 3). Вказані некротично-дегенеративні та запальні процеси є характерними для гострого коліту і, отже, свідчать про адекватність використаної моделі.

У тварин груп Коліт+СО і Коліт+РХ макро- і мікроскопічні зміни слизової оболонки товстої кишки були подібними до таких у “нелікованих” тварин (див. рис. 1). У збережених ділянках слизової оболонки кишки щурів цих груп спостерігали зменшення площі перетину келихоподібних клітин (на 62 і 26 % відповідно) (див. рис. 3), що може свідчити про їх

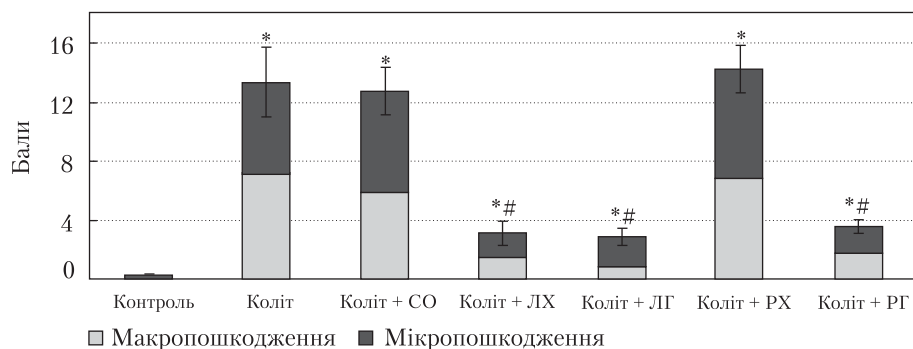


Рис. 2. Сумарне ураження товстої кишки щурів, що утримувалися на раціонах, збагачених рослинними оліями, за умов індукції гострого коліту; * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, # – $p \leq 0,05$ порівняно з групою Коліт

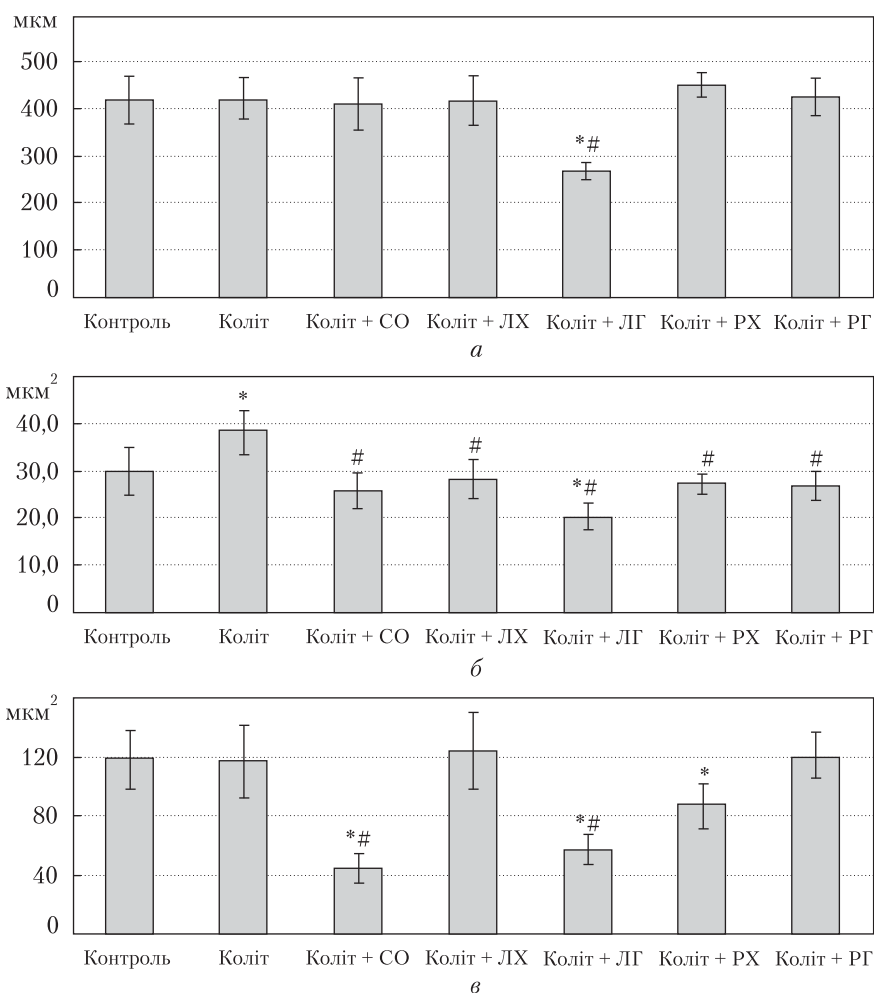


Рис. 3. Товщина слизової оболонки (а), площі перетину ядер колоноцитів (б) та келихоподібних клітин (в) низхідної ободової кишки щурів, що утримувалися на раціонах, збагачених рослинними оліями, за умов індукції гострого коліту; * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, # – $p \leq 0,05$ порівняно з групою Коліт

незрілість. Так, у дослідженнях [10] показано, що ненасичені ЖК класу $\omega 6$, на які багаті соняшникова олія та олія розторопші, при споживанні з кормом пригнічують експресію НАТН1 – фактору транскрипції, який відіграє ключову роль у диференціації келихоподібних клітин, і спричиняють зменшення їх кількості та продукції ними слизу. Тобто соняшникова олія та олія з насіння розторопші холодного пресування не запобігають розвитку гострого коліту.

Навпаки, за умов споживання піддослідними тваринами раціонів, збагачених олією розторопші гарячого пресування та лляною (незалежно від способу отримання), розвиток коліту значно пригнічувався: у тварин цих груп слизова оболонка була лише дещо набряклою та гіперемованою, інколи траплялися невеличкі виразки. Некротичні ділянки не зустрічалися взагалі. Судини слизової оболонки були дещо розширеними, часом спостерігалися діapedезні крововиливи під покривним епітелієм, які, проте, не поширювалися глибше. Також мала місце незначна інфільтрація лейкоцитами власної пластинки та підслизової основи і їх набряк. Епітеліальна вистілка порожнини кишки здебільшого була неушкодженою (див. рис. 1). Вказані зміни є ознаками незначного запального ураження товстої кишки, кількісна оцінка якого наведена на рис. 2.

У тварин груп Коліт+ЛХ та Коліт+РГ товщина слизової оболонки та площі перетину ядер колоноцитів і келихоподібних клітин вірогідно не відрізнялися від контролю, тоді як у групи Коліт+ЛГ ці показники зменшувалися на 35, 32 і 52 % відповідно (див. рис. 3), що може свідчити про пригнічення функціональної активності слизової оболонки. Тобто олії з насіння розторопші гарячого пресування та лляна запобігають розвитку гострого коліту і сприяють нормалізації морфофункціонального стану слизової оболонки товстої кишки, при цьому найефективнішими є олії з насіння льону холодного пресування та розторопші гарячого пресування.

За результатами аналізу зв'язку між жирнокислотним складом досліджуваних олій і їх протизапальними властивостями встановлено, що загальний ступінь ураження товстої кишки прямо корелював з вмістом насичених ЖК ($r = 0,71$) і обернено – з вмістом ненасичених ($r = -0,83$). При цьому з сумарною кількістю мононенасичених ЖК ступінь ураження кишки не корелював, хоча з вмістом гептадеценової (С 17:1) ЖК мав місце обернений корелятивний зв'язок ($r = -0,65$). Із сумарною кількістю поліненасичених ЖК ступінь ураження кишки корелював обернено ($r = -0,69$), при цьому основний внесок у цей зв'язок здійснювали $\omega 3$ поліненасичені ЖК ($r = -0,53$), тоді як кореляція з вмістом $\omega 6$ поліненасичених ЖК була статистично невірогідною.

Отримані дані свідчать про важливу роль саме $\omega 3$ поліненасичених ЖК олій льону і розторопші (у таблиці – С 18:3n3 та С 20:3n3) у корекції запального процесу: відомо, що α -ліноленова ЖК (С 18:3n3) є конкурентним антагоністом арахідонової кислоти в клітинних мембранах на циклооксигеназно-ліпооксигеназному рівні, що проявляється модифікацією спектра простагландинів та лейкотрієнів у бік протизапальних цитокінів [4]. Оскільки ця ЖК є домінуючою в складі лляної олії, отриманої обома способами пресування, то, імовірно, саме вона зумовлює протизапальні властивості цієї олії. В олії з насіння розторопші, навпаки, вміст цієї ЖК був незначним, більш того, її кількість була меншою майже в 3 рази в олії гарячого пресування, що мала протекторні властивості. Тому навряд чи відмінності в протизапальних ефектах олії розторопші різних способів пресування пов'язані з цією ЖК.

Натомість вміст 11,14,17-ейкозатрієнової ЖК (С 20:3n3) був вищий в олії розторопші гарячого пресування порівняно з холодним більш ніж у 1,5 раза та у лляній олії холодного пресування порівняно з гарячим — більш ніж у 3,5 раза. Тобто можна припустити, що саме ця мінорна ЖК відіграє певну роль у реалізації протизапальних та протекторних властивостей досліджуваних олій. Це підтверджується тим, що дана кислота здатна пригнічувати NF-κВ-опосередковану експресію індукцибельної NO-синтази та синтез NO [11].

Таким чином, встановлено, що споживання з кормом олій лляної (як холодного, так і гарячого пресування) та розторопші гарячого пресування значною мірою запобігає розвитку запальних, деструктивних та дистрофічних змін слизової оболонки товстої кишки при індукції гострого коліту. Ці властивості олій, принаймні частково, реалізуються завдяки наявності в їх складі ω3 поліненасичених жирних кислот, зокрема мінорних (кількість яких не перевищує 1–2 %).

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Lakatos P.L. Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases: up or down? *World J. Gastroenterol.* 2006. **12**, № 38. P. 6102–6108.
2. Feuerstein J.D., Cheifetz A.S. Ulcerative colitis: epidemiology, diagnosis, and management. *Mayo Clin. Proc.* 2014. **89**, № 11. P. 1553–1563.
3. Amani S.A., Reham M.M., Gamal A.S. Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. *J. Saudi Chem. Soc.* 2013. **17**. P. 101–124.
4. Calder P.C. Omega-3 Fatty Acids and Inflammatory Processes. *Nutrients.* 2010. **2**. P. 355–374.
5. Verma N., Paul J. Silibinin ameliorates Dextran Sodium Salt induced colitis in mice and prevents overexpression of inflammatory genes in lipopolysaccharide activated human macrophages. *Inflammation and cell signaling.* 2014. **1**. P. e117.
6. Курамбаев Ш.Р., Ачилова С.С., Байжанов Н.И., Каримова Д.З., Собирова Р.Х. Получение дынного масла из семян дыни “Бишак Хорезмский” с использованием метода холодного отжима. *Молодой ученый.* 2016. **112**, № 8. С. 253–254.
7. Fitzpatrick L.R., Bostwick J.S., Renzetti M. Antiinflammatory effects of various drugs on acetic acid induced colitis in the rat. *Agents Actions.* 1990. **30**. P. P393–P403.
8. Sehirli A., Tatlydede E., Yuksel M., Erzik C., Cetinel S., Yegen B.C., Sener G. Protective Effects of Alpha-Lipoic Acid Against Oxidative Injury in TNBS-induced Colitis. *Erciyes Med. J.* 2009. **31**, № 1. P. 15–26.
9. Appleyard C., Wallace J. Reactivation of hapten-induced colitis and its prevention by anti-inflammatory drugs. *Am. J. Physiol.* 1995. **269**. P. G119–G125.
10. Benoit B., Bruno J., Kayal F., Estienne M., Debard C., Ducroc R., Plaisancie P. Saturated and Unsaturated Fatty Acids Differently Modulate Colonic Goblet Cells In Vitro and in Rat Pups. *J. Nutr.* 2015. **145**. P. 1754–1762.
11. Chen S.J., Chuang L.T., Chen S.N. Incorporation of eicosatrienoic acid exerts mild anti-inflammatory properties in murine RAW264.7 cells. *Inflammation.* 2015. **38**, № 2. P. 534–545.

Надійшло до редакції 19.09.2016

REFERENCES

1. Lakatos, P. L. (2006). Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases: up or down. *World J. Gastroenterol.*, 12, No. 38, pp. 6102-6108.
2. Feuerstein, J. D. & Cheifetz, A. S. (2014). Ulcerative colitis: epidemiology, diagnosis, and management. *Mayo Clin. Proc.*, 89, No. 11, pp. 1553-1563.
3. Amani, S. A., Reham, M. M. & Gamal, A. S. (2013). Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. *J. Saudi Chem. Soc.*, 17, pp. 101-124.
4. Calder, P. C. (2010). Omega-3 Fatty Acids and Inflammatory Processes. *Nutrients*, 2, pp. 355-374.

5. Verma, N. & Paul, J. (2014). Silibinin ameliorates Dextran Sodium Salt induced colitis in mice and prevents overexpression of inflammatory genes in lipopolysaccharide activated human macrophages. *Inflammation and cell signaling*, 1, e117.
6. Kurambaev, S. R., Achilova, S. S., Baizhanov, N. I., Karimova, D. Z., & Sobirova, R. N. (2016). Obtaining melon oil from "Khorezm Bishak" melon seeds using the method of cold pressing. *Molodoi uchenyi*, 112, No. 8, pp. 253-254 (in Russian).
7. Fitzpatrick, L. K., Bostwik, J. S. & Renzetti, M. (1990). Antiinflammatory effects of various drugs on acetic acid induced colitis in the rat. *Agents Actions*, 30, pp. P393-P403.
8. Sehirlı, A., Tatlydede, E., Yuksel, M., Erzik, C., Cetinel, S., Yegen, B. C. & Sener, G. (2009). Effects of Alpha-Lipoic Acid Against Oxidative Injuri in TNBS-induced Colitis. *Erciyes Med. J.*, 31, No. 1, pp. 15-26.
9. Appleyard, C. & Wallace, J. (1995). Reactivation of hapten-induced colitis and its prevention by anti-inflammatory drugs. *Am. J. Physiol.*, 269, pp. G119-G125.
10. Benoit, B., Bruno, J., Kayal, F., Estienne, M., Debard, C., Ducroc, R. & Plaisancie, P. (2015). Saturated and Unsaturated Fatty Acids Differently Modulate Colonic Goblet Cell In Vitro and in Rat Pups. *J. Nutr.*, 145, pp. 1754-1762.
11. Chen, S. J., Chuang, L. T. & Chen, S. N. (2015). Incorporation of eicosatrienoic acid exert mild anti-inflammatory properties in murine RAW264.7 cells. *Inflammation.*, 38, No. 2, pp. 534-545.

Received 19.09.2016

Г.Н. Кузнецова¹, Е.О. Денис¹, Т.З. Москалец², В.К. Рыбальченко¹

¹ Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко

² Белоцерковский национальный аграрный университет

E-mail: biophys@gmail.com

ЭФФЕКТЫ МАСЕЛ РАСТОРОПШИ И ЛЬНА ХОЛОДНОГО И ГОРЯЧЕГО ОТЖИМА НА СОСТОЯНИЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ КОЛИТЕ

Исследованы эффекты масел из семян льна и расторопши пятнистой, полученных способом холодного (43–45 °С) и горячего (до 95 °С) отжима, на развитие острого колита у крыс при употреблении с кормом. Установлено, что льняное (как холодного, так и горячего отжима) и масло расторопши горячего отжима в значительной степени предотвращают развитие воспалительных, деструктивных и дистрофических изменений слизистой оболочки толстой кишки. Эти свойства масел реализуются частично благодаря наличию в их составе ненасыщенных жирных кислот, в частности ω3, в том числе минорных.

Ключевые слова: льняное масло, масло расторопши, острый колит.

H.M. Kuznietsova¹, E.O. Denis¹, T.Z. Moskalets², V.K. Rybalchenko¹

¹ Taras Shevchenko National University of Kiev

² Bila Tserkva National Agrarian University

E-mail: biophys@gmail.com

EFFECTS OF MILK THISTLE AND FLAXSEED OILS OBTAINED BY THE METHODS OF COLD AND HOT PRESSINGS ON THE STATE OF COLON UNDER ACUTE COLITIS IN RATS

The effects of consumption of cold-pressed (43–45 °C) and hot-pressed (95 °C) flaxseed and milk thistle oils on the development of acute colitis in rats are investigated. It is shown that cold- and hot-pressed flaxseed and hot-pressed milk thistle oils significantly prevent the development of inflammatory, destructive, and degenerative changes in colon mucosa. These oil properties could be realized partially by unsaturated fatty acids, in particular ω3, including minor ones.

Keywords: flaxseed oil, milk thistle oil, acute colitis.