

**БІОХІМІЧНІ ЕФЕКТИ ОЛІЙ РОЗТОРОПШІ ТА ЛЬОНУ ХОЛОДНОГО І ГАРЯЧОГО ПРЕСУВАННЯ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО КОЛІТУ****І. П. КОТЛЯР**, аспірант

E-mail: kotlyaririna1@gmail.com

**Г. М. КУЗНЕЦОВА**, кандидат біологічних наук

E-mail: biophyz@gmail.com

**В. К. РИБАЛЬЧЕНКО**, доктор біологічних наук, професор

E-mail: rybalchenko@univ.kiev.ua

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*<https://doi.org/dopovidi2021.04.003>

**Анотація.** Запальні захворювання кишечника (ЗЗК), до яких входить і виразковий коліт, є одними із найбільш серйозних і нині невирішених проблем сучасної гастроентерології. Етіологія ЗЗК і досі залишається не повністю з'ясованою, основними причинами вважаються спадкова схильність, алергічні реакції, харчування тощо. У зв'язку з цим важливим є профілактика цієї патології, зокрема, за допомогою харчових добавок природного походження, таких як рослинні олії лляна та розторопші, які застосовуються в народній медицині, у тому числі за запальних захворювань органів травлення. Дослідження, щодо їх можливих протизапальних ефектів на слизову оболонку товстої кишки та біохімічні показники крові за виразкового коліту не проводилось. Тому метою є оцінка антиоксидантної ефективності рослинних олій (лляної та розторопші, отриманих різними способами пресування) на моделі гострого коліту в щурів. Об'єкт дослідження: біохімічні механізми реалізації впливу олій розторопші та лляної різних способів віджиму за виразкового коліту. Досліджено ефекти олій насіння льону та розторопші плямистої, отриманих способом холодного (до 45 °С) і гарячого (до 95 °С) віджиму на розвиток гострого коліту в щурів. Показано, що застосування лляної олії як холодного так і гарячого пресування за умов додавання до корму у кількості 10 % упродовж 2 тижнів попереджає розвиток запальних та деструктивних змін у товстій кишці щурів за гострого коліту та негативні наслідки його в печінці (за наближенням до норми значень сироваткових маркерів її функціональної активності). Отримані дані можуть свідчити про те, що одним із механізмів реалізації протизапальної дії зазначених речовин є їх здатність зменшувати окисний стрес – один з основних чинників і промоторів запалення.

**Ключові слова:** олія розторопші, лляна олія, гострий коліт

**Актуальність дослідження.** За ускладнень запальні захворювання важкістю перебігу та частотою кишечника (ЗЗК) займають одне з

Котляр І. П., Кузнецова Г. М., Рибальченко В. К.

провідних місць у структурі хвороб шлунково-кишкового тракту [1]. Етіологія ЗЗК є, імовірно, аутоімунної природи, основними причинами вважаються спадкова схильність, алергічні реакції, харчування тощо [2]. Для ЗЗК характерні дистрофічні та атрофічні зміни слизової оболонки товстої кишки, що супроводжуються розладом її секреторної і моторної функцій, порушенням травлення, а також позакишкові прояви (загальна інтоксикація, ураження печінки, суглобів, слизових оболонок та шкіри) [2].

Для терапії виразкового коліту, як правило, використовують протизапальні засоби, зокрема, препарати на основі 5-аміносаліцилової кислоти, кортикостероїди, імунодепресанти. Але традиційні засоби мають низку побічних ефектів: ерозії, крововиливи та порушення функцій шлунково-кишкового тракту, гепатити, панкреатити, пригнічення кровотворення, зростання ризику інфекцій, гормональні розлади, алергічні реакції. У зв'язку з цим важливою є профілактика цієї патології, зокрема, за допомогою харчових добавок природного походження, що вважаються порівняно безпечними та придатними до тривалого застосування [3]. Перспективними в цьому плані вважаються олії з насіння льону

олійного (*Linum usitatissimum*) та розторопші плямистої (*Silybum marianum*), які застосовуються за запальних захворювань органів травлення. Відомо, що олія льону багата на ω3 поліненасичену α-ліноленову жирну кислоту, яка характеризується широким спектром біологічної дії в організмі [4, 11], а розторопші плямистої містить силібінін — флавонолігнан, який має протизапальні та гепатопротекторні властивості [5].

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** В останній час активно вивчається профілактика виразкового коліту, зокрема, за допомогою олій розторопші та льону різними способами віджиму, як харчові добавки природнього походження.

**Мета дослідження** – оцінити вплив рослинних олій, отриманими різними способами пресування, на розвиток гострого коліту в щурів, а саме вплив на прооксидантно-антиоксидантний стан слизової оболонки товстої кишки, а також загальний стан організму (за показниками сироватки крові).

**Матеріали та методи.** Піддослідних тварин утримували на раціонах, збагачених рослинними оліями (10 % раціону), упродовж 18 діб. Використовували олії з насіння льону та розторопші плямистої, отримані способами холодного (43-45 °С) та

Котляр І. П., Кузнецова Г. М., Рибальченко В. К.

гарячого (до 95 °С) пресування. Гострий коліт моделювали шляхом ректального введення 0,5 мл 10 % оцтової кислоти [6, 9] на 15-ту добу експерименту. Тварини контрольної групи отримували фізіологічний розчин.

Експериментальні групи в дослідженні на моделі гострого коліту:

I група – Дослідний контроль (n=5); II група – Коліт (n=5); III група – Коліт + збагаченому рафінованою соняшниковою олією (СО) (n=5); IV група – Коліт + збагаченому лляною олією холодного пресування (ЛХ) (n=5); V група – Коліт + збагаченому лляною олією гарячого пресування (ЛГ) (n=5); VI група – Коліт + збагаченому олією розторопші холодного пресування (РХ) (n=5); VII група – Коліт + збагаченому олією розторопші гарячого пресування (РГ) (n=5).

Тварин декапітували, видаляли товсту кишку (від ректальної ампули прямої кишки до сліпої) та промивали оксигенованим фізіологічним розчином. Кишку вивертали та промивали буферним розчином наступного складу: 100 мМ фосфатний буферний розчин з 1 мМ ЕДТА та інгібітор протеїназ (0,4 мМ фенілметансульфонілфториду), рН 7,0. Слизову оболонку швидко заморожували та зберігали в рідкому азоті. Зразки розморожували та

проводили м'яку гомогенізацію в скляному гомогенізаторі зі слабо притертим тefлоновим пестіком у буферному середовищі, що описаний вище. Гомогенат центрифугували за 10 000 g упродовж 15 хв, збирали надосадову рідину. Активність супероксиддисмутази (СОД) та каталази визначали, згідно з методиками праць [7], вміст білка в отриманих препаратах — методом Лоурі [8]. Кров через 20-30 хв після завершення процесу зсідання, центрифугували на центрифугу ОПН-8 за 1000 g 10 хв для отримання сироватки. В сироватці шурів визначали активність АлАТ, АсАТ, вміст загального і прямого білірубину і креатиніну за допомогою стандартних наборів реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Математичну обробку експериментальних результатів проводили з використанням програм статистичного пакета аналізу даних в Microsoft Excel. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували t-критерій Стьюдента.

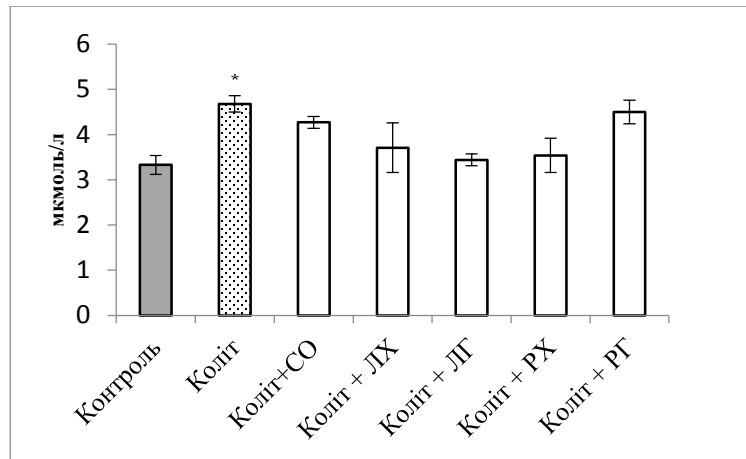
**Результати досліджень та їх обговорення.** Показано, що додавання рослинних олій лляної та розторопші обох способів пресування, а також соняшникової, до корму здорових тварин не спричиняло змін кількості продуктів ПОЛ і окислених

Котляр І. П., Кузнецова Г. М., Рибальченко В. К.

карбонільних груп (ОКГ) та активності ферментів антиоксидантного захисту в слизовій оболонці товстої кишки.

Встановлено, що вплив лляної олії холодного та гарячого віджиму, а також

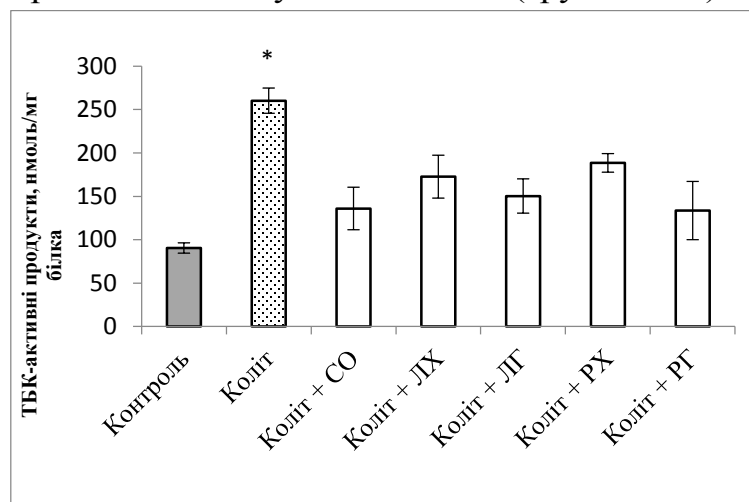
олії розторопші холодного віджиму під час коліту не впливає на вміст ОКГ білків в цитозолі (рис. 1.).



**Рис. 1.** Концентрація карбонільних груп білків в слизовій оболонці товстої кишки щурів, що утримувалися на раціонах, збагачених рослинними оліями, за умов індукції гострого коліту; ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ ), \* -  $p \leq 0,05$  порівняно з контролем.

Після впливу оцтової кислоти в групі коліту збільшується вміст ОКГ порівняно з контрольними значеннями ( $p < 0,05$ ) (рис 1) та зростання вмісту

МДА (рис. 2). Додавання до раціону рослинних олій перед індукцією коліту повністю нівелює ефект оцтової кислоти (група коліт).



**Рис. 2.** Концентрація малонового діальдегіду в слизовій оболонці товстої кишки щурів, що утримувалися на раціонах, збагачених рослинними оліями, за умов індукції гострого коліту; ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ ), \* -  $p \leq 0,05$  порівняно з контролем.

Котляр І. П., Кузнецова Г. М., Рибальченко В. К.

Відсутність змін окисної модифікації білків цитозолу та вмісту МДА свідчить, що досліджувані нами олії (ЛГ, ЛХ, РХ) попереджають розвиток окисних процесів у слизовій оболонці товстої кишки за індукції її гострого запалення. Тобто ми можемо припустити антиоксиданту дію цих олій або ж їх здатність стимулювати захисні процеси у слизовій оболонці, наприклад, продукцію слизу келихоподібними клітинами, збільшення антиоксидантної ємності системи антиоксидантного захисту тощо [10, 11].

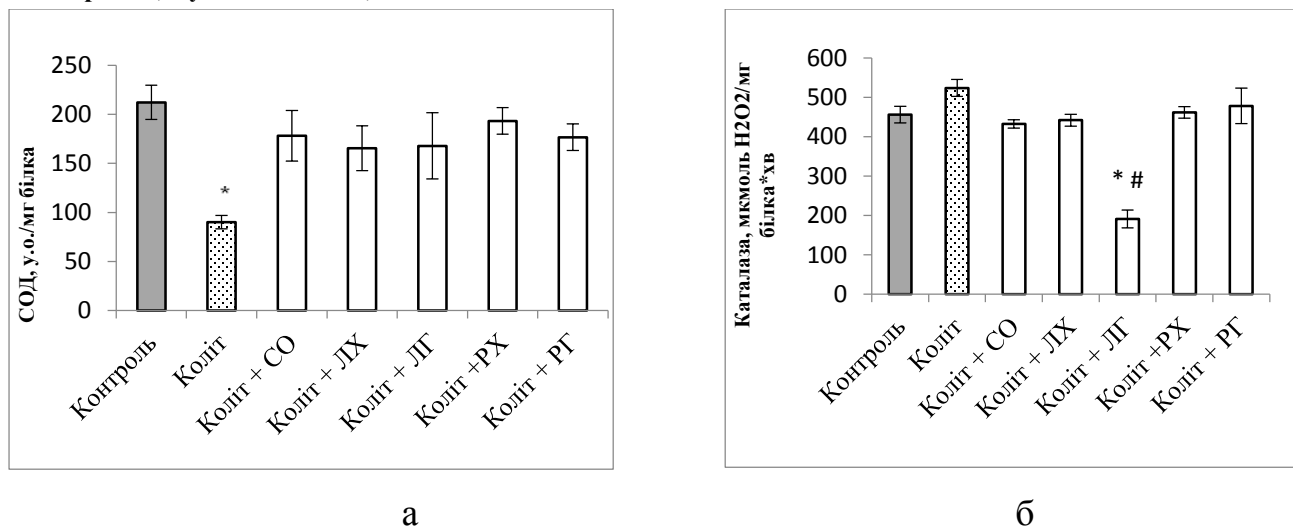
Аналізуючи стан системи антиоксидантного захисту було встановлено, що у групі з колітом активність СОД знижується на 60 % порівнюючи з контрольними значеннями (рис. 3). За попереднього введення до раціону рослинних олій (незалежно від типу і способу пресування) перед індукцією коліту активність СОД відновлюється до контролю.

Встановлено, що після інтрагастрального введення олій льону гарячого віджиму тваринам відбувається зниження активності

каталази на 34 % порівнюючи з контрольними значеннями (рис. 3). У всіх інших випадках, в тому числі і за індукції коліту, змін активності каталази не спостерігалось. Такі особливості каталазної активності можуть бути пов'язані з її відносною нечутливістю (порівнюючи з СОД) до підвищеного вмісту АФК, або ж із компенсаторною активністю ферментів-синергістів, зокрема, глутатіон-пероксидази.

Встановлено, що у групі коліту активність ферменту першої лінії антиоксидантного захисту – СОД, у слизовій оболонці товстої кишки знижується (рис. 3), і це зниження корелює із підвищенням вмісту МДА та КГ (рис. 1, 2). Зареєстровані зміни свідчать про розвиток оксидативного стресу та порушення активності системи антиоксидантного захисту за гострого запалення товстої кишки, та відновлення її прооксидантно-антиоксидантної рівноваги за профілактичного застосування рослинних олій, що узгоджується із даними про їх протизапальну та протекторну активність.

Котляр І. П., Кузнецова Г. М., Рибальченко В. К.



**Рис. 3.** Супероксиддисмутазна (а) і каталазна (б) активності в слизовій оболонці товстої кишки щурів, що утримувалися на раціонах, збагачених рослинними оліями, за умов індукції гострого коліту; (M ± m; n = 5).

\* - p ≤ 0,05 порівняно з контролем, # - p ≤ 0,05 порівняно з колітом.

Застосування рослинних олій у АсАТ та вмісту білірубіну в сироватці здорових тварин не викликало крові (табл.1). вірогідних змін активностей АлАТ,

**1. Біохімічні показники крові у щурів після введення олій розторопші та льону холодного і гарячого пресування за умов гострого коліту. (M±m)**

Фіз	Параметри	Контр.	Коліт	Коліт + СО	Коліт + ЛХ	Коліт + ЛГ	Коліт + РХ	Коліт + РГ
Біохімічні показники	АлАТ, мкмольпірува ту/год*мл	1,89± 0,12	2,38± 0,16	1,63± 0,12	1,88± 0,11	1,75± 0,24	2,2± 0,12	1,52± 0,24
	АсАТ, мкмольпірува ту/год*мл	2,51± 0,27	2,44± 0,22	2,27± 0,24	2,48± 0,23	2,37± 0,17	2,48± 0,3	2,56± 0,37
	загальний білірубін, мкмоль/л	12,56± 2,5	12,97± 1,75	17,95± 1,45	17,71± 1,8	12,84± 1,93	12,68± 2,42	13,12± 1,75
	прямий білірубін, мкмоль/л	3,54± 0,22	4,78± 0,13	4,31± 0,15	4,01± 0,65	3,84± 0,23	3,34± 0,41	3,23± 0,56
	креатинін	3,33± 0,21	4,68± 0,18	4,27± 0,13	3,71± 0,55	3,44± 0,13	3,54± 0,38	4,5± 0,26

Котляр І. П., Кузнецова Г. М., Рибальченко В. К.

Застосування рослинних олій обох способів пресування сприяє відновленню до контрольних значень підвищеної за гострого коліту активності АлАТ, що, може, свідчити про захисний системний ефект цих олій.

Зміни прямого білірубину – підвищеного за гострого коліту (на 35 %) та близького до норми за профілактичного застосування рослинних олій – підтверджують дані щодо їх гепатопротекторного впливу.

Підвищена кількість креатиніну в крові є важливим показником порушення фільтрувальної і видільної функції нирок та використовується в діагностиці їх стану (табл. 1).

Встановлено, що після впливу ЛХ, ЛГ рівень креатиніну в сироватці крові щурів є в межах фізіологічної норми. Вміст креатиніну в сироватці крові щурів під впливом РХ не змінюється, а під впливом РГ

спостерігається його збільшення на 35 % порівнюючи з контрольними значеннями ( $p \leq 0,1$ ).

### Висновки і перспективи.

Отже, показано, що застосування лляної олії, як холодного (до 40°C) так і гарячого (95°C) пресування за умов додавання до корму в кількості 10 % упродовж 2 тижнів попереджає розвиток запальних змін у товстій кишці щурів за гострого коліту та негативні наслідки його в печінці (за наближенням до норми значень сироваткових маркерів її функціональної активності) (табл. 1). Рослинні олії, особливо холодного пресування, сприяють зменшенню кількості продуктів перекисного окиснення ліпідів та білків (підвищеної за гострого коліту) та нормалізації активності ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, каталази).

### Список використаних джерел

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. 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.

7. Артюхов В.Г., Наквасин М.А. Биологические мембраны: структурная организация, функции, модификация физико-химическими агентами. Воронеж: Изд. Воронежского гос. ун-та, 2000. 295 с.

Котляр І. П., Кузнецова Г. М., Рыбальченко В. К.

8. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193, № 1. P. 265-275.

9. Stevens TW, Gecse K, Turner JR, de Hertogh G, Rubin DT, D'Haens GR. Diagnostic Accuracy of Fecal Calprotectin Concentration in Evaluating Therapeutic Outcomes of Patients With Ulcerative Colitis. Clinical Gastroenterol Hepatol. 2020 [cited 2020 August 12]. doi.org/10.1016/j.cgh.2020.08.019

10. Balmus I, Ciobica A, Trifan A, Stanciu C. The Implications of Oxidative Stress and Antioxidant Therapies in Inflammatory Bowel Disease: Clinical Aspects and Animal Models. Saudi J Gastroenterol 2016; 22(1): 3–17

11. Ruggiero C., Lattanzio F., Lauretani F., et.al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and immune-mediated diseases: inflammatory bowel disease and rheumatoid arthritis. Curr Pharm Des. 2009. V.15, N36. P.4135-48.

### 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. 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

7. Artyukhov V.G., Nakvasina M.A. (2000). Biologicheskii membrany: strukturnaya organizatsiya, funktsii, modifikatsiya fiziko-himicheskimi agentamy [Biological membranes: structural organization, functions, modification by physical and chemical agents]. Voronezh: Voronezh University Press, 295 p.

8. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. Vol. 193, № 1. P. 265-275.

9. Stevens T. W., Gecse K., Turner J. R., de Hertogh G., Rubin D.T., D'Haens G. R. (2020). Diagnostic Accuracy of Fecal Calprotectin Concentration in Evaluating Therapeutic Outcomes of Patients With Ulcerative Colitis. Clinical Gastroenterol Hepatol. [cited 2020 August 12]. doi.org/10.1016/j.cgh.2020.08.019

10. Balmus I, Ciobica A, Trifan A, Stanciu C. (2016). The Implications of Oxidative Stress and Antioxidant Therapies in Inflammatory Bowel Disease: Clinical Aspects and Animal Models. Saudi J Gastroenterol; 22(1): 3–17

11. Ruggiero, C. Lattanzio, F., Lauretani, F., et.al. (2009). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and immune-mediated diseases: inflammatory bowel disease and rheumatoid arthritis. Curr Pharm Des. V.15, N36. P.4135-48.

## БИОХИМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ МАСЕЛ РАСТОРОПШИ И ЛЬНА ХОЛОДНОГО И ГОРЯЧЕГО ОТЖИМА У КРЫС ПРИ ОСТРОМ КОЛИТЕ И. П. Котляр, Г. Н. Кузнецова, В. К. Рыбальченко

*Аннотация.* Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), в которые входит и язвенный колит, являются одними из самых серьезных и сейчас не решенных проблем современной гастроэнтерологии. Этиология ВЗК до сих пор

Котляр І. П., Кузнецова Г. М., Рибальченко В. К.

остається повністю в'яченою, основними причинами вважаються спадкова схильність, алергічні реакції, харчування і тому подібне. В зв'язі з цим важливою є профілактика цієї патології, в частині з допомогою харчових добавок природного походження, таких як рослинні масла льняне і ріпчасте, які використовуються в народній медицині, в тому числі при запальних захворюваннях органів травлення. Дослідження, по їх можливим протизапальним ефектам на слизову оболонку товстої кишки і біохімічні показники крові при язвенній коліті не проводилося. Тому метою є оцінка антиоксидантної ефективності рослинних масел (льняного і ріпчасте, отриманих різними способами пресування) на моделі гострої коліти у щурів. Об'єкт дослідження: біохімічні механізми реалізації впливу масел ріпчасте і льняної різними способами отримання при язвенній коліті. Досліджені ефекти масел з насіння льна і ріпчасте п'янистої, отриманих способом холодного (до 45 °С) і гарячого (до 95 °С) отримання, на розвиток гострої коліти у щурів при використанні з кормом. Показано, що застосування льняного масла як холодного, так і гарячого отримання в умовах додавання в корм в кількості 10 % впродовж 2 тижнів запобігає розвитку запальних і деструктивних змін в товстій кишці щурів гострої коліти і негативні наслідки його в печінці (за наближенням до норми значень сировоточних маркерів її функціональної активності). Отримані дані можуть свідчити про те, що одним з механізмів реалізації протизапального дії вказаних речовин є їх здатність зменшувати окислювальний стрес – один з основних факторів і промоторів запалення.

**Ключові слова:** масло ріпчасте, льняне масло, гострий коліт

## BIOCHEMICAL EFFECTS OF COLD AND HOT-PRESSED THISTLE AND LINSEED OILS IN RATS WITH ACUTE COLITIS

I. P. Kotlyar, H. M. Kuznietsova, V. K. Rybalchenko

**Abstract.** *Inflammatory bowel disease (IBD) which includes ulcerative colitis (UC), is one of the most serious and currently unresolved problems of modern gastroenterology. The etiology of IBD is still not fully understood, the main causes are considered to be hereditary predisposition, allergic reactions, nutrition, etc. In this regard, it is important to prevent this pathology, in particular with the help of food supplements of natural origin, such as vegetable oils of flax and milk thistle, which are used in traditional medicine, including inflammatory diseases of the digestive system. Studies on their possible anti-inflammatory effects on the colonic mucosa and biochemical parameters of blood in ulcerative colitis have not been performed. Therefore, the aim is to evaluate the antioxidant effectiveness of vegetable oils (flaxseed and milk thistle, obtained by different methods of pressing) in a model of acute colitis in rats. Object of research: biochemical*

Котляр І. П., Кузнецова Г. М., Рибальченко В. К.

*mechanisms of realization of influence of thistle and flaxseed oils of different methods of extraction at ulcerative colitis. The effects of linseed and milk thistle oils obtained by cold pressing (to 45°C) and hot pressing (to 95°C) on the development of acute colitis in rats, when administered with food, have been investigated. It was shown that the use of linseed oil both cold and hot-pressed under conditions of adding it to the feed in an amount of 10 % for 2 weeks prevents the development of inflammatory and destructive changes in the colon of rats with acute colitis and its negative consequences in the liver (for approaching to the normal values of serum markers of its functional activity). The data obtained may indicate that one of the mechanisms of implementation of the anti-inflammatory action of these substances is their ability to reduce oxidative stress - one of the main factors and promoters of inflammation.*

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