تأثيرات الأحماض الدهنية عالية عدم التشبع على تمثيل الدهون في الكبد

محمد علي قاسم*

DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v19i1.811

الملخص

في هذا البحث تمت دراسة تأثيرات الأحماض الدهنية عالية أو عديدة عدم التشبع Polyunsaturated fatty acids على تمثيل الدهون في الكبد وهذه الأحماض الدهنية تحتوى على عدد كبير من الروابط الزوجية مثل حمض Eicosapentaenoic الذي يحتوى على عشرون ذرة كربون وخمسة روابط زوجية ويختصر (EPA) و يوجد في زيوت السمك مثل زيت كبد الحوت ، والماكريل ، والسالمون وحمض Docosahexaenoic الذي يحتوى على اثنان وعشرون ذرة كربون وستة روابط زوجية ويختصر (DHA) ويوجد في زيوت السمك وفى فوسفوليبيدات المخ .

تم عزل الميتوكوندريا من كبد الفئران التي تمت معاملتها بالأحماض السابقة ، وقد لوحظ أنه عند تغذية الفئران الغير صائمة (fed state) على حمض EPA تحدث زيادة في معدلات التنفس للميتوكوندريا وزيادة في عملية الأكسدة في الوضع بيتا وبالتالى حدوث زيادة في هدم الأحماض الدهنية على الرغم من عدم وجود تأثير ملحوظ على إنزيم Carnitine palmitoyl transferase وقد لوحظ أيضا انخفاض في قدرة الكبد على تخليق الدهون وهذا يفسر التأثير الخافض للدهون للأحماض الدهنية عالية عدم التشبع ، وقد لوحظ انخفاض في تخليق الليبوبروتينات منخفضة الكثافة جدا vLDL وكذلك لم يحدث زيادة في مستوى الجلسريدات الثلاثية .

أما عند تغذية الفئران الصائمة (fasted state) على حمض EPA يحدث انخفاض في مستوى الجلوكوز Hypoglycaemia ولعل سبب ذلك هو أن حمض EPA يعمل على زيادة هدم الجلوكوز . ولم توجد فروق كبيرة بين تأثيرات الحمضين DHA, EPA .

* كلية الصيدلة ، جامعة عمر المختار ، البيضاء – ليبيا ، ص.ب. 919 .

©. المؤلف (المؤلفون) هذا المقال المجاني يتم الوصول إليه من خلال رخصة المشاع الإبداعي (CC BY-NC 4.0)

المقدمة

من المعروف أن زيوت السمك Fish Oils لها أهمية حيوية كبيرة حيث أنها تحتوى على نسبة عالية من الأحماض الدهنية الغير مشبعة التي تحتوى على عدد كبير من الروابط الزوجية Polyunsaturated Fatty Acids خاصة Eicosapentaenoic acid (EPA) و Docosahexaenoic acid (DHA) أوضح ذلك (Schmidt et al , 1993) .

لقد أوضحت الدراسات السابقة أن لهذه الزيوت تأثير خافض للدهون Hypolipidaemic effect وان هذا التأثير يرجع إلى وجود الأحماض الدهنية عديدة الروابط الزوجية (Harris , 1995) .

أن آلية هذا التأثير ظلت غير واضحة حتى جاء (Willumsen et al, 1996) وأكدوا أن هذه الأحماض الدهنية تعتبر مواد فقيرة أو غير مناسبة (poor substrate) لعمل إنزيم Diacylglycerol acyltransferase لذلك يقل تدفق هذه الأحماض الدهنية للمشاركة في تكوين الجلسريدات الثلاثية وبالتالي يقل تخليق الدهون بينما يكون من الأسهل تخليق الفوسفولبيدات .

لقد تبين أن تكوين الدهون يزداد في حالة التغذية على غذاء يحتوى زيوت مهدرجة وهذه الزيوت تحتوى على أحماض دهنية مشبعة ولا تحتوى على أحماض دهنية غير مشبعة (Ide,et. al., 1996) .

وجد (Jiang, et.al., 2000) أنه عند تغذية الفئران على غذاء يحتوى على نسبة عالية من الأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع Polyunsaturated fatty acids يحدث زيادة في معدلات التنفس وزيادة في عملية الأكسدة ، وقد اثبت ذلك أيضا كلا من (Van Bitterswijk and Houssa 2000) و (Shirai,et. al. 2000) ، وقد وجد (Xiangnan, et. al.2005) أن تغذية الفئران على حمض (EPA) أدى إلى زيادة عملية الأكسدة في ميتوكوندريا الكبد وتقليل عملية بناء الدهون .

المواد وطرق البحث

تم إحضار ذكور فئران تجارب من نوع Albino wistar rats عددها ثلاثون و عمرها أربعة أسابيع ووضعت في أقفاص مخصصة لها مصنوعة من الحديد الغير قابل للصدأ ومتوفر لها ماء للشرب وغذاء محتوى على 5 % دهون وكان وزن كل حيوان 250 جرام .

استخدمت هذه الفئران لمعرفة معدل تنفس الميتوكوندريا وأعطيت جرعة يومية مقدارها 1 جرام / كيلو جرام من وزن الجسم من مادة Ethyl eicosapentaenoate أو مادة Ethyl docosahexaenoate لمدة 10 أيام وكل مادة من هذه المواد تم عمل معلق منها (10%

(w/w من مادة كربوكسى مثيل سليلوز ومحتوية أيضا على 0.5 % (w/v) من مادة ألفا – توكوفيرول .

مجموعة المقارنة وعددها (6) اعطيت جرعة يومية من حمض الباليتك مقدارها 1 جرام / كيلو جرام من وزن الجسم وتم عمل معتق منها أيضا مع مادة الكاربوكسى ميثيل سليلوز .

بعد عشرة أيام من المعاملة تم تخدير كل الفئران تحت تأثير مادة Diethylether ثم تم فصل الميتوكوندريا من خلايا الكبد بعد الحصول على الكبد مباشرة ولم توجد أي فروق معنوية في وزن الفئران بعد فترة التجربة وتم في الحال استخدام ميتوكوندريا الكبد بعد فصلها لقياس معدلات التنفس طبقا لطريقة (Wellumsen, et.al.1996) .

معاملة الفئران لدراسة تأثير التغذية بحمض EPA على تمثيل الدهون

يجب أن نؤكد على أن كل فار استهلك نفس الكمية من الغذاء في كل يوم وقد تمت التغذية بمعدل 23 جرام من العلف في اليوم تحتوى على نسبة 5 % (w/w) من الدهن وذلك خلال كل فترة التجربة وكانت فترة التغذية اليومية من الثامنة صباحا وحتى الثامنة مساء وقد قسمت الحيوانات إلى عدة مجاميع :

1- المجموعة الأولى : عددها (8) تأخذ نفس كمية الغذاء السابقة بالإضافة إلى إعطائها جرعة يومية مقدارها 5. جرام / كيلوجرام من وزن الجسم من مادة Ethyl eicosapentaenoate وذلك في فترة الجوع أي في الساعة السابعة صباحا .

2- المجموعة الثانية : عددها (8) تأخذ نفس كمية الغذاء السابقة بالإضافة إلى إعطائها جرعة يومية مقدارها 5. جرام/ كيلو جرام من وزن الجسم من مادة Ethyl eicosapentaenoate ولكن في فترة التغذية (الساعة التاسعة صباحا) .

3- المجموعة الثالثة : عددها (8) تعطى 0.5 جرام من زيت الذرة لكل كيلوجرام من وزن الجسم عند الساعة السابعة صباحا وقد استمرت تلك الثلاث مجاميع لمدة عشرة أيام .

نصف كل مجموعة من المجموعات السابقة أعطيت 0.3 سم من مادة Mildronate لكل كيلوجرام من وزن الجسم وهذه المادة تمنع تخليق الكارنيتين Carnitine .

كانت الفروق في تأثيرات EPA تحت هذه الظروف موازية ومرتبطة بالفروق في معدل التنفس بين حالتي التغذية والتجويع .

أخذت عينات من الدم من الوريد الوداجى Jugular Vein في اليوم السابق لقتل الحيوانات عند الساعة السادسة صباحا أي في حالة التجويع ومرة أخرى من الوتين الظهري Dorsal Aorta عند الساعة التاسعة صباحا أي في

حالة التغذية وذلك تحت التخدير بمادة Diethyl ether .

قياس الأكسدة في الوضع بيتا في الميتوكوندريا : تم عزل الميتوكوندريا من خلايا كبد الفئران وتم قياس الأكسدة Polarographically وتحتاج هذه الطريقة إلى وجود 130 ملى مولر كلوريد بوتاسيوم ، 2 ملى مولر كلوريد ماغنسيوم ، 5 ملى مولر L-Carnitine ، 1. ملى مولر EDTA ، 2 ملى مولر ADP ، 2 ملى جرام بروتين ميتوكوندريا في حجم نهائي 3 مل ودرجة pH تساوى 7.2 ، يبدأ التنفس بإضافة 30 ميكرو مولر من مادة Acyl-CoA ، معدل التنفس يقاس في وجود 2 ملى مولر من مادة Malate أو 10 ملى مولر من مادة Malonate .

وقد تم قياس نشاط إنزيم Carnitine palmitoyl transferase طبقا للطريقة التي اوضحها (Henley,et. al . 1995) ، وتم ايضا تحليل الدهون الكلية والفوسفوليبيدات ، والجلسريدات الثلاثية بالطريقة التي أوضحها (Folch and Sloane 1957) بعد إضافة مادة مضادة للأكسدة وفصل الجلسريدات الثلاثية والفوسفوليبيدات من الدهون الكلية في Silica-gel thin layer باستخدام مخلوط من الهكسان : ثنائي ايثيل ايثر : ميثانول : حمض خليك بنسبة 90 : 20 : 3 : 2 حجم على التوالي .

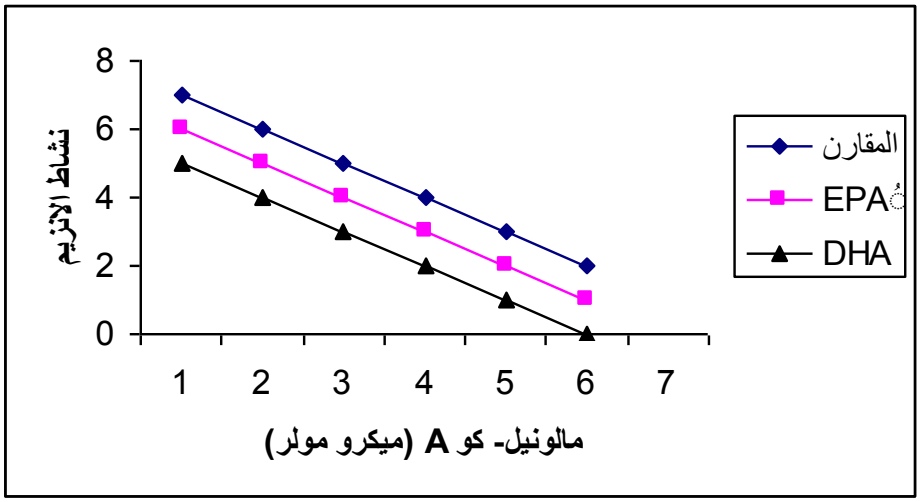
النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج المعاملة الغذائية لفئران التجربة بالأحماض الدهنية عديدة الروابط الزوجية مثل حمض Eicosapentaenoic (EPA) أو حمض Docosahexaenoic (DHA) وهى من الأحماض الدهنية التي تسمى أوميجا -3 وتوجد في زيوت السمك Fish Oils أظهرت زيادة في معدلات التنفس لميتوكوندريا الكبد في وجود مادة المالونيت Malonate أو الماليت Malate في بيئة التحضين ويوضح ذلك الجدول رقم (1) ونلاحظ من الجدول أن معدل التنفس في حالة المعاملة بحمض EPA كان اكبر من الناتج في حالة المعاملة بحمض DHA .

ويوضح الشكل رقم (1) تأثيرات المعاملة بحمض EPA المعطى في حالة التغذية أو التجويع على نشاط إنزيم Carnitine palmitoyl (CPT) transferase الموجود في ميتوكوندريا الكبد وتأثير تثبيط (Malonyl-CoA) على نشاط الإنزيم ونلاحظ أن نشاط إنزيم CPT كان متأثرا بالحالة الفسيولوجية في وقت المعاملة بحمض EPA وعند إعطاء الحمض في حالة التغذية Fed State انخفض نشاط الإنزيم بنسبة 20% بينما عند إعطاءه في حالة التجويع Fasted State ، لم يظهر نقص واضح في نشاط الإنزيم عن المجموعة المقارنة ولم تتغير حساسية الإنزيم للتثبيط بواسطة Malonyl-CoA عند هذه المعاملات .

جدول 1 تأثيرات المعاملة بالأحماض الدهنية الغير مشبعة EPA و DHA على معدلات التنفس لميتوكوندريا الكبد في وجود Acyl-CoA كمادة أساسية مع الماليت أو المالونيت في وسط التحضين

التجربة	معدل التنفس في وجود Acyl- Co A ester (ng atom /of O/min per mg mitochondria)					
في حالة وجود الماليت	18:0	18:1	18:2	18:3	20:5	22:6
المقارنة	56.8	86.12	66.14	57.22	28.6	32
EPA	62	90	95	99	58	55
DHA	61	72	67	78	51	47
في حالة وجود المالونيت						
المقارنة	148.6	161	154	151	112	88
EPA	92.8	102.4	95	104	78	69
DHA	90	98	77	88	72	68



شكل 1 تأثيرات المعاملة بحمض EPA و DHA على نشاط إنزيم CPT1 الموجود في ميتوكوندريا الكبد وحساسيته للتثبيط

ويوضح الجدول رقم (2) تأثيرات المعاملة بحمض EPA في حالة التجويع أو في حالة التغذية على بعض مقاييس الدم التي لها علاقة بتمثيل الدهون والكربوهيدرات ، ونلاحظ أن نسبة الجلسريدات الثلاثية والكوليستيرول قد انخفضت في حالة المعاملة بحمض EPA أثناء مرحلة التغذية Fed State بينما انخفضت بدرجة اقل في حالة التجويع Fasted State أما نسبة الجلوكوز فقد انخفضت في حالة التجويع بدرجة اكبر عن نسبتها في المقارنة وكانت طبيعية في حالة التغذية ، وقد انخفضت بدرجة اقل نسبة الفوسفوليبيدات في مرحلة التغذية وقد تشابهت هذه النتائج مع ما وجدة (Michael et.al.2005) .

المعاملة بحمض EPA سببت زيادة في تكوين الفوسفوليبيدات في الكبد وكانت هذه الزيادة واضحة في حالة إعطاء الحمض أثناء مرحلة التغذية بالمقارنة مع حالة التجويع ويوضح ذلك الجدول رقم (3) .

البيانات الموضحة في الجدول رقم (4) بينت أن النسبة الكلية للأحماض الدهنية في دهون ميتوكوندريا الكبد متماثلة في الفئران في المجموعتين المعاملتين وفى مجموعة المقارنة كذلك كمية الأحماض الدهنية الحرة في الكبد لم تختلف كثيرا بين المجموعات المعاملة .

عند دراسة تأثير المعاملة بحمض البالمتيك ، وحمض EPA ، وحمض DHA على نشاط الأكسدة في الوضع بيتا في خلايا الكبد اتضح أن المعاملة بحمض EPA أدت إلى حدوث زيادة في الأكسدة في بيروكسيسومات الكبد بدرجة أكبر عن التي حدثت عند المعاملة بحمض DHA ، أو حمض البالمتيك ويوضح ذلك الجدول رقم (5) .

ولم توجد فروق كبيرة في نشاط الأكسدة عند المعاملة بالأحماض السابقة في حالة التجويع أو التغذية ، وقد تشابهه هذه النتائج مع ما وجدة (Xiangnan, et. al, 2005) .

جدول 2 تأثيرات المعاملة بحمض EPA في حالة التجويع أو في حالة التغذية على بعض مقاييس الدم

مقاييس الدم	المقارنة (ملى جرام %)	EPA في حالة التجويع (ملى جرام %)	EPA في حالة التغذية (ملى جرام%)
الجلسريدات الثلاثية	140	130	100
الكوليسترول	87	68	60
الفوسفو ليبدات	153	140	127
الجلوكوز في البلازما	89	70	87

جـدول 3 تـأثيرات المعاملـة بحمـض EPA في حالـة التغذيـة أو في حالـة التجويـع علـى كميـة حمـض EPA في الفوسفوليبيدات الكلية والجلسريدات الثلاثية في أنسجة الكبد

التجربة	كمية EPA (ملجرام منEPA / جرام w | w)	
	الفوسفوليبيدات	الجلسريدات الثلاثية
المقارنة	0.10	0.024
EPA في حالة التغذية	0.99	0.169
EPA في حالة التجويع	0.52	0.158

جدول 4 تأثيرات المعاملة بحمض EPA المعطى في حالة التغذية أو في حالة التجويع على كمية الأحماض الدهنية الكلية وحمض EPA المستخلص من ميتوكوندريا الكبد

التجربة	الأحماض الدهنية الكلية (ميكروجرام من الحمض الدهني / ملجرام بروتين)	EPA ميكروجرام من EPA/ملجرام بروتين
المقارنة	160	1
EPA المعطى في حالة التغذية	166	9
EPA المعطى في حالة التجويع	156	5

جدول 5 تأثيرات المعاملة بحمض البالمتيك وحمض EPA وحمض DHA على معدل الأكسدة في الوضع بيتا في بيروكسيسوم الكبد

نانومول من NADH المتكون / دقيقة لكل ملجرام من البروتين			
المقارنة	البالميتك أسيد	EPA	DHA
0.25	0.39	0.66	0.55

لقد اتضح من هذه الدراسة أن عمليات الأكسدة في الميتوكوندريا تتأثر بدهون الغذاء ، فقد زادت بشكل ملحوظ عند وجود الأحماض الدهنية عديدة الروابط الزوجية (عديدة أو عالية عدم التشبع) مثل حمض EPA و DHA ، وقد ظهرت تأثيرات مختلفة للأحماض الدهنية الغذائية على التنفس المعتمد على Acyl CoA وظروف التحضين .

عند قياس التنفس كأكسدة ، وكانت معدلات الأكسدة أكثر وضوحا مع الأحماض

الدهنية الغير مشبعة عالية عدم التتشبع وخاصة حمض EPA و DHA ،ولعل السبب في ذلك هو حدوث زيادة في نشاط إنزيمات الأكسدة وتغير في حالة الأيض في الميتوكوندريا بسبب وجود هذه الأحماض الدهنية (Xiaozhong et. al,2006) .

يوجد فرق كبير بالنسبة لتأثيرات EPA على سكر الدم والدهون ويعتمد ذلك على الحالة الفسيولوجية (تجويع أو تغذية) ، فقط عندما اعطى EPA في حالة التغذية لوحظ خفض الدهون في الدم (جدول رقم 2) ، اما بالنسبة لجلوكوز الدم فان انخفاضة يلاحظ في الفئران التي أعطيت حمض EPA في حالة التجويع وهذا قد يكون سببه أن هذه الأحماض الدهنية تزيد من معدل هدم وأكسدة الكربوهيدرات ، انخفاض الدهون (وعدم انخفاض السكر) وجد في دم فئران معاملة بحمض EPA في حالة التغذية وقد ينتج ذلك من نقص تخليق وتوزيع البروتينات الدهنية قليلة الكثافة في الكبد (Michael et. al,2005) .

Effects of polyunsaturated fatty acids on hepatic lipid metabolism

Mohamad Ali Kassem[1]

Abstract

Effects of dietary treatment of male albino rats with eicosapentaenoic acid (EPA) or docosahexaenoic acid (DHA) on hepatic mitochondrial lipid metabolism have been investigated. Mitochondria isolated from rats given these treatments were shown to have increased ability to respire on acyl-CoA esters in the presence of malonate. In rats treated with EPA in the fed state, the amount of EPA incorporated into mitochondrial lipids wase markedly more increased as compared to control rats. A hypolipidaemic effect of dietry EPA was only observed when the fatty acid was given to fed rats, may result from diminished synthesis and export of very-low density lipoprotein from the liver.In line with this argument the hepatic level of triacylglycerol was found not be increased in these rats, and this may therefore reflect increased hepatic B-oxidation. Diminished lipolysis may also occur, as dietary EPA can inhibit lipolysis in mice. Rats treated with EPA in the fasted state, in contrast, exhibited hypoglycaemia. When malonate in the incubations was replaced with malate, mitochondria from treated animals were found to exhibit diminished rates of respiration on polyunsaturated acyl-CoA esters. This phenomenon could not attributed to changes in activity of carnitine palmitoyltransferase1. No significant differences between the effects of EPA and DHA.

[1] Faculty of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Omar El-Mukhtar El-beida, Libya

المراجع

Folch,J., Less.M. and Sloane.Stanley,G.H. (1957) J. Biol. Chem. 226, 497-509.

Harris, W. S. (1995) J. Lipid Res. 30, 785-807.

Henley, D. C. and Berry, M. N. (1995) Biochem. Biophys. Acta 1175, 269-276.

Ide, T., Murata, M. and Sugano, M. (1996) J. Lipid Res. 37, 448-463.

Jiang, C., Skinner, K., Anderson. R. A. and Rudel, L. L. (2000) Curr. Opin. Lipidol. 10, 89- 95.

Michael, W. P., Garrison, R. J., Wilson, P. W. and Kannel, W. B. (2005) Am. J. Clin. Nutr. 31, 1340-1346.

Schmidt, E. B., Kristensen, S. D., Catrina, R. and Illinqworth, D. R. (1993) Atherosclerosis 103, 107-121.

Shirai, S., Wu, P. and Osmundsen, H. (2000) Biochem. J. 305, 591-595.

Van Bitter Swijk and Houssa , G. (2000) J. Lipid Res. 36, 469- 474.

Willumsen, N., Vaagenes, H., Lie, O.., Rustan, A. C. and Berge, K. (1996) Lipids 31, 579- 592.

Xiangnan, S. H., Fisher, A. and Marsh, J. B. (2005) Eur. J. Biochem. 196, 499- 507.

Xiaozhong, V. A., Corstorphine, C. G. and Kolodziej, M. P. (2006) Biochem. J. 263, 89-95.