



УДК 619:615:577.1:616-003.269:636

© 2009

Академік НАН України Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко,
О. М. Литвиненко

Корегування фосфоліпидовмісними засобами жовчнокислотного спектра дуоденального вмісту та калу у щурів за медикаментозного гепатиту

Медикаментозний гепатит у щурів супроводжується порушенням синтетичної, кон'югуючої функцій печінки та розвитком холестазу. Застосування фосфоліпидовмісних засобів корегувальної терапії: препарату "Есенціале-форте" і біологічно активної добавки FLP-MD, значно покращує синтетичну, кон'югуючу та елімінаційну функції печінки, що більш виражено при використанні біодобавки.

Продукція жовчі є однією з головних функцій печінки. Жовчні кислоти (ЖК) сприяють перетравленню жирів, засвоєнню жиророзчинних вітамінів, виявляють бактеріостатичний ефект на кишкову мікрофлору, стимулюють моторну функцію кишок, екзокринну функцію підшлункової залози. ЖК — це амфіпатичні сполуки, які мають обидва домени: гідрофільний та гідрофобний [1, 2].

ЖК поділяють на первинні та вторинні. У печінці більшості тварин ферментні системи забезпечують кон'югацію ЖК з таурином чи гліцином. Первинні жовчні кислоти синтезуються в печінці з холестеролу, кон'югують з гліцином чи таурином і надходять у складі жовчі до кишечника, де без змін всмоктуються на рівні клубової кишки, повертаючись до печінки. До них належать холева (ХК) та хенодезоксихолева (ХДХК) кислоти. Вторинні ЖК утворюються в кишечнику з первинних під дією ферментів мікрофлори кишечника. Це такі, як дезоксихолева (ДХК) і літохолева (ЛХК) кислоти [3].

Комплексне застосування числених хімотерапевтичних препаратів часто ускладнюється медикаментозним ураженням печінки. За медикаментозного гепатиту встановлено порушення жовчнокислотного обміну, синтетичної та кон'югуючої функцій печінки, розвиток холестазу, який, у свою чергу, сприяє накопиченню токсичних ЖК та інших продуктів екскреції і спричинює деструкцію клітинних мембран гепатоцитів.

У зв'язку з тим, що фосфоліпіди (ФЛ) є основними ліпідними компонентами клітинних мембран, у практичній гепатології останнім часом всебічно вивчаються різні аспекти прояву клінічної ефективності фосфоліпидовмісних препаратів у відношенні мембранних структур уражених гепатоцитів.

Метою проведеного нами дослідження було вивчити особливості жовчнокислотного спектра дуоденального вмісту і калу в щурів при моделюванні медикаментозного гепатиту та порівняти корегувальну ефективність препаратів на основі фосфоліпідів із сої (препарат “Есенціале-форте”) і молока (біологічно активна добавка (БАД) FLP-MD).

В експерименті використовували безпорідних білих щурів-самців з масою тіла 200–220 г, з яких було сформовано чотири дослідні групи по десять особин у кожній. Медикаментозну форму гепатиту викликали за розробленою нами біологічною моделлю [4] шляхом перорального застосування препарату “Диклофенак”, у таблетках, у дозі 12,5 мг/кг маси тіла один раз на добу впродовж двох тижнів. Тварин I групи утримували без лікування. Тваринам II групи протягом 50 діб вводили препарат “Есенціале-форте” (“Ей. Наттерманн енд Сайі ГмБХ”, Німеччина) у дозі 7,1 мг/кг маси тіла, а тваринам III групи — створену на кафедрі біохімії тварин, якості і безпеки сільськогосподарської продукції ім. акад. М. Ф. Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України БАД FLP-MD [5] репаративної дії в дозі 13,5 мг/кг маси тіла. До контрольної групи віднесено інтактних тварин, яких утримували на стандартному раціоні віварію з пероральним введенням їм еквівалентної кількості фізіологічного розчину.

ЖК розділяли за допомогою методу тонкошарової хроматографії з подальшою кількісною оцінкою окремих складових на стандартних пластинах фірми “Сілуфол” (Чехія) за методикою [6]. Екстрагування ЖК проводили при знижених температурах сумішшю етанолу з ацетоном у співвідношенні 1 : 3 та хроматографічному їх розділенні в гомогенній загальній системі розчинників для вільних та кон’югованих ЖК, яка складається з амілового ефіру оцтової кислоти, толуолу, бутанолу, оцтової кислоти і води в об’ємному співвідношенні 3 : 1 : 1 : 3 : 1. Денситометричну оцінку вмісту ЖК здійснювали після забарвлення комплексним барвником (15 мл оцтової льодяної кислоти, 1 г фосфорномолібденової кислоти, 1 мл концентрованої сірчаної кислоти та 5 мл 50%-го водного розчину трихлороцтової кислоти).

Результати досліджень обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики [7].

У результаті хроматографічного дослідження жовчнокислотного складу вмісту порожньої кишки (табл. 1) у тварин I групи встановлено вірогідне зниження рівня всіх досліджуваних фракцій ЖК: таурохолевої (ТХК) — на 30,4%, ХК — на 29,5%, сумарних фракцій таурохенодезоксихолевої + тауродезоксихолевої (ТХДХК + ТДХК) — на 48,6%, глікохенодезоксихолевої + глікодезоксихолевої (ГХДХК + ГДХК) — на 52,6%, хенодезоксихолевої (ХДХК) — на 48,6%.

Таблиця 1. Концентрація жовчних кислот у вмісті порожньої кишки хворих на медикаментозний гепатит щурів за різних способів корекції, мкг/мг білка ($M \pm m$, $n = 10$)

Жовчні кислоти	Група щурів			
	Контроль	I	II	III
Таурохолева	5,72 ± 0,62	3,98 ± 0,44*	5,72 ± 0,29	7,04 ± 0,45
Таурохенодезоксихолева + + тауродезоксихолева	4,20 ± 0,38	2,16 ± 0,56*	3,56 ± 0,21	5,16 ± 0,46
Глікохолева	3,63 ± 0,20	2,80 ± 0,38	3,90 ± 0,25	4,20 ± 0,25
Глікохенодезоксихолева + + глікодезоксихолева	1,75 ± 0,13	0,83 ± 0,14*	1,55 ± 0,19	2,63 ± 0,14*
Холева	5,02 ± 0,14	3,54 ± 0,21*	5,04 ± 0,27	6,40 ± 0,45*
Хенодезоксихолева + дезоксихолева	2,56 ± 0,15	1,54 ± 0,10*	2,28 ± 0,09	4,06 ± 0,19*

*Тут і в табл. 2 дані вірогідні порівняно з контролем, $P < 0,05$.

Таблиця 2. Концентрація жовчних кислот у калі хворих на медикаментозний гепатит щурів за різних способів корекції, мкг/г калових мас ($M \pm m$, $n = 10$)

Жовчні кислоти	Група щурів			
	Контроль	I	II	III
Таурохолева	3,20 ± 0,25	1,84 ± 0,18*	2,14 ± 0,06*	2,50 ± 0,13*
Таурохенодезоксихолева + + тауродезоксихолева	3,68 ± 0,22	2,06 ± 0,18*	2,54 ± 0,08*	2,72 ± 0,17*
Глікохолева	2,18 ± 0,24	1,32 ± 0,27*	2,52 ± 0,21	2,80 ± 0,20
Глікохенодезоксихолева + + глікодезоксихолева	2,80 ± 0,3	1,72 ± 0,29*	2,90 ± 0,15	3,21 ± 0,20
Холева	17,11 ± 0,80	12,10 ± 1,68*	18,42 ± 0,54	19,48 ± 0,96
Хенодезоксихолева + + дезоксихолева	13,36 ± 0,73	8,92 ± 1,09*	15,62 ± 0,97	16,61 ± 0,97*

левої + дезоксихолевої (ХДХК + ДХК) — на 39,8% порівняно з контролем. Це може свідчити про зниження синтетичної та кон'югуючої функцій печінки за розвитку медикаментозної форми токсичного гепатиту, імовірно порушення симбіотичних взаємовідношень між окремими штамами мікрофлори кишечника і розвиток внутрішньопечінкового холестазу.

У щурів II групи при застосуванні препарату “Есенціале-форте” відмічається відновлення рівня всіх видів ЖК у порівнянні з тваринами контрольної групи, що може свідчити про позитивний вплив цього препарату на структурно-функціональний стан печінки, а саме жовчотвірну та елімінаційну функції. Водночас при застосуванні БАД FLP-MD (III група) спостерігається зростання у вмісті порожньої кишки рівня таких ЖК, як ХК та сумарних фракцій ГХДХК + ГДХК і ХДХК + ДХК відповідно на 27,5, 50,3 і 58,6%. Ці зміни, як і встановлені нами раніше [8], можуть свідчити про позитивний вплив молочних фосфоліпідів на холатотвірну, кон'югуючу і етерифікуючу її функції.

При дослідженні жовчнокислотного складу калу у хворих на медикаментозний гепатит щурів, яких утримували без лікування (I група), подібно до їх кількісних змін у вмісті порожньої кишки, виявлено вірогідне зниження рівня всіх досліджуваних фракцій (табл. 2): ТХК — на 42,5%, ТХДХК + ТДХК — на 44,0%, ГХК — на 39,4%, ГХДХК + ГДХК — на 38,6%, ХК — на 29,2%, ХДХК + ДХК на 33,2%, що підтверджує порушення жовчотвірної та жовчовидільної функцій печінки.

У щурів II групи, за даними дослідження жовчнокислотного складу калу, відбувається вірогідне зменшення вмісту ТХК і сумарної фракції ТХДХК + ТДХК відповідно на 33,1 і 30,9% та відновлення рівня інших ЖК, що вказує на достатню їх реабсорбцію в кишечнику та покращення ентерогепатичної циркуляції останніх. У щурів III групи зменшується вміст у калі ТХК і сумарної фракції ТХДХК + ТДХК відповідно на 21,9 і 26,1% і зростає рівень сумарної фракції ХДХК + ДХК на 24,4%, відмічається тенденція до підвищення вмісту інших фракцій ЖК, що також свідчить про покращення ентерогепатичної циркуляції ЖК та вияв жовчогінного ефекту БАД FLP-MD.

Отже, у щурів, хворих на медикаментозний гепатит, у дуоденальному вмісті та калі виявляється вірогідне зниження рівня більшості фракцій ЖК, що може вказувати на порушення синтетичної та кон'югуючої функцій печінки і наявність холестазу. При введенні БАД FLP-MD спостерігається жовчогінний ефект і більш швидка стабілізація кон'югуючої та етерифікуючої функцій печінки, ніж при застосуванні препарату “Есенціале-форте”.

1. Шахова Е. Г., Бабенко Н. А. Влияние флавоноидов на содержание липидов в изолированных гепатоцитах крыс разного возраста // Буковин. мед. вісник. – 2005. – 9, № 2. – С. 259–261.

2. *Vlahcevic Z. R., Windaus A.* Prize Lecture: Studies of cholesterol degradative pathways in the rat. Bile acids in gastroenterology. Basic and clinical advances. – London, 1995. – P. 85–109.
3. *Щербиніна М. Б., Закревська О. В.* Функціональний холестаза як провідний фактор формування гепатобіліарної патології та можливості його медикаментозної корекції: методичні рекомендації. – Київ, 2006. – 21 с.
4. *Литвиненко О. М., Грищенко В. А.* Моделювання медикаментозного гепатиту в лабораторних щурів: Матеріали IV Міжнар. наук. конф. студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології”, Львів, 7–10 квітня 2008 р. – Львів, 2008. – С. 432–433.
5. *Пат. 78306* Україна, МКІ А 61К 35/20. Ветеринарна біологічно активна добавка та спосіб репаративної терапії при диспепсії новонароджених телят / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко; заявник і патентовласник Національний аграрний ун-т. – № 20041108957, Заявл. 02.11.2004, Опубл. 15.03.2007, Бюл. № 3. – 2 с.
6. *А. с. 441106614* ССРСР, МКІ J 01 N 33/50. Способ определения желчных кислот в биологической жидкости / С. П. Весельский, П. С. Ляшенко, И. А. Лукьяненко. – № 1624322; Заявл. 25.01.88; Опубл. 30.01.91, Бюл. № 4. – 2 с.
7. *Кучеренко М. Є., Бабенюк Ю. Д., Войцицький В. М.* Сучасні методи біохімічних досліджень. – Київ: Фітосоціоцентр, 2001. – 412 с.
8. *Грищенко В. А., Весельський С. П., Мельничук Д. О.* Ефективність застосування фосфоліпідів молока при розладах жовчно-кислотного спектра крові та жовчі у телят, які перехворіли на диспепсію // Доп. НАН України. – 2006. – № 6. – С. 166–170.

Навчально-науковий інститут ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва Національного університету біоресурсів і природокористування України, Київ

Надійшло до редакції 25.05.2009

Academician of the NAS of Ukraine **D. O. Melnychuk, V. A. Gryshchenko, O. N. Lytvynenko**

Correction of duodenal content and excrement for rats at medicinal hepatitis by means on a basis of phospholipids of the bilious acid spectrum

Medicinal hepatitis for rats is accompanied by the violation of the synthetic and conjugative functions of liver and by the development of cholestasia. Application of reparation means on a basis of phospholipids (preparation “Essentiale-forte” and biologically active addition FLP-MD) considerably improves the synthetic, conjugative, and eliminative functions of liver, which is better expressed at the use of the bioaddition.