



УДК 619:615:577.1:616-003.269:636

© 2010

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

Особливості жовчнокислотного спектра еритроцитарної маси в щурів при експериментальному медикаментозному гепатиті та застосуванні засобів корегувальної терапії

Встановлено кількісні зміни рівня жовчних кислот у еритроцитарній масі у щурів, хворих на медикаментозний гепатит, що свідчить про розвиток холестазу, зниження синтетичної та кон'югуючої функцій печінки. Доведено, що дані зміни можна корегувати шляхом включення в лікувальну схему засобів репаративної дії, зокрема, виготовлених на основі фосфоліпідів різного походження: біологічно активної добавки FLP-MD і препарату "Есенціале-форте".

Жовч тварин є продуктом зовнішньосекреторної діяльності печінки. Вона містить широкий спектр органічних і неорганічних сполук. З органічних сполук жовчі близько 60% припадає на жовчні кислоти. Відома їх роль у перетравленні жирів, засвоєнні жиророзчинних вітамінів, прояві бактеріостатичного ефекту відносно кишкової мікрофлори, стимулюванні моторної функції кишечника, екзокринної функції підшлункової залози, а також підтриманні колоїдного стану жовчі з розчиненням у ній холестеролу. Актуальність вивчення жовчнокислотного складу біологічних субстанцій пояснюється їх важливою біологічною роллю, а також частим розвитком ускладнень, що виявляються при зміні їх концентрації [1, 2].

Більшість уражень гепатобіліарної системи, незалежно від чинників, призводять до значних змін секреції жовчі, що ускладнюється пошкодженням дрібних жовчних протоків. Розлади жовчовидільної функції печінки супроводжуються деструктивними змінами клітинних мембран гепатоцитів [3, 4].

Зазначені патологічні явища можна корегувати шляхом включення в реабілітаційну схему засобів репаративної дії, які виготовляються на основі фосфоліпідів [5].

Ми ставили за мету дослідити особливості жовчнокислотного спектра еритроцитарної маси в щурів при моделюванні медикаментозного гепатиту та порівняти корегувальну ефективність препаратів на основі фосфоліпідів рослинного (із сої, препарат "Есенціале-форте") і тваринного (із молока, біологічно активна добавка (БАД) FLP-MD) походження.

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 [6] шляхом перорального застосування препарату “Диклофенак” у дозі 12,5 мг/кг маси тіла один раз на добу протягом двох тижнів. Тварин I групи утримували без лікування. Тваринам II групи протягом 50 днів вводили препарат “Есенціал-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 [7] 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. По закінченні досліду щурів декапітували під легким ефірним наркозом. Експерименти проводили з дотриманням вимог Конвенції Ради Європи щодо захисту тварин.

Жовчні кислоти розділяли за допомогою методу тонкошарової хроматографії з подальшою кількісною оцінкою окремих складових на стандартних пластинах фірми “Сілуфол” (Чехія) за методикою [8]. Екстрагування жовчних кислот 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 жовчних кислот, 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 жовчних кислот 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 [9].

За результатами дослідження жовчнокислотного спектра еритроцитарної маси у щурів I групи (табл. 1) встановлено вірогідне зростання рівня таурохолевої (ТХК), холевої (ХК) і сумарної фракції хенодезоксихолевої + дезоксихолевої кислот (ХДХК + ДХК) відповідно на 22,5, 28,6 і 59,1% та тенденцію до підвищення рівня сумарної фракції таурохенодезоксихолевої + тауродезоксихолевої кислот (ТХДХК + ТДХК), що може вказувати на порушення холеретичної функції печінки. Тенденція до зниження рівня глікохолевої (ГХК) і сумарної фракції глікохенодезоксихолевої + глікодезоксихолевої кислот (ГХДХК + ГДХК) може свідчити про знижену біосинтетичну та кон’югуючу функції печінки [2, 5].

Таблиця 1. Концентрація жовчних кислот у еритроцитах 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	0,71 ± 0,04	0,87 ± 0,03*	0,52 ± 0,03*	0,45 ± 0,02*
Таурохенодезоксихолева + тауродезоксихолева	0,55 ± 0,03	0,64 ± 0,03	0,43 ± 0,03*	0,32 ± 0,01*
Глікохолева	0,28 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,24 ± 0,01	0,18 ± 0,01*
Глікохенодезоксихолева + глікодезоксихолева	0,20 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,13 ± 0,01*	0,11 ± 0,01*
Холева	0,35 ± 0,02	0,45 ± 0,02*	0,30 ± 0,01	0,28 ± 0,02*
Хенодезоксихолева + дезоксихолева	0,22 ± 0,01	0,35 ± 0,02*	0,20 ± 0,02	0,19 ± 0,01

* $P < 0,05$, дані вірогідні порівняно з контролем.

У щурів II групи при застосуванні препарату “Есенціале-форте” серед зв’язаних з мембранами еритроцитів відмічено вірогідне зниження рівня ТХК, сумарних фракцій ТХДХК + ТДХК і ГХДХК + ГДХК відповідно на 26,8, 21,8 і 35,0% та відновлення рівня ГХК, ХК і сумарної фракції ХДХК + ДХК, що може свідчити про позитивний вплив цього препарату на структурно-функціональний стан печінки, а саме жовчотвірну та елімінаційну функції.

У щурів III групи у випадку застосування БАД FLP-MD виявлено вірогідне зниження рівня ТХК, ТХДХК + ТДХК, ГХК, ГХДХК + ГДХК і ХК відповідно на 36,6, 58,2, 35,7, 45,0 і 20,0% та тенденцію до зниження рівня сумарної фракції ХДХК + ДХК порівняно з контролем, що вказує на позитивний вплив молочних фосфоліпідів на холатотвірну, кон’югуючу і етерифікуючу функції печінки, а також покращення ентерогепатичної циркуляції жовчних кислот.

Отже, результати дослідження жовчнокислотного спектра еритроцитарної маси в щурів, хворих на медикаментозний гепатит, свідчать про розвиток холестазу, зниження синтетичної та кон’югуючої функцій печінки. При зіставленні даних щодо ефективності двох корегуючих фосфоліпидовмісних засобів встановлено, що в щурів при застосуванні препарату “Есенціале-форте” відбувається поступове відновлення бар’єрної, жовчотвірної та жовчовидільної функцій печінки. Водночас введення щурам БАД FLP-MD, що містить фосфоліпиди тваринного походження, сприяє більш швидкій стабілізації кон’югуючої та етерифікуючої функцій печінки.

1. *Рациональная фармакотерапия ревматических заболеваний* / Под ред. В. А. Насоновой, Е. Л. Насонова. – Москва: Литтера, 2003. – С. 22–34.
2. *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.
3. *Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей* / Под ред. В. Т. Ивашкина. – Москва: ООО “Издат. дом “М-Вести”, 2002. – 416 с.
4. *Никитин И. Г., Сторожжаков Г. И., Буеверов А. О.* Лекарственные поражения печени: Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей. – 2-е изд., испр. и доп. – Москва: ООО “Издат. дом “М-Вести”, 2005. – С. 217–223.
5. *Грищенко В. А., Литвиненко О. М.* Особливості жовчно-кислотного спектра міхурової жовчі та дуоденального вмісту в мишей при медикаментозному гепатиті і застосуванні корегуючої терапії // Укр. біохім. журн. – 2007. – № 4. – С. 97–101.
6. *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.
7. *Пат. 86516 Україна, МПК А 61К 35/20 А 23К 1/00.* Ветеринарна біологічно активна добавка ліпосомальної форми та спосіб репаративної терапії в гепатології / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, О. М. Литвиненко; заявник і патентовласник НУБіП України. – № а 2007 10252; Заявл. 14.09.2007; Опубл. 27.04.2009, Бюл. № 8.
8. *А.с. 441106614 СССР, МКИ 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.
9. *Кучеренко М. Є., Бабенюк Ю. Д., Войціцький В. М.* Сучасні методи біохімічних досліджень. – Київ: Фітосоціоцентр, 2001. – 412 с.

*Навчально-науковий інститут ветеринарної
медицини та якості і безпеки продукції тваринництва
НУБіП України, Київ*

Надійшло до редакції 04.09.2009

Academician of the NAS of Ukraine **D. O. Melnychuk, V. A. Gryshchenko,
S. P. Vesel'skiy, O. N. Lytvynenko**

**Features of the bile-acid spectrum of the mass of red corpuscles in rats
under experimental medicamentous hepatitis and application of
correction therapy**

The quantitative changes of the level of bilious acids are determined in the mass of red corpuscles in rats, patients with medicinal hepatitis, which testifies to the development of cholestasia and a decline of synthetic and conjugative functions of liver. It is proven that these changes can be corrected by the plugging of facilities of reparation actions in the rehabilitation circuit, in particular, made on the basis of phospholipids of different origin: biologically active addition of FLP-MD and preparation "Essenciale-forte".