



УДК 619:615:577.1:616-003.269:636

© 2010

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

Ліпідний спектр еритроцитарної маси крові щурів при медикаментозному гепатиті та застосуванні фосфоліпидовмісних препаратів

Досліджено особливості кількісних змін показників ліпідного спектра еритроцитарної маси у щурів при медикаментозному гепатиті. Так, у хворих тварин зміни ліпідограми еритроцитарної маси характеризують розвиток дисліпідемії. Їх можливо корегувати шляхом включення в терапевтичну схему препаратів репаративної дії, зокрема фосфоліпидовмісних засобів — біологічно активної добавки FLP-MD та препарату “Есенціале-форте”, причому перший з них виявляє краще виражений відновлювальний ефект.

Ліпідний обмін в організмі тварин тісно взаємопов'язаний з функціональним станом печінки, в якій здійснюється синтез та утилізація як простих, так і складних ліпідів, деяких ліполітичних ферментів, катаболізм холестеролу, стероїдних гормонів, у тому числі утворення проміжних продуктів метаболізму — кетонових тіл. Ліпіди є важливою структурною складовою біологічних мембран, де переважно представлені фосфоліпідами. Тому повноцінне функціонування мембранних систем певною мірою залежить від цілісності їх фосфоліпідних структур. У свою чергу, на рівень фосфоліпідів як в тканинах, так і біологічних рідинах організму за розвитку патологічного стану істотно впливає інтенсивність їх ендogenous утворення та характер адаптивного спрямування обмінних реакцій.

Виконання основних функцій печінки реалізується мембранними системами гепатоцитів. В умовах розвитку патологічних процесів у печінці різко підвищується інтенсивність ліпопероксидації, що призводить до пошкодження клітинних мембран. Тому патогенетично обумовленим є призначення терапії, яка стимулює регенеративні процеси в біологічних мембранах і водночас гальмує деструктивні зміни клітин [1, 2].

Засобами такої спрямованої дії є екзогенні фосфоліпіди. Препарати на основі фосфоліпідів справляють протективну і репаративну дію на мембранні структури уражених клітин, що, без сумніву, впливає на показники ліпідного спектра крові, яка відображає стан обміну речовин на рівні цілісного організму, і зокрема — печінки [3, 4].

Наша мета полягала в дослідженні якісних та кількісних змін ліпідного спектра еритроцитарної маси крові у щурів при медикаментозному гепатиті та застосуванні засобів

корегувальної терапії на основі фосфоліпідів різного походження — із сої (препарат “Есенціале-форте”) і молока (біологічно активної добавки (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 [5] шляхом перорального застосування препарату “Диклофенак” у дозі 12,5 мг/кг маси тіла один раз на добу протягом двох тижнів. У I групі знаходились тварини 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 імені акад. М. Ф. Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України БАД FLP-MD репаративної дії в дозі 13,5 мг/кг маси тіла. БАД FLP-MD — це суміш різних класів фосфоліпідів (80% ФХ, СМ, ФЕ), ненасичених жирних кислот (лінолевої, ліноленової, олеїнової) та природних антиоксидантів (вітамінів α -токоферолу і ретинолу ацетату) [6]. До контрольної групи віднесено інтактних тварин, яких утримували на стандартному раціоні віварію з пероральним введенням їм еквівалентної кількості фізіологічного розчину. По закінченні дослідів щурів декапітували під легким ефірним наркозом. Для отримання еритроцитарної маси кров збирали в пробірки з антикоагулянтом (гепарином), потім центрифугували, відбирали плазму, а еритроцитарну масу залишали для подальших досліджень [7]. Експерименти проводили з дотриманням вимог Конвенції Ради Європи щодо захисту тварин.

Екстракцію ліпідів виконували методом I. Folch із співавт. [8]. Ліпідний спектр досліджували методом тонкошарової хроматографії [9] на стандартних платівках фірми “Сілуфол” (Чехія). Для розділення загальних ліпідів (ЗЛ) на класи використовували таку систему розчинників: петролейний ефір — діетиловий ефір — оцтова кислота (90 : 70 : 1). Окремі класи ліпідів ідентифікували з використанням відомих маркерів фірм “Sigma” (США) і “Reanal” (Угорщина). Кількісне визначення індивідуальних ліпідних фракцій здійснювали спектрофотометрично, застосовуючи калібрувальні графіки їхніх маркерів, на спектрофотометрі СФ-46.

У табл. 1 наведено дані щодо якісних і кількісних характеристик ліпідного складу еритроцитарної маси крові піддослідних тварин. У хворих на медикаментозний гепатит щурів, яких утримували без лікування (I група), встановлено зниження рівня ЗЛ за рахунок таких фракцій: фосфоліпідів (ФЛ) — на 13,9% та вільних жирних кислот (ВЖК) — на 66,7%, і вірогідне збільшення вмісту триацилгліцеролів (ТАГ) на 100% порівняно з контролем, що

Таблиця 1. Ліпідний склад еритроцитарної маси крові щурів при медикаментозному гепатиті, мкг/мг білка ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Група щурів			
	Контроль	I	II	III
Загальні ліпіди	0,548 \pm 0,035	0,473 \pm 0,020	0,546 \pm 0,017	0,652 \pm 0,028
Фосфоліпіди	0,418 \pm 0,010	0,360 \pm 0,007*	0,438 \pm 0,010	0,520 \pm 0,017*
Загальний холестерол	0,090 \pm 0,020	0,090 \pm 0,010	0,085 \pm 0,004	0,115 \pm 0,007
Етерифікований холестерол	0,005 \pm 0,001	0,003 \pm 0,001	0,007 \pm 0,001	0,003 \pm 0,001
Вільні жирні кислоти	0,030 \pm 0,003	0,010 \pm 0,001*	0,011 \pm 0,001*	0,011 \pm 0,002*
Триацилгліцероли	0,005 \pm 0,001	0,010 \pm 0,001*	0,005 \pm 0,001	0,003 \pm 0,001

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

вказує на порушення функціонального стану печінки та розвиток дисліпідемії, яка є ознакою структурних і метаболічних дефектів в уражених гепатоцитах.

При застосуванні препарату “Есенціале-форте” (II група) в еритроцитарній масі крові щурів відмічено відновлення вмісту ЗЛ, вірогідне зменшення рівня ВЖК на 63,3% порівняно з контролем на фоні нормалізації етерифікованого холестеролу (ЕХС), холестеролу (ХС), ФЛ і ТАГ, що, ймовірно, є наслідком покращення засвоєння екзогенних ліпідів у кишечнику та інтенсивного їх утворення в гепатоцитах. На час дослідження зафіксовано відновлення процесів етерифікації, що свідчить про покращення ферментативної функції печінки.

При застосуванні БАД FLP-MD (III група) в еритроцитарній масі крові тварин виявлено збільшення вмісту ЗЛ. При цьому встановлено вірогідне зростання рівня ФЛ на 24,4% та зменшення рівня ВЖК на 63,3% порівняно з контролем на фоні відновлення вмісту інших показників. Зменшення вмісту ВЖК, можливо, пов'язано з використанням їх для біосинтезу ФЛ, рівень яких вірогідно підвищується. Збільшення вмісту ФЛ свідчить про мембранотропний ефект компонентів БАД FLP-MD.

Отже, за результатами дослідження ліпідного спектра еритроцитарної маси щурів можна зробити висновок, що в організмі хворих на медикаментозний гепатит тварин відбуваються істотні розлади ліпідного обміну, які характерні для дисліпідемії. При застосуванні як засобів корегувальної терапії препаратів на основі фосфоліпідів рослинного та тваринного походження спостерігається різний терапевтичний ефект. Проте краще виражені зміни в ліпідогамі еритроцитарної маси відмічаються при введенні в організм тварин БАД FLP-MD на основі фосфоліпідів молока, що, ймовірно, пояснюється більш природним для організму ссавців складом його фосфоліпідної компоненти.

1. Кузнецов В. И., Ющук Н. Д., Моррисон В. В. Структурные и функциональные характеристики биомембран у больных острым гепатитом В // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2004. – 14, № 4. – С. 49–53.
2. Никитин Ю. П., Курилович Г. С. Печень и липидный обмен. – Новосибирск: Наука, 1985. – С. 86–93.
3. Минушкин О. Н. Опыт терапии заболеваний печени эссенциальными фосфолипидами // Consilium medicum. – 2001. – Экстра-выпуск. – С. 9–11.
4. Шахман О. В. Особливості фізіологічної та мембранотропної дії біологічно активного комплексу фосфоліпідів гідробіонтів: Автореф. дис. . . . канд. біол. наук. – Київ, 1999. – 16 с.
5. 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.
6. 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.
7. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: Довідник. – Львів: Інститут біології тварин УААН, 2004. – 399 с.
8. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley C. A rapid method for isolation and purification from animal tissues total lipid // J. Biosci. Rep. – 1984. – 4, No 7. – P. 581–587.
9. Петровский В. И. и др. Экстракция, разделение и количественное определение липидных фракций сыворотки крови // Лаб. дело. – 1986. – № 6. – С. 339–341.

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,
O. N. Lytvynenko**

Lipid's composition of the mass of red corpuscles of rats' blood at medicinal hepatitis and application of phospholipids preparations

The features of quantitative changes of indices of lipid's spectrum of the mass of red corpuscles are investigated for rats at medicinal hepatitis. In the sick animals, the changes of lipid's composition of the mass of red corpuscles characterize the development of dislipidemia. Changes of lipid's composition can be corrected by inclusion of preparations of reparative action in the therapeutic chart, in particular those made on a basis of phospholipids-containing facilities — biologically active addition of FLP-MD and preparation "Essentiale-forte". The former discovers the better expressed effect.