

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

УДК. 636.932.09:612.12:616.36-07

«ПОВОДЖЕНО» «ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ»
Декан факультету ветеринарної
медичини Завідувач кафедри біохімії і
фізіології тварин

_____ М.І. Цвіліховський

ім. акад. М.Ф. Гулого,
д.вет.н., професор В.А. Томчук

(підпис) (ПІБ)
«_____» _____ 2021 р. «_____» _____ 2021 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

08.14 - КМР.1895 "С" 1.12.2020. 028

на тему: «ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ПОРУШЕНЬ ЛІПІДНОГО
СКЛАДУ ПЛАЗМИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА
ТЕТРАЦИКЛІНІНДУКОВАНОГО ГЕПАТОЗУ»

Спеціальність 211 «Ветеринарна медицина»
Освітня програма – «Ветеринарна лабораторна діагностика»
Орієнтація освітньої програми – освітньо-професійна

Керівник магістерської роботи

д.вет.н., професор

(науковий ступінь та вчене звання)

Грищенко В.А.

(ПІБ)

Виконав

Бриженко С.П.

(підпис)

(ПІБ студента)

Консультант з економічних питань

к.вет.н., доцент

(науковий ступінь та вчене звання)

Ситнік В.А.

(підпис)

(ПІБ)

КИЇВ – 2021

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ ТА
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Завідувач кафедри біохімії

і фізіології тварин

ім. акад. М.Ф. Гуляго

д.вет.н., професор В.А. Томчук

«18» вересня 2020 р.

ЗАВДАННЯ

ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ РОБОТИ СТУДЕНТУ

Бриженко Сергію Петровичу

Спеціальність 211 – «Ветеринарна медицина»

Спеціалізація – ветеринарна медицина

Магістерська програма – «Ветеринарна лабораторна діагностика»

Програма підготовки – освітньо-професійна

**Тема роботи: «Лабораторна діагностика порушень ліпідного складу
плазми крові щурів за тетрацикліндукованого гепатозу»**

затверджена наказом ректора НУБіП України від «1» грудня 2020 р.,
№ 1895 "С"

Термін подання студентом магістерської роботи «15» листопада 2021 р.

Вихідні дані до магістерської роботи: для проведення експериментальних досліджень, з самців білих лабораторних щурів 3-місячного віку з середньою масою тіла 190–250 г формували чотири груп по 5 голів у кожній: контрольну (інтактні тварини), 1 дослідну (щури з тетрацикліндукованим гепатозом, у стані самореабілітації), 2 дослідну (тварини з індукованим гепатозом, яким перорально вводили біологічно активну добавку (БАД) «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока) та 3 дослідну із залученням клінічно здорових тварин, які отримували лише біодобавку «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока.

Для моделювання тетрациклініндукованого гепатозу, щурам 1 і 2 дослідних груп перорально вводили 4 %-ий розчин тетрацикліну гідрохлориду в дозі 250 мг/кг маси тіла, один раз на добу, впродовж 7 діб; щурам 2 дослідної групи ще

додатково застосовували 1%-ий розчин ліпосомальної форми БАД «FLP-MD»

на основі фосфоліпідів молока у дозі 13,5 мг/кг маси тіла, впродовж 9 діб за

1 год до введення в організм тетрацикліну гідрохлориду, а клінічно здоровим

щурам 3 дослідної групи – лише біодобавку. У щурів відбирали кров з

черевного відділу аорти під етерним наркозом; у зразках плазми крові

проводили дослідження ліпідного складу плазми крові.

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1) ліпідний склад плазми крові в інтактних щурів (контрольна група);

2) особливості змін ліпідного складу плазми крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу (1 дослідна група);

3) коригувальна ефективність 1%-ого розчину ліпосомальної форми БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока щодо ліпідного складу плазми крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу (2 дослідна група);

4) вплив 1%-ого розчину ліпосомальної форми БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока на ліпідний спектр плазми крові в клінічно здорових щурів (3 дослідна група)

Перелік графічного матеріалу – рисунки, таблиці.

Дата видачі «15» листопад 2021 р.

Керівник магістерської роботи

(підпис)

Грищенко В.А.

(ПІБ)

Завдання прийняв до виконання

(підпис)

Бриженко С.П.

(ПІБ)

ЗМІСТ	
НУБІП України	
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	6
РЕФЕРАТ	7
ВСТУП	10
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	11
1.1. Ліпиди плазми крові та їх функціональна роль в організмі тварин	11
1.2. Роль печінки в обміні ліпідів	14
1.3. Токсична дія антибіотиків на печінку	17
1.4. Використання фосfolіпидовмісних препаратів за гепатопатології	22
1.5. Висновок до огляду літератури	25
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1. Схема досліджу та база проведення біохімічних досліджень	27
2.2. Методика дослідження ліпідного спектру плазми крові щурів	28
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	30
3.1. Ліпідний склад плазми крові в щурів за тетрацикліндукованого гепатозу	30
3.2. Коригувальна ефективність фосfolіпідів молока щодо ліпідного складу плазми крові в щурів за тетрацикліндукованого гепатозу	37
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ, ЇХ ЕКОЛОГІЧНЕ ТА ЕКОНОМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	43
4.1. Аналіз та узагальнення отриманих результатів	43
4.2. Екологічне обґрунтування	45
4.3. Економічне обґрунтування	46

Висновки та пропозиції виробництву	48
Список використаних джерел	50
Додатки	- 58

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ
НУБІП України

БАД - біологічно активна добавка;

ЛПДНЦ - ліпопротеїни дуже низької щільності;

ЛПНЩ - ліпопротеїни низької щільності;

НЕЖК - неестерифіковані жирні кислоти;

ПОЛ - пероксидне окиснення ліпідів.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РЕФЕРАТ

НУБІП України

Актуальність теми. На сьогодні в медицині та ветеринарії зафіксоване різке зростання випадків токсичного ураження печінки, з яких до 40 % обумовлено лікарськими препаратами. Переважна частина гепатитів і цирозів печінки, не встановлених за етіологією, також викликана застосуванням медикаментів. Серед лікарських засобів із прямою цитотоксичною дією на гепатоцити за тривалого застосування та у великих дозах відзначаються антибіотики тетрациклінової групи. Тому, використання цих препаратів для моделювання медикаментозного ураження печінки в тварин є доцільним у фармакологічних експериментах для визначення терапевтичної ефективності препаратів гепатопротекторного профілю та особливостей патогенезу розвитку гепатопатології на молекулярному рівні. Водночас дослідження ліпідного складу плазми крові у хворих на гепатопатологію тварин сприятиме визначенню особливостей патогенетичних змін їх метаболізму, що має істотний вплив на структурну організацію основних функціональних клітин організму і може бути враховано у визначенні терапевтичної тактики за медикаментозного ураження печінки.

Поряд із цим, за медикаментозного гепатозу відмічається деструкція клітинних мембран із порушенням їх фосфоліпідної організації. Тому в останні роки для відновлення структури і функцій мембран гепатоцитів та нормалізації метаболізму за цієї гепатопатології використовують есенційні фосфоліпиди. Це стало підґрунтям для випробування коригувальної ефективності фосфоліпідів молока щодо ліпідного спектру плазми крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, що актуально для подальшого впровадження цієї розробки у практичну ветеринарію.

Мета і завдання роботи. Мета роботи полягала у визначенні особливостей ліпідного складу плазми крові лабораторних щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та коригувальної ефективності біодобавки «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока.

НУБІП України

Для цього були поставлені наступні завдання:

- експериментально відтворити на лабораторних щурах модель медикаментозної форми токсичного гепатозу;

- дослідити ліпідний склад плазми крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу;

- встановити коригувальну ефективність фосфоліпидовмісної БАД «FLP-MD» щодо показників ліпідного складу плазми крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу;

- визначити особливості змін ліпідного складу плазми крові у клінічно здорових щурів при застосуванні фосфоліпидовмісної БАД «FLP-MD».

Об'єкт дослідження: ліпідний склад плазми крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та його коригування.

Предмет дослідження: ліпідні фракції, плазма крові, білі лабораторні щури, експериментальний тетрациклініндукований гепатоз.

М

т

о

д

и **Наукова новизна** отриманих результатів. Вперше досліджено ліпідний спектр плазми крові в щурів за експериментального гепатозу на тлі

введення токсичної дози препарату тетрацикліну гідрохлориду. При цьому, в

творих тварин відзначається зменшення вмісту як загальних ліпідів, так і окремих індивідуальних фракцій, зокрема, фосфоліпідів, вільних жирних кислот, загального холестеролу та його похідних, хоча рівень

триацилгліцеролів в плазмі крові таких щурів залишається у фізіологічних

межах. Експериментальним шляхом підтверджено, що застосування хворим

щурам БАД «FLP-MD» запобігає змінам вмісту як загальних ліпідів, так й

індивідуальних фракцій, що доводить виражений коригувальний ефект дії її

компонентів на метаболізм ліпідів в їхньому організмі. Водночас встановлено

н

я

стимулюючий вплив біодобавки щодо ендогенного утворення вільного холестеролу за її застосування клінічно здоровим щурам.

Р

а
к
т

и Особистий внесок. Автором самостійно проведено аналіз літературних джерел з наукового напрямку, викладеного у магістерській роботі.

Виконано, проаналізовано та узагальнено весь обсяг експериментальних досліджень.

Вибір теми роботи, схеми досліду, аналіз одержаних результатів досліджень і формулювання висновків, а також дослідження ліпідного складу

плазми крові щурів проведено за консультативної допомоги наукового керівника – доктора ветеринарних наук, професора В. А. Трищенко.

Апробація результатів магістерської роботи. Основні результати магістерської роботи доповідались та обговорювались на I Міжнародній

науково-практичній конференції «Sectoral research XXI: characteristics and features» (Чикаго, США, 2021) та Міжнародній науковій конференції

«Глобальні виклики ветеринарної медицини XXI століття» (Київ, 2021).

Публікації. Основний зміст магістерської роботи викладений у 2 тезах доповідей на міжнародних наукових конференціях.

тетрацикліндукованого жирового гепатозу дозволяє з'ясувати особливості патогенетичних змін в їх організмі на молекулярному рівні, що важливо при

визначенні лікарської тактики, а також у розробці та випробуванні ефективності новостворених препаратів гепатопротекторної дії.

НУБІП України

ВСТУП

НУБІП України

Печінка специфічно реагує на прийом медикаментів. Тому використання синтетичних препаратів для моделювання медикаментозного ураження печінки в тварин актуально у фармакологічних експериментах при визначенні терапевтичної ефективності препаратів гепатопротекторного профілю.

Відомо, що за медикаментозного ураження печінки сповільнюються процеси синтезу і катаболізму ліпідів, погіршується їх у ліпопротеїни низької і дуже низької щільності, посилюються процеси пероксидного окиснення ліпідів. Зазначене негативно позначається на функціональній здатності гепатоцитів та інших клітин органів і тканин організму ссавців. Таким чином, дослідження ліпідного складу плазми крові за тетрациклініндукованого гепатозу сприятиме визначенню найінформативніших індикаторних біохімічних показників крові для проведення діагностичних досліджень, а також у встановленні ефективності превентивних заходів і терапевтичних схем.

Поряд із цим, за медикаментозного гепатиту відмічається деструкція клітинних мембран із порушенням їх фосфоліпідної організації. Тому в останні роки для відновлення структури і функцій мембран гепатоцитів та нормалізації метаболізму за цієї гепатопатології використовують есенційні фосфоліпіди. Це стало підґрунтям для випробування коригувальної ефективності фосфоліпідів молока щодо ліпідного складу крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, що актуально для подальшого впровадження цієї розробки у практичну ветеринарію.

НУБІП України

РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Ліпіди плазми крові та їх функціональна роль в організмі тварин

Ліпіди (грец. *lipos* – жир) – велика група природних гідрофобних сполук, неоднорідних за хімічним складом і біологічними функціями, які об'єднують за такими критеріями: 1) обмежена розчинність у воді та полярних розчинниках і, навпаки, хороша розчинність у неполярних розчинниках; 2) знаходження в природі у вигляді складних естерів вищих жирних кислот; 3) наявність в усіх живих організмах [1].

Всебічний аналіз молекул ліпідів, "ліпідоміка", в контексті геноміки та протеоміки має вирішальне значення для розуміння клітинної фізіології та патології; отже, біологія ліпідів стала важливою дослідницькою метою постгеномної революції та системної біології [2, 3].

Ліпідоміка – це відносно недавня наукова галузь, яка зумовлена швидким прогресом у ряді аналітичних технологій, зокрема мас-спектрометрії (МС), та обчислювальних методів у поєднанні з визнанням ролі ліпідів у багатьох метаболічних захворюваннях, таких як ожиріння, атеросклероз, інсульт, гіпертонія та діабет. Це поле діяльності, яке швидко розвивається доповнює величезний прогрес, досягнутий у геноміці та протеоміці, які складають сімейство системної біології. Різноманітність функцій ліпідів відображається величезною різницею в структурі молекул ліпідів. На відміну від генів та білків, які насамперед складаються з лінійних комбінацій 4 нуклеїнових кислот та 20 амінокислот відповідно, ліпідні структури, як правило, набагато складніші через кількість різних біохімічних перетворень, що відбуваються під час їх біосинтезу. Цей рівень різноманітності робить важливим розроблення всебічної класифікації, номенклатури та системи

представлення хімічних речовин для розміщення незліченної кількості ліпідів, які існують у природі [4–6].

Сучасна, надійна система класифікації, у свою чергу, відкриває шлях до створення всебічної біоінформативної інфраструктури, яка включає бази даних ліпідів та асоційованих з ліпідами генів, інструменти для представлення ліпідних структур, інтерфейси для аналізу ліпідомних експериментальних даних та методології вивчення ліпідів у системах біологічного рівня.

Таким чином ліпіди були класифіковані у вісім категорій, завдяки зусиллям Lipid MAPS [6]:

- Жирні кислоти (FA);
- Гліцероліпіди (GL);
- Гліцерофосфоліпіди (GP);
- Сфінголіпіди (SP);
- Стероїдні ліпіди (ST);
- Пренольні ліпіди (PR);
- Сахароліпіди (SL);
- Полікетиди (PK) [7-8].

Оскільки ліпіди нерозчинні у воді, вони транспортуються у плазмі ліпопротеїнами, що складаються з кількох класів ліпідів (включаючи холестерол, триацилгліцероли і фосфоліпіди) та білків, які називаються аполіпопротеїнами. Кожен клас ліпопротеїнів виконує певну функцію в метаболізмі ліпідів.

Триацилгліцероли та фосфоліпіди, а також вільний й естерифікований холестерол складають найважливіші ліпідні фракції крові. Основними транспортними формами ліпідів плазми є вільні жирні кислоти, триацилгліцероли та естери холестеролу. Вільні жирні кислоти, отримані переважно з триацилгліцеролів адипоцитів, транспортуються у вигляді комплексу з альбумінами плазми. У жировій тканині найбільший вміст триацилгліцеролів – від 60 до 85% [9].

Триацилгліцероли та естери холестеролу транспортуються в середині ліпопротеїнів плазми. Кишечник виділяє харчові жири в хіломікронах, ліпопротеїнах, які транспортують триацилгліцероли до тканин для зберігання.

Харчовий холестерол транспортується до печінки залишками хіломікронів.

Триацилгліцероли вивільнюються з печінки у вигляді ліпопротеїдів дуже низької щільності для утилізації та зберігання у позапечінкових тканинах.

Ліпопротеїди дуже низької щільності перетворюються у ліпопротеїди низької щільності в плазмі; в процесі вони збагачуються складними естерами холестеролу. Ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ) являють собою заключну стадію катаболізму ліпопротеїдів дуже низької щільності. Після того, як холестерол естерифікується, він трансформується в ліпопротеїди низької щільності для поглинання тканинами. Ліпопротеїди високої щільності забирають холестерол та інші ліпопротеїди плазми з тканин.

Фосфоліпіди є структурними компонентами ліпопротеїнів і забезпечують перетворення жирних кислот для утворення складного естеру холестеролу в плазмі, але вони не є основною транспортною формою ліпідів [10–15].

Однією з часто згадуваних ролей фосфоліпідів є підтримка відповідної мембранної структури для оптимальної роботи клітин. Термін «плинність мембрани» часто використовується, але є неточним. Він загалом описує комбіновані ефекти бічного та обертального руху ліпідів у площині мембрани.

Отже зміни споживання харчових ліпідів з їжею можуть мати модулюючий вплив на функцію клітин, змінюючи молекулярний склад фосфоліпідів, а отже, змінюючи ці фізико-хімічні властивості [16].

Склад фосфоліпідів є важливим фактором більшості клітинних процесів.

Ліпідні метаболіти, такі як фосфогліцероліпіди (ФЛ) та сфінголіпіди (СЛ), є складовими клітинної мембрани і відіграють ключову роль у різноманітних фізіологічних та біологічних процесах, включаючи апоптоз і аутофагію. Ці ліпідні метаболіти також є основними компонентами ліпопротеїдів плазми, включаючи ліпопротеїди низької та високої щільності.

Оскільки соматичні тканини поглинають та/або виводять ліпідні метаболіти через ліпопротеїни, рівні циркулюючих метаболітів ліпідів тісно пов'язані з рівнями ліпідних метаболітів у тканинах [17]. Таким чином, циркулюючі метаболіти ліпідів можуть бути пов'язані з багатьма фізіологічними та біологічними процесами у всьому тілі, а отже, можуть допомогти у виборі корисних біомаркерів для оцінки хворих станів та реакцій на ліки [18].

1.2 Роль печінки в обміні ліпідів

Печінка відіграє ключову роль в обміні ліпідів. Вона надзвичайно активна в окисненні тригліцеридів для виробництва енергії. Розщеплює набагато більше жирних кислот, необхідних гепатоцитам, і експортує велику кількість ацетоацетату в кров, де його можна забрати та легко метаболізувати іншими тканинами.

Печінка є основним місцем для перетворення надлишкових вуглеводів та білків у жирні кислоти та тригліцериди, які потім експортуються та зберігаються у жировій тканині.

Вона синтезує велику кількість холестеролу та фосфоліпідів. Деякі з них зв'язані з ліпопротеїнами і доступні для решти тіла. Залишок виділяється з жовчою у вигляді холестеролу або після перетворення в жовчні кислоти [19].

Залежно від виду, вона більш або менш є центром синтезу жирних кислот і циркуляції ліпідів шляхом синтезу ліпопротеїнів [20].

Метаболізм ліпідів включає кілька шляхів, які принаймні частково є взаємозалежними та «перехресно регульованими». Жирні кислоти – це найчастіше циркулюючі та збережені форми енергії, а триацилгліцероли – найпоширеніша нетоксична форма жирних кислот. Жирні кислоти/триацилгліцероли можуть походити з чотирьох джерел: ліпогенезу *de novo*, запасів цитоплазматичного триацилгліцеролу, жирних кислот, отриманих із триацилгліцеролу залишків ліпопротеїнів, безпосередньо поглинутих печінкою, та неестерифікованих жирних кислот плазми (НЕЖК),

що виділяються жировою тканиною. Відносна важливість цих джерел залежить від видових відмінностей (наприклад, у жуйних тварин спостерігається лише незначна кількість печінкового ліпогенезу *de novo*

порівняно з жировою тканиною; щодо птахів, у них печінка є основним центром ліпогенезу *de novo*), коротко- і довгострокових станах харчування та

енергетичним балансом. Жирні кислоти та триацилгліцероли також можуть використовуватися різними способами. Триацилгліцероли можуть

накопичуватися в гепатоцитах (тоді як НЕЖК або активовані форми НЕЖК не можуть), якщо НЕЖК окиснюється (повністю, частково) або вони

експортуються як складові ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЦ).

Вміст триацилгліцеролу в гепатоцитах регулюється активністю клітинних молекул, що полегшує засвоєння жирних кислот печінкою, синтезу

жирних кислот та естерифікацію, окиснення жирних кислот в печінці та

експорт триацилгліцеролу. Більш того, і що важливо, жирні кислоти регулюють загальний ліпідний обмін шляхом зв'язування ядерних рецепторів, які модулюють транскрипцію генів [21–24].

Синтез жирних кислот *de novo* називають ліпогенезом, який є ключовим метаболічним шляхом для енергетичного гомеостазу у вищих тварин.

Ліпогенний потік жорстко контролюється гормональними та харчовими умовами. Таким чином, дієти з високим вмістом вуглеводів прискорюють

ліпогенез, тоді як голодування гальмують ліпогенез *de novo*, що також залежить від концентрації інсуліну та тканинної чутливості до нього.

Дві основні тканини виробляють жирні кислоти в організмі: печінка і жирова тканина. Жирні кислоти, синтезовані в печінці, експортуються шляхом виробництва ліпопротеїнів, і таким чином забезпечують джерело енергії та

структурні компоненти для побудови мембран. У жировій тканині синтез жирних кислот *de novo* безпосередньо сприяє відкладенню жиру *in situ* та

довготривалому накопиченню енергії.

Синтез жирних кислот *de novo* відбувається в цитозолі як послідовне продовження алканового ланцюга, двох вуглеців одночасно, в якому ацетильні

одиниці (похідні або з глюкози, або з ацетату) поступово додаються до «праймера» (початкової вихідної молекули, зазвичай ацетил-CoA) шляхом серії реакцій декарбоксилатної конденсації [25–27].

Синтез гліцероліпідів. Ферменти, необхідні для біосинтезу гліцероліпідів, знаходяться в мікросомальній фракції клітин.

Лише кілька НЕЖК містяться в організмі тварин, більшість з них естерифіковано до гліцерину, який зустрічається у вигляді гліцероліпідів.

Естерифікація відбувається на цитозольній поверхні мікросомальної мембрани.

Фосфоліпіди переносяться на мембрани, тоді як триацилгліцероли тимчасово транспортуються в резервуар для зберігання цитозолів, з якого вони можуть бути мобілізовані шляхом процесу ліполізу/повторної етерифікації.

Результати досліджень зрізів печінки показали, що види з обмеженим

печінковим ліпогенезом мають меншу здатність виділяти триацилгліцероли з печінки порівняно з видами, у яких печінка є основним джерелом ліпогенезу.

Жирні кислоти переважно естерифікуються у фосфоліпіди, які входять до складу клітинних мембран.

Окиснення жирних кислот. Два основні фактори, що регулюють ступінь окиснення жирних кислот печінкою – це надходження жирних кислот до печінки (шляхом ліполізу) та розподіл між окисненням та мікросомальною естерифікацією.

Жирні кислоти можуть бути окиснені або в мітохондріях, або в пероксисомах. Мітохондріальне окиснення може бути як повним, так і неповним. Неповне окиснення призводить до утворення кетонових тіл.

Кетогенез. В умовах підвищеного поглинання жирних кислот печінка часто виробляє велику кількість кетонових тіл: ацетоацетат, β -гідроксибутират та ацетону, цей процес відомий як кетогенез [2832]. Це фізіологічний процес, що постійно відбувається в організмі тварин. Кетонові тіла утворюються в печінці, м'язах, головному мозку, молочній залозі та інших органах. Виділяються вони з організму у вигляді ацетооцтової кислоти та

ацетону (переважно із сечею). Кетонів тіла не мають ниркового порогу. Основними джерелами утворення кетонів тіл є продукти гліколізу і глюконеогенезу, а в жуйних тварин – головним чином ЛЖК рубця. Є кілька шляхів утворення кетонів тіл. При розпаді моноцукрів, жирів (жирних кислот і гліцеролу), а також цілого ряду амінокислот утворюється активована оцтова кислота – ацетил-S-CoA ($\text{CH}_3\text{CO-S-CoA}$). Вона утворюється, насамперед, при використанні жирів як енергетичного матеріалу. При потребі організму в енергії відбувається мобілізація жиру із жирових депо, його розпад на гліцерол і жирні кислоти, які окиснюються майже в усіх тканинах, але найбільш у мітохондріях печінки [33, 34].

Таким чином, метаболізм ліпідів у печінці це високо координований процес, у якому багато шляхів регулюються ядерними рецепторами та факторами транскрипції. Він знаходиться під жорстким контролем внутрішньоклітинних рівнів і складу НЖК, але також інших метаболічних та гормональних факторів (наприклад, вуглеводів, алкоголю, інсуліну). Незважаючи на складність та ступінь координації роботи ліпідного механізму печінки, переповнення будь-якого пулу метаболітів та/або зміна ядерних сенсорних рецепторів, може призвести до порушення функцій органів та подальших патологій [35].

1.3 Токсична дія антибіотиків на печінку

Незважаючи на те, що печінка піддається впливу ліків та їх метаболітів, побічні дії антибіотиків на печінку є набагато рідшими, ніж інші побічні ефекти, такі як шлунково-кишкові розлади або шкірні реакції. Однак підкреслюється потенційна тяжкість побічних ефектів печінки для деяких препаратів. Ураження печінки, пов'язані з антибіотиками, охоплюють більшість клінічних і патологічних проявів печінкової дисфункції, включаючи цитотоксичний гепатит (ізоніазид), внутрішньопечінковий холестазаз (макроліди, пеніциліни, клавуланова кислота), змішаний гепатит

(сульфаніламід), хронічний активний гепатит (нітрофурантоїн) або мікроезичулярний стеатоз (тетрациклін). У більшості випадків токсичність є ідіосинкратичною, реакції виникають лише у деяких сприйнятливих осіб.

Механізми, що лежать в основі токсичності, можуть бути насамперед метаболітно-залежними (ізоніазид), опосередкованими гіперчутливістю (бета-

лактами) або бути результатом обох процесів (сульфаніламід, похідні еритроміцину). У деяких випадках печінка не є основним органом-мішенню

токсичності, але, здається, опосередковує клінічну експресію деяких побічних ефектів, викликаних антибіотиками. Найбільш значним прикладом цього є

гіпопротромбінемія, спричинена інгібуванням печінкового гамма-карбоксілювання вітамін К-залежних факторів згортання сульфгідрильними групами цефалоспоринів. Інгібування кон'югації або транспорту білірубину

рифампіцином або фузидовою кислотою також можна розглядати як побічні ефекти антибіотиків у печінці [36].

Типи побічних ефектів з боку печінки, викликаних антибіотиками.

Спектр порушень функції печінки, пов'язаних з антибіотиками, включає

більшість клінічних та патологічних проявів ураження печінки. Крім того,

деякі антибактеріальні засоби можуть викликати більш ніж один тип уражень.

Таким чином, типи побічних реакцій печінки, викликані антибактеріальними засобами, включають цитотоксичні ураження, холестатичні, змішані цитотоксичні та холестатичні, стеатоз, хронічний активний гепатит і цироз.

Крім того, деякі препарати можуть заважати певним фізіологічним процесам,

що проходять у печінці і тим самим викликають побічні ефекти, такі як гіпербілірубінемія через втручання в транспорт білірубину та кон'югацію, або гемостатичні порушення, пов'язані з пригніченням печінкового синтезу

вітамін К-залежного фактору згортання крові [37].

Цитотоксичні ураження відносяться до гострого гепатоцелюлярного некрозу, що відображається підвищенням рівня трансаміназ в сироватці крові.

Схоже, що рівень білірубину в сироватці та коагулопатія корелюють з тяжкістю пошкодження. Клінічно цитотоксичне ушкодження, спричинене

лікарськими засобами, може не відрізнятися від некрозу спричиненого вірусним гепатитом [38].

Тяжкість травми може коливатися від безсимптомної до гострої печінкової недостатності, спричиненої ізоніазидом. Припинення лікування препаратами, які мають такий вплив зазвичай призводить до швидкого поліпшення. Мікроезидулярний стеатоз (жирова дистрофія печінки) тетрацикліном, можна розглядати як тип цитотоксичного пошкодження.

Холестатичне ураження обумовлене вибірковим порушенням здатності гепатоцитів до виділення жовчі, яка виникає із запаленням печінки або без нього. Цей стан важко диференціювати від обструкції жовчних протоків, а також внутрішньопечінковим холестазом з інших причин. Похідні еритромицину є провідними збудниками такого порушення. У ряді випадків медикаментозне ураження печінки чітко не вписується в гостру печінкову

недостатність або холестатичну картину і класифікується як змішане. У цьому стані хворі виявляють помірні порушення активності амінотрансфераз сироватки крові та лужної фосфатази. У деяких випадках клінічні ознаки можуть нагадувати типовий вірусний гепатит. Гепатит, спричинений β -лактамними антибіотиками або сульфаніламидами, часто має таку картину.

Хронічний активний гепатит характеризується прогресуючим некрозо-запальним процесом з синдромом портального запалення, перипортального некрозу та фіброзу. Макронодулярний цироз іноді може виникнути внаслідок тривалого впливу фактору [39].

Негепатотоксична дія антимікробних засобів на печінку в основному відноситься до інгібування певних β -лактамних антибіотиків біосинтезу вітамін К-залежних факторів згортання крові. Це пов'язано з порушенням печінкового γ -карбоксилювання вітаміну K1, яке деякі автори приписують бічному ланцюгу N-метилтіотетразолу деяких цефалоспоринів.

Іншим метаболічним ефектом є втручання у транспорт білірубіну та кон'югацію, яка викликає гіпербілірубінемію без інших ушкоджень. Цей

негативний ефект також може розглядатися як варіант холестатичного ураження, описаного для рифампіцину та фузидової кислоти.

Медикаментозно зумовлене ураження печінки – рідкісний клінічний діагноз, який спричинює значну кількість захворювань та смертність, залишаючи його провідною причиною гострої печінкової недостатності.

На даний час найбільш поширеними антибактеріальними препаратами, що відповідають за порушення функціонального стану печінки вважаються макроліди, сульфаніламідиди та β -лактами [40].

Макролідні антибіотики – похідні еритроміцину. Оскільки еритроміцинова основа інактивується в шлунку через кислу рН, було розроблено кілька похідних, щоб запобігти цьому розпаду: еритроміцин стеарат (сіль), еритроміцин етилсукцинат або пропіонат (складні естери) та еритроміцин естолат (сіль складного естеру). Серед вищезгаданих сполук,

естолат найчастіше викликає гепатит. Клінічна картина гепатиту, викликаного еритроміцином, схожа для трьох типів похідних і часто схожа на холангіт. Сироваткові рівні амінотрансфераз помірно підвищуються і часто асоціюються з помірним підвищенням активності лужної фосфатази.

Сульфаніламідиди: гепатотоксичність, пов'язана з впливом сульфаніламідів, зустрічається у 0–6% пацієнтів.

β -лактамі антибіотики. Пеніциліни є добре відомою причиною субклінічного ураження печінки частіше цитолітичне, ніж холестатичне.

Найчастіше спричинюють його карбеніцилін та оксацилін (та їх похідні).

Описано легкий бактеричний гепатит після застосування великих доз карбеніциліну (30 мг/добу)

Повшкодження печінки, ймовірно, є результатом ідіосинкразії, враховуючи рідкість гепатотоксичності, відсутність дозозалежності та довготривалий період до настання аномалій печінки. Незважаючи на велику кількість варіантів клінічних симптомів, що вказують на алергію, інші дані здається, вказують на імуніалергічний процес як основу реакції печінки на пеніциліни [41].

Нещодавно в кількох статтях повідомлялося, що при вживанні комбінації амоксицилін-клавуланова кислота (АСК) може розвиватися ураження печінки. У більшості випадків гепатит був холестатичним або змішаним, а печінкові аномалії зникали після припинення терапії.

Тетрацикліни Задокументовано докази гепатотоксичності при внутрішньовенному введенні похідних тетрацикліну. Важливими факторами у пацієнтів з ознаками токсичності тетрацикліну: найчастіше його вводили внутрішньовенно в надмірній кількості або вводили препарати пацієнтам з поганою функцією нирок у звичайній дозі або у надмірних кількостях.

Оскільки ці препарати виводяться переважно нирками, це може призвести до високого рівня тетрациклінів у сироватці крові. В іншому випадку гепатотоксичність при пероральному прийомі тетрациклінів не була значною клінічною проблемою. Характерно, що з'являється мікроемульсарний стеатоз

з невеликим некрозом, холестазом та запаленням. Механізм такий: тетрациклін пригнічує мітохондріальне окиснення жирних кислот, основний ефект – при збільшенні концентрації вільних попередників жирних кислот у печінці, що згодом може сприяти їх підвищеній естерифікації та накопиченню у вигляді

триацилгліцеролів. Оскільки вільні жирні кислоти та продукти їх мікросомального окиснення токсичні для мітохондрій, ця токсичність може сприяти розвитку патології печінки високими дозами тетрацикліну

Тетрацикліни рідко можуть призводити до ідіосинкратичного некрозу у собак і кішок, і було виявлено, що вони збільшують накопичення гепатоцелюлярних ліпідів у багатьох видів [42-44].

1.4 Використання фосфоліпидовмісних препаратів за гепатопатології

Протягом понад 100 років експерти визнають користь фосфоліпідів для зменшення симптомів таких захворювань, як хвороби серця, рак та запалення.

Вони здатні виправляти пошкодження печінки, викликані неправильним харчуванням та іншими факторами.

Фосфоліпіди – унікальні та універсальні молекули. Вони природні основні компоненти клітинних мембран. Розташовані двошарово, фосфоліпіди відіграють важливу роль у структурі та функціональності біологічних мембран. Фосфоліпіди є важливими компонентами всіх клітин і субклітинних мембран, причому фосфатидилхолін і фосфатидилетаноламін зустрічаються у найбільш великій кількості, і вони можуть утворювати ліпідні бішари. В доповнення до фосфоліпідів, холестеролу, гліколіпідів, периферичні та інтегральні білки також включені в мембрани. Таким чином, основна структура біологічних мембран є серією повторюваних одиниць ліпідно-білкового комплексу [45]. Цілісність і функції зовнішньої (клітинної) та внутрішньої (субклітинної) систем мембран залежать від їх складу та цілісності фосфоліпідної структури [46-48]. Мембрани вибірково проникні

структури, які необхідні для ефективного поділу клітини або органели з її оточення. Без фосфоліпіду не утворюються мембрани або клітини ссавців.

Крім клітинних мембран, фосфоліпіди є структурними та функціональними складовими поверхневих моношарів ліпопротеїдів [49]. плеври і альвеоли легенів, перикарда, суглобів, очеревини та шлунково-кишкові сурфактанти і разом з холестерином і жовчними кислотами вони утворюють змішані міцели в жовчному міхурі [50-52]. Додатково до синтезу хіломікронів, синтезуються ліпопротеїни та/або метаболізуються в печінці, і їх основним завданням є транспортування ліпофільних триацилгліцеролів і холестеролу через гідрофільну кров [53].

Фосфоліпіди амфифільні і складаються з гідрофільної головної групи та ліпофільного/гідрофобного хвоста.

Хімічна структура фосфоліпідів, 1-пальмітоїл-2-олеїл-гліцеро-3-фосфохоліну (POPC) та різних альтернативних груп, що відрізняються за типом спирту: фосфатидилетаноламін (PE) з етаноламіном,

фосфатидилгліцерин (PG) з гліцерином, фосфатидилсерин (PS) з серином та фосфатидилінозитол (PI) з інозитом.

Все більше доказів того, що фосфатидилхолін, тип фосфоліпідів, що міститься в яйцях, рибі та соєвих бобах, може зменшити жир у печінці. Це вказує на потенційні переваги збільшення фосфоліпідів як засобу лікування жирової хвороби печінки та підтримки її функції [54-55].

Фосфатидилхоліни відповідають за клітинну диференціацію, проліферацію та регенерацію, а також всього, що стосується транспорту молекул через мембрани. Вони контролюють мембранозалежні метаболічні процеси між внутрішньоклітинними та міжклітинними просторами, підтримують і сприяють активності та активації мембранно-зв'язаних білків ферментів (наприклад, Na^+ , K^+ -АТФ-аза, ліпопротеїнліпаза, лецитинхолестеролацилтрансфераза (LCAT) і цитохром оксидаза), та рецепторів (наприклад, інсулінові), та містять зв'язані поліненасичені жирні кислоти, які вивільняються по вимозі їх попередників цитопротекторних простагландинів та інших ейкозаноїдів. Вони є джерелом вторинних передач клітинної сигналізації (наприклад, діацилгліцерол), містять фосфат для клітинних процесів, включаючи утворення АТФ, беруть участь в емульгації жиру в шлунково-кишковому тракті та жовчі, є визначальним фактором агрегації еритроцитів і тромбоцитів, а також впливають на імунологічні процеси на клітинному рівні.

У ссавців, поліненасичені жирні кислоти, такі як ліолева кислоти є основними складовими фосфоліпідів, а вони впливають на плинність клітинної мембрани та модулюють активність мембранозв'язаних ферментів, переносників і рецепторів [56-59].

Стверджується, що з'являється все більше доказів того, що фосфатидилхолін, тип фосфоліпиду, що міститься в яйцях, рибі та соєвих бобах, може зменшити кількість жиру в печінці.

Також використовують біологічно активну добавку на основі фосфоліпідів виділених з пахти (молока). До складу БАД входять: суміш різних класів ліпідів, які походять з молока (фосфоліпід, холестерол, триацилгліцерили), комплекс ненаситних жирних кислот, метіонін та жиророзчинні вітаміни (α -токоферол і ретинолу ацетат). Молочні фосфоліпідні БАД забезпечують відновлення структури і численних функцій пошкоджених бішарових мембранних структур, формують поверхневий заряд клітин, сприяють всмоктуванню жирів в кишечнику, необхідні для утворення вторинних внутрішньоклітинних посередників та здійснюють імунорегулюючу, рецепторну і енергетичну функції [60].

Більшість захворювань печінки занадто складні, щоб їх лікувати тільки одним препаратом, що ускладнює оцінку ефективності будь-якого компонента лікування. Проте всі захворювання печінки включають дефекти, пов'язані з мембранами, як принаймні частково індуковані пероксидним окисненням ліпідів як однією з найперших ознак. ЕФЛ є одним із обговорюваних препаратів зі значним позитивним впливом при жирових хворобах печінки. Через його мембранотропну, антиоксидантну та антифіброзну дії, введення ЕФЛ є патогенетично виправданим [61].

1.5 Висновок до огляду літератури

Ліпіди – велика група жирів і жироподібних речовин, які містяться в усіх живих клітинах. Це органічні сполуки. Їх загальними властивостями є відносна нерозчинність у воді і розчинність в полярних розчинниках. За хімічною будовою ліпіди є похідними жирних кислот, спиртів, альдегідів, утвореними за допомогою фосфоестерних, глікозидних зв'язків. Разом з білками і вуглеводами це основні компоненти всіх видів клітин. У різних органах і тканинах вміст ліпідів неоднаковий. Особливо багато їх у нервовій тканині, серці, печінці, нирках, крові, насінні і плодах деяких рослин. У наш час помітно зріс інтерес до ліпідів. Це пов'язано з тими функціями, які ліпіди виконують в організмі рослин, тварин і людини. Дослідження двох останніх десятиліть показали, що складні ліпіди і їх природні комплекси є основою біологічних мембран і у складі їх здійснюють найважливіші життєві процеси. Встановлено також, що серйозні ураження нервової системи, розлади серцево-судинної системи тісно пов'язані з порушенням обміну ліпідів.

Сучасна номенклатура і класифікація ліпідів, що використовується в дослідженнях у галузі ліпідоміки, ґрунтується на поділі їх на вісім основних груп: жирні кислоти; гліцероліпіди; гліцерофосфоліпіди; сфінголіпіди; стероїдні ліпіди; пренільні ліпіди; сахароліпіди; полікетиди.

Циркулюючі метаболіти ліпідів можуть бути пов'язані з багатьма фізіологічними та біологічними процесами у всьому тілі, а отже, можуть допомогти у виборі корисних біомаркерів для оцінки хворих станів та реакцій на ліки.

Метаболізм ліпідів у печінці – це високо координований процес, у якому багато шляхів регулюються ядерними рецепторами та факторами транскрипції. Він знаходиться під жорстким контролем внутрішньоклітинних рівнів і складу ПЕЖК, але також інших метаболічних та гормональних факторів (наприклад, вуглеводів, інсуліну). Незважаючи на складність та ступінь координації роботи ліпідного механізму печінки, переповнення будь-

якого пулу метаболітів та або зміна ядерних сенсорних рецепторів, може призвести до порушення функцій органів та подальших патологій.

Тому дослідження впливу препаратів на печінку вважається актуальним та важливим питанням в наш час. Медикаментозно зумовлене ураження печінки – рідкісний клінічний діагноз, який спричинює значну кількість захворювання та смертності, залишаючи його провідною причиною гострої печінкової недостатності.

Ураження печінки, пов'язані з антибіотиками, охоплюють більшість клінічних і патологічних проявів печінкової дисфункції, включаючи цитотоксичний гепатит, внутрішньопечінковий холестаз, зміщаний гепатит хронічний активний гепатит або мікроезцикулярний стеатоз.

Протягом понад 100 років експерти визнають користь фосфоліпідів для зменшення симптомів таких захворювань, як хвороби серця, рак та запалення.

Вони здатні відновити пошкодження печінки, викликані неправильним харчуванням та іншими факторами.

ЕПЛ є одним із обговорюваних препаратів зі значним позитивним впливом при жирових хворобах печінки. Через його мембрану, антиоксидантну та антифіброзну дію, введення ЕПЛ є патогенетично виправданим.

НУБІП України

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Схема досліду та база проведення біохімічних досліджень

НУБІП України

Лабораторні дослідження проводилися на базі ННЦ «Інститут високих технологій» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

НУБІП України

Експериментальна частина роботи виконувалася на базі віварію вище наведеного університету. Віварій оснащений каналізацією, водопроводом, витяжкою і кондиціонером. Регулярно проводиться вологе прибирання з дезінфікуючими засобами. Тварини знаходяться в клітках з тирсовою підстилкою, яку замінюють кожні дві доби.

Схема досліду

НУБІП України

Для досліду використовували лабораторних білих щурів, яких відбирали в групи по 5 особин з масою 200–250 г у кожній. У результаті сформовано чотири групи (3 – дослідні і 1 – контрольна) у кожній по 5 особин. Кожна група тварин розміщувалась в окремих клітках з вільним доступом до води і корму.

НУБІП України

До початку досліду тварини знаходились на карантині з контролем клінічного стану. Впродовж експерименту спостерігали за кількістю випитої води, апетитом та відповідної зміною маси тіла всіх груп. Тривалість досліду становила 9 діб.

НУБІП України

У щурів двох груп (самореабілітація та лікування) експериментально моделювали гепатоз антибактеріальним препаратом тетрациклінового ряду, перорально 250–500 мг/кг відповідно до маси тіла у вигляді розчину один раз на добу протягом 9 діб. При цьому першій групі не вводили препарат для лікування, на відміну від другої (лікування). Третя група представляє собою здорових щурів, але із задаванням лікувального препарату БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока. В контрольній групі представлені інтактні щури, яким задавали еквівалентний об'єм дистильованої води

В кінці досліджу від щурів отримували зразки крові для подальшого дослідження, відбір проб проводився під етерним наркозом щурів. Кров відбирали з черевного відділу аорти в вакуумні пробірки. Далі центрифугували при 1500 об/хв продовж 10 хв.

Усі маніпуляції з щурами здійснювали відповідно до вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Страсбург, 1986), закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447 від 21.02.2006 р.

2.2 Методика дослідження ліпідного спектру плазми крові щурів

Ліпідний спектр плазми крові щурів визначали методом тонкошарової хроматографії, запропонованого [62].

Плазму, яку збрали під час досліджу наносили на хроматографічний папір по 40 мкл з кожної проби, даючи їй висохнути. Потім плазму, яка висохла на папері, подрібнювали на маленькі шматочки і поміщали їх в пробірку, яку закривали щільно корком.

Виділення ліпідів плазми крові відбувалося за рахунок однофазної системи органічних розчинників у співвідношенні: хлороформ: ацетон: етанол (7:2:1). Взяти кількість розчинників екстрагуючої системи у співвідношенні до проби (20:1). У пробірку до подрібненого хроматографічного паперу з плазмою додавали 1мл вказаного розчинника та залишали його на 15 хв в шутель-апараті. Рідину, яку при цьому отримували зливали в бюкс, а до залишків доливали ще по 0,5 см³ двічі екстрагуючої рідини з інтервалом у 5 хв в шутель-апараті. Отриманий екстракт, який містить ліпіди плазми крові, після випаровування розчинника аналізували.

Хроматографічне розділення загальних ліпідів плазми крові здійснювали на тонкошарових пластинах "Silufol" (15 x 15 см) заздалегідь активуючи їх в термостаті за температури 110°C протягом 1 год. У цей момент у хроматографічну камеру вносили фільтрувальний папір для кращого

Н насичення і наливали суміш розчинників: гексан-діетиловий етер-оцтова кислота (7 : 23 : 1). Сухий залишок ліпідів розчиняли в хлороформно-бензольно-ацетоновій суміші (1 : 2 : 1) в 20–100 мкл і наносили на заздалегідь розмічену хроматограму .

Н Впродовж 10–15 хв на пластинці розподілялися ліпіди плазми крові на фракції: етери холестеролу, триацилгліцероли, вільні жирні кислоти, вільний холестерол, фосфоліпіди.

Н Розчинник з хроматограми видаляли у витяжній шафі. Потім хроматограму фарбували 10-ти % розчином фосфорномолібденової кислоти в етанолі скляним лабораторним обприскувачем. Для проявлення фракцій ліпідів пофарбовану хроматограму поміщали в термостат з температурою 110 °С. Кількісну оцінку ліпідів плазми визначали за допомогою денситометра марки ДО-1М. Кількість ліпідів в плазмі крові виражали в мг%.

Н Статистичну обробку отриманих результатів проведено з використанням програми “Statistica 5.0” (“StatSoft Inc.”, США), враховуючи критерій t-Стьюдента при нормальному розподілі даних. Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Ліпідний склад плазми крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу

Використання методу тонкошарової хроматографії загальних ліпідів плазми крові в лабораторних щурів за розвитку тетрациклініндукованого гепатозу показало, що їх якісний склад залишається без змін і містить шість ліпідних фракцій: фосфоліпиди, вільні жирні кислоти, триацилгліцероли, загальний холестерол та його фракції: вільну та естерифіковану (рис. 3.1).

У результаті експериментального моделювання в щурів медикаментозної форми гепатозу встановлено вірогідне зменшення на 30,8% вмісту в плазмі крові загальних ліпідів порівняно з контролем (табл. 3.1).

Таблиця. 3.1

Вміст загальних ліпідів у плазмі крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, мг% ($M \pm m$, $n = 5$)

№ зразка плазми крові	Контроль	I група, самореабілітація
1	550,9	416,9
2	600,5	461,9
3	645,4	475,6
4	631,2	433,0
5	599,2	306,1
$M \pm m$	605,4 \pm 21,2	418,7 \pm 23,6*

Примітка. Тут і в наступних таблицях * - $P < 0,05$ порівняно зі значеннями контрольної групи.

Даний факт може бути наслідком погіршення апетиту, що характерно для хворих тварин I групи, порушення процесів засвоєння екзогенних ліпідів корму на рівні кишечника та їх ендogenous синтезу в гепатоцитах.

Аналогічні тенденції щодо кількісних змін індивідуальних ліпідних фракцій виявляються у хворих щурів цієї групи (самореабілітація).

Зокрема, у хворих на експериментальний тетрациклініндукований гепатоз щурів відмічається вірогідне зменшення в плазмі крові на 31,8% рівня фосфоліпідів (табл. 3.2), що доводить порушення процесів їх засвоєння та синтезу на рівні печінки. Ендogenous синтез фосфоліпідів у гепатоцитах може виникати на тлі зменшення вмісту жирних кислот та порушення активності ключових ферментів.

Таблиця 3.2

Вміст фосфоліпідів у плазмі крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, мг% (M ± m, n = 5)

№ зразка плазми крові	Контроль	I група, самореабілітація
	1	314,3
2	351,3	268,4
3	407,0	294,7
4	388,2	252,2
5	341,3	169,5
M ± m	360,4 ± 9,8	245,9 ± 7,8*

Печінка, як найбільша травна залоза в організмі ссавців, також відіграє важливу роль в обміні холестеролу, чим впливає на його концентрацію в крові.

Холестерол відноситься до стероїдів і характерний лише для тваринних організмів. Він продукується в багатьох тканинах ссавців, але основне місце синтезу – печінка. У цьому паренхіматозному органі утворюється більше 50%

стероїду, у тому числі в тонкому відділі кишечника – 15-20 %, решта холестеролу синтезується в шкірі, корі надниркових і статевих залоз. За добу в організмі продукується близько 1 г холестеролу; з кормом надходить біля 300-500 мг. В обміні холестеролу задіяні більше 300 різноманітних білків.

Порушення його обміну призводить до одного з найпоширеніших захворювань – атеросклерозу.

Найбільший вміст холестеролу в крові відмічають у складі ліпопротеїнів низької і дуже низької щільності, які відносяться до атерогенних ліпопротеїнових фракцій. Їх синтез відбувається в гепатоцитах. У хворих щурів I групи встановлено вірогідне зменшення в плазмі крові вмісту загального холестеролу на 27,6 % порівняно з контролем (табл. 3.3), що вказує на порушення його утворення в гепатоцитах і подальші розлади у формуванні з його участю відповідних ліпопротеїнових комплексів.

Таблиця 3.3
Вміст загального холестеролу в плазмі крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, мг% ($M \pm m$, n = 5)

№ зразка плазми крові	Контроль	I група, самореабілітація
1	173,2	135,5
2	194,0	149,0
3	185,8	140,9
4	187,7	142,6
5	194,5	109,3
$M \pm m$	$187,0 \pm 8,7$	$135,4 \pm 6,5^*$

Закономірних кількісних змін зазнають і відповідні фракції холестеролу в крові хворих щурів I групи. Так, у крові цих тварин встановлено вірогідне зменшення на 19,3% концентрації вільного холестеролу порівняно з

контролем (табл. 3.4). Зазначена фракція цього ліпиду найбільш представлена в структурі клітинних мембран, що вказує на можливі їх структурно-функціональні зміни за тетрациклінового навантаження на печінку.

Вміст вільного холестеролу в плазмі крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, мг% ($M \pm m$, $n = 5$)

№ зразка плазми крові	Контроль	I група, самореабілітація
1	81,2	79,5
2	88,5	80,3
3	104,6	77,7
4	92,0	72,2
5	86,7	56,0
$M \pm m$	$90,6 \pm 6,2$	$73,1 \pm 4,2^*$

Більш виражених кількісних змін у цілісній крові щурів зазнає фракція естерифікованого холестеролу (табл. 3.5). Вона переважає в крові і запасється в невеликих кількостях в деяких типах клітин, які залучають його як субстрат для синтезу інших речовин. Зокрема, у хворих тварин I групи за умов самореабілітації виявлено різке зменшення вмісту естерифікованого холестеролу на 35,4% порівняно з контролем. В утворенні цього ліпиду безпосередньо бере участь печінка, оскільки фермент АХАТ (ацил-КоА холестеролацилтрансфераза), що каталізує реакцію естерифікації, синтезується лише в гепатоцитах. Реакція естерифікації відбувається також у крові, де знаходиться фермент лецитин:холестеролацилтрансфераза. Естери холестеролу — форма, в якій вони депонуються в клітинах та транспортуються кров'ю. У крові майже 75% холестеролу перебуває у вигляді естерів.

Таблиця. 3.5
Вміст естерифікованого холестеролу в плазмі крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, мг% ($M \pm m$, n = 5)

№ зразка плазми крові	Контроль	I група, самореабілітація
1	92,0	56,0
2	105,5	68,7
3	81,2	63,2
4	95,7	70,4
5	107,8	53,3
$M \pm m$	$96,4 \pm 7,7$	$62,3 \pm 5,9^*$

Сумарний вміст вільних жирних кислот також зазнає істотних змін у крові тварин I групи (табл. 3.6). Зокрема, відзначається вірогідне зменшення рівня вільних жирних кислот на 41,8% порівняно з контролем, що узгоджується з кількісними змінами показника загальні ліпіди плазми крові. Крім того, за результатами попередніх досліджень співробітниками кафедри біохімії і фізіології тварин ім. акад. М. Ф. Гулого ацильного складу ліпідів тканин печінки встановлено, що ключових змін за моделювання у щурів тетрациклінового її ураження зазнають кислоти класу поліненасичених жирних кислот, а саме: зниження вмісту ейкозапентоєнової (20:5 ω 3) в 1,2 рази, докозапентаєнової (22:5 ω 3) в 1,1 рази, докозагексаєнової (22:6 ω 3) кислот в 1,2 рази, а також сумарна кількість насичених жирних кислот SFA в 1,1 рази та величина співвідношення насичені жирні кислоти/ненасичені жирні кислоти в 1,3 рази і ω 3/ ω 6 в 1,3 рази [63].

Питання порушення складу жирних кислот та їх функціональної ролі за розвитку дистрофії печінки вивчено недостатньо. Метаболічний шлях, за яким відбувається перетворення жирної кислоти, залежить від її структури та морфологічного типу тканини.

Таблиця. 3.6

Вміст вільних жирних кислот в плазмі крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу мг% (M ± m, n = 5)

№ зразка плазми крові	Контроль	I група, самореабілітація
1	41,6	21,8
2	36,2	26,3
3	29,0	22,6
4	34,4	20,9
5	40,7	14,6
M ± m	36,4 ± 2,9	21,2 ± 1,6*

При цьому, низка генів, активність яких регулюється жирними кислотами, контролюється й продуктами інших метаболічних шляхів. Це є виявом інтеграції загального обміну речовин, який регулюється дієтичними, ендокринними, паракринними й аутокринними факторами, виконує життєво важливу роль підтримання клітинної функції на належному рівні. Встановлені закономірності в крові хворих тварин можуть вказувати на низку факторів, через які в ній знижується загальний вміст ліпідів: порушення апетиту, розлади перетравлення і засвоєння ліпідних молекул у травному каналі, надмірні енергетичні витрати організмом хворих тварин, швидке виснаження депо ліпідів, порушення синтезу та утилізації представників ліпідного спектра на рівні печінки тощо.

І завершується аналіз кількісних характеристик ліпідограми плазми крові у щурів, хворих на тетрациклініндукований гепатоз, результатами дослідження вмісту триацилліцеролів. Встановлені величини не відрізняються від таких у клінічно хворих тварин, а відзначаються лише тенденцією до зменшення їх вмісту в плазмі крові хворих щурів I групи (табл. 3.7). В діагностичному плані ці речовини недостатньо інформативні. Однак,

вони є важливим резервом для організму метаболічного палива, тому підлягають контролю лабораторними методами різних модифікацій.

Таблиця. 3.7

Вміст триацилгліцеролів у плазмі крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, мг% ($M \pm m, n = 5$)

№ зразка плазми крові	Контроль	I група, самореабілітація
1	21,8	14,6
2	19,1	18,2
3	23,6	16,4
4	20,9	17,3
5	22,7	12,8
$M \pm m$	$21,6 \pm 1,4$	$16,4 \pm 1,2$

Отже, в результаті глибокого аналізу ліпідного складу нативної крові лабораторних щурів за експериментального тетрациклініндукованого гепатозу встановлено зменшення вмісту як загальних ліпідів, так і окремих індивідуальних фракцій. Зокрема в крові цих тварин виявлено вірогідне зменшення концентрації загальних ліпідів – на 30,8%, фосфоліпідів – на 31,8%, загального холестеролу – на 27,6%, вільного холестеролу – на 19,3%, естерифікованого холестеролу на 35,4% та вільних жирних кислот – на 41,8%.

Без змін залишається лише рівень триацилгліцеролів в плазмі крові хворих тварин.

3.2 Коригувальна ефективність фосфоліпідів молока щодо ліпідного складу плазми крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу

У результаті застосування хворим щурам БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока встановлено відновлення вмісту в плазмі крові загальних ліпідів порівняно з контролем (табл. 3.8).

Таблиця. 3.8

Вміст загальних ліпідів у плазмі крові щурів за тетрацикліндукованого гепатозу, мг% ($M \pm m, n = 5$)

№ проби плазми крові	Контроль	II група тетрациклін + БАД «FLP-MD»	III група здорові + БАД «FLP-MD»
1	550,9	553,8	639,2
2	600,5	552,9	766,0
3	645,4	583,3	680,7
4	631,2	534,9	677,9
5	599,2	564,5	613,2
$M \pm m$	$605,4 \pm 21,2$	$557,9 \pm 24,8$	$675,4 \pm 11,7^*$

Примітка. Тут і в наступних таблицях * - $P < 0,05$, порівняно зі значеннями контрольної групи.

Даний факт може бути наслідком покращення апетиту в піддослідних тварин, що істотно відрізняє їх від хворих щурів I групи (самореабілітація), відновлення процесів засвоєння екзогенних ліпідів корму на рівні кишечника та їх ендogenous синтезу в гепатоцитах. Водночас застосування біодобавки клінічно здоровим тваринам сприяло вірогідному підвищенню на 11,6 % вмісту загальних ліпідів порівняно з контролем. Цей факт пояснюється додатковим введенням в організм піддослідних тварин екзогенних ліпідів (переважно фосфоліпідів), що входять до складу БАД «FLP-MD».

Варто відмітити, що вміст фосфоліпідів у плазмі крові щурів II і III груп (табл. 3.9), які додатково отримували біодобавку, характеризувався нормалізацією параметрів, навіть, у тварин за тетрацикліндукованого

гепатозу. При цьому, в здорових щурів III групи цей показник не виявляв зростання, що свідчить про їх інтенсивне засвоєння на рівні клітин.

Таблиця 3.9

Вміст фосфоліпідів у плазмі крові щурів за тетрацикліндукованого гепатозу, мг% ($M \pm m, n = 5$)

№ проби плазми крові	Контроль	II група тетрациклін + БАД «FLP-MD»	III група здорові + БАД «FLP-MD»
1	314,3	286,6	299,1
2	351,3	278,4	405,2
3	407,0	268,5	389,1
4	388,2	272,0	395,4
5	341,3	281,0	346,8
$M \pm m$	$360,4 \pm 9,8$	$277,1 \pm 12,9$	$367,1 \pm 10,1$

У разі визначення закономірностей щодо кількісних змін у плазмі крові загального холестеролу в піддослідних щурів встановлено нормалізацію його вмісту в тварин II групи і вірогідне зростання на 32,3% величини показника у тварин III групи (табл. 3.10), що може бути результатом додаткового його надходження у складі біодобавки та активізацією проміжного обміну цього стероїду в клінічно здорових щурів.

Закономірних кількісних змін зазнають і відповідні фракції холестеролу в плазмі крові щурів II і III дослідних груп (табл. 3.11). Зокрема, у хворих тварин II групи відзначали відновлення параметрів цього показника.

Таблиця 3.10

Вміст загального холестеролу в плазмі крові щурів за тетрацикліндукованого гепатозу, мг% ($M \pm m, n = 5$)

№ проби плазми крові	Контроль	II група тетрациклін +	III група
----------------------	----------	---------------------------	-----------

	БАД «FLP-MD»	здорові + БАД «FLP-MD»
1	173,2	256,0
2	194,0	304,6
3	185,8	234,5
4	187,7	229,9
5	194,5	211,9
M ± m	187,0 ± 8,7	247,4 ± 10,9*

Водночас у плазмі крові щурів ІІІ групи встановлено вірогідне зростання на 52,7 % концентрації вільного холестеролу порівняно з контролем.

Зазначене може бути результатом підвищення інтенсивності його ендогенного синтезу в печінці та за рахунок екзогенного надходження у складі біодобавки.

Таблиця 3.11

Вміст вільного холестеролу в плазмі крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, мг% (M ± m, n = 5)

№ проби плазми крові	Контроль	ІІ група тетрациклін + БАД «FLP-MD»	ІІІ група здорові + БАД «FLP-MD»
1	81,2	72,2	144,2
2	88,5	99,3	182,0
3	104,6	101,9	136,1
4	92,0	98,4	121,7
5	86,7	108,2	107,3
M ± m	90,6 ± 6,2	96,0 ± 8,4	138,3 ± 9,2*

У щурів ІІ і ІІІ груп зафіксовано відсутність кількісних змін у плазмі крові естерифікованої фракції холестеролу, що істотно їх відрізняє від тварин ІІ групи за умов самореабілітації (табл. 3.12). Цей факт є носередковано свідчить про вияв гепатопротекторної дії біодобавки «FLP-MD» та відсутність її негативного впливу на клітини печінки.

НУБІП України

Таблиця 3.12

Вміст естерифікованого холестеролу в плазмі крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, мг% ($M \pm m, n = 5$)

№ проби плазми крові	Контроль	II група тетрациклін + БАД «FLP-MD»	III група здорові + БАД «FLP-MD»
1	92,0	77,6	111,8
2	105,5	86,7	122,6
3	81,2	90,2	98,4
4	95,7	77,7	108,2
5	107,8	80,3	104,6
M ± m	96,4 ± 7,7	82,5 ± 6,1	109,1 ± 8,1

Аналогічно до попередньо описаного показника встановлено відсутність вірогідних змін щодо вмісту вільних жирних кислот у плазмі крові щурів обох дослідних груп (табл. 3.13). Це підтверджує коригувальний ефект дії біодобавки на піддослідних тварин.

Як і у випадку з попередньо розглянутими показниками ліпідограми, аналогічна закономірність відзначається і щодо вмісту у плазмі крові щурів II і III груп триацилгліцеролів (табл. 3.14).

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

Таблиця 3.13
Вміст вільних жирних кислот в плазмі крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу мг% (M ± m, n = 5)

№ проби плазми крові	Контроль	II група тетрациклін + БАД «FLP-MD»	III група здорові + БАД «FLP-MD»
1	41,6	27,2	62,3
2	36,2	38,0	38,0
3	29,0	43,4	40,7
4	34,4	26,3	37,1
5	40,7	28,1	39,9
M ± m	36,4 ± 2,9	32,6 ± 3,1	43,6 ± 3,2

Встановлені результати відповідають значенням контрольної групи, що в комплексі з результатами інших досліджень дозволяє стверджувати про відсутність гепатотоксичного ефекту дії компонентів біодобавки на гепатоцити та організм в цілому, а також її виражену корегувальну ефективність.

НУБІП України

Таблиця 3.14
Вміст триацилглицеролів у плазмі крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, мг% (M ± m, n = 5)

№ проби плазми крові	Контроль	II група тетрациклін + БАД «FLP-MD»	III група здорові + БАД «FLP-MD»
1	21,8	17,3	21,8
2	19,1	20,9	18,2
3	23,6	22,7	16,4
4	20,9	18,2	15,5
5	22,7	19,1	14,6
M ± m	21,6 ± 1,4	19,6 ± 1,8	17,3 ± 1,9

Триацилгліцероли містяться в незначній кількості у складі біодобавки, чим забезпечують відновлення пули цих сполук в організмі хворих тварин.

Таким чином, в результаті детального аналізу ліпідного складу плазми крові в лабораторних щурів за експериментального моделювання тетрацикліндукованого гепатозу та введення БАД «FLP-MD» встановлено

відновлення вмісту як загальних ліпідів, так і окремих індивідуальних фракцій, що доводить виражений корегувальний і гепатопротекторний ефект дії біодобавки. Водночас застосування клінічно здоровим щурам зазначеної

біодобавки стимулює утворення в гепатоцитах вільного холестеролу (підвищується на 52,7%), що позначається на зростанні вмісту як загального

холестеролу, так і загальних ліпідів, відповідно на 32,3 і 11,6%, порівняно з інтактними тваринами.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ 4

НАУБІП УКРАЇНИ

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ, ЇХ ЕКОЛОГІЧНЕ ТА ЕКОНОМІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ

4.1 Аналіз та узагальнення отриманих результатів

На сьогодні в медицині та ветеринарії зафіксоване різке зростання випадків токсичного ураження печінки, з яких до 40 % обумовлено лікарськими препаратами. Переважна частина гепатитів і цирозів печінки не встановлених за етіологією також викликана застосуванням медикаментів. Серед лікарських засобів із прямою цитотоксичною дією на гепатоцити при тривалому застосуванні та у великих дозах відзначаються антибіотики тетрациклінової групи. Тому використання цих препаратів для моделювання медикаментозного ураження печінки в тварин використовується у фармакологічних експериментах для визначення терапевтичної ефективності препаратів гепатопротекторного профілю.

Більшість антибіотиків після засвоєння у шлунково-кишковому тракті надходить до печінки, яка специфічно реагує на прийом медикаментів. У гепатоцитах вони зазнають біотрансформації передусім під дією ізоензимів цитохрому P450, 2E1 та 1A2 з подальшим утворенням N-ацетилбензохіноніміну (NAPQI). Наступні етапи перетворення антимікробних препаратів пов'язують із взаємодією їх похідних з глутатионом. З організму вони видаляються через травний тракт і нирки. Індукція або інгібування активності печінкових ензимів під дією ксенобіотиків призводить до зростання чи зменшення концентрації останніх у плазмі, як наслідок, до розвитку небажаних реакцій, передусім запалення і дистрофії.

У патогенезі токсичної дії тетрацикліну також відмічають посилення інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), що виникає на тлі зростаючого утворення вільних радикалів, ковалентного зв'язування електрофільних метаболітів із протеїнами, окиснення або зниження вмісту

вільного глутатіону. У результаті накопичення продуктів ПОЛ, у клітині пошкоджується ліпідний бішар мембран, що супроводжується зменшенням в них вмісту фосфоліпідів із одночасним зростанням рівня холестеролу. Нині

вже доведено ключову роль порушень ліпідного бішару мембран у розвитку тяжких патологій печінки, серцево-судинної та нервової систем, розладах багатьох функцій клітин крові тощо.

Відомо, що численні клітинні функції, такі як ензиматична активність, гормональна відповідь та проникність мембран, залежать від фізико-хімічних властивостей їх ліпідного бішару, основу якого складають фосфоліпіди. Отже,

функціонування клітинних мембранних систем залежить від структурної організації їхніх фосфоліпідних молекул. При цьому слід зазначити, що біосинтез фосфоліпідів – це складний багатостадійний процес, на який

впливають чинники екзо- та ендogenous середовищ. Окремі стадії біосинтезу різних представників тісно переплітаються, що ускладнює їх тонку регуляцію.

Таким чином, дослідження ліпідного складу тканин і органів тварин сприятиме визначенню особливостей патогенетичних змін структури організації основних функціональних клітин організму, що важливо у

визначенні лікарської тактики терапії гепатопатології, а також при розробці та випробуванні репаративної ефективності новостворених препаратів. Тому метою нашої роботи було визначити особливості ліпідного складу плазми

крові лабораторних щурів при експериментальному гепатозі на тлі введення антибіотика тетрацикліну та корегувальну ефективність біодобавки «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока.

У результаті використання методу тонкошарової хроматографії для розділення загальних ліпідів плазми крові в лабораторних щурів за розвитку тетрациклініндукованого гепатозу встановлено, що їх якісний склад

залишається без змін і містить шість фракцій: фосфоліпіди, вільні жирні кислоти, триацилгліцероли, загальний холестерол та його вільну й естерифіковану форми.

При цьому визначено, що ліпідний склад плазми крові лабораторних щурів за експериментального тетрациклініндукованого гепатозу характеризується зменшенням вмісту як загальних ліпідів, так і окремих індивідуальних фракцій. Зокрема, відзначається дефіцит загальних ліпідів – на 30,8%, фосфоліпідів – на 31,8%, вільних жирних кислот – на 41,8%, загального холестеролу – на 27,6%, вільного холестеролу – на 19,3% та естерифікованого холестеролу на 35,4%, хоча рівень триацилгліцеролів в плазмі крові хворих тварин залишається без змін.

Застосування хворим щурам БАД «FLP-MD» забезпечує відновлення вмісту як загальних ліпідів, так й індивідуальних фракцій, що доводить виражений корегувальний і гепатопротекторний ефект дії компонентів біодобавки.

У разі введення фосфоліпидовмісної біодобавки клінічно здоровим щурам стимулюється ендогенне утворення вільного холестеролу (зростає на 52,7%), що позначається на підвищенні вмісту як загального холестеролу, так і загальних ліпідів, відповідно на 32,3 і 11,6%, порівняно з інтактними тваринами, що опосередковано доводить коригувальний ефект впливу фосфоліпидовмісної біодобавки.

Таким чином, використання методу тонкошарової хроматографії рекомендується для проведення ефективної лабораторної діагностики порушень обміну ліпідів в організмі хворих тварин та визначення патогенезу внутрішніх хвороб, зокрема, печінки на молекулярному рівні.

4.2 Екологічне обґрунтування

Утримання і догляд за тваринами, а також всі маніпуляції проводились у відповідності з правилами гуманного відношення до тварин та чинних положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним Конгресом з біоетики (Київ, 2001), а також

«Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986).

4.3 Економічне обґрунтування

Експериментальна частина магістерської роботи включала фундаментальні дослідження якісних і кількісних характеристик ліпідного складу плазми крові за штучного моделювання в лабораторних щурів медикаментозної форми жирового гепатозу. Відтворення останньої здійснювали шляхом перорального введення в організм піддослідних тварин 4 % розчину тетрацикліну гідрохлориду у дозі 250 мг/кг маси тіла впродовж семи діб. Експериментальну гепатопатологію викликали у піддослідних тварин 1 і 2 дослідних груп по 5 особин у кожній. Таким чином, препарат тетрацикліну гідрохлориду задавали 10 лабораторним щурам. Водночас піддослідні тварини 2 і 3 дослідних груп (всього 10 особин) протягом 9 діб додатково з терапевтичною метою отримували розроблену на кафедрі біохімії і фізіології тварин ім. акад. М.Ф. Гулого біодобавку «FLP-MD». У зв'язку з тим, що зазначена біодобавка має експериментальний статус і не вийшла на фармацевтичний ринок, її ціна не буде враховуватися. Окремо було сформовано контрольну групу, в якій знаходилися інтактні щури. Матеріали та фінанси, які були витрачені під час експерименту наведені у табл. 4.1.

Ветеринарні витрати на проведення експерименту

Таблиця 4.1

Матеріал	Ціна за 1 одиницю, грн.	Кількість витрачених одиниць	Загальна ціна, грн.
Самці білих лабораторних шурів, <i>шт.</i>	180,00	20	3600,00
Повнораціонний збалансований корм, <i>1 кг</i>	10,00	12,5	125,00
Препарат тетрацикліну гідрохлориду, таб 100 мг n20, <i>1 уп.</i>	19,00	6	114,00
Витрати дослідження ліпідного спектра плазми крові, <i>1 дослідження - 6 показників</i>	45,00	20	900,00
Пробірки хімічні, конічні, <i>шт.</i>	10,00	20	200,00
Пробірки «Errendorf», <i>шт.</i>	0,56	60	33,60
Рукавиці одноразові, <i>1 уп.</i>	105,80	1	105,80
Шприци одноразові, 5 мл, <i>шт.</i>	3,00	10	30,00
Витрати на виготовлення БАД «FLP-MD», 100 мл	95,60	1	95,60
Всього:			5204,00

Таким чином, загальна сума ветеринарних витрат на проведення дослідду становила 5108,40 грн.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ВИСНОВКИ

НУБІП України

1. У магістерській роботі представлено теоретичне узагальнення і практичне вирішення завдань щодо лабораторної оцінки ліпідного складу

плазми крові лабораторних щурів за експериментального моделювання тетрацикліндукованого гепатозу та введення в їх організм фосфоліпідів молока у формі БАД «FLP-MD».

2. Використання методу тонкошарової хроматографії для розділення загальних ліпідів плазми крові в лабораторних щурів за розвитку тетрацикліндукованого гепатозу показало, що їх якісний склад залишається без змін і містить шість класичних фракцій: фосфоліпіди, вільні жирні кислоти, триацилгліцероли, загальний холестерол та його вільну й естерифіковану форми.

3. Ліпідний склад плазми крові лабораторних щурів за експериментального тетрацикліндукованого гепатозу характеризується зменшенням вмісту як загальних ліпідів, так і окремих індивідуальних фракцій. Зокрема, відзначається дефіцит загальних ліпідів – на 30,8%, фосфоліпідів – на 31,8%, вільних жирних кислот – на 41,8%, загального холестеролу – на 27,6%, вільного холестеролу – на 19,3% та естерифікованого холестеролу на 35,4%, хоча рівень триацилгліцеролів в плазмі крові хворих тварин залишається без змін.

4. Застосування хворим щурам БАД «FLP-MD» забезпечує відновлення вмісту як загальних ліпідів, так й індивідуальних фракцій, що доводить виражений корегувальний і гепатопротекторний ефект дії компонентів біодобавки.

5. Введення фосфоліпидовмісної біодобавки клінічно здоровим щурам стимулює ендогенне утворення вільного холестеролу (зростає на 52,7%), що позначається на підвищенні вмісту як загального холестеролу, так і загальних ліпідів, відповідно на 32,3 і 11,6%, порівняно з ітактними тваринами, що

опосередковано доводить коригувальний ефект впливу фосфоліповмісної біодобавки.

6. Використання методу тонкошарової хроматографії рекомендується для проведення ефективної лабораторної діагностики порушень обміну ліпідів

в організмі хворих тварин та визначення патогенезу внутрішніх хвороб, зокрема, печінки на молекулярному рівні.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Кучеренко, Н. Е., & Васильев, А. Н. (1985). Липиды. – К., 35–44.
2. Oresic, M, Hänninen, V. A., & Vidal-Puig A. (2008) Lipidomics: a new window to biomedical frontiers. Trends Biotechnol., 26, 647–652.
3. Watson, A. D. (2006). Lipidomics: a global approach to lipid analysis in biological systems. J Lipid Res, 47, 2101–2114.
4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3995129/>
5. Liebisch, G, Fahy, E, Aoki, J, Dennis, E. A., Durand, T., Ejsing, C. S., Fedorova, M, Feussner, I., Griffiths, W. J, Köfeler, H, Merrill, A. H. Jr, Murphy, R. C., O'Donnell, V. B., Oskolkova, O., Subramaniam, S, Wakelam, M. J. O., & Spener, F. (2020). Nomenclature and shorthand notation for MS-derived lipid structures, 61, 1539–1555.
6. Liebisch, G., Vizcaino, J. A., Köfeler, H., Trötz Müller, M., Griffiths, W. J., Schmitz, G., Spener, F., & Wakelam, M. J. (2013). Shorthand notation for lipid structures derived from mass spectrometry, 54, 1523–1530.
7. Fahy, E., Subramaniam, S., Murphy, R., Nishijima, M., Raetz, C., Shimizu, T., Spener, F., van Meer, G., Wakelam, M. & Dennis E. A. (2009). Comprehensive classification system for lipids. J. Lipid Res., 50, 9–14.
8. Fahy, E., Subramaniam, S., Brown, H., Glass, C., Merrill, J. A., Murphy, R., Raetz, C., Russell, D., Seyama, Y., Shaw, W., Shimizu, T., Spener, F., van Meer, G., Vannieuwenhze, M., White, S., Witztum, J. & Dennis, E. A. (2005). A comprehensive classification system for lipids. J. Lipid Res., 46(5), 839–861.
9. <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/phospholipids>
10. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6386279/>
11. Lizenko, E. I., Regerand, T. I., Lizenko, M. V., Bakhirev, A. M., Petrovskii, V. I., & Vasil'eva, O. B. (2004). Comparative Study of the Level of Structural

Lipids in Serum and Blood Lipoproteins of Human and Some Animals, *Vopr. Biol. Med. Farm. Khim.*, 1, 32–37.

12. Lizenko, M. V., Regerand, T. I., Bakhirev, A. M., & Petrovskii, V. I. (2005).

Comparative Study of Fatty Acid Composition of High Density Lipoproteins in the Blood Serum of Human and Some Animals, *Vopr. Biol. Med. Farm. Khim.*, 4, 49–55.

13. Kolovou, G., Kolovou, V. & Mavrogeni, S. (2015). Lipidomics in vascular health: current perspectives. *Vasc Health Risk Manag.*, 11, 333–342.

14. Dang, V. T., Huang, A., Zhong, L. H., Shi, Y. & Werstuck, G. H.

Comprehensive Plasma Metabolomic Analyses of Atherosclerotic Progression Reveal Alterations in Glycerophospholipid and Sphingolipid Metabolism in Apolipoprotein E-deficient Mice. (2016).

15. Russell, J. C. & Proctor, S. D. Small animal models of cardiovascular disease:

tools for the study of the roles of metabolic syndrome, dyslipidemia, and atherosclerosis. *Cardiovasc Pathol.*, 15, 318–330 (2006).

16. Rodney, C., Baker, & Angela R. Subauste, (2014). Methods of Adipose

Tissue Biology, Part B, in *Methods in Enzymology*, 538.

17. Kotronen, A., Seppänen-Laakso, T., Westerbacka, J., Kiviluoto, T., Arola, J.,

& Ruskeepää, A. L., et al. (2010). Comparison of lipid and fatty acid composition of the liver, subcutaneous and intra-abdominal adipose tissue, and serum. *Obesity*, 18, 937–44.

18. Ishikawa, M. et al. (2015). Comparison of circulating lipid profiles between

fasting humans and three animal species used in preclinical studies: mice, rats and rabbits. *Lipids Health Dis.*, 14, 104.

19. <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/digestion/liver/metabolic.html>

ml

20. Nguyen, P., Leray, V., Diez, M., Serisier, S., Le Bloc'h, J., Siliart, B., &

Dumon H. (2008). Liver lipid metabolism. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. Jun; 92(3), 272–83.

21. Або-Хашема, К. А., Торт, М. Н., Потужність, Г. В., & Кларк, Д. (1999). Докази синтезу триацилгліцеролу в просвіті мікросом шляхом лі полізу – естерифікації за участю карнітин-ацилтрансфераз. Журнал біологічної хімії, 274, 35577–35582.

22. Аделі, К., Тагібіглу, Ч., Ван Ідерстайн, С. С., & Дьюїс, Г. Ф., (2004). Механізми печінкової гіперпродукції ліпопротеїнів дуже низької щільності при резистентності до інсуліну. Тенденції розвитку серцево-судинної медицини, 11, 170–176.

23. Ахуджа, Н. С., Санто, А., Надь, Л., & Davies, P. J. (2003). Ретиноїд Х-рецептор та його ліпанди: універсальні регулятори метаболічної функції, диференціювання клітин і загибелі клітин. Журнал біологічних регуляторів та гомеостатичних агентів, 17, 29–45.

24. Андерсон, S. P., Данн, К., Сміх, А., Юн, Л., Свонсон, К., Stulnig, T. M., Steffensen, K. R., Чандраратна, Р. А., Густафссон, J. A., & Кортон, J. C., (2004). Перекриваються транскрипційні програми, що регулюються ядерними рецепторами альфа-рецептором, активованим проліфератором пероксисом, ретиноїдним Х-рецептором і Х-рецептором печінки в печінці миші. Молекулярна фармакологія, 66, 1440–1452.

25. Bandsma, R. H., Вігман, С. Н., Герлінг, А. W., Бургер, Н. J., Гер, Н. A., Мейер, А. J., Ромійн, J. A., Рейнгуд, діджей, & Kuipers, F. (2001). Гостре пригнічення активності транслокатора глюкозо-6-фосфату призводить до посилення ліпогенезу de novo і розвитку стеатозу печінки, не впливаючи на продукцію ЛПДНЩ у щурів. Діабет, 50, 2591–2597.

26. Барінш, Г. Д. (2006). Рецептори, активовані проліфератором пероксисом, і Х-рецептори печінки при атеросклерозі та імунітеті. Журнал харчування, 136, 690–694.

27. Берген, Р. Г., & Mersmann, H. J. (2005). Порівняльні аспекти метаболізму ліпідів: вплив на сучасні дослідження та використання тваринних моделей. Журнал харчування, 135, 2499–2502.

28. Кларк, С. Д., & Jump, D. B. (1996). Регуляція транскрипції генів печінки поліненасиченими жирними кислотами. *Ліпіди*, 31(Доп.), S7–11.

29. Коулман, Р. А., & Lee, D. P. (2004). Ферменти синтезу триацилгліцерину та їх регуляція. *Прогрес в ліпідних дослідженнях*, 43, 134–176.

30. Коулман, Р. А., Lewin, T. M., Ван Хорн, С. G., & Гонсалес-Баро, М. R. (2002). Чи довголанцюгові ацил-КоА-синтетази регулюють надходження жирних кислот у синтетичні та деградаційні шляхи? *Журнал харчування*, 132, 2123–2126.

31. Дентін, Р., Денешо, Р. D., Бенхамед, Ф., Жірд, Дж., & Постік, К. (2006). Регуляція генів печінки глюкозою та поліненасиченими жирними кислотами: роль ChREBP. *Журнал харчування*, 136, 1145–1149.

32. Дуплюс, Е., & Forest, C. (2002). Чи існує єдиний механізм регуляції транскрипції генів жирними кислотами? *Біохімічна фармакологія*, 64, 893–901.

33. Еберле, Д., Хегарті, Б., Боссар, П., Ферре, П., & Foufelle, E. (2004). Фактори транскрипції SREBP: головні регулятори ліпідного гомеостазу. *Біохімія*, 86, 839–848.

34. Гондре, Ф., Ферре, П., & Дугайл, І. (2001). ADD-1/SREBP-1 є основним фактором, що визначає ліпогенну здатність тканин у різних видів ссавців і птахів. *Журнал ліпідних досліджень*, 42, 106–113.

35. Грум, Німеччина, Хансен, Л. P., & Drackley, J. K. (1994). Пероксисомальне бета-окислення жирних кислот у печінці великої рогатої худоби та шурів. *Порівняльна біохімія та фізіологія. Част. В. Біохімія та молекулярна біологія*, 109, 281–292.

36. Tarfa Albrahim, Mona, A. Alonazi. Lycopene corrects metabolic syndrome and liver injury induced by high fat diet in obese rats through antioxidant, anti-inflammatory, antifibrotic pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*.

37. Michele Biagioli, & Stefano Fiorucci (2021). Bile acid activated receptors: Integrating immune and metabolic regulation in non-alcoholic fatty liver disease, *Liver Research*.

38. Aishwarya Venkatasubramanian, Anand Thiagaraj, Vairamuthu Subbiah, Solaipriya Solairaja, Sangaran Arumugam, Satish Ramalingam, & Sivaramakrishnan Venkatabalasubramanian (2021). Ameliorative role of ellagic acid against acute liver steatosis in adult zebrafish experimental model, *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Toxicology & Pharmacology*.

39. Morteza, H., Ghaffari, Mohamad Taher Alaedin, Hassan Sadri, Inga Hofs, Christian Koch, Helga Sauerwein (2021). Longitudinal changes in fatty acid metabolism and in the mitochondrial protein import system in overconditioned and normal conditioned cows: A transcriptional study using microfluidic quantitative PCR, *Journal of Dairy Science*.

40. Michele Biagioli, Stefano Fiorucci (2021). Bile acid activated receptors: Integrating immune and metabolic regulation in non-alcoholic fatty liver disease.

41. Gundermann, K.-J. (1993). *The "Essential" Phospholipids as a Membrane Therapeutic*. Szczecin, Jota Press.

42. <https://www.msdevetmanual.com/digestive-system/hepatic-disease-in-small-animals/hepatotoxins-in-small-animals>.

43. Qiong Zhang, Xuhong Chang, Xiaoxia Wang, Haibing Zhan, Qing Gao, Mengmeng Yang, Han Liu, Sheng Li, Yingbiao Sun. (2021). A metabolomic-based study on disturbance of bile acids metabolism induced by intratracheal instillation of nickel oxide nanoparticles in rats. *Toxicology Research*, 579–591.

44. Igbayilola Yusuff Dimeji, Morakinyo Ayodele Olufemi, OIranloye Bolanle (2021). Adverse effects of perinatal protein restriction on regulators of lipid metabolism and hepatic function in offspring of sprague-dawley rats, *Nigerian Journal of Experimental and Clinical Biosciences*, 74.

45. Yong-Hyun, Han, Hyeon-Ji, Kim, Mi-Ock, Lee, R. O. R. (2021). A regulates hepatic lipolysis by inducing transcriptional expression of PNPLA3 in mice, *Molecular and Cellular Endocrinology*.

46. Chien S., Sung, L.P. (1990). Molecular basis of red cell membrane rheology. Part I. *Biorheology*, 27, 327–344.

47. Cushley, R. J., Okon, M. (2002). NMR studies of lipoprotein structure. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 31, 177–206.

48. Gundersmann, K.-J. (1993). The “Essential” Phospholipids as a Membrane Therapeutic. Szczecin, Jota Press.

49. Tarfa Albrahim, Mona, A., & Alonazi (2021). Lycopene corrects metabolic syndrome and liver injury induced by high-fat diet in obese rats through antioxidant, anti-inflammatory, antifibrotic pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*.

50. Вікторів О. П., Щербак О. В. (1993). Есенциале – ефективний лікувальний фактор у терапії різноманітних уражень печінки: клініко-фармакологічні аспекти. *Фармацевтичний журнал*, 2, 83–90.

51. Chen, Y., Hills, B. A., & Hills, Y. C. (2005). Unsaturated phosphatidylcholine and its application in surgical adhesion. *ANZ J Surg*, 1111–1114.

52. Veldhuizen, R, Nag, K, Orgeig, S, & Possmayer, F. (1998). The role of lipids in pulmonary surfactant. *Biochim Biophys Acta*, 1408, 90–108.

53. Cohen, D. E., & Carey, M. C. (1996). Physical chemistry of biliary lipids during bile formation. *Hepatology*, 1990, 12, 143S–147S, discussion 147S–148S

54. Warner, T.G. & Benson, A.A. (1977). An improved method for the preparation of unsaturated phosphatidylcholines: Acylation of sn-glycero-3-phosphorylcholine in the presence of sodium methylsulfonylmethide. *J. Lipid Res.* 18, 548–552.

55. Xu, X., Vikbjerg, A. F., Guo, Z., Zhang, L., & Acharya, A. K. (2012). Chapter 3 –Enzymatic modification of phospholipids. In *Phospholipid Technology and Applications*; Gunstone, F.D., Ed.; Woodhead Publishing, Bridgewater, CT, USA, 41–82.

56. Gundersmann, K.-J. (1993). The "Essential" Phospholipids as a Membrane Therapeutic. Szczecin, Jota Press.

57. Jinger, W., Müller, D., Kleeberg, U., Kretzschmar, M., & Splinter, F. K. (1991).

The influence of "essential" phospholipids (EPL) on phase-I- and phase-II-reactions and on the glutathione status in the liver of aging rats. *Exp Pathol*, 41, 151–156.

58. Minto, R. E., Adhikari, P. R., & Lorigan, G. A. (2004). A ²H solid-state NMR spectroscopic investigation of biomimetic vesicles containing cholesterol and polyunsaturated phosphatidylcholine. *Chem Phys Lipids*, 132, 55–64.

59. Biagi, P. L., Bordini, A., Hrelia, S., Celadon, M., & Turchetto, E. (1993). The effect of dietary polyenylphosphatidylcholine on microsomal delta-6-desaturase activity, fatty acid composition, and microviscosity in the rat liver under oxidative stress. *J Nutr Biochem*, 4, 690–694.

60. Вікторів О. П., Шербак О. В. (1993). Есенціаліс – ефективний лікувальний фактор у терапії різноманітних уражень печінки: клініко-фармакологічні аспекти. *Фармацевтичний журнал*, 2.

61. Kuntz, E. (1991). The "essential" phospholipids in hepatology – 50 years of experimental and clinical experiences (German). *Z Gastroenterol*. 29(2), 7–13.

62. Патент 99031324 Україна, МБН А61В5/14. Спосіб підготовки проб біоридин для визначення вмісту речовин ліпідної природи / Весельский

С. П., Лященко П. С., Костенко С. І., Горенко З. А., Куровська Л. Ф.;

заявник і патенто власник КНУ імені Тараса Шевченка. № 33564 А; –

заявл. 05.10.1999; опубл. 15.02.2001; Бюл. №1

63. Gryshchenko, V., Sysoliatin, S., & Midyk, S. (2018). Fatty acids of lipids of blood serum and liver of rats with tetracyclin-induced hepatitis and at correction. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(4), 520–525.

64.

65.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

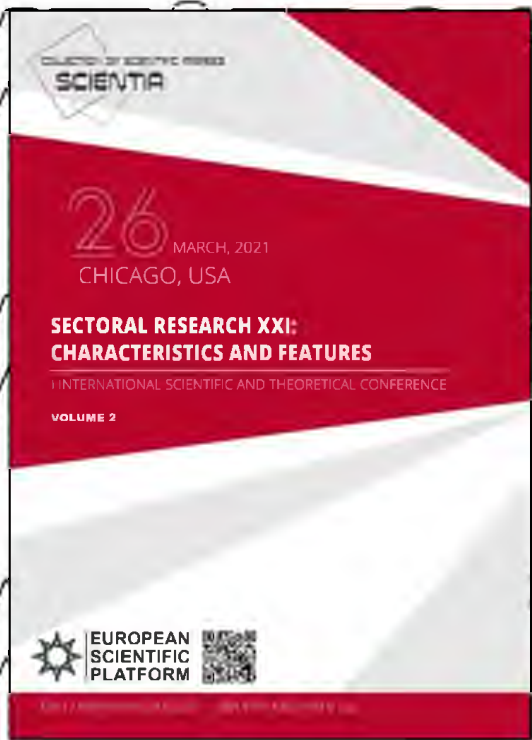
Додатки

НУБІП України

НУБІП України



Рис. 1. Матеріали Міжнародної наукової конференції «Глобальні виклики ветеринарної медицини XXI століття» (факультет ветеринарної медицини, НУБіП України, 2021)



Врачівсько Сергій Петрович
 здобув вищу освіту факультету ветеринарної медицини
 Національного університету біоресурсів і природокористування України, Україна
 Іршанська Вікторія Анатоліївна
 ORCID ID: 0000-0001-6607-1392
 асистент, професор
 професор кафедри біології та фізіології тварин ім. акад. М. Ф. Гулака
 Національного університету біоресурсів і природокористування України, Україна

ЛІПІДНИЙ СКАЛАД ПЛАЗМИ КРОВІ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГЕПАТОПАТОЛОГІЇ ЩУРІВ ТА ЙОГО КОРРЕГУВАННЯ

Вступ. Основні зміни в організмі свідчать про порушення функціональних систем печінки, яка регулює синтез та утилізацію як простих, так і складних ліпідів, деяких аліпатичних ферментів катаболізму стероїдних гормонів, у тому числі утворення прозапальних продуктів метаболізму холестерину [1]. За розвитку гепатопатології різко підвищується інтенсивність ліпопротеїнолітичної активності фосфоліпидної мембрани, при русуванні дисцифлії, навіть, всередині клітини [1, 2].

Основними ліпідними компонентами клітинних мембран є фосфоліпіди, які утворюють стійкі подвійні мембранні структури. Тому, у прикладній гепатології набувають все більшої актуальності дослідження клітинної ефективності фосфоліпидних препаратів, особливо їх протективної та репаративної дії [3-6]. Метою нашого дослідження було дослідити особливості кількісного зміни ліпідів у плазмі крові щурів при моделюванні токсичного гепатиту та порівняти корегульну ефективність препаратів на основі фосфоліпидів ринного походження (із сої (сесаміна-фосфат) та млякця (біодобавка «FLP-MD»).

Матеріали та методи. В експерименті використували щурів (самців) ліній Wistar з масою тіла 200-220 г, з яких було сформовано чотири дослідні групи по шість тварин у кожній. У щурів моделювали токсичний гепатит за допомогою дорфенолу [6-8]. Після чого тварини II групи вводили препарат есенціаль-фосфат в дозі 500 мг/кг маси тіла, а щурів III групи – розроблену нами біодобавку «FLP-MD» [4] в дозі 13,5 мг/кг маси тіла щодня 30 днів, у I групі знаходились щурів, яких надавали саморегульований (без підсилення). Контрольну групу формували з тієї ж самої тварини у плазмі крові вмісту ліпідів триацетилгліцеролу, холестеролу та фосфоліпідів здійснювали на біохімічному аналізаторі «Stat Fax» фірми «Avantes Technology INC» (США) за стандартним набором реактивів фірми «Діпко, LTD».

Результати досліджень. Отримані результати свідчать, що в плазмі крові щурів I групи (саморегуляція) відмічається вирідне підвищення вмісту холестеролу (на 16%) порівняно з тваринами рівня фосфоліпідів (на 12%) порівняно з контролем, що може бути зумовлено розладами процесів синтезу та метаболізму ліпідів крові та еритроцитів із синтезу при токсичному ураженні печінки. Застосування препарату есенціаль-фосфат супроводжується нормалізацією у плазмі крові рівня фосфоліпідів (триацетилгліцеролу, що, безсумнісно, є основним відомимим зазначенням вище процесів за введення тваринам біодобавки «FLP-MD», являється вирідне підвищення у плазмі крові вмісту фосфоліпідів (на 11,9%), який навіть вище, ніж при застосуванні препарату есенціаль-фосфат, нормалізація рівня триацетилгліцеролу. Зрештома це може свідчити про краще

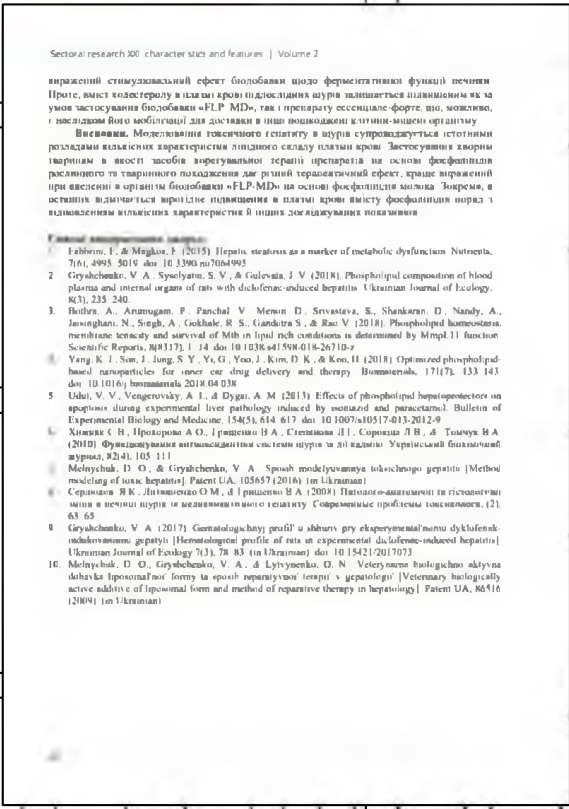


Рис. 2. Матеріали Міжнародної науково-теоретичної конференції «Галузеві дослідження XXI століття: характеристики та особливості» (Чикаго, США, 2021)



Рис. 3. Пероральне введення препаратів піддослідним щурам за допомогою ротошлункового з зонду (віврій ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка)

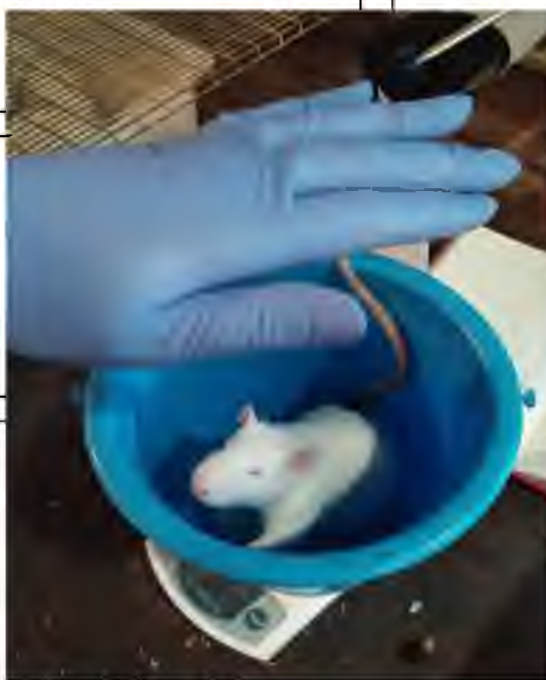


Рис. 4. Зважування піддослідних щурів



Рис. 5. Розділення загальних ліпідів плазми крові підослідних щурів на хроматографічній пластині



Рис. 6. Підослідні лабораторні щури