

## ЖОВЧНО-КИСЛОТНИЙ СКЛАД КРОВІ ТА ЖОВЧІ В ТЕЛЯТ ЗА ЕНТЕРОПАТОЛОГІЇ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ФОСФОЛІПІДІВ МОЛОКА

**В. А. ГРИЩЕНКО**, доктор ветеринарних наук, професор кафедри біохімії  
і фізіології тварин ім. акад. М.Ф. Гулого,  
<https://orcid.org/0000-0001-6601-1392>  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
E-mail: viktoriya\_004@ukr.net

**Анотація.** Жовчні кислоти є важливими складовими компонентами жовчі, яка виробляється печінкою та забезпечує повноцінне перетравлення і засвоєння нутрієнтів ліпідної природи у тонкому відділі кишечника. Розвиток у новонароджених телят ентеропатології негативно позначається на функціональному стані як кишечника, так і печінки. Мета цієї роботи полягала у визначенні характерних змін жовчно-кислотного спектра крові і жовчі телят, перехворілих на функціональну ентеропатологію, та випробуванні коригувальної ефективності біологічно активної добавки (БАД) «FLP-MD» репаративної дії на основі фосфоліпідів молока. Вільні та кон'юговані жовчні кислоти досліджували в крові і жовчі телят з використанням методу тонкошарової хроматографії.

Встановлено, що у перехворілих на ентеропатологію телят відбувається зниження біосинтетичної та кон'югуючої функції печінки, а також порушення ентерогепатичної циркуляції жовчних кислот. Як наслідок, у цих тварин може відмічатися гіперхолія калу. В результаті дослідження жовчно-кислотного спектру жовчі у перехворілих телят відзначається зростання вмісту майже всіх жовчних кислот, що узгоджується з вірогідно високим їх рівнем у крові на 30-ту добу життя. Визначені закономірності свідчать про розвиток в перехворілих телят внутрішньопечінкового холестазу.

Водночас за додаткового включення до традиційної терапевтичної схеми біодобавки «FLP-MD» репаративної дії на основі фосфоліпідів молока у піддослідних телят істотно поліпшується відновлення холатоутворної функції печінки та ентерогепатичної циркуляції жовчних кислот. Виявлені особливості проміжного обміну жовчних кислот в організмі телят, які перехворіли на функціональну ентеропатологію, свідчать про необхідність корекції встановлених змін і пришвидшення їх відновлення, що можливо здійснювати за включення у традиційні схеми лікування засобів репаративної дії, зокрема, БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока.

**Ключові слова:** жовчні кислоти, кров, жовч, телята, ентеропатологія, репаративна терапія, фосфоліпіди молока

## **Актуальність**

Переважаюча більшість патологій гепатобіліарної системи незалежно від етіології виникнення призводять до істотних змін зовнішньосекреторної функції печінки та проявляється деструктивними змінами клітинних мембран гепатоцитів, а отже, потребує застосування репаративної терапії (Rykalo and Yarovenko, 2015; Blas-Garcia et al., 2016; Cole et al., 2016; Calitz et al., 2018).

## **Аналіз останніх досліджень та публікацій**

Паренхіматозні клітини печінки синтезують і секретують унікальні біологічно і поверхнево активні сполуки – жовчні кислоти, які є важливими складовими жовчі та забезпечують повноцінне перетравлення і засвоєння нутрієнтів ліпідної природи у тонкому відділі кишечника (Stremoukhov, 2013; Melnychuk et al., 2015). Крім цього, вони виявляють регуляторний вплив на процеси обміну та функціональний стан інших органів і тканин організму ссавців. Жовчні кислоти стимулюють перистальтику кишечника, екзокринну функцію підшлункової залози, активують ліпазу і секрецію білірубину із жовчю, проявляють антисептичні властивості, обумовлюють колоїдний стан компонентів жовчі, зокрема, холестеролу (Gryshchenko et al., 2008; Rui, 2014; Björnsson and Hoofnagle, 2016). Відомо, що жовчні кислоти збільшують екскрецію із жовчю низки ензимів, а саме: 5-нуклеотидази і лужної фосфатази. Поряд із цим, відома роль жовчних кислот у процесах рецепторної взаємодії і мембранної транслокації речовин. Водночас

ефективність і спрямованість впливу жовчних кислот на перебіг фізіолого-біохімічних процесів у клітинах істотно залежить від особливостей їх хімічної будови (Calitz et al., 2018).

Між печінкою і кишечником існує тісний анатомічний і фізіологічний взаємозв'язок, що дозволяє припустити одночасність їх ураження за розвитку захворювань шлунково-кишкового тракту. Відомі факти щодо фізіологічної ролі ентерогепатичної циркуляції жовчних кислот (Gryshchenko and Litvinenko, 2007) вказують на доцільність вивчення її порушень за розвитку шлунково-кишкової патології новонароджених тварин.

Тому мета цієї роботи полягала у визначенні характерних змін жовчно-кислотного спектра крові і жовчі телят, перехворілих на функціональну ентеропатологію, та випробуванні коригувальної ефективності біологічно активної добавки (БАД) «FLP-MD» репаративної дії на основі фосфоліпідів молока.

## **Матеріали та методи дослідження**

Для проведення експериментальних досліджень з телят 2-добового віку (на початку розвитку ентеропатології) сформували одну контрольну і дві дослідні групи по 10 голів у кожній. До контрольної групи залучено клінічно здорових тварини, які залишались такими впродовж першого місяця життя; до I групи – телят, у яких з другої доби життя реєстрували розвиток функціональної ентеропатології та яких лікували за традиційною терапевтичною схемою; до II групи – телят, хворих на функціональну ентеропатологію, яким застосовували комплексне лікування (традиційна

терапія + експериментальна фосфоліпидовмісна БАД «FLP-MD» (репаративної дії) до зникнення клінічних симптомів захворювання, а в період реабілітації тварини отримували біодобавку до 30-добового віку включно.

Розроблена на кафедрі біохімії і фізіології тварин ім. акад. М. Ф. Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України фосфоліпидовмісна БАД «FLP-MD» (лікарська форма – капсули) – це комплекс з індивідуальних фосфоліпідів (Melnychuk and Gryshchenko, 2007), виділених з маслянки, який доповнено вітамінами А і Е (фармакопейні  $\alpha$ -токоферол та ретинолу ацетат) та ненасиченими жирними кислотами (олеїнова, лінолева, ліноленова).

Біодобавку в період захворювання телят на функціональну ентеропатологію вводили з молоком по 3 капсули три рази на добу, а в період реабілітації і до 30-добового віку – по 5 капсул один раз на добу із розрахунку 0,04–0,06 г ліпідного комплексу на 1 кг маси тіла за один прийом. Традиційна схема лікування включала застосування препаратів тремексину і тіломіцину В у відповідності до інструкцій щодо їх використання та нутрієн Se (вітамінно-амінокислотна добавка з селеном).

Кров для дослідження біохімічних показників у піддослідних телят відбирали на 5–8-му (період клінічного одужання тварин) і 30-ту доби життя (через три тижні після клінічного одужання). У трьох тварин з кожної групи в 30-добовому віці відбирали зразки жовчі з жовчного міхура.

Під час проведення експериментальних досліджень дотримувалися вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експерименталь-

них і наукових цілей» (Страсбург, 1986), закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447 від 21.02.2006 р.

Вільні та кон'юговані жовчні кислоти досліджували в біологічному матеріалі з використанням методу тонкошарової хроматографії та їх кількісною оцінкою на стандартних пластинах фірми «Silufol» (Чехія) за методикою (Veselskiy et al., 1991). Цей метод полягає в екстрагуванні жовчних кислот за знижених температур сумішшю етанолу з ацетоном у співвідношенні 1:3 та хроматографічному їх розділенні в гомогенній загальній системі розчинників для вільних та кон'югованих жовчних кислот, яка складається з амілового етеру оцтової кислоти, толуолу, бутанолу, оцтової кислоти і води в об'ємному співвідношенні 3:1:1:3:1. Кількісну денситометричну (ДО-ІМ) оцінку Вмісту жовчних кислот здійснювали після фарбування комплексним барвником, який містив 15 см<sup>3</sup> оцтової льодяної кислоти, 1 г фосфорномолібденової кислоти, 1 см<sup>3</sup> концентрованої сульфатної кислоти та 5 см<sup>3</sup> 50 %-го водного розчину трихлороцтової кислоти.

Обробку результатів здійснювали у пакеті Statistica 6.0. Вірогідність різниці між вибірками оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Розбіжності вважали вірогідними за  $P < 0,05$ .

### **Результати дослідження та їх обговорення**

За розвитку неонатальної ентеропатології в телят структурно-функціональні зміни відмічаються як в кишечнику, так і печінці, що супроводжується порушенням біосинтезу та ентерогепатичної циркуляції жовчних кислот. У результаті використання

хроматографічного методу дослідження екстрактів із нативної крові телят 30-добового віку ідентифіковано сім фракцій кон'югованих та вільних жовчних кислот. Розрізняють первинні та вторинні жовчні кислоти. Перші синтезуються в печінці з холестеролу і транспортуються у складі жовчі в дванадцятипалу кишку. Це холева (ХК) і хенодезоксиколева (ХДХК) кислоти. В свою чергу, вторинні жовчні кислоти утворюються в кишечнику шляхом модифікації первинних за участю ензимів мікрофлори кишечника. При цьому утворюються дезоксиколева (ДХК) і літохолева (ЛХК) кислоти. На відміну від крові, у жовчі переважають кон'юговані з гліцином чи тауріном жовчні кислоти.

Результати дослідження жовчно-кислотного спектру крові у телят II групи на момент зникнення клінічних симптомів функціональної ентеропатології (5–8-ма доба життя) свідчать про наявну тенденцію до зниження рівня глікохолевої (ГХК) кислоти та вірогідне зменшення на 36 % концентрації сумарної фракції глікохенодезоксиколевої + глікодезоксиколевої кислот (ГХДХК + ГДХК) (табл. 1).

Це вказує на знижену біосинтетичну та кон'югуючу функції печінки в телят у період одужання. Одночасне вірогідне зменшення в крові цих тварин вмісту ЛХК у 2,3 раза та тенденція до зниження рівня сумарної фракції ХДХК + ДХК і ХК свідчать про зміни їх внутрішньопечінкового синтезу та за участю мікроорганізмів кишечника, що супроводжується відповідними розладами їх ентерогепатичної циркуляції. В цілому це характеризує функціональну недостатність зазначених вище органів в період клінічного одужання телят. Як наслідок, може відмічатися гіперхоліа калу, яка виникає за порушення процесів всмоктування жовчних кислот в кишечнику.

У піддослідних телят за комплексної схеми лікування встановлено нормалізацію вмісту в крові ХК та її похідних – таурохолевої кислоти (ТХК) і ГХК, у тому числі ЛХК, поряд із тенденцією до зниження вмісту сумарних фракцій ТХДХК + ТДХК і ГХДХК + ДХК. Водночас вміст сумарної фракції ХДХК + ДХК виявляє тенденцію до зростання на 10 %. Оскільки серед показників цієї групи відсутні вірогідні зміни, а лише

**1. Жовчні кислоти нативної крові піддослідних телят на 5–8-му добу життя, мг % (M ± m, n = 10)**

| Жовчна кислота | Контроль    | I група      | II група    |
|----------------|-------------|--------------|-------------|
| ТХК            | 0,40 ± 0,06 | 0,39 ± 0,05  | 0,40 ± 0,07 |
| ТХДХК + ТДХК   | 0,54 ± 0,05 | 0,62 ± 0,07  | 0,49 ± 0,06 |
| ГХКС           | 0,20 ± 0,03 | 0,15 ± 0,04  | 0,20 ± 0,03 |
| ГХДХК + ДХК    | 0,28 ± 0,03 | 0,18 ± 0,01* | 0,25 ± 0,03 |
| ХК             | 0,26 ± 0,04 | 0,22 ± 0,03  | 0,26 ± 0,05 |
| ХДХК + ДХК     | 0,31 ± 0,05 | 0,28 ± 0,05  | 0,34 ± 0,06 |
| ЛХК            | 0,07 ± 0,01 | 0,03 ± 0,00* | 0,07 ± 0,01 |

**Примітка:** \* - P < 0,05, порівняно зі значеннями контрольної групи.

тенденції, це доводить позитивний вплив молочних фосфоліпідів БАД «FLP-MD» на холатоутворну функцію печінки, покращення елімінації жовчних кислот печінкою та позитивну динаміку щодо відновлення функціонального стану кишечника.

На 30-ту добу життя концентрація жовчних кислот у крові піддослідних телят обох груп зазнає схожої тенденції у відношенні поступового від-

новлення параметрів досліджуваних показників. Лише у телят I групи відмічалось вірогідне зростання в крові концентрації ЛХК у 2,3 раза порівняно зі значеннями контрольної групи (табл. 2). Літохолева кислота виявляє токсичний вплив на функціональний стан ентеро- та гепатоцитів, що може спричинити порушення процесів біосинтезу та кон'югації жовчних кислот з таурином і гліцином шляхом

## 2. Жовчні кислоти нативної крові піддослідних телят на 30-ту добу життя, мг % (M ± m, n = 10)

| Жовчна кислота | Контроль    | I група      | II група    |
|----------------|-------------|--------------|-------------|
| ТХК            | 0,36 ± 0,04 | 0,35 ± 0,09  | 0,35 ± 0,05 |
| ТХДХК + ТДХК   | 0,47 ± 0,03 | 0,45 ± 0,04  | 0,46 ± 0,05 |
| ГХК            | 0,18 ± 0,03 | 0,16 ± 0,04  | 0,16 ± 0,02 |
| ГХДХК + ДХК    | 0,22 ± 0,04 | 0,21 ± 0,04  | 0,20 ± 0,02 |
| ХК             | 0,24 ± 0,02 | 0,25 ± 0,05  | 0,25 ± 0,04 |
| ХДХК + ДХК     | 0,31 ± 0,03 | 0,35 ± 0,05  | 0,31 ± 0,02 |
| ЛХК            | 0,03 ± 0,01 | 0,07 ± 0,01* | 0,03 ± 0,01 |

**Примітка:** \* -  $P < 0,05$ , порівняно зі значеннями контрольної групи. Встановлений факт свідчить про прояв внутрішньопечінкового холестазу в перехворілих телят навіть через три тижні після клінічного одужання. Зазначене, можливо, є наслідком стискування жовчних протоків збільшеними в об'ємі гепатоцитами за токсичного ураження печінки в період розвитку ентеропатології.

## 3. Жовчні кислоти жовчі піддослідних телят на 30-ту добу життя, мг % (M ± m, n = 3)

| Жовчна кислота            | Контроль      | I група        | II група       |
|---------------------------|---------------|----------------|----------------|
| ТХК                       | 144,8 ± 8,8   | 244,3 ± 10,1*  | 127,9 ± 10,8   |
| ТХДХК + ТДХК              | 161,1 ± 7,2   | 272,3 ± 13,8*  | 122,5 ± 14,0*  |
| ГХК                       | 269,4 ± 6,8   | 346,6 ± 14,4*  | 193,2 ± 11,2*  |
| ГХДХК + ГДХК              | 560,5 ± 21,3  | 660,5 ± 15,5*  | 351,4 ± 13,1*  |
| ХК                        | 194,5 ± 17,8  | 179,1 ± 16,2   | 111,4 ± 18,9*  |
| ХДХК + ДХК                | 215,6 ± 10,8  | 169,1 ± 4,4*   | 189,3 ± 15,7   |
| Заг. вміст жовчних кислот | 1545,9 ± 19,1 | 1871,9 ± 30,9* | 1095,7 ± 13,7* |

**Примітка:** \* -  $P < 0,05$ , порівняно зі значеннями контрольної групи. Протилежні тенденції щодо якісних і кількісних характеристик досліджуваних показників жовчі відзначалися в телят II групи, яким додатково до терапевтичної схеми включали фосфоліпід молока у вигляді БАД «FLP-MD», що справляло жовчогінний ефект.

різного ступеня інгібування активності відповідних ензимів печінки. Підвищення рівня ЛХК відмічається при порушенні симбіотичних взаємовідносин між окремими штамами мікрофлори кишечника.

У результаті дослідження жовчно-кислотного спектру жовчі у телят I групи (табл. 3) встановлено вірогідне зростання вмісту майже всіх його представників, окрім зменшеного вмісту сумарної фракції ХДХК + ДХК, та відсутність вірогідних змін концентрації ХК. Це узгоджується з вірогідно високим їх рівнем у плазмі крові перехворілих тварин на 30-ту добу життя.

Вірогідне зниження вмісту більшості жовчних кислот у жовчі цих тварин, можливо, пояснюється стимуляцією перистальтики жовчного міхура і проток компонентами біодобавки і відновленням структурно-функціонального стану гепато- та ендотеліоцитів.

### **Висновки і перспективи**

В результаті проведеного дослідження жовчно-кислотного спектру нативної крові та жовчі в телят, перехворілих на неонатальну ентеропатологію, встановлено, що за додаткового включення до традиційної терапевтичної схеми біодобавки «FLP-MD» репаративної дії істотно поліпшується відновлення холатаутворної функції печінки та ентерогепатичної циркуляції жовчних кислот. Водночас високий рівень літохолової кислоти в крові телят у разі застосування традиційної схеми лікування, в тому числі на 30-ту добу життя, свідчить про розвиток у цих тварин стану дисбактеріозу. Розлади в проміжному обміні жовчних кис-

лот в організмі телят, які перехворіли на неонатальну ентеропатологію, негативно позначаються на функціональному стані шлунково-кишкового тракту, що істотно ускладнює процеси відновлення і може призвести до виникнення ускладнень і рецидивів захворювання. Проте тенденції щодо нормалізації в крові цих тварин вмісту більшості фракцій жовчних кислот свідчить про поступове відновлення бар'єрної функції печінки і за традиційної схеми лікування, яке не завершується навіть на 30-ту добу їх життя.

Встановлені закономірності щодо проміжного обміну жовчних кислот в організмі телят, які перехворіли на функціональну ентеропатологію, свідчать про необхідність корекції зазначених змін і пришвидшення їх відновлення, що можливо здійснювати у разі включення до традиційних схем лікування засобів репаративної дії, зокрема, БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока.

### **References**

- A.s. 4411066/14 SSSR, MBI G 01 N 33/50. A method of determining bile acids in biological fluids / Veselskiy, S. P., Lyashchenko, P. S., Lukyanenko I. A. (SSSR). – Publ. 30.01.1991, Byul. N 4. (in Ukrainian)
- Björnsson, E. S., Hoofnagle, J. H. (2016). Categorization of drugs implicated in causing liver injury: critical assessment based on published case reports. *Hepatology*, 63(2):590–603.
- Blas-Garcia, A., Apostolova, N., Valls-Belles, V., Esplugues, J. V. (2016). Endoplasmic reticulum and mitochondria: independent roles and crosstalk in fatty liver diseases and hepatic inflammation. *Curr. Pharm. Des.*, 22(18):2607–2618.
- Calitz, C., Hamman, J. H., Fey, S. J., Wrzesinski, K., Gouws, C. (2018). Recent advances in three-di-

- mensional cell culturing to assess liver function and dysfunction: from a drug biotransformation and toxicity perspective. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 28(5):369–385. doi: 10.1080/15376516.2017.1422580
- Cole, H. L., Pennycook, S., Hayes, P. C. (2016). The impact of proton pump inhibitor therapy on patients with liver disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutic*, 44(11–12):1213–1223. DOI: 10.1111/apt.13827.
- Gryshchenko, V. A., Litvinenko, O. N. (2007). Osoblyvosti zhovchno-kyslotnogo spectra mihurovoi zhovchi ta duodynal'nogo vmistu v myshei pry medykamentoznomu gepatyti i zastosuvanni koreguiuchoi terapii [Peculiarities of bile-acid spectrum of cystic bile and duodenal contents in mice with medical hepatitis and applying remedial therapy]. *Ukrainskii Biohimicheskii Zhurnal*, 79(4):97–101. (in Ukrainian)
- Gryshchenko, V. A., Veselsky, S. P., Litvinenko, O. N. (2008). Kontsentratsiia zhovchnykh kyslot u vmisti porozhnoi kyshky ta kali schuriv pry medykamentoznomu gepatyti i zastosuvanni koreguiuchoi terapii [The concentration of bile acids in the jejunum contents and rats' feces with medical hepatitis and applying remedial therapy]. *Veterinary Medicine of Ukraine*, 6:14–16. (in Ukrainian)
- Melnychuk, D. O., Tomchuk, V. A., Yanchuk, P. I., Gryshchenko, V. A., Reshetnyk, E. M., Synelnyk, T. B., Capenko, P. K., Kartyfuzova, Zh. V., Govorukha, T. M., Makarchuk, M. Yu., Veselskyj, S. P. (2015). Research methods of liver and biliar system functional state. *NUBiP Ukraine*, Kyiv, 414. (in Ukrainian)
- Pat. 78306 UA, A 61K 35/20. Veterinary biologically active additive and method of reparative therapy in dyspepsia of newborn calves / Melnychuk, D. O., & Gryshchenko, V. A. – Publ. 15.03.2007, Bul. N 3. (in Ukrainian)
- Rui, L. (2014). Energy metabolism in the liver. *Comprehensive Physiology*, 4(1):177–197.
- Rykalo, N. A., Yarovenko, L. A. (2015). Features of reparative regeneration of the liver tissue in rats during experimental tetrachloromethanic and alcoholic hepatitis. *Pathologia*, 1(33):84–89. (in Ukrainian)
- Stremoukhov, O. O. (2013). Effect of bile acids on digestion. *Original research*, 81(6):47–49.

---

**Gryshchenko, V. A. (2019). BLOOD AND ACID COMPOSITION OF BLOOD AND BILES IN CALVES AT ENTEROPATOLOGY AND APPLICATION OF MILK PHOSPHOLIPIDES.** *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 10(4): 36–42, <https://doi.org/10.31548/ujvs2019.04.005>

**Abstract.** *Bile acids are important constituents of bile, which is produced by the liver and ensures the complete digestion and assimilation of nutrients of a lipid nature in the small intestine. The development of enteropathology in newborn calves adversely affects the functional state of both the intestines and the liver. The purpose of this work was to determine the characteristic changes in the bile acid spectrum of blood and bile of calves who had had functional enteropathology, and to test the corrective effectiveness of the biologically active additive (BAA) «FLP-MD» reparative action based on milk phospholipids. Free and conjugated bile acids were examined in the blood and bile of calves using thin layer chromatography.*

*It has been established that calves who have been affected by enteropathology have a decrease in the biosynthetic and conjugating functions of the liver, as well as impaired hepatic circulation of bile acids. As a result, feces may be noted in these animals. As a result of studying the bile acid spectrum of bile in ill calves, an increase in the content of almost all bile acids is noted, which is consistent with a significantly high level in the blood on the 30th day of life. The regularities determined indicate the development of intrahepatic cholestasis in the sick calves.*

*At the same time, with the additional inclusion of the reparative action based on milk phospholipids in experimental animals of the «FLP-MD» dietary supplement in the traditional therapeutic regimen, the recovery of bile-producing liver function and hepatic circulation of bile acids is significantly improved. Peculiarities of the intermediate exchange of bile acids in the body of calves that have had functional enteropathology are revealed, indicate the need for correction of established changes and acceleration of their recovery, it is possible to implement when reparative drugs are included in traditional treatment regimens, in particular dietary supplements «FLP-MD» based on phospholipids milk.*

**Keywords:** *bile acids, blood, bile, calves, enteropathology, reparative therapy, milk phospholipids*

---

*Подано до друку 30 серпня 2019 року*