

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ПОТОЦЬКИЙ АНДРІЙ КОСТЯНТИНОВИЧ

УДК 636.2.09:616-071:577.115

**ДИСЕРТАЦІЯ
ЖОВЧНІ ПІГМЕНТИ І ЛІПІДНИЙ СКЛАД КРОВІ ТА
ГЕПАТОБІЛІАРНОЇ СИСТЕМИ В ЩУРІВ ЗА
ТЕТРАЦИКЛІНІНДУКОВАНОГО ГЕПАТОЗУ**

211 «Ветеринарна медицина»
21 «Ветеринарія»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії
Дисертація містить результати власних досліджень.
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на
відповідне джерело А.К. Потоцький

Науковий керівник:
Грищенко Вікторія Анатоліївна
доктор ветеринарних наук, професор

Київ – 2025

АНОТАЦІЯ

Потоцький А.К. Жовчні пігменти і ліпідний склад крові та гепатобіліарної системи в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу.
Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина». Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2025.

У дисертаційній роботі на підставі сучасних лабораторних (хроматографічних), мікроскопічних та статистичних методів дослідження встановлено якісний і кількісний склад жовчних пігментів, ліпідний та фосфоліпідний спектр нативної крові, жовчі й печінки в щурів та визначено ефективність коригувальної терапії на основі фосфоліпідів молока за тетрациклініндукованого гепатозу.

Для проведення хроматографічного аналізу вмісту жовчних пігментів, ліпідного та фосфоліпідного складу нативної крові, жовчі й печінки в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу було сформовано 4 групи тварин, по 10 особин у кожній, в яких маса тіла становила 225 ± 25 г. Для експериментальних досліджень залучали лише самців, оскільки відомий статевий диморфізм жирової хвороби печінки в ссавців та відмінності у клінічному прояві й прогнозі в тварин різної статі. Для зважування щурів впродовж експерименту використовували ваги електронні моделі ORION OS-0K22 (ORION ELECTRONICS LTD, Європа).

Лабораторні тварини перебували у віварію за стандартних умов утримання, температурному режимі в приміщенні 22–24 °С, 14-годинному світловому періоді доби та із стандартизованим повноцінним кормовим раціоном і вільним доступом до води. Експериментальне дослідження проведено відповідно до вимог «Європейської конвенції про захист

хребетних тварин, які використовуються в експериментальних і наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447 від 21.02.2006 р. Усі необхідні оперативні втручання у гострих дослідах здійснювали з дотриманням рекомендацій ARRIVE, які ґрунтуються на принципах Директиви ЄС 2010/63/EU (Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010), та біоетичної комісії НУБіП України на підставі Положення «Про захист тварин, що використовуються в наукових або освітніх цілях у НУБіП України, яких використовували в експерименті» і «Про біоетичну комісію НУБіП України».

За методикою (Грищенко В.А. та ін., 2019) було змодельовано жировий гепатоз у лабораторних щурів. Для цього, використовуючи м'який силіконовий зонд, тваринам щодоби внутрішньошлунково вводили 4%-ий розчин тетрацикліну гідрохлориду з розрахунку 250 мг/кг маси тіла, впродовж 7 діб. У результаті в щурів розвивався індукований тетрацикліном у високих дозах жировий гепатоз. Щурів, яким на тлі інтрагастрального введення тетрацикліну гідрохлориду не застосовували терапію, відносили до групи «Самореабілітація» (n=10). Тварини групи «Корекція» (n=10) впродовж 7 діб за годину до перорального введення антибіотику та додатково наступні дві доби після завершення його застосування отримували інтрагастрально експериментальний 1%-ий розчин біологічно активної добавки (БАД) «FLP-MD», основною діючою речовиною якого є фосфоліпіди молока. Щодобова однократна доза БАД «FLP-MD» становила 13,5 мг/кг маси тіла (патент № 86516 UA). Тварини, яким внутрішньошлунково вводили еквівалентний до об'ємів антибіотику і біодобавки об'єм дистильованої води, віднесено до групи «Контроль» (n=10). Окрема група тварин залишалася «інтактною» щодо застосування антибіотику, але отримувала фосфоліпіди молока у складі БАД «FLP-MD» (група «Здорові тварини + БАД «FLP-MD, n=10). Важливою складовою

дослідження було регулярне визначення маси тіла тварин та перерахунок дози препаратів відповідно до її зміни під час експерименту. У гострих дослідах на щурах відбирали зразки жовчі з канюлюванням жовчної протоки. Тривалість гострого досліду складала три години. За добу до відтворення гострого досліду щурів зважували й утримували надалі без корму. Впродовж доби, до проведення гострого експерименту, доступ тварин усіх експериментальних груп до питної води був вільним. Відсутність годівлі тварин упродовж доби перед оперативним втручанням за гострого досліду обумовлена необхідністю уникнення можливих рефлексорних регуляторних ефектів споживання корму на жовчосекреторну функцію та на біохімічний склад крові і жовчі.

Перший етап дослідження полягав у зважуванні, огляді і внутрішньошлунковому введенні за допомогою шлункового зонду щурам тетрацикліну гідрохлориду для штучного моделювання жирового гепатозу та біологічно активної добавки (БАД) на основі молока «FLP-MD» для корекції досліджуваних показників.

Другий етап дослідження включав в себе відбір у піддослідних щурів зразків нативної крові, жовчі та печінки. Методом тонкошарової хроматографії досліджувались якісний склад і кількісні параметри ліпідів, фосфоліпідів та жовчних пігментів у досліджуваному біологічному матеріалі за тетрациклініндукованого гепатозу та коригувальний вплив на досліджувані показники фосфоліпидовмісної БАД «FLP-MD». Поряд із цим, проведено гістологічне дослідження зразків печінки для визначення мікроструктурних змін за тетрациклініндукованого гепатозу та коригувальну ефективність БАД «FLP-MD».

Третій етап дослідження складався із статистичної обробки та аналізу отриманих результатів, які було представлено у вигляді таблиць.

У разі моделювання в лабораторних щурів тетрациклініндукованого гепатозу на багатьох ділянках печінки гепатоцити відокремлювались один від одного. Значна частина печінкових клітин перебувала в стані жирової і зернистої дистрофії. Частина дистрофічно змінених гепатоцитів руйнувалась із наступним лізисом фрагментів зруйнованих клітин. Руйнування і лізис гепатоцитів особливо виразними були на деяких ділянках печінки під її капсулою. Усі ці зміни призводили до часткової чи повної дезорганізації печінкових пластинок в усіх часточках органа. Мікроскопічні зміни у паренхімі печінки свідчать про стеатогенний ефект тетрацикліну гідрохлориду, який більшість дослідників пов'язують зі зниженням інтенсивності мітохондріального β -окиснення жирних кислот внаслідок впливу на експресію генів, зв'язаних з метаболізмом ліпідів.

У нативній крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу (І дослідна група «Самореабілітація») внаслідок деструктивних змін у гепатоцитах відмічались істотні зміни у параметрах показників ліпідного спектра крові, жовчі й печінки. Зокрема, встановлено достовірне зменшення у крові хворих щурів вмісту загальних ліпідів на 37,0 % ($P < 0,05$), фосфоліпідів на 40,8 % ($P < 0,05$), вільних жирних кислот на 46,2 % ($P < 0,05$), естерифікованого холестеролу на 32,0 % ($P < 0,05$), вільного холестеролу на 23,1 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем, що вказує на формування дефіцитного їх рівня в організмі тварин за тетрациклініндукованого гепатозу.

Аналіз ліпідограми жовчі у хворих щурів свідчить про загальну тенденцію щодо зменшення вмісту всіх фракцій загальних ліпідів. При цьому, найвираженіші кількісні зміни відмічалися на останніх етапах гострого досліду. Зокрема, найістотніше зменшення в жовчі рівня фосфоліпідів на 22,8 % ($P < 0,01$) виявляли на 120 хв гострого досліду, вільного холестеролу на 17,7 % ($P < 0,05$) на 180 хв, естерифікованого

холестеролу стабільно на 52,1–57,8 % ($P < 0,001$) впродовж всього трьохгодинного періоду, триацилгліцеролів на 63,0 % ($P < 0,001$) на 180 хв та вільних жирних кислот на 47,2 % ($P < 0,001$) на 180 хв порівняно з контролем, що свідчить про виражені зміни у процесі їх ендogenous утворення.

У разі дослідження ліпідного спектра в зразках печінки в хворих щурів найвираженіших змін зазнавав уміст естерифікованого холестеролу, який зменшувався на 51,2 % ($P < 0,001$) порівняно з контролем. Аналогічну тенденцію відмічали і у відношенні інших фракцій ліпідів, а саме: зменшення вмісту фосфоліпідів на 19,3 % ($P < 0,05$), вільних жирних кислот на 30,3 % ($P < 0,01$), вільного холестеролу на 31,4 % ($P < 0,01$) та триацилгліцеролів на 37,1 % ($P < 0,01$) порівняно з контролем. У комплексі з даними попередніх досліджень, які стосувалися змін у ліпідному спектрі нативної крові та жовчі в хворих тварин, встановлені закономірності підтверджують наявність істотних порушень обміну ліпідів в організмі щурів за тетрацикліндукованого гепатозу.

Застосування хворим щурам БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока сприяло відновленню ліпідного спектра в нативній крові та печінці піддослідних щурів. При цьому, в жовчі також підлягали відновленню дві із п'яти ліпідних фракцій (естерифікованого холестеролу та триацилгліцеролів) та достовірно підвищення концентрації інших досліджуваних фракцій загальних ліпідів. Зокрема, найвираженіше збільшення вмісту фосфоліпідів виявляли на 150 хв гострого дослідження – на 40,0 % ($P < 0,01$), вільного холестеролу на 120 хв дослідження – на 37,4 % ($P < 0,001$), вільних жирних кислот на 60 хв – на 107,7 % ($P < 0,001$) порівняно з відповідним контролем. У разі застосування вказаної біодобавки здоровим тваринам концентрація ліпідних фракцій у крові та жовчі не відрізнялась від її значень у контролі. Достовірні зміни у бік зростання вмісту окремих фракцій ліпідів відмічали лише в

зразках печінки. Так, зазнавали підвищення вміст фосфоліпідів на 26,4 % ($P < 0,001$), вільних жирних кислот на 19,4 % ($P < 0,01$), естерифікованого холестеролу на 21,0 % ($P < 0,01$) і триацилгліцеролів на 25,9 % ($P < 0,001$) порівняно з відповідним контролем. Цей факт може свідчити про ефективність засвоєння фосфоліпідів біодобавки в кишечнику та стимулюючий вплив її компонентів на процеси ендогенного утворення ліпідів в гепатоцитах.

В умовах експериментальної тетрациклініндукованої форми жирового гепатозу в лабораторних щурів істотно порушуються процеси надходження фосфоліпідів до гепатоцитів та їх секреція до жовчі. Фосфоліпідні компоненти БАД «FLP-MD» є тваринного походження (з молока), а тому відрізняються максимально вираженою біодоступністю, про що свідчить істотне зростання вмісту всіх визначених фракцій фосфоліпідів у крові піддослідних щурів. Крім того, фосфоліпіди БАД «FLP-MD», надходячи до печінки, пришвидшують відновлення метаболічних і транспортних процесів в її клітинах, а відтак сприяють формуванню повноцінного за основними біохімічними показниками складу жовчі.

З огляду на патологічні порушення ліпідного гомеостазу при експериментальному жировому переродженні печінки, встановлена висока ефективність БАД «FLP-MD» щодо нормалізації вмісту фосфоліпідів як у крові, так і у жовчі хворих тварин. Це дає підстави вважати перспективним застосування БАД «FLP-MD» для корекції структурного і функціонального стану печінки і поліпшення обміну фосфоліпідів за її ураження, зокрема, антибіотиками тетрациклінової групи. При цьому, в разі застосування біодобавки клінічно здоровим щурам виявляли нейтральний ефект її дії на досліджувані показники, за винятком підвищення в крові концентрації сумарної фракції інозитолфосфатиду і фосфатидилінозиту на 29,3 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем. У відповідності до отриманих результатів

обґрунтовано рекомендувати БАД «FLP-MD», як препарат ефективний за розвитку жирового гепатозу, в тому числі для запобігання виникнення ускладнень у вигляді внутрішньопечінкового і позапечінкового холестазу. Останнє пояснюється тим, що експериментально визначене зростання вмісту фосфатидилсерину, сфінгомієліну, фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну у жовчі хворих тварин є сприятливою ознакою, оскільки поліпшує її фізико-хімічні властивості та дозволяє вивести з клітин печінки фосфатидилінозитол, як фактор ризику посиленого жирового переродження тканини печінки.

За умов тетрациклініндукованого жирового гепатозу в самців щурів спостерігалось достовірне зниження в крові рівня некон'югованого білірубіну на 39,3 % ($P < 0,05$), білірубіну глюкуроніду на 44,4 % ($P < 0,05$) та сумарної фракції білірубіну моноглюкуроніду і моноглікозиду на 78,9 % ($P < 0,01$) порівняно з відповідним контролем. Застосування хворим тваринам комплексу фосфоліпідів молока у складі БАД «FLP-MD» усувало вказані наслідки патологічних змін у функціонуванні клітин печінки та рівня досліджуваних некон'югованої і кон'югованих форм білірубіну в крові. Виявлена здатність БАД «FLP-MD» стабілізувати вміст білірубіну та його похідних у крові на фізіологічному рівні за розвитку експериментального жирового гепатозу – один із механізмів її гепатопротекторної дії, опосередкованої раніше доведеними репаративними, антиоксидантними та жовчогінними властивостями фосфоліпідів молока.

Разом із цим, в паренхімі печінки щурів за експериментального жирового гепатозу відмічали зменшення вмісту білірубіну глюкуроніду на 20,7% ($P < 0,05$) та білірубіну диглюкуроніду на 19,9% ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Застосування щурам за експериментального жирового гепатозу фосфоліпидовмісної біодобавки призводило до зменшення вмісту в зразках печінки білірубіну сульфату, білірубіну глюкуроніду, білірубіну

моноглюкуроніду і сумарної фракції моноглюкозиду та білірубіну диглюкуроніду, що пояснюється інтенсивним виведенням кон'югованих форм білірубіну до жовчних каналців, а отже жовчогінним ефектом фосфоліпідів молока. Накопичення некон'югованого білірубіну в печінці щурів при застосуванні БАД «FLP-MD» на тлі жирового гепатозу свідчить про інтенсифікацію його вилучення з крові транспортними системами гепатоцитів під впливом діючих речовин біодобавки. Саме властивість БАД «FLP-MD» посилювати переміщення з крові до клітин печінки некон'югованого білірубіну за умов змодельованого жирового гепатозу – ще один із механізмів її коригувальної дії, яка запобігає розвитку інтоксикації та жовтяниці. Виявлені односпрямовані зміни – зменшення концентрації некон'югованого білірубіну та його кон'югованих форм у жовчі як при тетрациклініндукованому жировому гепатозі, так і за умов застосування хворим щурам БАД «FLP-MD» обумовлені різними механізмами.

Зокрема, в умовах експериментального жирового гепатозу внаслідок пригнічення білоксинтезувальних процесів і пов'язану з цим анемію відзначали зменшення вмісту пігментів у жовчі. Припускаємо факт посилення за дії БАД «FLP-MD» синтетичних й енергозалежних транспортних й ферментативних процесів біотрансформації білірубіну, що з одночасним жовчогінним ефектом досліджуваної фосфоліпідної біодобавки, сприяло зменшенню концентрації некон'югованого і кон'югованого білірубіну в жовчі.

Встановлені закономірності дозволяють рекомендувати зазначену біодобавку в якості засобу коригувальної терапії за розвитку порушень метаболізму ліпідів, фосфоліпідів і жовчних пігментів в організмі ссавців із жировим гепатозом медикаментозного генезу, зокрема при застосуванні антибіотиків тетрациклінової групи, а також для профілактики розвитку

цирозу, печінкової недостатності, холестазу, білірубінової енцефалопатії та інших ускладнень.

Ключові слова: щури, тетрациклініндукований жировий гепатоз, хроматографія, ліпіди, фосфоліпіди, жовчні пігменти, кров, жовч, печінка, корекція, біологічно активна добавка, фосфоліпіди молока.

ABSTRACT

Pototskyi A. K. Bile pigments and lipid composition of blood and hepatobiliary system in rats under tetracycline-induced hepatitis.

Qualification scientific work in the form of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 211 "Veterinary Medicine". National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Kyiv, 2025.

In the dissertation, based on modern laboratory (chromatographic, optical), microscopic, and statistical research methods, the qualitative and quantitative composition of bile pigments, the lipid and phospholipid spectrum of native blood, bile, and liver in rats was determined. Additionally, the effectiveness of corrective therapy based on milk phospholipids in tetracycline-induced hepatitis was evaluated.

For the chromatographic analysis of bile pigment content, lipid, and phospholipid composition of native blood, bile, and liver in rats with tetracycline-induced hepatitis, four groups of animals were formed, each consisting of 10 individuals with a body weight of 225 ± 25 g. Only males were used for experimental studies, as sexual dimorphism in mammalian fatty liver disease and differences in clinical manifestation and prognosis between sexes are well known. To weigh the rats throughout the experiment, electronic scales of the ORION OS-0K22 model (ORION ELECTRONICS LTD, Europe) were used.

Laboratory animals were kept in the vivarium under standard housing conditions, with a temperature range of 22-24°C, a 14-hour light period per day, a standardized and nutritionally complete diet, and free access to water. The experimental study was conducted in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research and Other Scientific Purposes (1986) and the Law of Ukraine 3447-IV (2006). All necessary surgical

interventions in acute experiments were carried out in compliance with the ARRIVE recommendations, which are based on the principles of EU Directive 2010/63/EU (Council Directive 2010/63/EU of 22 September 2010) and the Bioethics Commission of the NUBiP of Ukraine on the basis of the Regulations “On the Protection of Animals Used for Scientific or Educational Purposes at the NUBiP of Ukraine, Used in Experiments” and “On the Bioethics Commission of the NUBiP of Ukraine”.

According to the methodology (Gryshchenko V.A. *et al.*, 2019), fatty hepatitis was induced in laboratory rats. For this purpose, using a soft silicone probe, the animals were administered a 4% solution of tetracycline hydrochloride intragastrically at a dose of 250 mg/kg body weight daily for seven days. As a result, the rats developed tetracycline-induced fatty hepatitis due to high doses of the antibiotic. Rats that did not receive any therapy while undergoing intragastric administration of tetracycline hydrochloride were assigned to the "Self-recovery" group (n=10). Animals in the "Correction" group (n=10) received an intragastric experimental 1% solution of the dietary supplement "FLP-MD," with milk phospholipids as the main active ingredient, for seven days, one hour before the oral administration of the antibiotic. Additionally, they continued receiving the supplement for two more days after the antibiotic treatment ended. The daily single-dose administration of the dietary supplement "FLP-MD" was 13.5 mg/kg body weight (Pat. 86516 UA). Rats that were administered an intragastric equivalent volume of distilled water corresponding to the antibiotic and dietary supplement were assigned to the "Control" group (n=10). A separate group of animals remained "intact" regarding antibiotic administration but received milk phospholipids as part of the "FLP-MD" dietary supplement (n=10). An important component of the study was the regular monitoring of the animals' body weight and the recalculation of drug doses according to changes in body mass during the experiment. In acute experiments on rats, bile samples were collected by

cannulating the bile duct. The duration of the acute experiment was three hours. One day before the acute experiment, the rats were weighed and subsequently kept without food. During the 24 hours preceding the acute experiment, all experimental groups had free access to drinking water. The absence of feeding during the day before the surgical intervention in the acute experiment was necessary to avoid potential reflex regulatory effects of food consumption on bile secretory function and the biochemical composition of the blood.

The first stage of the study involved weighing, examining, and intragastric administration of tetracycline hydrochloride to rats using an oral-gastric probe to artificially induce fatty hepatosis, as well as administering the biologically active supplement (BAS) based on milk, "FLP-MD," to correct the investigated parameters.

The second stage of the study involved collecting bile, native blood, and liver samples from the experimental rats. Using thin-layer chromatography, the qualitative composition and quantitative parameters of lipids, phospholipids, and bile pigments in the studied biological material were analyzed under tetracycline-induced hepatosis, as well as the corrective effect of the dietary supplement "FLP-MD" on these parameters. Additionally, a histological examination of liver samples was conducted to determine microstructural changes in tetracycline-induced hepatosis and to assess the corrective efficacy of the dietary supplement "FLP-MD."

The third stage of the study consisted of statistical processing and analysis of the obtained results, which were presented in the form of graphs and tables.

In the case of tetracycline-induced hepatosis modeling in laboratory rats, hepatocytes in many areas of the liver became separated from each other. A significant portion of liver cells exhibited fatty and granular dystrophy. Some dystrophically altered hepatocytes underwent destruction, followed by lysis of the fragments of the destroyed cells. The destruction and lysis of hepatocytes were

particularly pronounced in certain areas of the liver beneath its capsule. All these changes led to partial or complete disorganization of the hepatic plates in all lobules of the organ. Microscopic changes in the liver parenchyma indicate the steatogenic effect of tetracycline hydrochloride, which most researchers associate with a decrease in the intensity of mitochondrial β -oxidation of fatty acids due to its impact on the expression of genes involved in lipid metabolism.

In the native blood of rats with tetracycline-induced hepatitis (Experimental Group I, "Self-recovery"), significant changes in lipid profile parameters of blood, bile, and liver were observed due to destructive alterations in hepatocytes. Specifically, a substantial decrease was recorded in the blood of affected rats, including a reduction in total lipids by 37.0% ($P < 0.05$), phospholipids by 40.8% ($P < 0.05$), free fatty acids by 46.2% ($P < 0.05$), esterified cholesterol by 32.0% ($P < 0.05$), and free cholesterol by 23.1% ($P < 0.05$) compared to the control. These findings indicate the development of a deficiency in these components in the animal's body under tetracycline-induced hepatitis.

The analysis of the bile lipidogram in affected rats revealed a general trend of decreased content across all total lipid fractions. The most pronounced quantitative changes were observed in the later stages of the acute experiment. Specifically, the most significant reductions in bile were recorded for phospholipids by 22.8% ($P < 0.01$) at 120 minutes of the acute experiment, free cholesterol by 17.7% ($P < 0.05$) at 180 minutes, esterified cholesterol consistently by 52.1–57.8% ($P < 0.001$) throughout the entire three-hour period, triacylglycerols by 63.0% ($P < 0.001$) at 180 minutes, and free fatty acids by 47.2% ($P < 0.001$) at 180 minutes compared to the control. These findings indicate substantial alterations in the process of their endogenous formation.

In the study of the lipid spectrum of lipid fractions in liver samples from affected rats, the most pronounced changes were observed in the content of esterified cholesterol, which decreased by 51.2% ($P < 0.001$) compared to the

control. A similar trend was noted for other lipid fractions, namely: a reduction in phospholipids by 19.3% ($P < 0.05$), free fatty acids by 30.3% ($P < 0.01$), free cholesterol by 31.4% ($P < 0.01$), and triacylglycerols by 37.1% ($P < 0.01$) compared to the control. Combined with previous findings on changes in the lipid spectrum of native blood and bile in affected animals, these patterns confirm the presence of significant disturbances in lipid metabolism in rats with tetracycline-induced hepatitis.

The administration of the dietary supplement "FLP-MD" based on milk phospholipids to affected rats contributed to the restoration of the lipid profile in the native blood and liver of the experimental animals. Additionally, bile also showed recovery in two out of five lipid fractions (esterified cholesterol and triacylglycerols) and a significant increase in the concentration of other studied total lipid fractions. Specifically, the most pronounced increase in phospholipid content was observed at 150 minutes of the acute experiment – by 40.0% ($P < 0.01$), free cholesterol at 120 minutes – by 37.4% ($P < 0.001$), and free fatty acids at 60 minutes – by 107.7% ($P < 0.01$) compared to the corresponding control. When this dietary supplement was administered to healthy animals, the concentration of lipid fractions in the blood and bile did not differ from the control values. Significant changes toward an increase in the content of certain lipid fractions were noted only in liver samples. Phospholipid content increased by 26.4% ($P < 0.001$), free fatty acids by 19.4% ($P < 0.01$), esterified cholesterol by 21.0% ($P < 0.01$), and triacylglycerols by 25.9% ($P < 0.001$) compared to the respective control. This finding may indicate the efficient absorption of the dietary supplement's phospholipids in the intestine and the stimulatory effect of its components on endogenous lipid formation processes in hepatocytes.

Under experimental tetracycline-induced fatty hepatitis in laboratory rats, the processes of phospholipid delivery to hepatocytes and their secretion into bile are significantly disrupted. The phospholipid components of the dietary

supplement "FLP-MD" are of animal origin (derived from milk), which ensures maximum bioavailability, as evidenced by a significant increase in the content of all determined phospholipid fractions in the blood of experimental rats. Upon reaching the liver, the phospholipids from "FLP-MD" accelerate the restoration of metabolic and transport processes in hepatocytes, thereby contributing to the formation of bile with a composition that meets key biochemical standards. Considering the pathological disturbances in lipid homeostasis during experimental fatty liver degeneration, "FLP-MD" has demonstrated high effectiveness in normalizing phospholipid content in both the blood and bile of affected animals. This provides a rationale for considering the use of "FLP-MD" as a promising approach for correcting the structural and functional state of the liver and improving phospholipid metabolism in cases of liver damage, particularly due to tetracycline-group antibiotics. At the same time, when the dietary supplement was administered to clinically healthy rats, a neutral effect on the studied parameters was observed, except for an increase in the blood concentration of the total fraction of inositolphosphatidyl and phosphatidylinositol by 29.3% ($P < 0.05$) compared to the control. Based on the obtained results, it is justified to recommend the dietary supplement "FLP-MD" as an effective agent in the development of fatty hepatosis, including for the prevention of complications such as intrahepatic and extrahepatic cholestasis. This is explained by the experimentally determined increase in the content of phosphatidylserine, sphingomyelin, phosphatidylcholine, and phosphatidylethanolamine in the bile of affected animals, which is considered a favorable sign, as it improves its physicochemical properties and facilitates the removal of phosphatidylinositol from liver cells. Phosphatidylinositol is a known risk factor for the progression of fatty degeneration in liver tissue.

Under conditions of tetracycline-induced fatty hepatosis in male rats, a significant decrease in blood levels of unconjugated bilirubin by 39.3% ($P < 0.05$), bilirubin glucuronide by 44.4% ($P < 0.05$), and the total fraction of bilirubin

monoglucuronide and monoglycoside by 78.9% ($P < 0.01$) was observed compared to the corresponding control. The administration of a milk phospholipid complex as part of the dietary supplement "FLP-MD" to affected animals eliminated these pathological changes in liver cell function and restored the levels of both unconjugated and conjugated bilirubin forms in the blood. The ability of "FLP-MD" to stabilize bilirubin and its derivatives at physiological levels in experimental fatty hepatitis represents one of the mechanisms of its hepatoprotective action. This effect is mediated by the reparative, antioxidant, and choleretic properties of milk phospholipids.

At the same time, in the liver parenchyma of rats with experimental fatty hepatitis, a decrease in bilirubin glucuronide content by 20.7% ($P < 0.05$) and bilirubin diglucuronide by 19.9% ($P < 0.05$) was observed compared to the control. The administration of the phospholipid-containing dietary supplement to rats with experimental fatty hepatitis led to a reduction in bilirubin sulfate, bilirubin glucuronide, bilirubin monoglucuronide, and the total fraction of monoglucoside and bilirubin diglucuronide in liver samples. This effect can be explained by the intensified excretion of conjugated bilirubin forms into bile canaliculi, indicating the choleretic effect of milk phospholipids. The accumulation of unconjugated bilirubin in the liver of rats receiving "FLP-MD" in the context of fatty hepatitis suggests an enhanced uptake of bilirubin from the blood by hepatocyte transport systems under the influence of the supplement's active components. The ability of "FLP-MD" to promote the transfer of unconjugated bilirubin from the blood into liver cells under conditions of experimentally induced fatty hepatitis represents another mechanism of its therapeutic action, preventing the development of intoxication and jaundice. The observed unidirectional changes – a decrease in the concentration of both unconjugated bilirubin and its conjugated forms in bile under tetracycline-induced fatty hepatitis, as well as in response to "FLP-MD" administration in affected rats – are driven by different mechanisms.

In particular, under experimental fatty hepatosis, a decrease in bile pigment content was observed due to the suppression of protein-synthesizing processes and the associated anemia. It is assumed that the administration of the dietary supplement "FLP-MD" enhances synthetic, energy-dependent transport, and enzymatic processes involved in bilirubin biotransformation. Combined with the choleretic effect of the studied phospholipid supplement, this contributed to the reduction of both unconjugated and conjugated bilirubin concentrations in bile.

The established patterns allow recommending this dietary supplement as a means of corrective therapy for metabolic disorders of lipids, phospholipids, and bile pigments in mammals with drug-induced fatty hepatosis, particularly in cases involving tetracycline antibiotics. Additionally, it can be used for the prevention of cirrhosis, liver failure, cholestasis, bilirubin encephalopathy, and other complications.

Keywords: rats, tetracycline-induced fatty hepatosis, chromatography, lipids, phospholipids, bile pigments, blood, bile, liver, correction, dietary supplement, milk phospholipids.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у періодичних наукових виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України

1. Tomchuk V., **Pototskyi A.**, Gryshchenko V., Veselskyi S., Reshetnik Y. Correction of the content of triacylglycerols and free fatty acids in the bile of rats with experimental fatty hepatitis. Ukrainian Journal of Veterinary Sciences. 2022. Vol. 12. № 3. P. 53–65. (*Tomchuk, V. сформульовано актуальність з наряду дослідження. Pototskyi, A. проведено хроматографічне дослідження вмісту триацилгліцеролів і вільних жирних кислот у жовчі щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, здійснено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено статтю до друку. Gryshchenko, V. здійснено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Veselskyi, S. проведено порівняльний аналіз результатів досліджень та визначено відповідні узгодження і відмінності. Reshetnik Y. проведено літературний пошук*).

2. Veselskyi S., **Pototskyi A.**, Tomchuk V., Gryshchenko V., Reshetnik Y. Phospholipid composition of bile and blood in rats after correction of experimental fatty hepatitis. Ukrainian Journal of Veterinary Sciences. 2023. Vol. 14. № 3. P. 25–45. (*Veselskyi, S. проведено порівняльний аналіз результатів досліджень та визначено відповідні узгодження і відмінності з даними інших дослідників. Pototskyi, A. проведено хроматографічне дослідження фосфоліпідного складу жовчі та крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та при застосуванні коригувальної терапії, здійснено інтерпретацію отриманих результатів та підготовлено статтю до друку. Tomchuk, V. сформульовано актуальність наряду дослідження. Gryshchenko, V. здійснено керівництво з написання рукопису, визначено*

методологію дослідження, підготовлено висновки. Reshetnik, Y. проведено літературний пошук).

3. Illek J., Veselskyi S., **Pototskyi A.**, Gryshchenko V., Reshetnik Y. Bilirubin derivatives in bile, blood, and liver of rats upon correction of experimental fatty hepatitis. Ukrainian Journal of Veterinary Sciences. 2024. Vol. 15. № 2. P. 46–65. (Ilek, J. сформульовано інноваційність наукового напрямку дослідження. Veselskyi, S. проведено порівняльну оцінку з результатами інших дослідників. Pototskyi, A. проведено хроматографічне дослідження жовчних пігментів у жовчі, крові та в печінці щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та при застосуванні коригувальної терапії, здійснено інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено статтю до друку. Gryshchenko, V. проведено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Reshetnik, Y. проведено літературний пошук).

4. **Pototskyi A.**, Gryshchenko V. Influence of milk phospholipids on microstructural changes in rat liver under tetracycline-induced hepatitis. Scientific Reports of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. 2024. Vol. 20. No. 4. P. 31–41. (Pototskyi, A. проведено гістологічні дослідження мікроструктури печінки в щурів у разі моделювання тетрациклініндукованого гепатозу та за впливу фосфоліпідів молока, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено статтю до друку. Gryshchenko, V. сформульовано актуальність наукового напрямку дослідження, визначено його методологію, проведено керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки).

5. Gryshchenko V., **Pototskyi A.** Blood lipid profile in rats with tetracycline-induced liver damage. Scientific Reports of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. 2024. Vol. 20. № 5. P. 34–48. (Gryshchenko, V. сформульовано мету та актуальність наукового

дослідження, визначено його методологію, здійснено керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки. Pototskyi, A. проведено хроматографічне дослідження ліпідограми крові щурів за тетрациклінового ураження печінки, здійснено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено статтю до друку).

Тези наукових доповідей

6. Томчук В. А., **Потоцький А. К.**, Грищенко В. А. Вплив фосфоліпідів молока на вміст холестеролу та його фракцій в жовчі щурів за жирового гепатозу. Глобальні виклики ветеринарної медицини ХХІ століття: Міжнародна наукова конференція, м. Київ, 11 листопада 2021 року: тези доповіді. Київ, 2021. С. 144–145. *(Томчуком В.А. сформульовано мету та актуальність наукового дослідження. Потоцьким А.К. проведено експериментальні дослідження впливу фосфоліпидовмісної біодобавки на вміст холестеролу та його фракційний склад в жовчі щурів за жирового гепатозу, здійснено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. здійснено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки).*

7. **Потоцький А. К.**, Грищенко В. А. Моделювання гепатодистрофії в щурів. Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realta domestiche: II Conferenza scientifica e pratica internazionale, Bologna, Repubblica Italiana, November 11, 2021: abstracts. Bologna, Repubblica Italiana, 2021. P. 106–107. *(Потоцьким А.К. проведено експериментальне моделювання гепатодистрофії в щурів, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. сформульовано наукову новизну та актуальність, здійснено керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки).*

8. Потоцький А. К., Грищенко В. А. Холестерол та його фракції в крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та коригувальний ефект фосфоліпідів молока. Theoretical and science bases of actual tasks: XIV International Scientific and Practical Conference, Lisbon, Portugal, April 11-12, 2022: abstracts. Lisbon, Portugal, 2022. P. 58–60. *(Потоцьким А.К. проведено хроматографічне дослідження холестеролу та його фракцій у крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та визначено коригувальний ефект фосфоліпідів молока, здійснено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. сформульовано наукову мету та актуальність дослідження, визначено його методологію, проведено керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки).*

9. Потоцький А. К., Грищенко В. А., Томчук В. А. Коригувальна терапія за тетрациклініндукованого гепатозу в щурів. Єдине здоров'я-2022: Міжнародна наукова конференція, м. Київ, 22–24 вересня 2022 року: тези доповіді. Київ, 2022. С. 96–97. *(Потоцьким А.К. застосовано коригувальну терапію за тетрациклініндукованого гепатозу в щурів, проведено аналіз результатів дослідження, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. здійснено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Томчуком В.А. сформульовано актуальність напряму наукового дослідження).*

10. Потоцький А. К., Грищенко В. А., Решетнік Є. М. Динаміка вмісту триацилгліцеролів у жовчі щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу. Theoretical and empirical scientific research: concept and trends: IV International Scientific and Practical Conference, Oxford, October 14, 2022: abstracts. Oxford, 2022. P. 57–58. *(Потоцьким А.К. досліджено динаміку вмісту триацилгліцеролів у жовчі щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу, здійснено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. здійснено*

керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Решетнік Є.М. сформульовано наукову новизну та актуальність).

11. **Pototskyi A. K.**, Gryshchenko V. A., Reshetnik Y. M. Free fatty acids in the bile of rats with experimental fatty hepatosis. The modern vector of the development of science: III International Scientific and Practical Conference, Philadelphia, USA, March 02–03, 2023: abstracts. Philadelphia, USA, 2023. P. 5–9. (*Pototskyi A. K. проведено хроматографічне дослідження вмісту вільних жирних кислот в жовчі щурів у стані експериментального жирового гепатозу, аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку. Gryshchenko V. A. здійснено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Reshetnik Y. M. сформульовано актуальність дослідження*).

12. **Потоцький А. К.**, Грищенко В. А., Томчук В. А. Порівняльна оцінка токсичної дії різних груп препаратів на метаболічну активність печінки. Продовольча та екологічна безпека в умовах війни та повоєнної відбудови: виклики для України та світу: Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 25 травня 2023 року: тези доповіді. Київ, 2023. С. 117–120. (*Потоцьким А. К. проведено порівняльну оцінку токсичної дії різних груп препаратів на метаболічну активність печінки, аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. здійснено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Томчуком В.А. підготовлено огляд літератури та визначено актуальність дослідження*).

13. **Потоцький А. К.**, Грищенко В. А., Борисевич Б. В. Мікроструктурні зміни у печінці щурів за експериментального тетрациклінового гепатозу. Єдине здоров'я-2024: Міжнародна наукова конференція, м. Київ, 19–20 вересня 2024 року: тези доповіді. Київ, 2024.

С. 50–52. (Потоцьким А. К. проведено дослідження мікроструктурних змін у печінці щурів за експериментального тетрациклінового гепатозу та їх аналіз, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. здійснено керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки. Борисевичем Б. В. здійснено опис мікроструктурних змін у паренхімі печінки).

14. Грищенко В. А., **Потоцький А. К.** Ліпідний спектр крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу. Науковий простір: актуальні питання, досягнення та інновації: VIII Міжнародна наукова конференція, м. Житомир, 29 листопада 2024 року: тези доповіді. Житомир, 2024. С. 283–285. (Грищенко В.А. сформульовано мету та актуальність наряду дослідження, здійснено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Потоцьким А. К. проведено хроматографічне дослідження ліпідного спектра крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку).

Науково-практичні рекомендації

15. Томчук В. А., Грищенко В. А., **Потоцький А. К.** Коригувальна терапія за токсичного впливу на організм антимікробних і нестероїдних протизапальних препаратів. Київ, 2022. 23 с. (Томчуком В. А. підготовлено огляд літератури з досліджуваного питання. Грищенко В. А. представлено аналіз результатів за токсичного впливу на печінку натрію диклофенаку. Потоцьким А. К. описано і проаналізовано отримані результати щодо ефективності коригувальної терапії за токсичного впливу на організм тетрацикліну гідрохлориду).

16. Томчук В. А., Грищенко В. А., **Потоцький А. К.** Коригування змін у метаболізмі ліпідів і жовчних пігментів за медикаментозної форми гепатопатології. Київ, 2024. 23 с. (Томчуком В. А. підготовлено огляд

літератури з досліджуваного питання. Грищенко В. А. здійснено аналіз результатів за токсичного впливу на печінку тетрацикліну гідрохлориду. Потоцьким А. К. описано результати дослідження коригувальної ефективності фосфоліпидовмісної біодобавки у метаболізмі ліпідів і жовчних пігментів за тетрациклініндукованої гепатопатології).

ЗМІСТ

	АНОТАЦІЯ	2
	СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ	19
	ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	29
	ВСТУП	30
РОЗДІЛ	ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	36
1		
1.1	Загальні ліпіди і фосфоліпідний склад крові та жовчі у ссавців	36
1.2	Проміжний обмін жовчних пігментів в організмі ссавців	50
1.3	Роль печінки в обміні ліпідів і жовчних пігментів в організмі ссавців	55
1.4	Біохімічні механізми токсичної дії антибіотиків на печінку.....	58
1.5	Використання фосфоліпидовмісних препаратів в гепатопатології	61
	Висновки до розділу 1.....	64
РОЗДІЛ	МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	66
2		
2.1	Загальна схема дослідження	66
2.2	Матеріали та методи дослідження	68
2.3	Статистична обробка результатів дослідження	74
	Висновки до розділу 2	75
РОЗДІЛ	РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ	76
3		
3.1	Мікроскопічні зміни у тканині печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока	76

3.2	Загальні ліпіди крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока	85
3.2.1	Зміни ліпідного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу	85
3.2.2	Коригувальна ефективність фосфоліпидовмісної біодобавки щодо ліпідного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу	94
3.3	Фосфоліпіди крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока	103
3.3.1	Зміни фосфоліпідного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу	103
3.3.2	Коригувальна ефективність фосфоліпидовмісної біодобавки щодо фосфоліпідного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу	109
3.4	Жовчні пігменти крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока	116
3.4.1	Зміни жовчнопігментного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу	116
3.4.2	Коригувальна ефективність фосфоліпидовмісної біодобавки щодо жовчнопігментного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу	122
3.4.3	Заклучення до розділу 3	127
	Висновки до розділу 3	128
РОЗДІЛ УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ		

АНАЛІЗ	132
ВИСНОВКИ	138
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ	140
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	141
ДОДАТКИ	156

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАД	– біологічно активна добавка;
ППП	– права печінкова протока;
ЛПП	– ліва печінкова протока;
ЗПП	– загальна печінкова протока;
СМ	– сфінгомієлін;
КЛ	– кардіоліпін;
ФК	– фосфатидна кислота;
ФС	– фосфатидилсерин;
ФЕ	– фосфатидилетаноламін;
ФХ	– фосфатидлхолін;
ФІ	– фосфатидилінозитол;
BSEP	– експортний насос жовчної солі;
MDR-3	– множинна лікарська стійкість 3;
МУП	– медикаментозне ураження печінки;
ММЖК	– мембрана молочної жирової кульки.

ВСТУП

Актуальність обраної теми. Жирове переродження печінки (жировий гепатоз, стеатогепатоз) – низка аномалій стану печінки, яка часто починається як простий стеатоз і прогресує до стеатогепатиту, фіброзу, цирозу та гепатоцелюлярної карциноми. Через зростаючу поширеність жирове переродження печінки стає серйозною клінічною проблемою [1–2]. У ветеринарній практиці ураження печінки тварин, зокрема її жирове переродження, зустрічається досить часто (до 25 %), виявляє різну етіологію та потребує розробки відповідних неінвазивних методів діагностики та ефективного лікування. Розвиток жирового гепатозу, на думку фахівців [3–5], пов'язаний із порушенням метаболізму ліпідів у печінці, яке, як варіант, може виникати внаслідок гепатотоксичної дії синтетичних лікарських препаратів, зокрема антибіотиків тетрациклінової групи, а також, як результат негативного впливу генетичних, епігенетичних та екологічних факторів, що сприяють прогресуванню фіброзу та ризику гепатоцелюлярної карциноми.

Провідним фактором поглиблення патологічних змін у печінці при її жировому гепатозі виявляється накопичення ліпідів у клітинах печінки. Дослідники звертають увагу на те, що у зразках печінки за жирового гепатозу виявляються помітні зміни в композиції жирних кислот і фосфоліпідів, які вказують на порушення метаболізму ліпідів як ключового фактору в патогенезі та прогресуванні цього захворювання.

Сучасні дослідження про ліпотоксичність та прогрес в аналізі ліпідного профілю, як провідного показника патофізіологічних механізмів при жировому гепатозі, показують зв'язок порушень обміну ліпідів із хронічним запаленням і пошкодженням гепатоцитів [6]. Важливого значення у коригуванні змін структурно-функціонального стану гепатоцитів за

медикаментозної форми гепатопатії набувають фосфоліпидовмісні препарати, зокрема тваринного походження (фосфоліпіди молока).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертація виконувалась упродовж 2021–2025 рр. і була частиною науково-дослідної роботи кафедри біохімії імені акад. М.Ф. Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України: «Коригування молекулярних механізмів функціонування організму тварин за дії екопатогенних чинників довкілля і розвитку патологій» (номер державної реєстрації 0120U102092) та «Використання ендоекологічної технології відновлювальної терапії за токсичної дії ксенобіотиків на організм тварин та розвитку патологій» (номер державної реєстрації 0123U101946).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи полягала у визначенні спектру жовчних пігментів, ліпідів і фосфоліпідів у крові та гепато-біліарній системі щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та коригувальної ефективності фосфоліпидовмісної БАД «FLP-MD».

Для досягнення мети було поставлено такі завдання:

- З'ясувати особливості мікроскопічних змін у печінці щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока;
- Дослідити загальні ліпіди у нативній крові, жовчі та печінці щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока;
- Визначити фосфоліпідний склад нативної крові, жовчі й печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока;
- Дослідити жовчні пігменти у нативній крові, жовчі й печінці щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока;

➤ Розробити науково-практичні рекомендації щодо коригування змін у метаболізмі ліпідів і жовчних пігментів за медикаментозної форми гепатопатології у тварин.

Об'єкт дослідження – характер змін спектру жовчних пігментів, ліпідів і фосфоліпідів у крові та гепатобіліарній системі щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та коригувальна ефективність БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока.

Предмет дослідження – щури, тетрациклініндукований жировий гепатоз, спектр ліпідів, фосфоліпідів і жовчних пігментів, зразки крові, жовчі й печінки, коригувальна ефективність, БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока.

Методи дослідження. Хроматографічні (визначення якісних і кількісних характеристик спектру загальних ліпідів, фосфоліпідів і жовчних пігментів у зразках крові, жовчі та печінки), світлова мікроскопія (гістологічні дослідження зразків печінки) та математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Результати проведених досліджень доповнюють новими науковими даними щодо характеристики мікрокопічних змін у печінці за тетрациклініндукованого жирового гепатозу, які підтверджують стеатогенний ефект тетрацикліну гідрохлориду. Зокрема, зафіксовано значну кількість печінкових клітин у стані жирової і зернистої дистрофії. Частина дистрофічно змінених гепатоцитів руйнувалась із наступним лізисом фрагментів зруйнованих клітин. Зазначені зміни призводили до часткової чи повної дезорганізації печінкових пластинок в усіх часточках органу. У разі застосування хворим щурам коригувальної терапії у вигляді фосфоліпідів молока БАД «FLP-MD» виявляли їх позитивний вплив на процеси регенерації та відновлення структурної організації гепатоцитів.

Вперше отримані результати дослідження жовчно-пігментного, ліпідного і фосфоліпідного спектрів крові, жовчі та печінки у лабораторних щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу, що вказують на формування дефіцитного рівня досліджуваних показників та розвиток явища внутрішньопечінкового холестазу. Визначено маркерні зміни досліджуваних показників та ефективні коригувальні властивості БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока, що дозволяє рекомендувати її в якості засобу гепатопротекторного профілю. У разі перорального введення цієї біодобавки клінічно здоровим щурам відмічали відсутність токсичного впливу її компонентів як на клітини печінки, так і на весь організм. При цьому, реєстрували тенденцію до зростання абсолютного вмісту окремих із досліджуваних фракцій загальних ліпідів та фосфоліпідів у досліджуваному біологічному матеріалі. Таким чином, в результаті експериментального дослідження розкрито маркерні зміни у кількісних параметрах жовчних пігментів і ліпідограми нативної крові, жовчі та печінки у лабораторних щурів, що може бути корисним у вивченні патогенезу тетрациклінового ураження гепатобіліарної системи в ссавців та при випробуванні новостворених лікарських засобів гепатопротекторної дії.

Практичне значення одержаних результатів. Визначено маркерні зміни в обміні жовчних пігментів і ліпідів за гострої форми тетрациклініндукованого жирового гепатозу в лабораторних щурів. Експериментально підтверджено коригувальну ефективність БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока щодо відновлення жовчнопігментного і ліпідного гомеостазу за тетрациклініндукованого жирового гепатозу в лабораторних щурів. Це свідчить про перспективність застосування зазначеної біодобавки в виражених коригувальними властивостями за умов медикаментозного ураження печінки, передусім, антибіотиками тетрациклінової групи. Особливо актуальне застосування БАД «FLP-MD» за

гепатопатології, що супроводжується розвитком внутрішньопечінкового холестазу, оскільки жовчосекреторні процеси та фізико-хімічні властивості жовчі значною мірою залежать від секреції гепатоцитами фосфоліпідів до первинних жовчних каналців. На основі отриманих результатів розроблено дві науково-практичні рекомендації: «Коригувальна терапія за токсичного впливу на організм антимікробних і нестероїдних протизапальних препаратів» В.А. Томчука, В.А. Грищенко, А.К. Потоцького. К.: Ред.-видавн. відділ НУБіП України (2022) та «Коригування змін у метаболізмі ліпідів і жовчних пігментів за медикаментозної форми гепатопатології» В.А. Томчука, В.А. Грищенко, А.К. Потоцького. К.: Ред.-видавн. відділ НУБіП України (2024). Крім того, матеріали дисертації впроваджено у клінічну ветеринарну практику (Клініка ветеринарної медицини "WSW clinic", м. Київ, 2025), навчальну і наукову роботу на кафедрі біохімії імені акад. М.Ф. Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України (м. Київ, 2025).

Особистий внесок здобувача. Здобувачем особисто здійснено аналіз літературних першоджерел за темою дисертації, виконано увесь спектр експериментальних і статистичних досліджень. Аналіз результатів мікроскопічних і хроматографічних досліджень та формулювання висновків за темою дисертації здійснювалось спільно з науковим керівником. Для публікації були використані результати експериментальних досліджень, отримані особисто здобувачем в процесі виконання дослідницьких робіт разом із іншими співавторами.

Апробація результатів. Результати дисертаційного дослідження були апробовані та одержали схвальні відгуки на: Міжнародній науковій конференції «Глобальні виклики ветеринарної медицини XXI століття» (Київ, Україна, 2021); II Conferenza scientifica e pratica internazionale «Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realta

domestiche» (Bologna, Repubblica Italiana, 2021); Proceedings of the XIV International Scientific and Practical Conference (Lisbon, Portugal, 2022); Міжнародній науковій конференції «Єдине здоров'я-2022» (Київ, Україна, 2022); IV International Scientific and Practical Conference: «Theoretical and Empirical Scientific Research: Concept and trends» (Oxford, Vinnytsia, 2022); III International Scientific and Practical Conference: «The modern vector of the development of science» (Philadelphia, USA, 2023); Міжнародній науково-практичній конференції, секція 3: «Роль тваринництва, ветеринарної медицини та харчових технологій в умовах війни та вирішенні завдань плану відродження України» (Київ, Україна, 2023); Міжнародній науковій конференції «Єдине здоров'я-2024» (Київ, Україна, 2024); VIII International Scientific and Practical Conference: «Recent Scientific Investigation» (Oslo, Norway, 2024).

Публікації. Основні результати експериментальних досліджень викладено в 16 наукових працях, із яких 5 статей у наукових фахових виданнях України, 9 тез наукових доповідей на конференціях та розроблено 2 науково-практичні рекомендації.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Загальні ліпіди і фосфоліпідний склад крові та жовчі у ссавців

Ліпіди. Термін ліпіди походить від грецького “lypos”, що означає жир. Це нерозчинні у воді маслянисті або жирні речовини, які можна екстрагувати з клітини неполярними розчинниками, такими як етер, хлороформ та бензол [7].

Ліпіди є важливою групою клітинних компонентів, які функціонують у клітинній структурі, зберіганні енергії та передачі сигналів і регулюються на багатьох рівнях [8]. Молекулярний склад ліпідів у клітині визначається генетично. Гаплотипи генів метаболізму ліпідів визначають утворення ліпідів у клітинах, а регуляція експресії ферментів визначає їх кількість і різноманітність. Вміст жирних кислот у харчуванні впливає на метаболізм фосфоліпідів. Таким чином, профіль ліпідів залежить від генетики, регуляції генів і харчування. Оскільки всі тканини в організмі мають однаковий генетичний склад і дієтичний вплив, регуляція генів ферментів метаболізму ліпідів є ключовим фактором зміни ліпідного профілю в різних тканинах [5]. Клітини ссавців містять полярні та неполярні ліпіди. Холестерол, його естери та триацилгліцероли складають переважну частину неполярних ліпідів [9], тоді як гліцерофосфоліпіди становлять приблизно 60 % полярних ліпідів у клітині [10].

Ліпіди належать до біомолекул. Біомолекули – це органічні речовини, які виконують пластичну (будівельну), метаболічну (участь в обміні речовин) і регуляторну функції в організмі живих істот [11].

Біологічні мембрани завдяки ліпідам є гнучкими самогерметизуючими бар'єрами для клітин і органел. Вони розподіляють функції та виконують

багато інших завдань. Фізичні властивості ліпідів впливають на мембранні процеси. Кожна мембрана має унікальну структуру, склад і функцію, а всередині неї є мікродомени з унікальним ліпідним складом, такі як ліпідні рафти. Ліпіди створюють гідрофобно-гідрофільне середовище, в якому функціонують мембранні білки, визначаючи їх організацію та орієнтацію. Вони забезпечують гнучкість і специфічні взаємодії з іншими макромолекулами. Визначення функцій ліпідів ускладнюється їх різноманітними властивостями та участю в різних рівнях клітинної функції [12]. Ліпогенез природним шляхом контролює рівень глюкози, стимулює біосинтез триацилгліцеролів в печінці, що залежить від правильної сигналізації інсуліну в ліпогенних шляхах [13]. Триацилгліцерол починає синтезуватися з гліцерол-3-фосфату, пізніше ацил-коензим А жирна синтаза активує жирні кислоти і три з них естерифікуються до молекули [14]. Коли тварина відчуває нестачу енергії, норадреналін вивільняється із симпатичних нервових закінчень, що призводить до ліполізу триацилгліцеролу до вільних жирних кислот і гліцеролу. Відповідно ліпаза функціонує як фермент, що обмежує швидкість ліполітичної реакції, яка гідролізує триацилгліцероли до вільних жирних кислот і гліцеролу [15].

Триацилгліцероли дозволяють організмам тимчасово зберігати енергію, забезпечуючи резерв, який можна використовувати при виснаженні місцевих ресурсів або за потреби в жирних кислотах та ліпідних попередниках. Дослідження на бактеріях показали, що триацилгліцероли синтезуються під час стресу і дефіциту ресурсів і використовуються для створення попередників фосфоліпідів та інших продуктів, коли постачання їжі відновлюється [16, 17].

Такі ліпіди, як жирні кислоти, стерини, фосфоліпіди та триацилгліцероли, виступають ефективними джерелами енергії, а також можуть діяти як сигнальні молекули, які сприяють регуляції запалення та

метаболічного гомеостазу через структурні елементи або різні механізми, пов'язані з мембраною [18].

Ліпіди є гетерогенним класом біомолекул із широким спектром структур і функцій. Ліпіди можна розділити на два основних підкласи: нейтральні ліпіди (такі як триацилгліцероли, віск і терпени), які є молекулами з довгими гідрофобними вуглеводневими ланцюгами без вільної полярної групи, і полярні ліпіди (такі, як фосфоліпіди, гліколіпіди), які окрім своїх гідрофобних вуглеводневих залишків, також містять полярну гідрофільну групу, таку як вуглеводна група або головна фосфатна група з гідрофільним залишком у своїй структурі [19].

Ліпідоміка – це нова галузь, що дозволяє детально досліджувати весь склад ліпідів у біологічних матрицях [20]. Дослідження ліпідного профілю печінки у пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою показали зміни в концентраціях гліцерофосфоліпідів, сфінголіпідів і структурі жирних кислот порівняно зі здоровими. Однак результати ліпідомічних досліджень у зразках плазми залишаються суперечливими.

Ліпотоксичність, яка виникає через накопичення токсичних ліпідів у нежирових тканинах, активує запальні шляхи, клітинну дисфункцію та ліпоапоптоз у пацієнтів з жировою хворобою печінки. Це ключовий фактор у прогресуванні жирової хвороби печінки до стеатогепатиту. Пацієнти з жировою хворобою печінки мають підвищені рівні триацилгліцеролів, вільних жирних кислот, жовчних кислот, вільного холестеролу, лізофосфатидилхолінів та церамідів. Ожиріння і резистентність до інсуліну призводять до підвищеного витоку вільних жирних кислот через дисфункцію жирової тканини [20].

Жовч складається з багатьох макромолекул, включаючи жовчні кислоти, вільний холестерол, фосфоліпіди, білірубін і неорганічні іони, які допомагають травленню, всмоктуванню поживних речовин і видаленню

нерозчинних продуктів катаболізму гема. Синтез і вивільнення жовчних кислот суворо контролюється і залежить від механізмів зворотного зв'язку, які регулюють кишково-печінкову циркуляцію. Зміни складу жовчі, порушення розслаблення жовчного міхура є основними механізмами, що призводять до утворення жовчних каменів. Різні фізіологічні стани та захворювання змінюють склад та метаболізм жовчі, таким чином збільшуючи ризик розвитку каменів у жовчному міхурі [21]. Дев'яносто п'ять відсотків фосфоліпідів у жовчі секретується у вигляді фосфатидилхоліну [22].

Жовч, травна рідина, що виробляється та виділяється печінкою, транспортується низкою розгалужених жовчних проток, відомих разом як жовчне дерево. На клітинному рівні кілька вузьких каналців збирають жовч, що виробляється кожним гепатоцитом. Ці каналці впадають у внутрішньодолькову жовчну протоку, яка збирає всю жовч із кожної часточки, функціональної одиниці печінки. Інтралобулярні протоки потім впадають у міжчасточкові протоки, які розташовані між часточками. Міждолькові протоки зливаються, утворюючи дві основні жовчні протоки печінки: праву печінкову протоку (ППП) і ліву печінкову протоку (ЛПП). Позапечінково праві та ліві протоки об'єднуються, утворюючи загальну печінкову протоку (ЗПП), яка проходить у гепатодуоденальній зв'язці до контакту з кістозною протокою, жовчною протокою, яка з'єднується з жовчним міхуром. Загальна печінкова протока з'єднується з жовчним міхуром через кістозну протоку, утворюючи загальну жовчну протоку. Гепатопанкреатична ампула, так звана гепатопанкреатична протока або ампула Фатера, є сферичною структурою, розташованою в місці злиття загальної жовчної протоки та протоки підшлункової залози, що позначає точку входу жовчі в другу частину дванадцятипалої кишки. Це контролюється гладком'язовими волокнами сфінктера Одді, який відкривається в дуоденальному сосочку, дозволяючи жовчі надходити в

тонку кишку. Крім того, жовч може надходити в жовчний міхур для зберігання через кістозну протоку [23].

Індуковане цитокінами запалення печінки, подальша активація клітин Купфера та зірчастих клітин печінки, а також ліпотоксичність, спричинена вільними жирними кислотами та іншими ліпотоксичними біологічно активними ліпідами, залученими до хронічного ураження печінки, вважаються відповідальними за прогресування гепатопатології від жирового гепатозу до стеатогепатиту та розвитку фіброзу [24].

В останнє десятиліття знання про ліпотоксичність значно доповнилися, що дало нове розуміння ліпідного профілю та патофізіологічних механізмів, пов'язаних із хронічним запаленням і пошкодженням гепатоцитів. Дослідження ліпідомів печінки та сироватки крові у пацієнтів з жировою хворобою печінки виявило, що порушення метаболізму ліпідів є ключовим фактором розвитку цієї гепатопатології і що кілька складних видів ліпідів, включаючи сфінголіпіди та гліцерофосфоліпіди, беруть участь у ліпотоксичності та патогенезі стеатогепатиту.

Ліпідоміка визначається як детальна характеристика молекулярних видів ліпідів та їх структури та біологічної ролі в певній матриці, включаючи клітину, тканину та біологічну рідину. Ця відносно нова галузь досліджень є підмножиною метаболоміки та представляє потужний підхід до отримання повного уявлення про метаболізм ліпідів у біологічній системі або навіть на певній стадії захворювання. Ліпідоміка включає ідентифікацію та характеристику, а також кількісну оцінку тисяч молекулярних видів ліпідів у біологічній матриці.

З огляду на той факт, що печінка є ключовим органом метаболізму і що ліпіди плазми натще відображають переважно ліпіди, які експортуються з печінки, зміни в циркулюючому ліпідомі можуть корелювати зі змінами в печінці під час прогресування жирової хвороби печінки. Цікаво, що зміни у

складі жирних кислот і фосфоліпідів плазми відрізнялися від тих, про які повідомлялося в зразках печінки [6].

З постійної каталогізації ліпідних структур (ліпідоміки) стає зрозуміло, що еукаріотичні клітини інвестують значні ресурси в генерацію тисяч різних ліпідів [25].

Ліпіди забезпечують три основні функції. По-перше, через їх відносно відновлений стан ліпіди використовуються для накопичення енергії, головним чином, у вигляді триацилгліцеролів та естерів. Вони функціонують, головним чином, як безводні резервуари для ефективного зберігання запасів калорій і як накопичувачі компонентів жирних кислот і стеролів, для біогенезу інших мембран. По-друге, матриця клітинних мембран утворена полярними ліпідами, які складаються з гідрофобної та гідрофільної частин. Щільність гідрофобних фрагментів до самоасоціації (ентропійно керована вода) і активність філальних фрагментів взаємодіяти з водним середовищем і один з одним є фізичною основою спонтанного утворення мембран. Цей фундаментальний принцип амфіпатичних ліпідів є хімічною властивістю, яка дозволила відокремити внутрішній склад клітин від зовнішнього середовища. Цей же принцип повторюється всередині клітини у формуванні окремого органу. Ця компартменталізація дозволяє відокремити специфічні хімічні реакції з метою підвищення біохімічної ефективності та обмеження розповсюдження реакції продукту. На додаток до бар'єрної функції, ліпіди забезпечують мембранний потенціал для брунькування, поділу і злиття, біологічного розмноження та обміну за участі внутрішньоклітинних мембран.

Ліпіди також здатні агрегувати з певними білками у мембранах, а інші – диспергувати. Нарешті, ліпіди можуть діяти як месенджери в процесах трансдукції сигналу та молекулярного розпізнавання. Деградація амфіпатичних ліпідів унеможливорює двобічні сигнальні прояви, які можуть передаватися в середині мембрани гідрофобними частинами молекул, а

також поширюватися через цитозоль полярними частинами молекул. Крім того, деякі ліпіди функціонують для визначення мембранних доменів, які відновлюють білки з цитозолем та згодом організовують вторинні сигнальні або ефекторні комплекси. Прогрес у біофізиці, хімії та генетиці знову привернув увагу до біологічної ролі значного різноманіття мембранних ліпідів. Однією з властивостей ліпідів, яка захопила вчених, є їх фазова поведінка. У клітинах ліпіди здатні приймати рідкі та тверді фази, які характеризуються різним просторовим розташуванням і вільним рухом кожного ліпиду у його відношенні до поряд розташованих молекул. Біофізичні підходи визначили принципи співвідношення двох рідинних фаз (з особливими фізичними характеристиками в одній площині мембрани), які розкривають сутність організації біологічних мембран [26, 27].

Ліпідні плоти складаються з динамічних зборів холестеролу та сфінголіпідів у екзоплазматичному листку ліпідного подвійного шару. Ліпідні плоти можуть включати або виключати білки вибірково, а афінність плоту цього білка може модулюватися внутрішньо- або позаклітинними стимулами [28].

Динамічний трансмембранний розподіл ліпідів. Склади ліпідів окремих мембран можуть бути додатково стратифіковані щодо орієнтації ліпідів у цитозолі. Усі ліпіди симетрично розподілені між двома стулками подвійного шару мембрани, ендоплазматичного ретикулуму, мембрани Гольджі, плазматичної та ендосомальної мембран. Водночас демонструють асиметричний розподіл ліпідів із сфінгом'єліном (СМ) та глікосфінголіпідами на нецитозольній стороні (люмінальна сторона), зі збагаченням фосфатидилсерином та фосфатидилетаноламіном цитозольним листком [29, 30].

Фосфоліпіди, їх роль та функції. Фосфоліпіди (ФЛ) – це амфipатичні молекули, які складаються з гліцеринового каркасу, до якого приєднані

гідрофільна головна група та гідрофобні жирні ацильні ланцюги (рис. 1.1 А). Варіації в головній групі визначають розмір, форму та заряд фосфоліпиду (див. рис. 1.1 В, С). Існують також відмінності в довжині та ступені ненасиченості жирних ацильних ланцюгів, що призводить до формування значного різномайття видів фосфоліпідів [31].

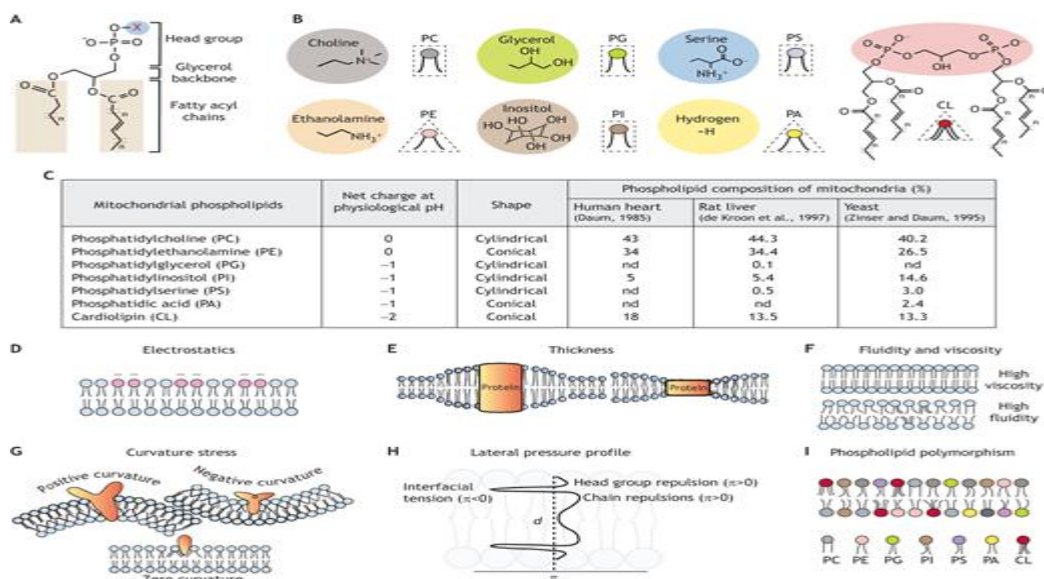


Рис. 1.1 Біохімічні та біофізичні властивості мітохондріальних фосфоліпідів [31–33]

Примітки: (А) Структура типового гліцерофосфоліпиду. (В) Структура фрагмента «Х» та ілюстрація його впливу на загальну форму фосфоліпиду. Кардіоліпін (КЛ) – унікальний димерний мітохондріальний фосфоліпід, у якому дві фосфатидні кислоти (ФК) з'єднані гліцерином. (С) Основні класи фосфоліпідів, їх заряд, форма та відносні пропорції в мітохондріях із зазначених джерел. (D) Поверхнева щільність заряду подвійного шару залежить від заряду кожного фосфоліпиду. (Е) Гідрофобні спіралі білків, що контактують з ацильними ланцюгами фосфоліпідів, корелюють з товщиною мембрани. (F) Плинність залежить від ступеня насичення жирних ацильних ланцюгів фосфоліпідів. (G) Наявність недвошарових фосфоліпідів надає

викривлення ліпідного подвійного шару. (H) Великий негативний тиск, локалізований на полярно-аполярній межі розділу між головними групами та ацильними ланцюгами, врівноважується позитивним бічним тиском в області ацильного ланцюга. (I) Поліморфізм фосфоліпідів визначає фізичні властивості мембрани.

Загальна форма кожної молекули фосфоліпиду залежить від площі поперечного перерізу головної групи та ацильних ланцюгів (див. рис. 1.1 B) [32]. Фосфоліпідний склад і відносне співвідношення двошарових і недвошарових фосфоліпідів у мітохондріальних мембранах є еволюційно консервативними (див. рис. 1.1 C). Різноманітність видів фосфоліпідів визначає біофізичні та біохімічні властивості мембран, що, в свою чергу, впливає на поведінку мембранних білків [33].

Як і у всіх клітинах ссавців, переважаючою групою структурних ліпідів у тромбоцитах є фосфоліпіди. Ці амфipатичні ліпіди утворюють мембрани клітин і органел із гідрофобною частиною жирних кислот, орієнтованою на ядро, і полярними головними групами, що містять фосфат, зверненими до водної фази (рис. 1.2) [34, 35].

Фундаментальною структурою мембрани є подвійний фосфоліпідний шар, який утворює стійкий бар'єр між двома водними компартментами. У випадку плазматичної мембрани ці відділи знаходяться всередині та зовні клітини. Білки, вбудовані у фосфоліпідний бішар, виконують специфічні функції плазматичної мембрани, включаючи вибіркового транспорт молекул і розпізнавання між клітинами [36].

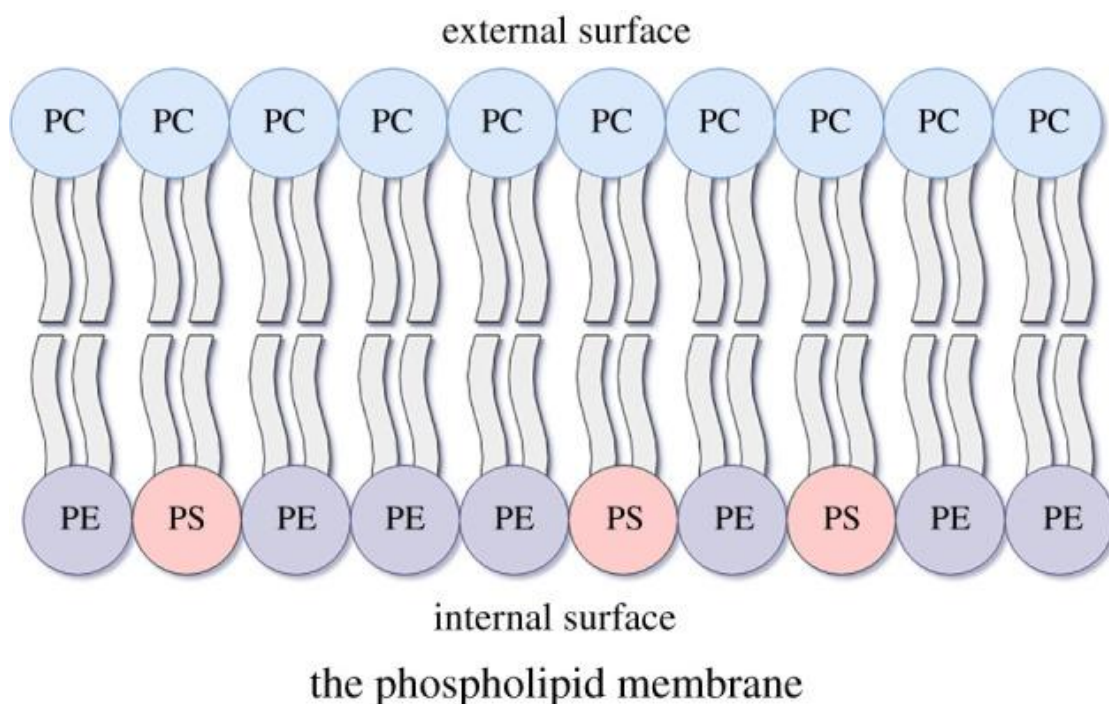


Рис. 1.2 Спрощена ілюстрація плазматичної мембрани нативного фосфоліпиду, що стосується коагуляції [34, 35]

Гліцерин утворює кістяк, який з'єднує головні групи фосфоліпідів з фосфатидною кислотою, причому остання приєднується в положеннях *sn1* і *sn2* (рис 1.3).

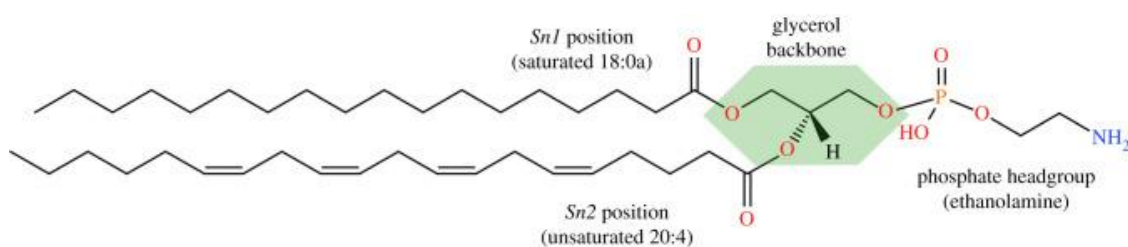


Рис. 1.3 Приклад молекули фосфоліпиду, що демонструє положення *sn1/sn2*/головної групи в гліцериновому скелі [39]

Примітка: У цьому прикладі 1 стеароїл-2-арахідоніл-фосфатидилетаноламін, або фосфатидилетаноламін, 18:0a/20:4, демонструється з гліцериновою основою виділеною багатокутником. Структури, зображені за допомогою інструментів на LIPID MAPS.

Гліцерол утворює кістяк, який з'єднує головні групи фосфоліпідів із фосфатидною кислотою, причому остання приєднується в положеннях *sn1* і *sn2* (див. рис. 1.3). Як правило, *sn1* є насиченими або мононенасиченими і можуть бути пов'язані з основою за допомогою ацильної, алкільної (естерної) групи або алкенільної групи (плазмалоген) [39]. Зазначена *sn2* жирна кислота зазвичай є поліненасиченою та з довшими ацильними ланцюгами [40, 41].

Окрім підтримки цілісності клітини, фосфоліпіди відіграють важливу роль у плинності та проникності мембран, щоб полегшити транспортування молекул через мембрани. Крім того, лізофосфатилхолін є основним фосфоліпідом плазми та попередником лізофосфатидної кислоти, він може виступати в якості позаклітинного або внутрішньоклітинного медіатора та компонента клітинної мембрани. Цілісність і плинність біологічної мембрани значною мірою залежить від складу фосфоліпідів, а також від розташування стеринів і сфінголіпідів. Зокрема, було показано [41], що співвідношення фосфатидилхоліну до фосфатидилетаноламіну є ключовим регулятором цілісності мембрани на тваринних моделях. У клітинах ссавців більша частина фосфатидилхоліну виробляється з харчового холіну та збагачується у зовнішньому листі мембрани. Менша кількість фосфатидилхоліну синтезується в печінці шляхом перетворення фосфатидилетаноламіна, який міститься у внутрішньому шарі мембрани, за допомогою фосфатидилетаноламін N-метилтрансферази.

Змінений склад фосфоліпідів і зниження плинності мембрани можуть призвести до пошкодження печінки, що надалі провокує розвиток жирової хвороби печінки.

Найпоширенішим фосфоліпідом у клітинах ссавців є фосфатидилхолін. Різноманітність інших фосфоліпідів, включаючи фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин, сфінгомієлін, кардіоліпін, а також фосфатидилінозитол

(ФІ) та його фосфорильовані похідні, також є важливими компонентами мембрани. Крім фосфоліпідів, інші ліпіди, такі як холестерол і глікосфінголіпіди, є компонентами клітинних мембран ссавців (табл. 1.1) [42].

Таблиця 1.1

Ліпідний склад типової ядерної клітини в ссавців, % (цит. за [42])

Фосфатидилхолін	45–55
Фосфатидилетаноламін	15–25
Фосфатидилінозитол	10–15
Фосфатидилсерин	5–10
Фосфатидна кислота	1–2
Сфінгомієлін	5–10
Кардіоліпін	2–5
Фосфатидилгліцерин	<1
Глікосфінголіпіди	2–5
Холестерол	10–20

Мембрана фосфоліпиду в циркулюючих імунних клітин у стані спокою є асиметричною, зовнішній шар якої складається переважно з фосфатидилхоліну, який також становить 40 % від загальної кількості фосфоліпиду. Навпаки, шар, звернений до цитозолу, збагачений фосфатидилетаноламіном, а також фосфатидилсерином, який присутній у менших кількостях [43].

Аналіз потенціалу мітохондріальної мембрани базується на оцінці змін потенціалу мітохондріальної мембрани як надійного індикатора мітохондріальної дисфункції, яка була пов'язана із загибеллю клітини [44].

Фосфатидилхолін – основний представник класу гліцерофосфоліпідів, присутній у всіх клітинах ссавців і деяких прокаріотичних клітинах, що відіграє вирішальну роль у структурі мембран і клітинній сигналізації [45].

Різні типи тканин і клітин ссавців мають характерний фосфоліпідний склад. Наприклад, два амінофосфоліпіди, ФС і ФЕ, більш поширені в мозку, ніж в інших тканинах. Крім того, у головному мозку та сітківці ока ацильні ланцюги ФС і ФЕ сильно збагачені поліненасиченими жирними кислотами, насамперед докозагексаєсновою. Не тільки різні типи тканин і клітин ссавців мають різні фосфоліпідні композиції, але й мембрани внутрішньоклітинних органел також містять певні суміші фосфоліпідів та інших ліпідів. Наприклад, вміст ФЕ у внутрішній мембрані мітохондрій клітин ссавців значно вищий, ніж в інших органелах [46].

Фосфатидилетаноламін є незамінним фосфоліпідом, який займає другу позицію за поширеністю гліцерофосфоліпідів в еукаріотичних клітинах. Він виконує різноманітні клітинні функції, у тому числі виступає попередником фосфатилхоліну та бере участь у важливих посттрансляційних модифікаціях. Цей фосфоліпід також відіграє певну роль у впливі на топологію мембрани та сприянні різноманітним клітинним процесам, таким як злиття мембран, мітохондріальний біогенез та аутофагія. Крім того, аномалію метаболізму фосфатидилетаноламіну пов'язують із неврологічними захворюваннями та вірулентністю певних патогенів [47].

Фосфатидилінозитол є основним детермінантом ідентичності мембран, з основною групою інозитулу, яка може бути фосфорильована в різних положеннях на своїй полярній головці [48].

Фосфоінозитиди – це ліпідні сигнальні молекули, які координують численні аспекти мембранного обміну та клітинної сигналізації в еукаріотичних клітинах. Їх дія має важливе значення для клітинного росту, метаболізму та загибелі клітин [49].

Фосфатидилсерин є кількісно незначним мембранним фосфоліпідом, який синтезується прокаріотичними та еукаріотичними клітинами. Ферменти, які синтезують фосфатидилсерин, обмежені мембранами ендоплазматичного ретикулуму в клітинах дріжджів і ссавців, але фосфатидилсерин широко представлений в мембранах інших органел. Вважається, що вплив фосфатидилсерину на зовнішню поверхню клітин відіграє ключову роль у видаленні апоптичних клітин і в ініціації каскаду згортання крові. Фосфатидилсерин також є попередником фосфатидилетаноламіну, який утворюється фосфотидилсерин-декарбоксилазою в клітинах бактерій, дріжджів і ссавців. Крім того, фосфотидилсерин необхідний як кофактор для кількох важливих ферментів, таких як протеїнкіназа C і Raf-1 кіназа, які беруть участь у сигнальних шляхах [50].

У ссавців 18 реакцій взаємоперетворення фосфоінозитидів, ідентифікованих до цього часу, опосередковуються 47 генами, що кодують 19 фосфаінозитидкіназ і 28 фосфаінозитидфосфатаз. Крім того, для певної фосфаінозитид-кінази або фосфатази може існувати кілька ізоферментів. Ці білки часто демонструють перекривання тканинних розподілів, і окрема клітина може експресувати кілька ізоферментів.

Фосфоінозитиди складають одне з найбільш функціонально універсальних сімейств мембранних ліпідів, які беруть участь у забезпеченні здоров'я людини та тварини, а їх кількісні зміни здатні спровокувати розвиток захворювання [51].

Сфінгомієлін є домінуючим сфінголіпідом у мембранах клітин ссавців, і цей клас ліпідів особливо збагачений у плазматичній мембрані, відділі рециркуляції ендоцитів і транс-мережі Гольджі. Розподіл сфінгомієліну і холестеролу між клітинними відділами корелюють. Сфінголіпіди мають широкі можливості утворення водневих зв'язків, які разом із їх насиченою природою сприяють утворенню сфінголіпідів і сфінгомієлін-збагачених бічних доменів у мембранах. Холестерол воліє взаємодіяти з сфінгомієліном, і ця взаємодія має багато важливих функціональних наслідків. Сфінгомієлін мембран бере участь у забезпеченні різноманітних клітинних функцій і процесів, зокрема, у регуляції ендоцитозу та опосередкованого рецептором поглинання ліганду, у функціонуванні іонного каналу та рецепторів, зв'язаних із G-білком, у сортуванні білка та функціонуванні як рецепторних молекул для різноманітних бактеріальних токсинів і для небактеріальних пороутворюючих токсинів. Цей фосфоліпід є також важливою складовою мембрани кришталика ока і задіяний у регуляції різних ядерних функцій. Сфінгомієлін є незалежним фактором ризику розвитку серцево-судинних захворювань, а результати нових досліджень свідчать про можливий механізм його ролі в атерогенезі [52].

1.2 Проміжний обмін жовчних пігментів в організмі ссавців

Жовч та жовчоутворення. Жовч – це ізоосмотична рідина, що містить жовчні кислоти, фосфоліпіди та холестерол, а також невелику кількість білків і білірубину. Первинна жовч виділяється з гепатоцитів у каналцевий простір. Звідти вона надходить у внутрішньо-печінкові жовчні протоки, де її плінність і лужність змінюються холангіоцитами, тобто епітеліальними клітинами, що вистилають жовчні протоки. Жовчні кислоти є основними рушійними силами потоку жовчі, індукуючи секрецію води в жовч через

пасивний осмотичний транспорт. З іншого боку, жовчні кислоти секретуються в жовч за допомогою BSEP, а фосфоліпіди та холестерол секретуються в жовч білком множинної лікарської стійкості 3 (MDR3) і членом підродини G 5/8 АТФ-зв'язуючої касети (ABCG5/G8), відповідно.

У жовчі жовчні кислоти та фосфоліпіди (переважно фосфатидлхолін) утворюють змішані міцели, які також містять невелику кількість холестеролу. Міцелоутворення знижує детергентну активність і цитотоксичність жовчних кислот і перешкоджає кристалізації холестеролу [53].

Жовчоутворення є важливим процесом, оскільки секреція жовчних кислот допомагає перетравлювати ліпіди та засвоювати жиророзчинні поживні речовини. Жовч також утилізує зайві та токсичні речовини, такі як холестерол, білірубін та ксенобіотики (ліки, хімічні речовини та їхні метаболіти).

Жовч утворюється в мережі жовчних каналців між клітинами печінки. Компоненти жовчі синтезуються в гепатоцитах і секретуються через апікальні мембрани в жовчні каналці. Клітини печінки також поглинають "холефіли" із кровотоку через базолатеральні мембрани і після внутрішньоклітинного зв'язування або біотрансформації секретують їх через каналцеву мембрану. Ці процеси створюють каналцеву жовч, де жовчні кислоти та глутатіон виділяються у високих концентраціях, що викликає осмотичний потік води в каналці. Ліпідні везикули формують жовчні міцели, що складаються з фосфоліпідів, холестеролу та жовчних солей. Великі білкові молекули жовчі секретуються шляхом везикулярного транспорту та екзоцитозу.

Жовч переміщується вперед по каналцях завдяки перистальтичним скороченням актин-міозинової мережі під апікальною мембраною гепатоцитів. Жовч дренажується у внутрішньопечінкові жовчні протоки, які

сходяться в загальну печінкову жовчну протоку. У цих ділянках жовч змінюється шляхом реабсорбції деяких її складових, переважно жовчних кислот, але основним механізмом холангіоцитів є секреція HCO_3^- разом із додатковою рідиною, що формує дуктулярну жовч [53].

Основою жовчоутворення є численні метаболічні процеси, що забезпечують транспорт через синусоїдальну мембрану, синтез, біотрансформацію та внутрішньоклітинний транспорт і каналікулярну секрецію компонентів жовчі [54, 55].

Секреція жовчі холангіоцитами є складним процесом (рис. 1.4), опосередкованим білками апікальної мембрани, що реагують на зміни рівня циклічного аденозинмонофосфату, аденозинтрифосфату в просвіті та внутрішньоклітинного рівня кальцію [56].

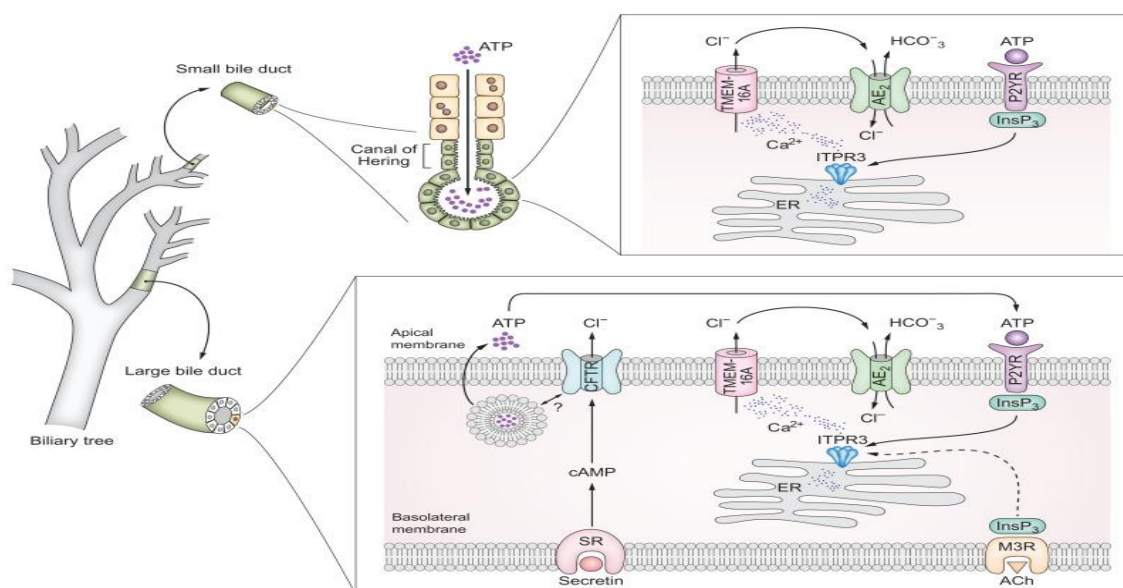


Рис. 1.4 Регуляція секреції бікарбонату в холангіоцитах [53]

Основною функцією жовчних шляхів є транспортування та виділення жовчі. Жовчний міхур зберігає і концентрує жовч. Жовч сприяє всмоктуванню та перетравленню жирів і жиророзчинних вітамінів на додаток до видалення жиророзчинних відходів. Основними компонентами жовчі є

холестерол, жовчні солі та білірубін. Білірубін, відповідальний за характерний жовто-зелений колір жовчі, також виводиться з жовчю і забезпечує пігментацію калу [57].

Білірубін. Білірубін є важливим метаболітом гему, координаційного комплексу, що координує залізо в різних білках [58, 59]. Білірубін отримують з 2 основних джерел. Приблизно 80 % білірубіну утворюється внаслідок розпаду гемоглобіну в апоптичних еритроцитах і передчасно зруйнованих еритроїдних клітинах кісткового мозку. Решта походить від перетворення різних білків, що містять гем, які знаходяться в інших тканинах, насамперед, у печінці та м'язах. Ці білки включають міоглобін, цитохроми, каталазу, пероксидазу та триптофанпіролазу [60].

Жовчні пігменти, такі як білірубін і його окисне похідне білівердин, є побічними продуктами шляху деградації гема і відомі в основному як сполуки, яким призначено виведення небажаного гема з організму. Відомо, що концентрації білірубіну вищі за нормальні рівні від 5 до 17 мкМ мають цитотоксичну дію [61].

Ліпофільний некон'югований білірубін транспортується в кровобіг у зв'язаному з альбуміном вигляді [62]. Зв'язаний з альбуміном білірубін потрапляє до печінки через синусоїди. Поліпептиди, що транспортують органічні аніони (1B1 і 1B3), заковані в суперсімействі генів органічних аніонів-носіїв розчиненої речовини, опосередковують поглинання білірубіну в гепатоцитах [63]. Після відокремлення від альбуміну та захоплення клітинами печінки білірубін кон'югується з глюкуроною кислотою за допомогою білірубін UDP-глюкоронозилтрансферази [64].

У просвіті кишечника білірубін декон'югується β -глюкуронідазою епітеліального або бактеріального походження, а потім відновлюється кишковою мікробіотою до низки похідних, широко відомих як уробіліноїди [65]. Незважаючи на масове виробництво уробіліноїдів (цей процес важливий

для утилізації електронів, що утворюються під час ферментолітичних процесів у цих анаеробних бактеріях. Білірубінредуктазу досі не ідентифікували. Таким чином, цей фермент є відсутнім пазлом у процесі метаболізму білірубіну. Роль мікробіоти кишечника в регуляції гомеостазу білірубіну також невідома [66].

Білівердин. Білівердин – тетрапіррольна водорозчинна сполука, що утворюється в результаті розпаду гему [67]. Гем розщеплюється на білівердин, монооксид вуглецю та залізо під дією гемоксидази. Потім білівердин швидко розщеплюється до білірубіну білівердинредуктазою [68].

Білівердин вважається відходом розпаду гему. Коли еритроцити лізують через гемолітичні захворювання або природний апоптоз, вивільняється гем. Гем метаболізується гемоксигеназою з використанням трьох молекул кисню та семи електронів і виробництва білівердину IX-альфа, оксиду вуглецю та двовалентного заліза. Білівердин IX-альфа метаболізується до білірубіну IX-альфа за допомогою НАДФН-залежної білівердинредуктази. Білірубін IX-альфа спочатку знаходиться в некон'югованій, жиророзчинній, непрямій формі. Він кон'югується в печінці за допомогою UDP-глюкуронозилтрансферази. На наступному етапі кон'югований білірубін метаболізується та виводиться з сечею та калом [69].

Стеркобілін та уробілін. Більша частина білірубіну, що надходить у кишечник із жовчю, знаходиться у вигляді диглюкуроніду, який погано всмоктується в тонкому кишечнику. У каудальному відділі тонкої кишки бактерії видаляють залишки глюкуронової кислоти та відновлюють білірубін до безбарвного уробіліногену та фарбуючого пігменту стеркобіліногену. Під впливом кисню і променів світла у повітрі відбувається їх окиснення до уробіліну та стеркобіліну відповідно (тобто червоно-помаранчеві пігменти, які зумовлюють колір калу та сечі). В калі у незначній мірі присутні й інші продукти розпаду білірубіну.

Уробіноген виводиться здебільшого з калом, але невелика частина всмоктується з товстої кишки, надходить у портальний кровообіг, видаляється шкірою та виділяється в жовч [70].

Жовчні пігменти у фізіологічно нетоксичних концентраціях демонструють важливі антимутагенні, антиоксидантні, протизапальні та імуносупресивні властивості [71].

1.3 Роль печінки в обміні ліпідів і жовчних пігментів в організмі ссавців

Печінка виконує важливі функції для підтримки гомеостазу, які модулюються кальцієм, вторинним месенджером, що регулює внутрішньоклітинні процеси. У гепатоцитах і холангіоцитах печінки єдиними каналами вивільнення кальцію є інозитол-1,4,5-трифосфатні рецептори (Ins_3P). Існують три ізоформи Ins_3P – типи 1, 2 і 3, які по-різному експресуються в клітинах печінки та регулюють різні фізіологічні функції. Зміни в експресії цих рецепторів пов'язані з окремими хворобами печінки [72].

У печінці сконцентрована більшість шляхів проміжного перетворення ліпідів – синтез і окиснення вищих жирних кислот, ліпогенез і ліполіз, синтез фосфоліпідів, жовчних кислот, холестеролу та його естерів, гліколіпідів, утворення кетонових тіл, транспортних форм ліпідів (ліпопротеїнів низької і дуже низької щільності), 25-гідроксилування вітаміну D_3 тощо [73].

Метаболізм ліпідів у печінці контролюється взаємодією гормонів, рецепторів і сигнальних шляхів. Інсулін грає провідну роль у цьому процесі, стимулюючи ліпогенез і утворення ліпопротеїнів дуже низької щільності через активацію відповідних ферментних систем [74].

Більшість ліпідів синтезується в ендоплазматичному ретикулумі і транспортується до мітохондрій, але синтез кардіоліпіну та фосфатидилетаноламіну у внутрішній мембрані мітохондрій підкреслює їхнє загальне значення для метаболізму клітинних ліпідів. Екстенсивний обмін ліпідів та їх попередників відбувається між ендоплазматичним ретикулумом і мітохондріями, а також між мітохондріальними мембранами. Ідентифікація комплексів мембранного зв'язку та білків-транспортів ліпідів у мітохондріях дає уявлення про механізми цих транспортних процесів, які мають фундаментальне значення для діяльності мітохондрій та підтримання гомеостазу в клітинах [75].

Печінка є найбільшою травною залозою в організмі тварин і виконує низку важливих функцій. Класичні печінкові часточки, які вважаються структурно-функціональними одиницями печінки, побудовані з печінкових перекладок (пластинок), в яких локалізуються гепатоцити, стовбурові клітини печінки, овальні клітини, стовбурові клітини кістковомозкового походження. На холангіограмах виявляються жовчні каналці і жовчні канали (холангіоли, каналці Герінга), які вистелені холангіоцитами. Кровоносні капіляри печінкової часточки належать до синусоїдів та зсередини вистелені ендотеліоцитами, між якими розсіяні численні зірчасті макрофагоцити (клітини Купфера). У просвіті синусоїдів зустрічаються печінкові клітини-вбивці (pit-клітини), які фіксуються своїми відростками до ендотелію та за низкою ознак подібні до природних клітин-кілерів. Синусоїди оточені навколосинусоїдним простором (простір Діссе), в якому локалізовані навколосинусоїдні жиронакопичувальні клітини (клітини Іто) [76].

Місце входження ворітної вени в печінку називається воротною зоною або каналом, навколо якого розташований навколорітний простір із жовчною протокою. Печінкова тріада, що складається з міжчасточкової

артерії, вени та жовчної протоки, знаходиться біля печінкової часточки. У цій зоні розташовані капіляри, що утворюють навколочасточкове капілярне сплетення, а також навколочасточкові лімфатичні судини. У центрі класичної часточки печінки знаходиться центральна вена, а часточка поділяється на три зони: центральну (зону III), проміжну (зону II) і периферійну (зону I). Кров із часточок збирається в підчасточкові й навколочасточкові вени.

Термін “ворітна часточка” відноситься до трикутної ділянки паренхіми з тріадою в центрі та центральними венами в кутах. "Печінковий ацинус" описує ромбоподібну ділянку паренхіми, де в тупих кутах розташовані тріади, а в гострих – центральні вени [77]. Окремі дослідники вказують, що гепатоцити різних зон печінкової часточки не відрізняються за своєю будовою, хоча і зазначають, що їх метричні показники є різними [78].

Жовч – це травна рідина, яка виробляється і виділяється печінкою, та транспортується системою розгалужених жовчних проток, відомих як жовчне дерево. На клітинному рівні жовч, яку виробляють гепатоцити, збирається у вузьких каналцях. Ці каналці впадають у внутрішньодолькові жовчні протоки, що збирають жовч із кожної часточки печінки. Внутрішньодолькові протоки зливаються у міждолькові, які знаходяться між часточками печінки. Далі міждолькові протоки об’єднуються, утворюючи праву та ліву печінкові протоки. Позапечінково ці протоки зливаються в загальну печінкову протоку, яка проходить через гепатодуоденальну зв’язку і з’єднується з кістозною протокою, що веде до жовчного міхура. Вони об’єднуються, утворюючи загальну жовчну протоку, яка зливається з протокою підшлункової залози, утворюючи гепатопанкреатичну ампулу (ампулу Фатера). Ампула контролюється сфінктером Одді, який регулює надходження жовчі в дванадцятипалу кишку. Жовч також може переміщуватися в жовчний міхур для зберігання через кістозну протоку [79].

Жовч складається з багатьох макромолекул, включаючи жовчні кислоти, вільний холестерол, фосфоліпіди, білірубін, неорганічні іони, які допомагають травленню, всмоктуванню поживних речовин і видаленню нерозчинних продуктів катаболізму гема. Синтез і вивільнення жовчних кислот суворо контролюється і залежить від механізмів зворотного зв'язку, які регулюють кишково-печінкову циркуляцію. Зміни складу жовчі та порушення розслаблення жовчного міхура є основними механізмами, що призводять до утворення жовчних каменів [80]. Дев'яносто п'ять відсотків фосфоліпідів у жовчі секретується у вигляді фосфатидилхоліну [81].

Основною функцією жовчних шляхів є транспортування та виділення жовчі. Жовчний міхур зберігає і концентрує жовч. Жовч сприяє всмоктуванню та перетравленню жирів і жиророзчинних вітамінів на додаток до видалення жиророзчинних відходів. Основними компонентами жовчі є холестерол, жовчні солі та білірубін. Білірубін, обумовлює характерний жовто-зелений колір жовчі, також виводиться з жовчю і відповідає за пігментацію калу [82].

1.4 Біохімічні механізми токсичної дії антибіотиків на печінку

Гепатопатії можуть викликати серйозні метаболічні аномалії у людей і тварин. Основними проблемами для здоров'я людей є гострі та хронічні інфекції вірусного гепатиту від А до Е та захворювання печінки, пов'язані з алкоголем, які не розпізнаються у собак [22].

Медикаментозне ураження печінки (МУП) потребують диференціальної діагностики у пацієнтів з аномальними печінковими тестами та нормальною гепатобіліарною візуалізацією. З усіх відомих захворювань печінки діагноз МУП, ймовірно, є одним із найважчих для встановлення. В усіх основних дослідженнях МУП антибіотики є

найпоширенішим типом ліків, про які повідомлялося. Клінічний фенотип різних типів антибіотиків, пов'язаних з ураженням печінки, дуже варіабельний [83].

Тетрациклін є препаратом прямої цитотоксичної дії на печінку, тому його широко використовують у фармацевтичних дослідженнях терапевтичної ефективності гепатопротекторних препаратів [84]. Дія тетрацикліну спочатку проявляється у вигляді жирової дистрофії з накопиченням триацилгліцеролів у гепатоцитах і порушенням балансу між продукцією та катаболізмом ліпідів. У високих дозах цей антибіотик викликає зниження активності мітохондріального β -окиснення жирних кислот, збільшення синтезу ендогенних жирних кислот та призводить до недостатнього включення або експорту триацилгліцеролів у ліпопротеїни низької щільності [85].

Накопичення печінкових токсичних ліпідів є результатом складної взаємодії між жировою тканиною і печінкою. У цьому контексті інсулінорезистентність є ключовою патогенетичною ланкою, яка сприяє стеатозу, ліпотоксичності та прогресуючому пошкодженню печінки. Статус інсулінорезистентності робить жирову тканину стійкою до антиліполітичного ефекту інсуліну, що призводить до розпаду триацилгліцеролів і прогресуючого утворення вільних жирних кислот і гліцеролу [86].

Ліпотоксичність відноситься до високого рівня накопичення токсичних ліпідів та їх похідних, що активує запальні шляхи, клітинну дисфункцію та ліпоапоптоз у пацієнтів з неалкогольною жировою хворобою печінки. Ліпотоксичність відіграє провідну роль у прогресуванні легкої неалкогольної жирової хвороби печінки до стеатогепатиту. Тому пацієнти з неалкогольною жировою хворобою печінки мають вищі рівні триацилгліцеролів, вільних жирних кислот та інших типів ліпідів, таких як жовчні кислоти, вільний холестерол, лізофосфатидилхоліни та цераміди [87].

Патогенез жирової хвороби печінки вважається багатофакторним процесом, а механізми, що лежать в основі прогресування захворювання, є складними. Внутрішньопечінкове накопичення жиру – характерна ознака захворювання, яка є результатом підвищеного поглинання жирних кислот, посиленого ліпогенезу *de novo* та порушення експорту та окиснення жирних кислот. Крім того, гіперінсулінемія, пов'язана з резистентністю до інсуліну, сприяє новому синтезу жирних кислот у печінці шляхом активації білка-1с, що зв'язує регуляторний елемент стеролу (SREBP-1с), регулятора транскрипції ліпогенних генів. Ці вільні жирні кислоти, а також жирні кислоти з дієтичних джерел або піддаються β -окисненню, або етерифікуються гліцеролом з утворенням триацилгліцеролів. Потім триацилгліцероли зберігаються в гепатоцитах і утворюють ліпідні краплі або упаковуються та експортуються у вигляді ліпопротеїнів дуже низької щільності. Таким чином, харчове перевантаження та резистентність до інсуліну сприяють накопиченню жиру в печінці [88].

Внутрішньоклітинне відкладення ліпідів при неалкогольній жировій хворобі печінки і подальша підвищена потреба в метаболізмі надлишку жирних кислот призводять до виробництва активних форм кисню, підвищення окисного стресу або стресу ендоплазматичного ретикулуму і активації N-кінцевої кінази, що призводить до мітохондріальної дисфункції та загибелі клітин [89].

Вважається, що запалення печінки при жировій дистрофії печінки викликається різноманітними сполуками, такими як молекулярні структури, пов'язані з пошкодженням, що вивільняються з гепатоцитів, бактеріальний ендотоксин кишкового походження, вільні жирні кислоти та вільний холестерол [90].

Індуковане цитокінами запалення печінки, подальша активація клітин Купфера та зірчастих клітин печінки, а також ліпотоксичність, спричинена

вільними жирними кислотами та іншими ліпотоксичними біологічно активними ліпідами, залучені до хронічного ураження печінки та вважаються відповідальними за прогресування від неалкогольної жирової хвороби печінки до стеатогепатиту та розвиток фіброзу [91]. Надмірний розпад триацилгліцеролів викликає накопичення жирних кислот у формі діацилгліцеролу не лише в печінці, але й в інших тканинах [92].

За розвитку токсичного ураження печінки ксенобіотиками істотно зростає інтенсивність ліпопероксидації ліпідної компоненти мембран гепатоцитів, що призводить до їх пошкодження і, як наслідок, порушення її численних функцій [93].

1.5 Використання фосфоліпидовмісних препаратів в гепатопатології

Можна розрізнити природні та синтетичні фосфоліпіди. Природні фосфоліпіди можливо отримати з рослинних джерел, таких як соєві боби, соняшник, насіння ріпаку (каноли), зародки пшениці та насіння льону; і тваринний матеріал, такий як курячий яєчний жовток, молоко [94].

Фосфоліпіди – як природні, так і синтетичні – широко використовуються у фармацевтичній технології як змочувальні агенти, емульгатори, будівельна субстанція або компоненти різних ліпідних мезофаз, таких як ліпосоми, міцели, змішані міцели, інвертовані міцели, кубосоми [95]. Ці функціональні властивості застосовуються в багатьох типах фармацевтичних композицій, таких як суспензії, різні типи емульсій, тверді дисперсії, ліпідні наночастинки, лікарські фосфоліпідні комплекси [96, 97].

Гліцерофосфоліпіди та сфінголіпіди є кількісно найважливішими фосфоліпідами у молоці. Вони складають приблизно 0,5–1,0 % від молочного жиру та приблизно 60–70 % фосфоліпідів у молоці знаходиться в мембранних молочних жирових кульках (ММЖК) [98].

Жирові кульки в молоці складаються з триацилгліцерольного ядра, оточеного тонкою мембраною, яка називається ММЖК. Ця мембрана має поперечний переріз приблизно 10–20 нм. Вона діє як емульгатор і захищає глобули від коалесценції та ферментативної деградації. ММЖК має високу структуру та містить унікальні полярні ліпіди та мембраноспецифічні білки. Сфінголіпіди (високобіологічно активні молекули, в основному присутні в полярних ліпідах тваринного походження) складають до однієї третини фракції полярних ліпідів ММЖК. Накопичено науковий доказ харчової користі цих сфінголіпідів. Крім того, передбачається, що білки ММЖК також володіють специфічними поживними властивостями. Таким чином, завдяки своєму походженню та структурі, полярні ліпіди та білки ММЖК можуть бути використані в якості емульгатору або стабілізатору, поєднуючи технологічну та поживну функціональність [99].

Вони включають в основному фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидилінозитол і фосфатидилсерин, тоді як сфінгомієлін є домінуючим видом сфінголіпідів. Існує чимало доказів того, що фосфоліпіди мають сприятливий вплив на здоров'я, наприклад регуляцію запальних реакцій, хіміопрофілактичну та хіміотерапевтичну дію на деякі види раку та інгібування всмоктування холестеролу. Фосфоліпіди демонструють хороші емульгуючі властивості і можуть використовуватися як система доставки для жиророзчинних компонентів. Завдяки амфіфільним характеристикам цих молекул їх вилучення, розділення та виявлення є критичними моментами в аналітичному підході [100]. Серед незначних за вмістом фосфоліпідів у молоці деякі автори відзначали лізофосфатидилетаноламін, лізофосфатидилхолін і плазмалогени [101].

Печінці належить провідна роль у процесах біотрансформації лікарських засобів. Вона є першим органом, який реагує на побічні явища унаслідок застосування препаратів. Сьогодні згідно з реєстром LiverTox®,

що містить інформацію про підтверджену гепатотоксичність лікарських засобів, відомо більше ніж 1000 медикаментів, біологічно активних добавок (БАД), фітопрепаратів, які викликають медикаментозне ураження печінки (МУП). З кожним роком перелік цих препаратів зростає. У структурі захворювань печінки частота МУП становить у середньому 5–7 %. Як правило, воно пов'язане з використанням протитуберкульозних, антибактеріальних препаратів, аналгетиків, гормональних, цитостатичних, гіпотензивних, антиаритмічних засобів.

Есенційні фосфоліпіди продемонстрували свою ефективність на експериментальних моделях токсичного гепатиту, індукованого прийомом парацетамолу, тетрацикліну та індометацину, що зумовило доцільність їх призначення при МУП у людей. Лікувальний ефект есенційних фосфоліпідів полягає в нормалізації структури мембран та органел клітини, зменшенні та зникненні некрозу гепатоцитів, посиленні їх регенерації та зниженні інтенсивності утворення сполучної тканини [102].

Есенційні фосфоліпіди широко використовуються для підтримуючого лікування за різних хвороб печінки, в тому числі й за жирового переродження [103].

Відомо, що фосфоліпіди утворюють подвійний шар клітинних і субклітинних мембран і зумовлюють їх плинність і біологічну активність. Ефективність есенційних фосфоліпідів у терапії захворювань печінки підтверджується не лише здатністю 1,2-ділінолеоїлфосфатидилхоліну вбудовуватися в пошкоджені ділянки мембран, що покращує регенерацію печінки та замінює ендогенні, менш ненасичені молекули ФХ, але й його здатністю підвищувати плинність мембран та їх функціональну здатність. Стосовно досліджень *in vitro* та на тваринах, есенційні фосфоліпіди впливають на мембранозалежні клітинні функції та виявляють антиоксидантну, протизапальну, антифіброзну, регенеративну, мембрано-

відновлювальну та захисну функції, клітинну сигналізацію та на рецептори біомембран [104].

Небезпечність і важкі наслідки для здоров'я людей і тварин захворювань печінки токсичної етіології визначають необхідність поглибленого вивчення їх патогенезу та розробки ефективних, патогенетично обґрунтованих методів фармакопрофілактики і терапії [105].

Висновки до розділу 1

Ліпіди є біологічними молекулами, які забезпечують численні функції в клітинах, зокрема пластичну, метаболічну та регуляторну. Вони є важливою групою клітинних компонентів, які задіяні у формуванні клітинної структури, зберіганні енергії та передачі сигналів. У свою чергу, їх поділяють на нейтральні (триацилгліцероли) і полярні (фосфоліпіди). Перші виступають як резерви енергії та витрачаються організмом тварин на синтез важливих ліпідів у стресових станах, що підвищує їх значення для підтримання метаболічного гомеостазу. Фосфоліпіди є основними компонентами біологічних мембран і виконують провідну роль у структурі клітин, їх функціонуванні та метаболізмі. Вони мають різноманітний склад і властивості, які залежать від типу головної групи, довжини й насиченості ацильних ланцюгів. Різноманітність видів фосфоліпідів визначає біофізичні та біохімічні властивості клітинних мембран, що істотно впливає на активність мембранних білків.

Процес жовчоутворення регулюється чисельними метаболічними та транспортними механізмами, що включають синтез, біотрансформацію та секрецію її компонентів, а також участь гепатоцитів, холангіоцитів та кишкової мікробіоти. Жовчні кислоти утворюють міцели з фосфоліпідами та холестерином, що забезпечують стабільність жовчі та запобігають

цитотоксичності. Білірубін та його похідні як компоненти жовчі сприяють не лише видаленню небажаного гему, але й виконують антиоксидантні та протизапальні функції. Метаболізм білірубіну в кишечнику завершується утворенням уробіліну та стеркобіліну, що забезпечує забарвлення калу і сечі, а також може впливати на підтримання гомеостазу. Таким чином, жовч є незамінним компонентом процесів травлення, виведення кінцевих продуктів і метаболізму.

Печінка виконує численні важливі функції для підтримки гомеостазу організму. Її клітини – гепатоцити та холангіоцити регулюють внутрішньоклітинні процеси за допомогою кальцію та інозитол-1,4,5-трифосфатних рецепторів (Ins3P) [106]. Водночас вона є центральним органом метаболізму ліпідів, синтезуючи та окиснюючи жирні кислоти, утворюючи холестерол, фосфоліпіди, жовчні кислоти та транспортні форми ліпідів. Порушення функцій печінки та зміни в метаболізмі жовчі можуть спричинити утворення жовчних каменів та інших патологій [107].

Гепатопатії, зокрема жирова дистрофія печінки, за її медикаментозного ураження, є серйозною ветеринарною проблемою, яка може призвести до значних метаболічних аномалій у тварин. Своєчасна діагностика та лікування гепатопатій є критично важливими для запобігання прогресуванню захворювань печінки та збереження здоров'я тварин. Фосфоліпіди, як природні, так і синтетичні, відіграють важливу роль у фармацевтичній технології й активно використовуються в якості засобів клітинної терапії.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

2.1 Загальна схема дослідження

Дисертація виконувалась упродовж 2021–2025 рр. на кафедрі біохімії імені акад. М.Ф. Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України (НУБіП України).

Частина експериментальної роботи була проведена на базі віварію ННЦ "Інститут біології та медицини" Київського національного університету імені Тараса Шевченка, м. Київ. Лабораторні щури розміщувались в клітках із тирсовою підстилкою, яку змінюють кожні дві доби. Кожна клітка також оснащена годівницею для тварин та двома поїлками. Годівля тварин відбувалась двічі на добу, до раціону входить спеціальний комбікорм для гризунів, який забезпечує потреби організму в корисних речовинах та воді. Цей віварій є благополучним щодо інфекційних захворювань. Віварій оснащений каналізацією, водопроводом, витяжною системою і кондиціонером. Регулярно проводиться вологе прибирання з дезінфікуючими засобами. Вхід і вихід з приміщень оздоблений дезінфекційними килимами, які регулярно зволожуються дезінфекційними розчинами.

Експериментальні та лабораторні дослідження проведені із дотриманням вимог Закону України № 3447 – IV від 21.02.06 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», які узгоджуються з основними принципами «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), декларації «Про гуманне ставлення до тварин» (Гельсінкі, 2000) і Національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Київ, 2001). Для проведення експериментальних досліджень на

тваринах отримано дозвіл Біоетичної комісії НУБіП України (№ 008/2024 від 29 квітня 2024 року).

Окремі лабораторні дослідження проводилися на базі Інституту високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка (м. Київ).

Експериментальна частина роботи проводилась за наступною схемою (рис. 2.1):

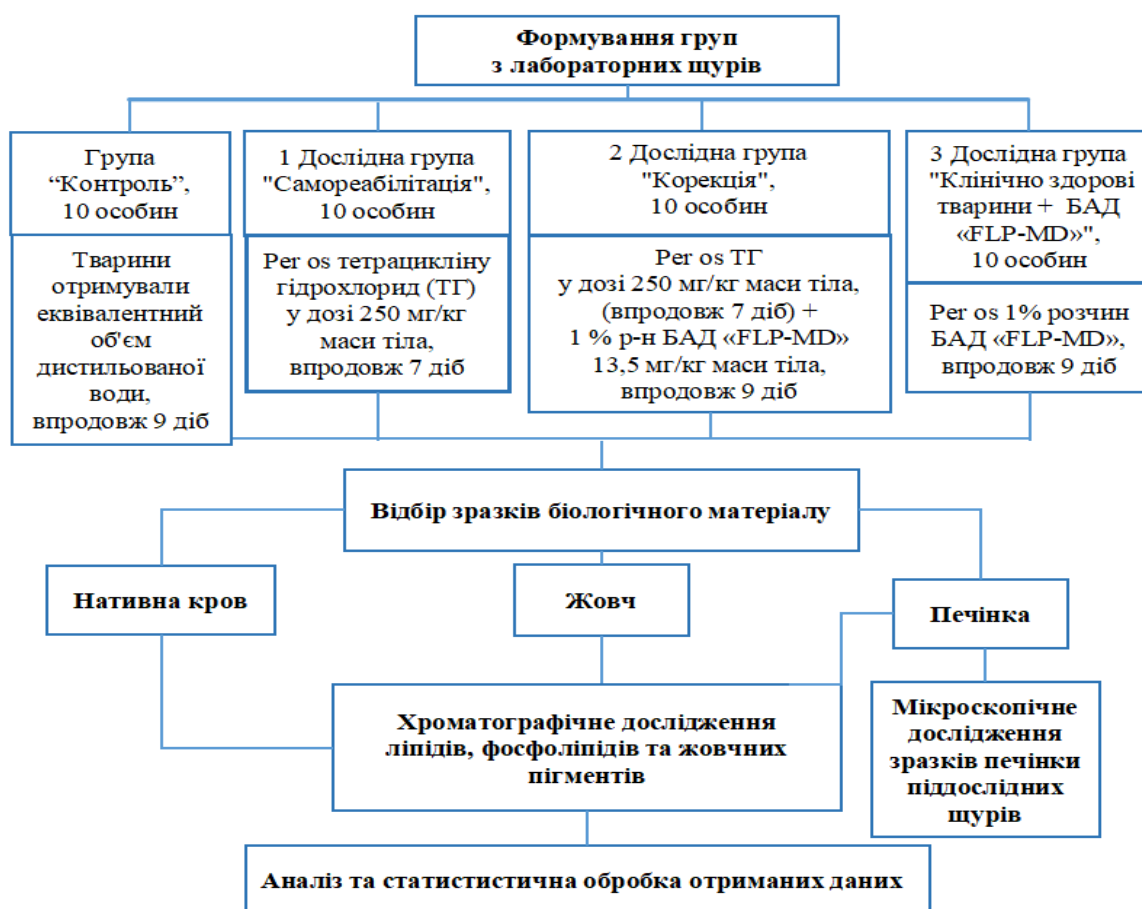


Рис. 2.1 Схема проведення експериментальних досліджень

Перший етап дослідження полягав у зважуванні, огляді та інтрагастральному введенні препаратів лабораторним щурам для моделювання тетрациклініндукованого гепатозу [86] та корекції

досліджуваних показників за допомогою БАД «FLP-MD» [108] на основі фосфоліпідів молока.

Другий етап дослідження включав в себе відбір зразків жовчі, нативної крові та печінки у піддослідних лабораторних щурів. Завдяки використанню методу тонкошарової хроматографії підлягали дослідженню якісні та кількісні показники ліпідного, фосфоліпідного та жовчно-пігментного спектрів перерахованих вище зразків біоматеріалу за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та застосування БАД «FLP-MD». Окремо проведено гістологічне дослідження зразків печінки для визначення мікроструктурних змін при тетрациклініндукованому гепатозі та коригувальної ефективності БАД «FLP-MD».

Третій етап дослідження стосувався статистичної обробки і аналізу отриманих результатів та їх оформлення у вигляді таблиць.

2.2 Матеріали та методи дослідження

Моделювання жирового гепатозу та формування груп тварин. За методикою В.А. Грищенко та ін. (2019) [86] у білих лабораторних щурів було змодельовано тетрациклініндукований жировий гепатоз. Для проведення експериментальних досліджень використовували білих лабораторних щурів, з яких формували чотири групи (три – дослідні і одна – контрольна) по 10 особин у кожній, з масою тіла 225 ± 25 г. Тварини кожної групи розміщувалися в окремих клітках із вільним доступом до води і корму. До початку досліду тварини знаходились на карантині з контролем клінічного стану. Впродовж експерименту спостерігали за кількістю випитої води, апетитом та зміною маси тіла у тварин усіх груп. Тривалість досліду становила 9 діб.

У щурів двох груп – I дослідної («Самореабілітація») та II дослідної («Корекція») штучно моделювали жировий гепатоз шляхом перорального інтрагастрального введення препарату тетрацикліну гідрохлориду в дозі 250 мг/кг маси тіла у вигляді 4 %-ого водного розчину один раз на добу, впродовж 7 діб. При цьому, тваринам II дослідної групи («Корекція») додатково застосовували коригувальну терапію у вигляді 1 % розчину ліпосомальної форми БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока [108], яку перорально вводили впродовж 9 діб у дозі 13,5 мг/кг маси тілі (розробка кафедри біохімії імені акад. М.Ф. Гулого, НУБіП України). До III дослідної групи («Здорові тварини + БАД «FLP-MD») віднесено клінічно здорових щурів, яким упродовж 9 діб перорально вводили 1 % розчин ліпосомальної форми БАД «FLP-MD» в аналогічній дозі. В групі «Контроль» перебували інтактні щури, яким задавали еквівалентний об'єм дистильованої води.

У випадку відтворення гострого досліду, що потребувало проведення мікрооперації з канюлюванням жовчної протоки і подальшим відбором зразків жовчі (впродовж 3 год), формували лише три групи – «Контроль», I дослідна «Самореабілітація» і II дослідна «Корекція», по 4 особини у кожній.

Відбір жовчі. Перед тим як здійснювали відбір жовчі, піддослідних щурів утримували на голодній дієті впродовж 18 год. Тварин наркотизували внутрішньоочеревним введенням натрію тіопенталу (60 мг/кг). Через 5 хв після наркотизації тварин фіксували на робочому столі черевом догори. Розсічення черевної стінки (лапаротомія) здійснювалося вздовж білої лінії, відступивши на 0,5 см від мечоподібного відростка. Розмір розрізу складав 2–2,5 см. У воротах багаточасточкової печінки щура візуалізується загальна жовчна протока і ворітна вена. На відстані 0,5 см дистальніше від розгалуження жовчної протоки у воротах печінки під протоку підводилися дві лігатури, одна для утримання протоки при проведенні оперативних маніпуляцій, друга для фіксації канюлі у загальній жовчній протоці. Після

лапаротомії у відпрепаровану жовчну протоку через надріз її стінки вводили канюлю, яку з'єднували з мікропіпеткою, об'ємом 200 мкл. Відбір зразків жовчі розпочинали через 0,5 год після канюлювання загальної жовчної протоки і визначали кожні 30 хв впродовж 3 год досліду (6 проб), тобто на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв [109].

Відбір зразків крові та печінки. Тварин розподіляли на чотири групи: контрольну, і три дослідні – I, II і III, чисельністю по 10 особин у кожній. В кінці досліду від щурів отримували зразки тканин печінки та нативної крові для подальшого хроматографічного дослідження. Відбір проб біологічного матеріалу проводився під тіопенталовим наркозом щурів.

Кров отримували з черевного відділу аорти у вакуумні пробірки з додаванням гепарину. Печінку відбирали відразу після евтаназії щурів, яку надалі поміщали в розчин формаліну для консервації.

Визначення вмісту ліпідів, фосфоліпідів та жовчних пігментів у біологічному матеріалі. *Визначення вмісту ліпідів у біологічному матеріалі.* У зразках печінки, жовчі та нативної крові, стабілізованої гепарином, після проведеної екстракції відповідно до методу (патент 99031324 UA, МРК А61В5/14) ідентифікували та визначали концентрацію компонентів ліпідного спектру [110]. Нативну кров та жовч, яку відбирали під час досліду, наносили на хроматографічний папір по 40 мкл з кожної проби, даючи їй висохнути. Потім нативну кров та жовч, яка висохла на папері, подрібнювали на маленькі шматочки і поміщали їх в пробірку, яку закривали щільно корком.

Виділення ліпідів нативної крові та жовчі відбувалося за рахунок однофазної системи органічних розчинників у співвідношенні: хлороформ : ацетон : етанол (7 : 2 : 1). Об'єми розчинників та екстрагуючої системи відбирали у співвідношенні до проби (20 : 1). В пробірку до подрібненого хроматографічного паперу з нанесеним біологічним зразком додавали 1 см³ вказаної суміші розчинників та залишали на 15 хв. Вміст

кожної пробірки інтенсивно перемішували і центрифугували впродовж 10 хв при 3000 об/хв. Для проведення процедури центрифугування використовували лабораторну центрифугу ОПН-8 (Україна). Ацетон і бутанол пасивно випаровувався з надосадової рідини.

Рідину, яку отримували, переливали в бюкс, а до залишків доливали ще по 0,5 см³ двічі екстрагуючої рідини з інтервалом 5 хв і центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. Отриманий екстракт, який містив ліпіди нативної крові та аналогічно жовчі, після випаровування розчинника аналізували. Шматочки печінки перетирали в ступці і виконували маніпуляції, такі як з нативною кров'ю та жовчю. Хроматографічне розділення здійснювали за допомогою тонкошарових пластин "Silufol" (15 x 15 см, Чеська Республіка) заздалегідь активуючи їх в термостаті при температурі 110 °С упродовж 1 год. В цей момент у хроматографічну камеру вносили фільтрувальний папір для кращого насичення і додавали 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 мкдм³ і наносили на заздалегідь розмічену хроматограму. Впродовж 10–15 хв на пластині відбувалось розділення ліпідів досліджуваного біологічного матеріалу на фракції: естери холестеролу, вільний холестерол, триацилгліцероли, вільні жирні кислоти, фосфоліпіди. Розчинник із хроматограми видаляли у витяжній шафі. Потім хроматограму фарбували 10 % розчином фосфорномолібденової кислоти в етанолі скляним лабораторним обприскувачем. Для проявлення франкцій ліпідів пофарбовану хроматограму поміщали в термостат за температури 110 °С. Кількісну оцінку ліпідів крові визначали за допомогою денситометра марки ДО-1М (Україна). Вміст ліпідів в нативній крові виражали в мг%.

Визначення вмісту фосфоліпідів у біологічному матеріалі. У зразках печінки, жовчі та нативної крові, стабілізованої гепарином, після проведеної

екстракції відповідно до методу (патент 99031324 UA, МРК А61В5/14) ідентифікували та визначали концентрацію фосфоліпідів [111].

Зразки нативної крові та жовчі наносили на хроматографічний папір в об'ємі 40 мкдм³ із кожної проби, надаючи їм можливість висохнути. Потім зразки нативної крові та жовчі, які висохли на папері, подрібнювали на маленькі шматочки і поміщали в пробірки, які герметично закривали корком. В якості розчинника для визначення у підготованих ліпидовмісних зразках жовчі п'яти індивідуальних фракцій фосфоліпідів використовували наступну суміш: хлороформ : метанол : вода : оцтова кислота у співвідношенні (63 : 25 : 4 : 2). Суміш інтенсивно перемішували і центрифугували впродовж 10 хв при 3000 об/хв. Для центрифугування отриманої суміші використовували лабораторну центрифугу ОПН-8 (Україна). Ацетон і бутанол пасивно випаровувався з надосадової рідини. Отриманий екстракт, який містив ліпіди нативної крові чи жовчі після випаровування розчинника підлягав аналізу. Шматочки печінки перетирали в ступці та виконували маніпуляції такі як з кров'ю та жовчю.

Хроматографічне розподілення здійснювали за допомогою тонкошарових пластинах "Silufol" (15x15 см, Чеська Республіка) заздалегідь активуючи їх в термостаті при температурі 110 °C упродовж 1 год. В цей момент у хроматографічну камеру вносили фільтрувальний папір для кращого насичення і наливали суміш розчинників: гексан-діетиловий етер-оцтова кислота (7 : 23 : 1). Сухий залишок фосфоліпідів розчиняли в хлороформно-бензольно-ацетоновій суміші (1 : 2 : 1) в 20–100 мкл і наносили на заздалегідь розмічену хроматограму.

Визначення вмісту жовчних пігментів у біологічному матеріалі. У зразках печінки, жовчі та нативної крові, стабілізованої гепарином, після проведеної екстракції відповідно до методу (патент 99031324 UA, МРК А61В5/14) ідентифікували та визначали концентрацію вільного та

кон'югованих форм білірубіну за методикою (патент 41602 Ukraine, IPC G01N 33/52, G01N 33/72) [112]. Для цього, до отриманих у гострому експерименті зразків тканини печінки, жовчі або нативної крові (по 50 мкл) додавали 50 мкл стабілізуючого водного розчину. Стабілізуючий розчин містив 5,0 % карбаміду та 0,5 % аскорбінової кислоти. Надалі до суміші біологічного зразка і стабілізуючого розчину, додавали бутанол та ацетон у наступному об'ємному співвідношенні: 2 : 2 : 7. Суміш інтенсивно перемішували і центрифугували впродовж 10 хв при 3000 об/хв. Для центрифугування отриманої суміші використовували лабораторну центрифугу ОПН-8 (Україна). Ацетон і бутанол пасивно випаровувався з надосадової рідини.

Надалі на заздалегідь розмічені хроматографічні пластини «Silufol» (15x15см, Чеська Республіка) наносили 2–4 рази по 5 мкл³ водної складової з екстракту біологічного зразка. Безпосередньо хроматографічний розподіл пігментів з опрацьованих зразків печінки, жовчі чи нативної крові проводили у хроматографічній камері. Для цього бічні стінки хроматографічної камери попередньо обкладали фільтрувальним папером та вносили до камери суміш розчинників: аміловий естер оцтової кислоти-концентрована оцтова кислота-пропанол-вода-етилєнґліколь в об'ємному співвідношенні 21 : 10 : 5 : 5 : 3. Хроматографічні пластини або хроматографічний папір із нанесеними зразками розміщали у хроматографічній камері.

Після завершення розділення на фракції проводили вилучення розчинника з хроматограм, що здійснювали у витяжній шафі. Готові хроматограми попередньо розглядали у видимій та ультрафіолетовій областях спектру з використанням спеціальних джерел освітлення (хромотоскоп і лампа типу А-FC-301) для активації флюоресценції пірольних груп у молекулах білірубіну та його похідних. Для кількісної оцінки хроматограм їх фарбували, використовуючи скляний лабораторний

обприскувач щоб нанести модифікований діазореактив: 10 мл діазорозчину № 1 та 0,25 см³ діазорозчину № 2 з додаванням до отриманої суміші 1,0 см³ мурашиного альдегіду. Денситометрію окремих 5 фракцій різних форм метаболітів білірубіну проводили в ультрафіолетовому діапазоні та у видимій області спектру за допомогою денситометра ДО-1М (Україна). Використана методика ідентифікації і розподілу жовчних пігментів у нативній крові та жовчі дозволила визначити: білірубін некон'югований, білірубін сульфат, білірубін моноглюкуронід, сумарну фракцію білірубіну моноглюкуроніду та моноглюкозиду, білірубін диглюкуронід.

Метод відбору та фарбування зразків печінки для дослідження мікроструктурних змін [113]. Печінку з капсулою у щурів відпрепаровували за допомогою скальпеля і анатомічного пінцета в перші години евтаназії тварин. Після отримання біологічного матеріалу, печінку поміщали в фіксатор формалін (10 % водний розчин формальдегіду). Зафіксований матеріал промивали водопровідною водою для відновлення структури тканин. Промиті шматочки піддавалися подальшій обробці (зневодненню), попередньо видаливши надлишок води за допомогою фільтрувального паперу. Висушені шматочки заливали в парафін. Гістологічні зрізи виготовляли шляхом використання санного мікротому MC-2 (Україна) і надалі фарбували гематоксиліном Караці та еозином. Досліджували мікроструктурні зміни за допомогою світлового мікроскопа моделі MC 100 LED (Австрія). Знімки мікроскопічної картини гістопрепаратів були зроблені за допомогою камери Levenhuk D740T 5.1M Digital (США).

2.3 Статистична обробка результатів дослідження

Статистичний аналіз отриманих результатів проводився за допомогою комп'ютерної програми «Statistica 5.0» («StatSoft Inc.», США). Відповідно

показником статистичної значущості встановлених відмінностей між досліджуваними показниками ліпідного та пігментного обмінів в окремих експериментальних групах вважали критерій t-Ст'юдента для нормального розподілу відцифрованого матеріалу. Для перевірки характеру розподілу на нормальність застосовували пропонуваній у програмі «Statistica 5.0» тест Шапіро-Уїлка. В результаті встановлено, що отримані в експерименті показники концентрації усіх із досліджуваних фракцій ліпідів, фосфоліпідів та похідних білірубіну розподілені нормально. Вважали, що відмінності між двома порівнюваними показниками з двох різних вибірок статистично значимі при $P < 0,05$, $P < 0,01$ або $P < 0,001$.

Висновки до розділу 2

Завдяки використанню під час виконання дисертації лабораторних (хроматографічних, оптичних) та статистичних методів дослідження в повному об'ємі було визначено жовчні пігменти, ліпідний і фосфоліпідний склад зразків нативної крові, жовчі та печінки в піддослідних щурів та експериментально визначено ефективність коригувальної терапії за штучно відтвореного тетрациклініндукованого гепатозу. Етапність проведення експериментальної роботи передбачала: моделювання тетрациклініндукованого гепатозу, корекцію досліджувальних показників за допомогою фосфоліпидовмісної біодобавки на основі молока «FLP-MD», відбір зразків жовчі, нативної крові та печінки, дослідження методом тонкошарової хроматографії ліпідного, фосфоліпідного та жовчнопігментного спектру, статистичну обробку і аналіз отриманих даних, що забезпечило виконання поставлених завдань і досягнення мети дисертаційного дослідження.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Мікроскопічні зміни у тканині печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока

Печінка забезпечує стабільність внутрішнього середовища, підтримуючи життєво важливі функції, такі як імунітет, кровотворення, гемостаз, виробництво енергії та детоксикацію токсичних речовин. Однак численні фармацевтичні препарати можуть виявляти гепатотоксичність, що призводить до ушкодження печінки і навіть її недостатності.

Актуальність мікроскопічного дослідження печінки за тетрациклінового ураження полягала у необхідності глибшого вивчення механізмів гепатотоксичності, особливо з використанням експериментальної моделі, яка є відображенням мікроструктурних змін в цьому органі. Це дозволило швидко і надійно оцінити ступінь ушкодження органу та знайти нові підходи до його захисту і функціонального відновлення.

Так, у тварин контрольної групи мікроскопічна будова печінки відповідала типовій мікроскопічній будові цього органу в ссавців. Печінка побудована із окремих часточок. У центрі кожної часточки знаходиться центральна вена, оточена гепатоцитами (рис. 3.1). Стінка центральних вен представлена одним шаром ендотеліальних клітин (рис. 3.2). Від центральних вен відходять ряди гепатоцитів, які утворюють печінкові пластинки. Між суміжними печінковими пластинками проходять внутрішньочасточкові кровоносні капіляри. Їх стінка також представлена одним шаром ендотеліальних клітин.

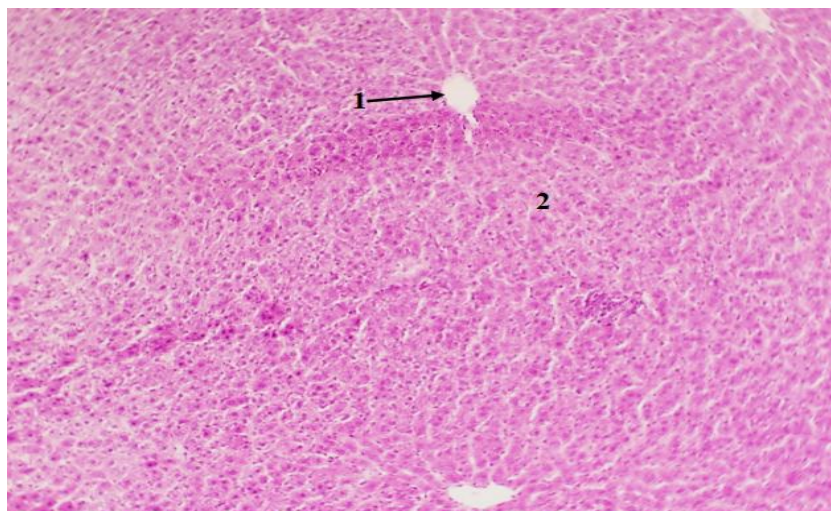


Рис. 3.1 Типова мікроскопічна будова печінки щура групи «Контроль»

Примітки: 1 – центральна вена; 2 – гепатоцити. Гематоксилін Караці та еозин, x100.

Гепатоцити – це полігональні клітини з великою цитоплазмою і великим ядром округлої форми, яке зазвичай містить одне ядро. У печінкових пластинках між суміжними гепатоцитами проходять жовчні капіляри (див. рис. 3.2).

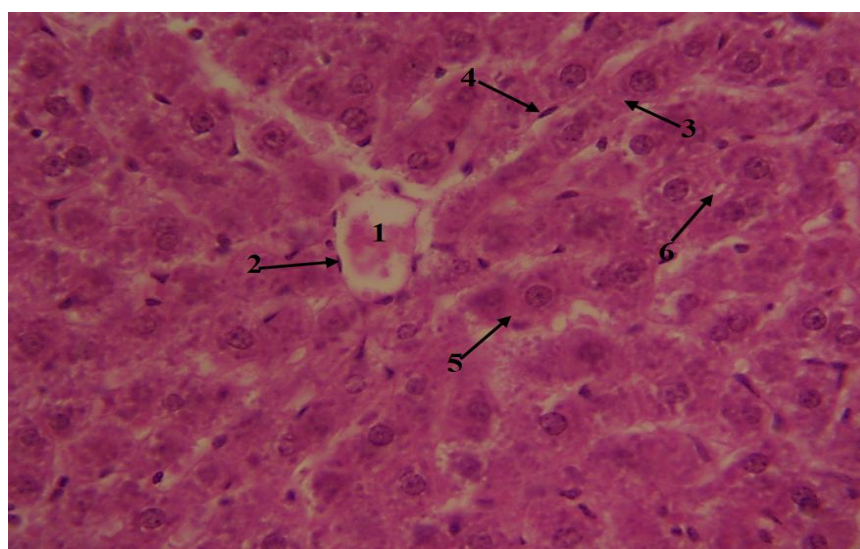


Рис. 3.2 Типова мікроскопічна будова печінки щура групи «Контроль»

Примітки: 1 – центральна вена; 2 – ендотелій центральної вени; 3 – печінкова

пластинка; 4 – ендотелій внутрішньочасточкового кровоносного капіляра; 5 – гепатоцит; 6 – жовчний капіляр. Гематоксилін Караці та еозин, x400.

Між часточками печінки пролягають тонкі, погано помітні смужки волокнистої сполучної тканини. Місцями вони утворюють розростання, в яких локалізуються печінкові тріади, до складу яких входять артерія і вена печінкової тріади та жовчна протока (рис. 3.3).

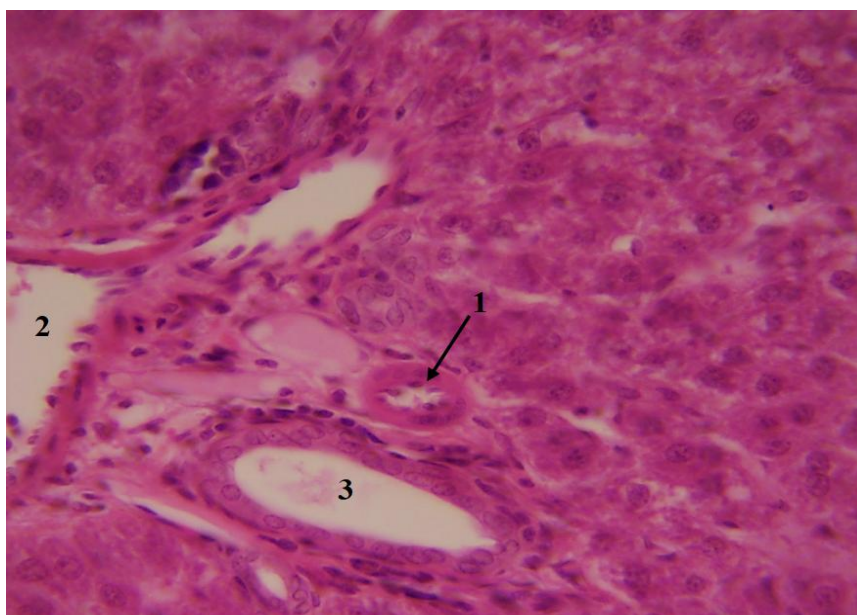


Рис. 3.3 Типова мікроскопічна будова печінкової тріади у щура групи «Контроль»

Примітки: 1 – артерія печінкової тріади; 2 – вена печінкової тріади; 3 – жовчна протока. Гематоксилін Караці та еозин, x400.

У клінічно здорових щурів III дослідної групи, які одержували БАД «FLP-MD», мікроскопічна будова печінки не відрізнялась від такої у тварин контрольної групи. Аналогічно в органі виявлялися часточки і печінкові тріади типової мікроскопічної будови з усіма їх структурними елементами (рис. 3.4 і 3.5).

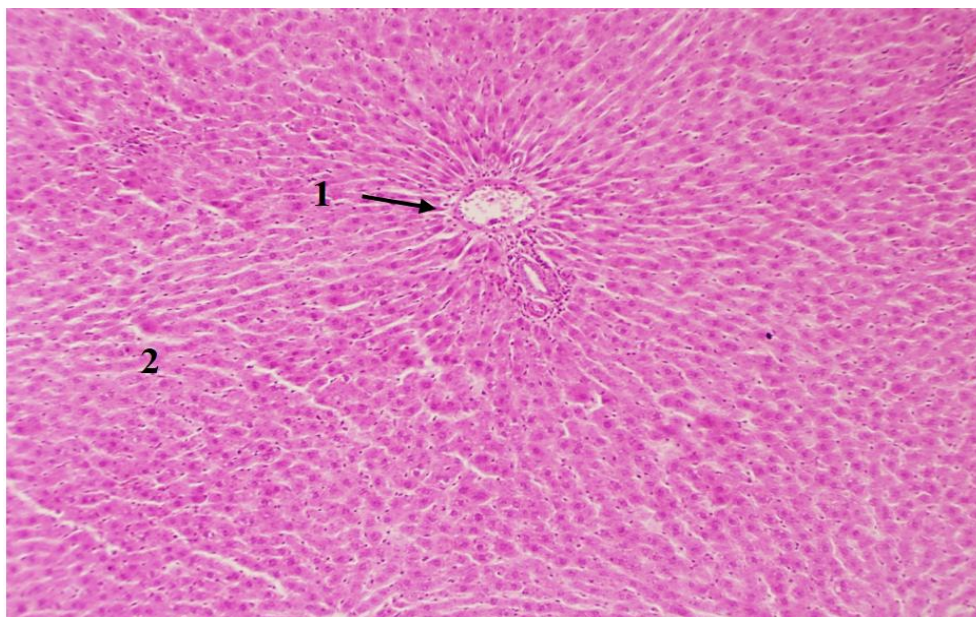


Рис. 3.4 Типова мікроскопічна будова печінки щура III дослідної групи («Здорові + БАД «FLP-MD»)

Примітки: 1 – центральна вена; 2 – гепатоцити. Гематоксилін Караці та еозин, x100.

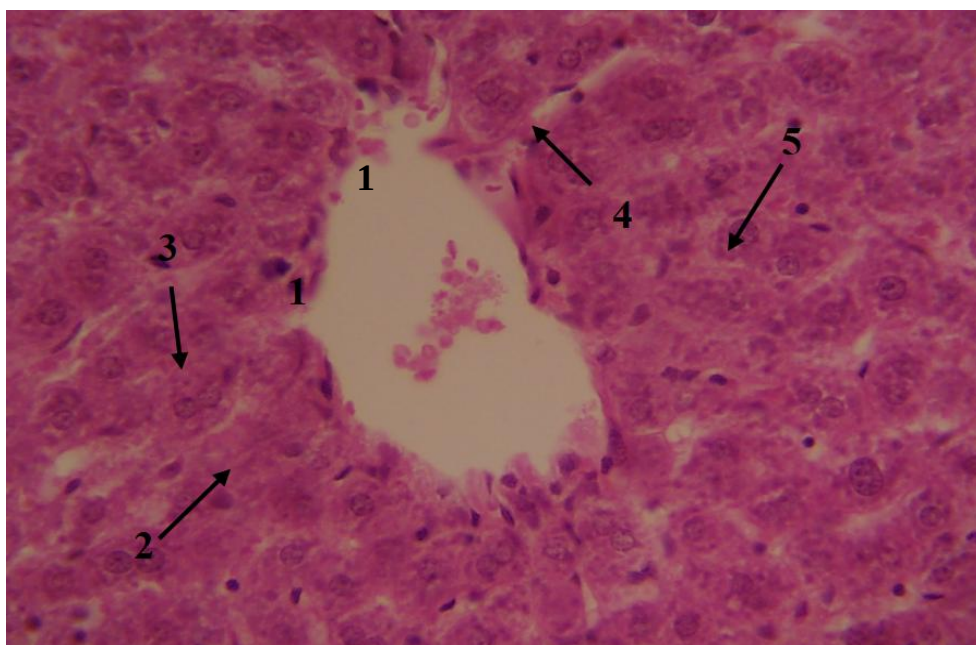


Рис. 3.5 Типова мікроскопічна будова печінки щура III дослідної групи («Здорові + БАД «FLP-MD»)

Примітки: 1 – центральна вена; 2 – ендотелій центральної вени; 3 – печінкова пластинка; 4 – ендотелій внутрішньочасточкового кровоносного капіляра; 5 – гепатоцит. Гематоксилін Караці та еозин, x400.

При моделюванні гепатозу нами було встановлено, що загальна архітектоніка печінки зберігається (рис. 3.6). У ній так само як і в щурів контрольної групи виявлялися часточки і печінкові тріади типової мікроскопічної будови з усіма їх структурними елементами. Проте, встановлено, що у печінкових часточках виразні мікроскопічні зміни, які, передусім, полягали у пошкодженні гепатоцитів.

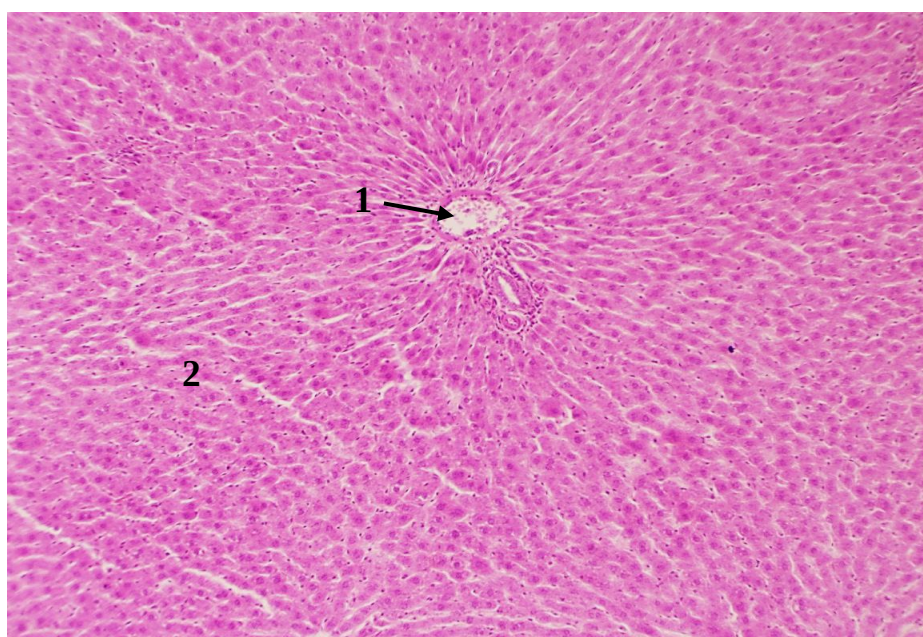


Рис. 3.6 Типова мікроскопічна будова печінки щура I дослідної групи «Самореабілітація» при моделюванні гепатозу

Примітки: 1 – центральна вена; 2 – гепатоцити. Гематоксилін Караці та еозин, x400.

Гепатоцити за змодельованого гепатозу на багатьох ділянках печінки відокремлювались один від одного. Значна частина печінкових клітин

перебувала в стані жирової і зернистої дистрофії. Частина дистрофічно змінених гепатоцитів руйнувалась із наступним лізисом фрагментів зруйнованих клітин. Руйнування і лізис гепатоцитів особливо виразними спостерігалися на деяких ділянках печінки під її капсулою. Усі ці зміни призводили до часткової чи повної дезорганізації печінкових пластинок в усіх часточках органу (рис. 3.7, 3.8).

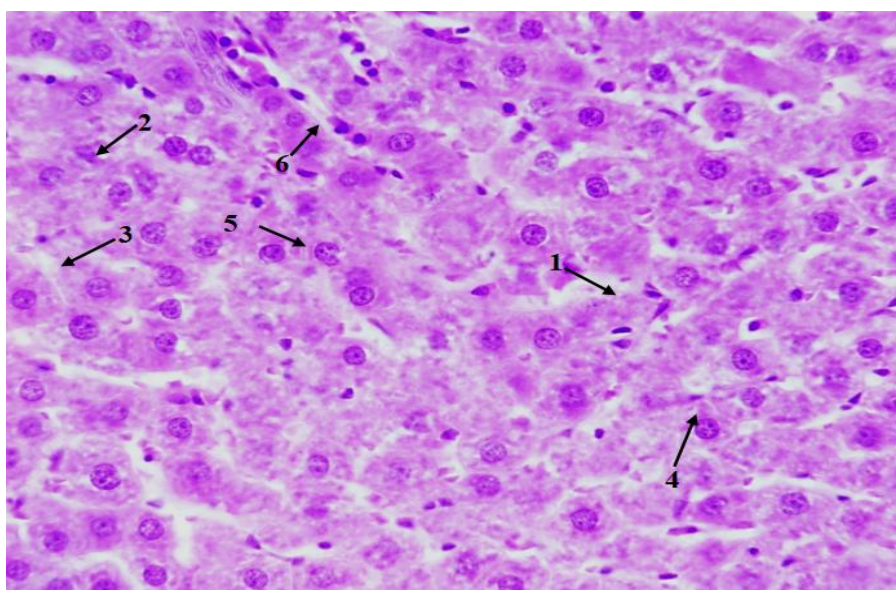


Рис. 3.7 Типова мікроскопічна будова печінки щура I дослідної групи «Самореабілітація» при моделюванні гепатозу

Примітки: 1 – печінкова пластинка; 2 – дезорганізація печінкових пластинок; 3 – відокремлення гепатоцитів один від одного; 4 – зерниста та жирова дистрофія гепатоцитів; 5 – руйнування гепатоциту; 6 – гіперплазія Купферовських клітин. Гематоксилін Караці та еозин, x400.

На всіх препаратах печінки також реєструвалася виразна активація фіксованих печінкових фагоцитів (Купферовських клітин), яка морфологічно проявлялася значним збільшенням їх кількості, тобто гіперплазією цих клітин (див. рис. 3.7). Така активація печінкових фагоцитів була зумовлена необхідністю елімінації з органу фрагментів зруйнованих гепатоцитів.

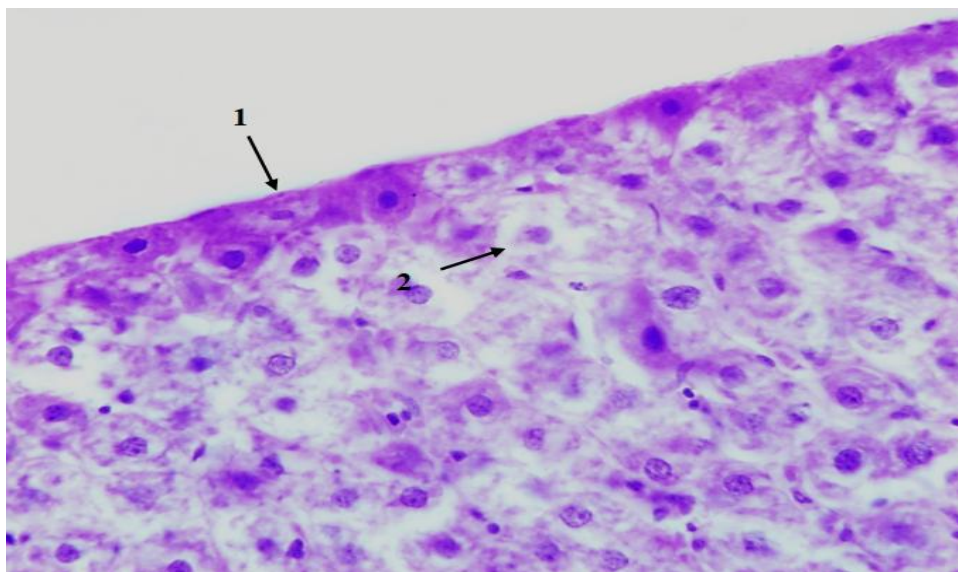


Рис. 3.8 Типова мікроскопічна будова печінки щура І дослідної групи «Самореабілітація» при моделюванні гепатозу

Примітки: 1 – капсула печінки; 2 – руйнування і лізис гепатоцитів. Гематоксилін Караці та еозин, $\times 400$.

Певна частина гепатоцитів була в стані жирової декомпозиції. Ядра в таких клітин добре візуалізувалися в цитоплазмі або спостерігалась наявність дрібних незафарбованих проміжків, що за формою нагадували крапельки, або виявляли одну чи кілька великих крапель, які займали майже всю площу цитоплазми. Розмір таких гепатоцитів був дещо збільшеним візуально порівняно з розміром незмінених клітин (рис. 3.9).

Мікроскопічні зміни центральних вен, внутрішньочасточкових кровоносних капілярів, а також артерій, вен і жовчних проток печінкових тріад не виявлялися. У печінці також були відсутні жодні прояви запальної реакції.

При застосованому нами лікуванні загальна архітектоніка печінки також зберігалась (рис. 3.10). В органі, подібно як і в щурів контрольної групи, виявлялися часточки і печінкові тріади типової мікроскопічної будови з усіма їх структурними елементами.

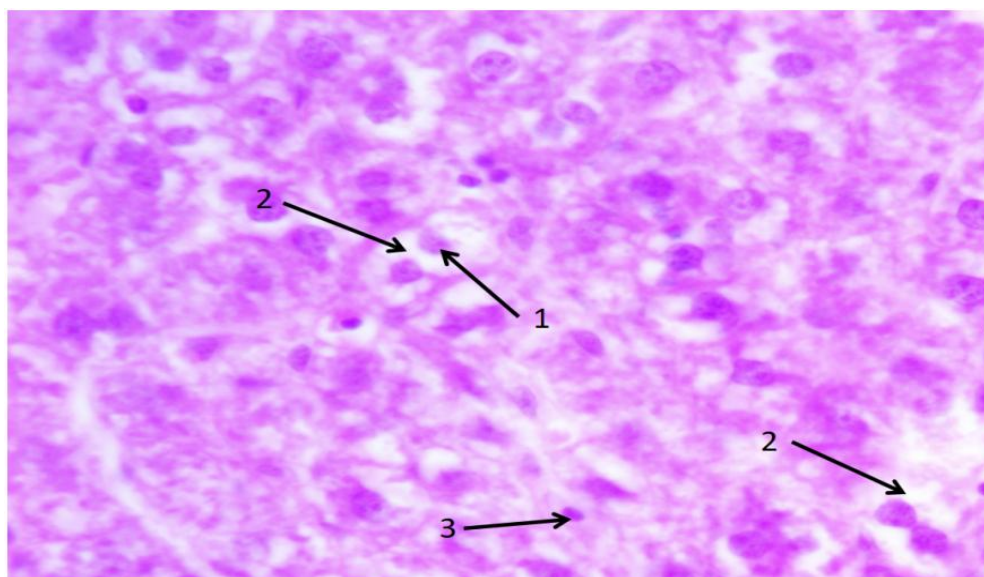


Рис. 3.9 Типова мікроскопічна будова печінки щура I дослідної групи «Самореабілітація» при моделюванні гепатозу

Примітки: 1 – ядро гепатоцита, 2 –Купферовські клітини, 3 – гепатоцит з жировою декомпозицією. Гематоксилін Караці та еозин, x400.

Проте, у печінкових часточках встановлені мікроскопічні зміни, які також, насамперед, полягали у пошкодженні гепатоцитів. Водночас на відміну від моделювання гепатозу у разі застосування коригувальної терапії дисконкомплексация гепатоцитів не реєструвалась. У стані зернистої дистрофії перебувала помітно менша кількість печінкових клітин (рис. 3.11).

Слід також відзначити, що руйнування зазнавали лише поодинокі гепатоцити, а порушення впорядкованої організації печінкових пластинок було набагато менш значним, ніж при моделюванні гепатозу. Помітно виразнішою була гіперплазія Купферовських клітин (див. рис. 3.11).

Крім того, у тварин зазначеної групи мікроскопічні зміни центральних вен, внутрішньочасточкових кровоносних капілярів, а також артерій, вен і жовчних проток печінкових триад не відмічалися. В печінці також не було зареєстровано жодних проявів будь-якої запальної реакції.

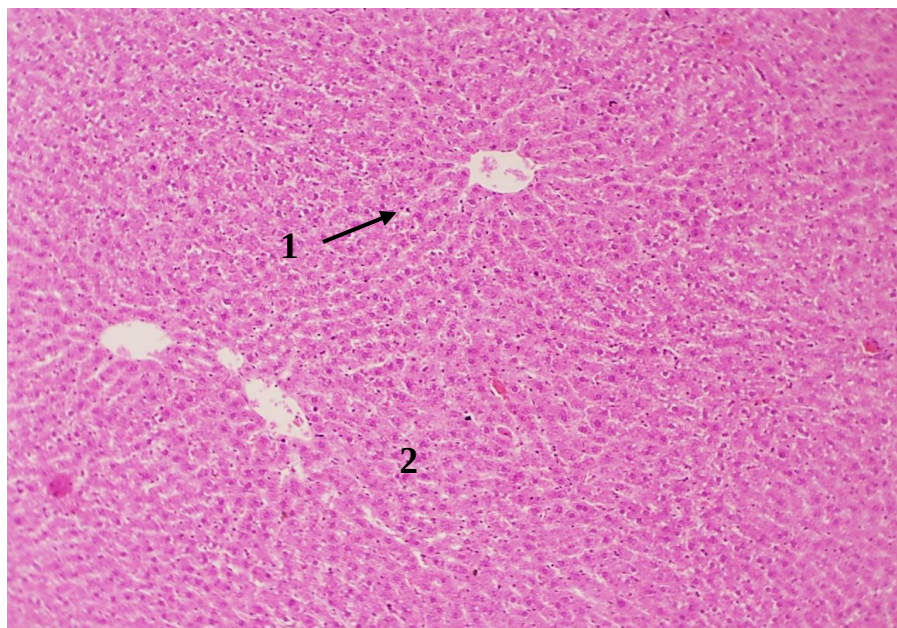


Рис. 3.10 Типова мікроскопічна будова печінки щура II дослідної групи «Корекція»

Примітки: 1 – центральна вена; 2 – гепатоцити. Гематоксилін Караці та еозин, х400.

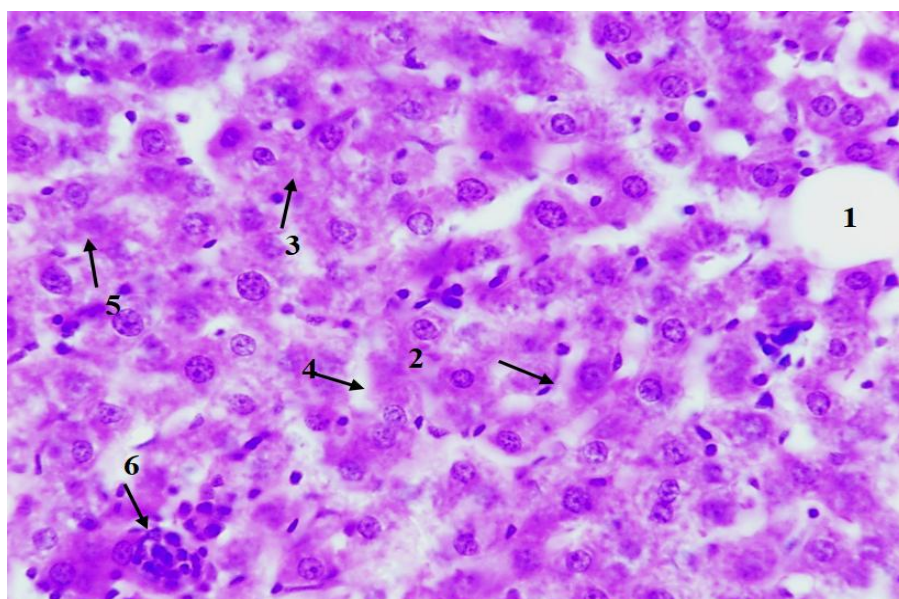


Рис. 3.11 Типова мікроскопічна будова печінки щура II дослідної групи «Корекція»

Примітки: 1 – центральна вена; 2 – печінкова пластинка; 3 – дезорганізація печінкових пластинок; 4 – зерниста дистрофія гепатоциту; 5 –

руйнування гепатоциту; 6 – гіперплазія Купферовських клітин. Гематоксилін Караці та еозин, x400.

Таким чином, застосування в якості коригувальної терапії щурам із тетрациклініндукованим ураженням печінки фосфоліпідів молока у вигляді БАД «FLP-MD» (група «Корекція») сприяло помітному зменшенню дистрофічних змін в її паренхімі, запобігало руйнуванню гепатоцитів та дезорганізації печінкових балок у печінкових часточках.

3.2 Загальні ліпіди крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока

3.2.1 Зміни ліпідного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу

Завдяки проведенню хроматографічного аналізу ліпідного спектра нативної крові в лабораторних щурів за штучного моделювання тетрациклініндукованого гепатозу встановлено, що їх якісний склад включає п'ять ліпідних фракцій: фосфоліпіди, вільні жирні кислоти, вільний холестерол, естерифікований холестерол та триацилгліцероли, сумарний вміст яких формує показник загальні ліпіди (табл. 3.1).

За результатами розвитку тетрациклініндукованого гепатозу (І група «Самореабілітація») в нативній крові хворих щурів відмічали достовірне зменшення вмісту загальних ліпідів на 37,0 % порівняно з контролем (див. табл. 3.1). Це може бути спровоковано порушенням апетиту в цих тварин, а також розладами засвоєння ліпідів корму в кишечнику та синтезу в клітинах печінки.

Таблиця 3.1

Ліпідний спектр нативної крові у піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група «Контроль»	Група «Самореабілітація»
Загальні ліпіди	639,43 $\pm$ 49,56	402,56 $\pm$ 31,80*
Фосфоліпіди	374,21 $\pm$ 29,12	221,43 $\pm$ 20,94*
Вільні жирні кислоти	41,42 $\pm$ 2,61	22,30 $\pm$ 1,84*
Вільний холестерол	96,11 $\pm$ 7,32	73,88 $\pm$ 3,21*
Естерифікований холестерол	99,34 $\pm$ 8,13	67,54 $\pm$ 4,64*
Триацилгліцероли	26,35 $\pm$ 2,38	14,41 $\pm$ 1,17*

Примітка. * $P < 0,05$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Схожі зміни спостерігалися у ліпідогамі нативної крові хворих щурів (група «Самореабілітації») і у відношенні інших ліпідних фракцій.

Так, у хворих щурів за умов самореабілітації відбувалося достовірне зменшення в нативній крові рівня фосфоліпідів на 40,8 % (див. табл. 3.1), що вказує на формування дефіцитного їх рівня в організмі цих тварин. Така ситуація може бути спровокована недостатнім синтезом фосфоліпідів за патологічних змін структурно-функціонального стану печінки та взаємопов'язаного з цим зменшення вмісту вільних жирних кислот і змінами в активності відповідних ензимів.

Водночас у хворих щурів (I дослідна група «Самореабілітація») відмічалися достовірні зміни в нативній крові тварин сумарного вмісту вільних жирних кислот (див. табл. 3.1). Зокрема, виявлялося достовірне зменшення рівня вільних жирних кислот на 46,2 % порівняно з контролем, що негативно відображалось на загальному рівні ліпідів у крові. Крім того, у

відповідності до результатів попередніх досліджень на кафедрі біохімії імені акад. М.Ф. Гулого жирнокислотного складу ліпідів печінки відзначалося, що за тетрациклінового ураження гепатоцитів істотних змін зазнавали, насамперед, полієнові жирні кислоти (PUFA). Так, у хворих тварин формувалася дефіцитний рівень ейкозапентоєнової ($20:5\omega3$), докозапентаєнової ($22:5\omega3$) і докозагексаєнової ($22:6\omega3$) кислот, а також загального вмісту насичених жирних кислот SFA та величина співвідношення насичені/ненасичені жирні кислоти в 1,3 раза і $\omega3/\omega6$ в 1,3 раза [114].

Питання порушення якісного і кількісного складу жирних кислот у відповідь на розвиток тетрациклініндукованої патології печінки залишається недостатньо вивченим. Особливості проміжного обміну жирних кислот у живих організмах залежить від їх будови та морфологічної організації тканини. Поряд із цим, на активність генів, окрім жирних кислот, впливають й інші ендокринні, паракринні й аутокринні фактори внутрішнього середовища, що є прикладом загальної інтеграції обміну речовин.

Печінка є також основним місцем синтезу холестеролу в організмі ссавців, тому безперечно у разі виникнення гепатопатології формується неадекватний рівень цього ліпиду в крові. Крім того, у метаболізмі холестеролу беруть участь понад 300 різноманітних протеїнів із ензиматичною активністю, залежною від функціонального стану печінки.

Особливо насичені за вмістом холестеролу ліпопротеїни низької і дуже низької щільності, які, в свою чергу, мають відношення до атерогенних процесів. Основною локацією щодо їх ендогенного утворення є печінка. У хворих на тетрациклініндукований гепатоз щурів I групи «Самореабілітація» встановлено достовірне зменшення в нативній крові вмісту як вільного (на 23,1 %), так і естерифікованого холестеролу (на 32,0 %) порівняно з відповідним контролем (див. табл. 3.1). Фактично це доводить наявні

порушення в утворенні цього ліпиду гепатоцитах та інших тканинах організму, а також певні розлади у формуванні відповідних ліпопротеїнових комплексів.

Крім того, за тетрациклініндукованого гепатозу в щурів І групи відмічали зменшення вмісту триацилгліцеролів на 45,3 % порівняно з контролем (див. табл. 3.1). В діагностичному значенні вказані ліпіди недостатньо інформативні. Проте, вони виявляються важливими для організму в якості резерву метаболічного палива, а тому дослідження їх пулу використовують у лабораторній діагностиці взаємопов'язаних хвороб тварин.

Визначені закономірності щодо ліпідограми нативної крові в хворих тварин І групи «Самореабілітація» можуть бути наслідком погіршення апетиту, недостатнього перетравлення і засвоєння ліпідів у шлунково-кишковому тракті, інтенсивних енергетичних витрат організмом, швидкого виснаження депо ліпідів, порушення синтезу та утилізації ліпідних молекул у гепатоцитах тощо.

Отже, в результаті детального аналізу ліпідограми нативної крові у щурів, хворих на експериментальний тетрациклініндукований гепатоз, встановлено формування дефіцитного рівня як показника загальні ліпіди, так й окремих індивідуальних фракцій.

Наступний етап дослідження стосувався визначення динаміки ліпідного спектра жовчі у піддослідних щурів у разі проведення гострого досліді із канюлюванням жовчної протоки.

Так, дослідження концентрації загальних фосфоліпідів у жовчі щурів за моделювання жирового гепатозу свідчить про те, що вона зазнає достовірного зменшення у хворих тварин (група «Самореабілітація») порівняно з відповідними значеннями у тварин контрольної групи (табл. 3.2).

Зокрема, встановлено істотне зменшення концентрації сумарної фракції фосфоліпідів в усі періоди 3-годинного досліді, а саме: на 17,4 %, 20,0, 18,4,

22,8, 21,7 і 22,2 %, відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого дослідження порівняно з відповідними значеннями в тварин контрольної групи (див. табл. 3.2). Це може свідчити про порушення їх синтезу в гепатоцитах хворих тварин за токсичного ураження печінки тетрацикліном гідрохлориду (I дослідна група «Самореабілітація»).

Таблиця 3.2

Концентрація фосфоліпідів у жовчі піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослідження, хв	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	70,00 $\pm$ 9,63	57,82 $\pm$ 3,18*
60	69,35 $\pm$ 10,07	55,50 $\pm$ 3,00*
90	66,63 $\pm$ 9,75	54,40 $\pm$ 3,17*
120	64,60 $\pm$ 9,68	49,86 $\pm$ 5,45*
150	63,43 $\pm$ 8,19	49,70 $\pm$ 3,60*
180	61,65 $\pm$ 7,85	47,94 $\pm$ 3,89*

Примітка. * $P < 0,05$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

У дослідженні піддослідних щурів з тетрациклініндукованим ураженням печінки встановлено, що впродовж перших 1,5 години дослідження концентрація вільного холестеролу в першій, другій і третій пробах відповідає своїми значеннями межах контролю. Зменшення вмісту холестеролу відмічали в четвертому, п'ятому та шостому півгодинних зразках жовчі, відповідно на 13,9 %, 14,0 і 17,7 % порівняно з контролем (табл. 3.3).

Встановлено, що вміст естерів холестеролу у жовчі хворих щурів I дослідної групи «Самореабілітація» відрізнявся істотним зменшенням в усі

Таблиця 3.3

Концентрація вільного холестеролу в жовчі піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослід, хв	Група щурів «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	28,08 $\pm$ 3,04	24,60 $\pm$ 2,15
60	27,23 $\pm$ 3,65	23,72 $\pm$ 1,52
90	28,30 $\pm$ 7,20	23,02 $\pm$ 2,31
120	24,28 $\pm$ 1,85	20,90 $\pm$ 1,68*
150	23,85 $\pm$ 1,42	20,52 $\pm$ 1,96*
180	23,55 $\pm$ 2,67	19,38 $\pm$ 1,75*

Примітка. * $P < 0,05$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

періоди 3-годинного дослід, а саме: на 57,8 %, 57,5, 57,7, 56,5, 57,1 і 52,1 %, відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого дослід порівняно з відповідними значеннями в тварин контрольної групи (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Концентрація естерів холестеролу в жовчі піддослідних щурів, мг% ($M \pm n$, $n=4$)

Час дослід, хв	Група щурів «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	6,25 $\pm$ 1,10	2,64 $\pm$ 0,49*
60	6,13 $\pm$ 0,74	2,60 $\pm$ 0,35*
90	5,53 $\pm$ 0,83	2,34 $\pm$ 0,36*
120	4,88 $\pm$ 0,99	2,12 $\pm$ 0,30*
150	4,38 $\pm$ 0,53	1,88 $\pm$ 0,26*
180	4,23 $\pm$ 0,79	2,02 $\pm$ 0,27*

Примітка. * $P < 0,001$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

У результаті дослідження вміст концентрації триацилгліцеролів у жовчі щурів визначено, що в хворих тварин I дослідної групи «Самореабілітація» в усі періоди дослідження концентрація цього ліпиду достовірно знижувалася (табл. 3.5). У результаті дослідження вміст концентрації триацилгліцеролів у жовчі щурів визначено, що в хворих тварин I дослідної групи «Самореабілітація» в усі періоди дослідження концентрація цього ліпиду достовірно знижувалась.

Таблиця 3.5

Концентрація триацилгліцеролів у жовчі піддослідних щурів, мг%
($M \pm m$, $n=4$)

Час досліду, хв	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	3,18 $\pm$ 0,26	1,60 $\pm$ 0,25*
60	3,00 $\pm$ 0,12	1,62 $\pm$ 0,31*
90	3,00 $\pm$ 0,28	1,46 $\pm$ 0,30*
120	2,90 $\pm$ 0,22	1,30 $\pm$ 0,25*
150	2,95 $\pm$ 0,33	1,22 $\pm$ 0,29*
180	3,03 $\pm$ 0,50	1,12 $\pm$ 0,26*

Примітка. * $P < 0,001$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

За моделювання жирового гепатозу в щурів I дослідної групи «Самореабілітація» також істотно зменшується концентрація вільних жирних кислот у жовчі. Відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого досліду порівняно з відповідними значеннями в тварин контрольної групи значення цього показника зменшувалися на 23,3 %, 21,3, 26,9, 34,6, 41,1 і 47,2 % (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Концентрація вільних жирних кислот у жовчі піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослід, хв	Група щурів «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	21,53 $\pm$ 3,85	16,50 $\pm$ 1,82*
60	20,68 $\pm$ 3,55	16,26 $\pm$ 1,29*
90	21,15 $\pm$ 3,51	15,46 $\pm$ 1,77*
120	21,88 $\pm$ 3,16	14,30 $\pm$ 2,22**
150	22,48 $\pm$ 3,40	13,24 $\pm$ 2,16**
180	23,60 $\pm$ 3,37	12,46 $\pm$ 2,08***

Примітка. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Отже, аналіз ліпідограми жовчі у хворих щурів свідчить про загальну тенденцію щодо зменшення вмісту всіх фракцій загальних ліпідів. При цьому, найвираженіші з них відмічалися на останніх етапах гострого дослід. Зокрема, найістотніше зменшення в жовчі рівня фосфоліпідів (на 22,8 %) виявляли на 120 хв гострого дослід, вільного холестеролу (на 17,7 %) на 180 хв, естерифікованого холестеролу (стабільно на 52,1–57,8 %) впродовж всього періоду, триацилгліцеролів (на 63,0 %) на 180 хв та вільних жирних кислот (на 47,2 %) на 180 хв, що свідить про виражені зміни у процесі їх ендogenous утворення.

При дослідженні основних фракцій ліпідів в печінці хворих щурів I дослідної групи «Самореабілітація» також відзначалось достовірне зменшення вмісту досліджуваних показників, що провокувалося моделюванням жирового гепатозу (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Концентрація основних фракцій ліпідів у печінці піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група щурів «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
Фосфоліпіди	2166,84 $\pm$ 162	1748,26 $\pm$ 133,9*
Вільні жирні кислоти	179,12 $\pm$ 16,7	124,84 $\pm$ 5,2**
Вільний холестерол	205,62 $\pm$ 12	140,94 $\pm$ 6,3**
Естерифікований холестерол	117,78 $\pm$ 14,9	57,46 $\pm$ 3,8***
Триацилгліцероли	140,02 $\pm$ 13,9	88,06 $\pm$ 5,5**

Примітка. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Так, вміст фракції загальних фосфоліпідів у печінці піддослідних щурів I дослідної групи «Самореабілітація» зазнавав зменшення на 19,3 % порівняно з контролем (див. табл. 3.7). Цей факт, ймовірно, пов'язаний із порушенням метаболізму цих фосфоровмісних складних ліпідів за токсичного впливу антибіотику на гепатоцити. Якщо брати до уваги показник вільних жирних кислот, то він характеризувався зменшенням на 30,3 %, що є більш вираженим і може провокуватись також порушенням обміну ліпідів. Вміст вільного холестеролу в печінці хворих щурів аналогічно до попередніх показників характеризувався достовірним зменшенням на 31,4 % порівняно з контролем. Естерифікований холестерол зазнав найбільших змін серед досліджуваних показників ліпідного профілю, а саме зменшувався на 51,2 % порівняно з контролем. Показник

триацилгліцеролів у печінці щурів цієї групи був на 37,1 % нижче за контрольні значення.

Проаналізувавши отримані результати, слід відзначити наявне порушення процесів відновлення кількісних характеристик загальних ліпідів за дії ксенобіотику – антибіотику тетрацикліну гідрохлориду.

3.2.2 Коригувальна ефективність фосфоліпидовмісної біодобавки щодо ліпідного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу

У разі застосування хворим щурам БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока (II дослідна група «Корекція») відмічали відновлення в нативній крові вмісту всіх досліджуваних фракцій загальних ліпідів з урахуванням значень цього показника в контролі (табл. 3.8).

Встановлений факт може бути результатом поліпшення апетиту в піддослідних тварин, що навіть клінічно відрізняє їх від хворих щурів I дослідної групи («Самореабілітація»), внаслідок поступового відновлення процесів засвоєння екзогенних ліпідів корму на рівні кишечника та їх ендogenous синтезу в гепатоцитах. Водночас застосування фосфоліпідів молока у вигляді БАД «FLP-MD» клінічно здоровим тваринам сприяло формуванню тенденції до підвищення вмісту загальних ліпідів порівняно з контролем. Цей результат дослідження пояснюється додатковим введенням в організм піддослідних тварин екзогенних ліпідів (переважно фосфоліпідів), що входять до складу БАД.

Варто відмітити, що вміст фосфоліпідів у нативній крові щурів II дослідної групи «Корекція» і III дослідної групи «Здорові тварини + БАД «FLP-MD» (див. табл. 3.8), які додатково отримували біодобавку,

характеризувався нормалізацією їх параметрів, навіть, у тварин за моделювання тетрациклініндукованого гепатозу.

Таблиця 3.8

Ліпідний спектр нативної крові в піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»	III Дослідна група «Здорові тварини + БАД «FLP-MD»
Загальні ліпіди	639,43 $\pm$ 49,56	607,90 $\pm$ 43,13	685,53 $\pm$ 51,82
Фосфоліпіди	374,21 $\pm$ 29,12	355,31 $\pm$ 30,10	401,03 $\pm$ 27,23
Вільні жирні кислоти	41,42 $\pm$ 2,61	40,83 $\pm$ 2,32	46,93 $\pm$ 4,55
Вільний холестерол	96,11 $\pm$ 7,32	90,12 $\pm$ 3,86	102,13 $\pm$ 9,12
Естерифікований холестерол	99,34 $\pm$ 8,13	93,81 $\pm$ 4,33	107,58 $\pm$ 8,43
Триацилгліцероли	26,35 $\pm$ 2,38	27,83 $\pm$ 2,52	27,86 $\pm$ 2,49

У клінічно здорових щурів III дослідної групи «Здорові тварини + БАД «FLP-MD» цей показник виявляв навіть тенденцію до зростання, що може вказувати на ефективне засвоєння екзогенних фосфоліпідів у травному каналі цих тварин.

Аналогічно до вже описаних показників у нативній крові щурів обох дослідних груп встановлено відсутність достовірних кількісних змін щодо

вільних жирних кислот (див. табл. 3.8). Це підтверджує коригувальний ефект дії БАД «FLP-MD» на їх метаболізм у цих піддослідних тварин.

У разі визначення закономірностей щодо кількісних змін у нативній крові окремих фракцій холестеролу в піддослідних щурів встановлено нормалізацію їх вмісту в тварин II дослідної групи («Корекція») і тенденцію до зростання величини зазначених показників у тварин III дослідної групи «Здорові тварини + БАД «FLP-MD» (див. табл. 3.8) порівняно з контролем. Це може бути результатом додаткового їх надходження в організм у складі біодобавки та активізації проміжного обміну цього стеролу у внутрішніх органах і тканинах клінічно здорових щурів. Встановлений факт також опосередковано свідчить про вияв гепатопротекторної дії фосфоліпидовмісної БАД «FLP-MD» та відсутність її негативного впливу на клітини печінки.

Як і у випадку з попередньо розглянутими показниками ліпідограми, аналогічна закономірність відзначається і щодо вмісту в нативній крові триацилгліцеролів у щурів II («Корекція») і III «Здорові тварини + БАД «FLP-MD» дослідних груп (див. табл. 3.8).

Встановлені результати відповідають значенням контрольної групи, що в комплексі з результатами інших досліджень дозволяє стверджувати про відсутність гепатотоксичного ефекту дії компонентів фосфоліпидовмісної БАД «FLP-MD» на клітини печінки та організм в цілому, а також її виражену коригувальну ефективність. Окрім цього, триацилгліцероли містяться в незначній кількості у складі біодобавки, чим забезпечують відновлення пулу цих важливих для енергозабезпечення синтетичних процесів речовин в організмі хворих тварин.

Отже, в результаті ретельного аналізу ліпідного спектра нативної крові в лабораторних щурів за експериментального моделювання тетрацикліндукованого гепатозу та перорального введення БАД «FLP-MD» як хворим, так і клінічно здоровим тваринам, встановлено відновлення поряд

із загальним умістом ліпідів також окремих їх фракцій, що вказує на виражений коригувальний і гепатопротекторний ефекти дії фосфоліпідів БАД.

Застосування БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока призвело до істотного збільшення концентрації загальних фосфоліпідів у жовчі піддослідних щурів порівняно з контролем (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Концентрація фосфоліпідів у зразках жовчі піддослідних щурів при застосуванні БАД «FLP-MD», мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослід, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	70,00 $\pm$ 9,63	88,25 $\pm$ 7,56*
60	69,35 $\pm$ 10,07	90,50 $\pm$ 7,97*
90	66,63 $\pm$ 9,75	92,95 $\pm$ 9,09*
120	64,60 $\pm$ 9,68	88,68 $\pm$ 3,34**
150	63,43 $\pm$ 8,19	88,80 $\pm$ 5,31**
180	61,65 $\pm$ 7,85	84,63 $\pm$ 5,10**

Примітка. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Зокрема, концентрація фосфоліпідів у тварин II дослідної групи «Корекція» достовірно збільшувалась у жовчі на 26,1 %, 30,5, 39,5, 37,2, 40,0 і 37,3 %, відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого дослідження порівняно з відповідними значеннями в контролі. Цей факт може свідчити про ефективність засвоєння фосфоліпідів біодобавки в кишечнику та

стимулюючий вплив її компонентів на процеси їх ендogenous утворення в гепатоцитах.

Застосування піддослідним щурам БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока стимулює екскрецію вільного холестеролу з жовчю. Вказаний біологічний ефект фосфоліпідів молока підтверджується збільшенням концентрації вільного холестеролу в усіх зразках жовчі тварин групи «Корекція» (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Концентрація вільного холестеролу в зразках жовчі піддослідних щурів при застосуванні БАД «FLP-MD», мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час досліджу, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	28,08 $\pm$ 3,04	34,75 $\pm$ 3,96*
60	27,23 $\pm$ 3,65	35,53 $\pm$ 3,48*
90	28,30 $\pm$ 7,20	37,55 $\pm$ 3,07
120	24,28 $\pm$ 1,85	34,40 $\pm$ 1,27***
150	23,85 $\pm$ 1,42	33,05 $\pm$ 1,72***
180	23,55 $\pm$ 2,67	32,35 $\pm$ 4,56*

Примітка. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Так, у першій пробі жовчі вміст вільного холестеролу був вищий за контрольний рівень на 23,8 %, в наступних пробах – на 30,4 і 32,7 %, а в останньому зразку печінкового секрету – на 37,4 % порівняно з контролем. Отже, БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока не лише усуває викликане тетрацикліном пригнічення надходження вільного холестеролу в

жовч, а й виявляє істотний стимулюючий вплив на його транспортування до жовчних каналців.

Застосування БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока за одну годину до введення тваринам тетрацикліну усуває інгібуючий вплив антибіотика на вміст естерів холестеролу в жовчі. У таких зразках не виявлено статистично значущих відмінностей концентрації естерів холестеролу порівняно з контролем (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

Концентрація естерів холестеролу в жовчі щурів при застосуванні БАД «FLP-MD», мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослід, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	6,25 $\pm$ 1,10	5,85 $\pm$ 1,12
60	6,13 $\pm$ 0,74	5,85 $\pm$ 0,70
90	5,53 $\pm$ 0,83	5,95 $\pm$ 0,98
120	4,88 $\pm$ 0,99	5,58 $\pm$ 0,66
150	4,38 $\pm$ 0,53	5,28 $\pm$ 0,73
180	4,23 $\pm$ 0,79	5,33 $\pm$ 0,78

Натомість, у лабораторних щурів, які на тлі експериментального тетрациклінового ураження печінки отримували БАД «FLP-MD», вміст триацилгліцеролів у зразках жовчі статистично значимо не відрізнявся від значень цього показника у зразках жовчі тварин контрольної групи (табл. 3.12). Застосування тваринам БАД «FLP-MD» в умовах моделювання тетрациклініндукованого ураження печінки повністю усуває негативний вплив застосованої токсичної дози антибіотика на структури гепатоцитів,

які забезпечують відновлення процесів надходження триацилгліцеролів до жовчі.

Таблиця 3.12

Концентрація триацигліцеролів у жовчі щурів при застосуванні БАД «FLP-MD», мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час досліджу, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	3,18 $\pm$ 0,26	2,90 $\pm$ 0,61
60	3,00 $\pm$ 0,12	2,98 $\pm$ 0,77
90	3,00 $\pm$ 0,28	3,03 $\pm$ 0,89
120	2,90 $\pm$ 0,22	2,75 $\pm$ 0,70
150	2,95 $\pm$ 0,33	2,65 $\pm$ 0,53
180	3,03 $\pm$ 0,50	2,68 $\pm$ 0,61

При цьому, концентрація вільних жирних кислот у жовчі тварин, які на тлі моделювання тетрациклініндукованого ураження печінки отримували БАД «FLP-MD» (II дослідна група «Корекція»), характеризувалася зростанням на 30 хв гострого досліджу на 91,1 %, на 60 хв – на 107,7 %, на 90 хв – на 99,9 %, на 120 хв – на 78,8 %, на 150 хв – на 65 %, на 180 хв. – 50,6 % порівняно з відповідними значеннями в контролі (табл. 3.13), що певною мірою запобігає жировій інфільтрації печінки.

Ліпідний спектр печінки у піддослідних щурів при застосуванні коригувальної терапії в групі «Корекція» та групі «Здорові тварини + БАД «FLP-MD» визначений за допомогою тонкошарової хроматографії (табл. 3.14).

Таблиця 3.13

Концентрація вільних жирних кислот у жовчі щурів при застосуванні БАД «FLP-MD», мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час досліджу, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	21,53 $\pm$ 3,85	41,15 $\pm$ 3,64***
60	20,68 $\pm$ 3,55	42,95 $\pm$ 4,32***
90	21,15 $\pm$ 3,51	42,28 $\pm$ 0,86***
120	21,88 $\pm$ 3,16	39,13 $\pm$ 2,48***
150	22,48 $\pm$ 3,40	37,10 $\pm$ 2,85***
180	23,60 $\pm$ 3,37	35,55 $\pm$ 3,28**

Примітка. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Таблиця 3.14

Ліпідний спектр тканини печінки у піддослідних щурів при застосуванні БАД «FLP-MD», мг% ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»	III Дослідна група «Здорові тварини + БАД «FLP-MD»
Фосфоліпіди	2166,84 $\pm$ 162	2346,46 $\pm$ 135	2739,78 $\pm$ 92,1***
Вільні жирні кислоти	179,12 $\pm$ 16,7	196,98 $\pm$ 11,5	214,04 $\pm$ 10,8**
Вільний холестерол	205,62 $\pm$ 12	206,14 $\pm$ 13,4	227,54 $\pm$ 6,3*
Естерифікований холестерол	117,78 $\pm$ 14,9	126,24 $\pm$ 6,3	142,58 $\pm$ 6,4**
Триацилгліцероли	140,02 $\pm$ 13,9	148,74 $\pm$ 10,5	176,42 $\pm$ 8,4***

Примітка. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

При дослідженні основних фракцій ліпідів у печінці щурів, яким застосовували коригувальну терапію (група «Корекція»), вміст фосфоліпідів набував контрольних значень, що вказує на достатню коригувальну ефективність БАД «FLP-MD», виготовлену з фосфоліпідів молока (див. табл. 3.14). Вміст фосфоліпідів у печінці щурів в групі «Здорові тварини + БАД «FLP-MD» істотно збільшувався на 26,4 % порівняно з таким у тварин в групі «Контроль». Рівень вільних жирних кислот відповідав межам контролю в групі «Корекція», а в групі «Здорові тварини + БАД «FLP-MD» він перевищував такі на 19,4 %. Значення вільного холестеролу в щурів у групах «Корекція» та «Здорові тварини + БАД «FLP-MD» не відрізнялися від діапазону контрольної групи. Вміст естерифікованого холестеролу в печінці піддослідних щурів групи «Корекція» залишався без змін, а в особин групи «Здорові тварини + БАД «FLP-MD» перевищував контрольні показники на 21,0 %.

Параметри вмісту триацилгліцеролів у печінці щурів групи «Корекція» відповідали його значенням у тварин групи «Контроль», а в групі «Здорові тварини + БАД «FLP-MD» підвищувалися на 25,9 % порівняно з контрольними показниками. Проаналізувавши результати досліджень основних фракцій ліпідів у тканинах печінки, можна відмітити достатню коригувальну ефективність біодобавки на основі фосфоліпідів молока та здатність усувати негативні наслідки від застосування антибіотику тетрацикліну гідрохлориду. У піддослідних щурів цих груп також були відсутні відхилення з боку харчової поведінки, а у разі контрольних зважувань реєстрували збільшення маси тіла.

3.3 Фосфоліпіди крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока

3.3.1 Зміни фосфоліпідного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу

Зміни фосфоліпідного складу нативної крові в піддослідних щурів оцінювали за результатами проведення досліджень методом тонкошарової хроматографії. Статистичні дані відповідних показників представлені у (табл. 3.15).

Таблиця 3.15

Концентрація фосфоліпідів у нативній крові щурів, мг% ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
Інозитолфосфатид + фосфатидилінозитол	16,32 $\pm$ 4,13	14,98 $\pm$ 4,01
Фосфатидилсерин	29,75 $\pm$ 5,13	22,11 $\pm$ 3,03*
Сфінгомієлін	40,85 $\pm$ 8,53	27,64 $\pm$ 3,54*
Фосфатидилхолін	148,82 $\pm$ 18,53	131,81 $\pm$ 12,80*
Фосфатидилетаноламін	33,77 $\pm$ 9,97	25,14 $\pm$ 3,91*

Примітка. * $P < 0,05$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль»

Встановлено, що в умовах змодельованого жирового гепатозу концентрація в нативній крові піддослідних тварин I дослідної групи

«Самореабілітація» сумарної фракції інозитолфосфатиду + фосфатидилінозиту статистично значимо не відрізнялася від показників контролю. В умовах експериментального жирового гепатозу відмічали достовірне зменшення в крові щурів на 25,7 % вмісту фосфатидилсерину порівняно з його концентрацією у контрольних зразках. В умовах експериментальної гепатопатології у щурів I дослідної групи «Самореабілітація» концентрація в нативній крові сфінгомієліну характеризувалася істотним зменшенням на 32,3 % порівняно з контролем. Виявилося, що за експериментального жирового гепатозу концентрація фосфатидилхоліну в крові піддослідних щурів I дослідної групи «Самореабілітація» зазнавала достовірного зменшення на 11,4 % порівняно з тваринами у групі «Контроль». За результатами аналізу зразків нативної крові, відібраних від піддослідних щурів з медикаментозною формою жирового гепатозу на тлі введення тетрацикліну гідрохлориду, було виявлено достовірне зменшення вмісту фосфатидилетаноламіну в дослідній групі «Самореабілітація» на 25,5 % порівняно з контролем.

У жовчі щурів в умовах змодельованої патології (I дослідна група «Самореабілітація») спостерігалось зменшення концентрації сумарної фракції інозитолфосфатиду і фосфатидилінозиту на 20,0 %, 19,4, 21,6, 22,6, 23,2 і 27,3 %, відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого дослідження порівняно зі значеннями цих показників у тварин контрольної групи (табл. 3.16).

В умовах змодельованої патології (I дослідна група «Самореабілітація») у жовчі піддослідних щурів відмічалось зменшення концентрації фосфатидилсерину на 15,0 %, 16,6, 15,7, 16,4, 18,3 і 18,8 %, відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого дослідження порівняно зі значеннями цих показників у тварин контрольної групи (табл. 3.17).

Таблиця 3.16

Концентрація сумарної фракції інозитолфосфатиду + фосфатидилінозиту в жовчі піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослід, хв	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	3,70±0,45	2,96±0,45*
60	3,60±0,45	2,90±0,44*
90	3,42±0,40	2,68±0,41*
120	3,28±0,41	2,54±0,43*
150	3,10±0,39	2,38±0,41*
180	3,00±0,39	2,18±0,41*

Примітка. * $P < 0,05$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Таблиця 3.17

Концентрація фосфатидилсерину в зразках жовчі щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослід, хв	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	4,40±0,67	3,74±0,49*
60	4,27±0,70	3,56±0,46*
90	4,08±0,68	3,44±0,50*
120	3,90±0,72	3,26±0,52*
150	3,70±0,72	3,02±0,48*
180	3,50±0,67	2,84±0,50*

Примітка. * $P < 0,05$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

В умовах змодельованої патології (І дослідна група «Самореабілітація») в жовчі піддослідних щурів відмічалось зменшення концентрації сфінгом'єліну на 13,4 %, 15,1, 15,0, 15,1, 15,7 і 18,2 % відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого дослідження порівняно зі значеннями цих показників в тварин контрольної групи (табл. 3.18).

Таблиця 3.18

Концентрація сфінгом'єліну в зразках жовчі щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослідження, хв	Група «Контроль»	І Дослідна група «Самореабілітація»
30	5,43 $\pm$ 0,56	4,70 $\pm$ 0,50*
60	5,30 $\pm$ 0,76	4,50 $\pm$ 0,50*
90	5,13 $\pm$ 0,77	4,36 $\pm$ 0,47*
120	4,95 $\pm$ 0,75	4,20 $\pm$ 0,47*
150	4,70 $\pm$ 0,79	3,96 $\pm$ 0,44*
180	4,50 $\pm$ 0,75	3,68 $\pm$ 0,46*

Примітка. * $P < 0,05$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

В умовах експериментальної гепатопатології спостерігалось суттєве зменшення в жовчі хворих щурів (І дослідна група «Самореабілітація») концентрації фосфатидилхоліну на 22,4 %, 24,0, 24,8, 25,9, 26,1 і 27,0 % відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого дослідження порівняно зі значеннями цих показників в тварин контрольної групи (табл. 3.19).

Таблиця 3.19

Концентрація фосфатидилхоліну в зразках жовчі піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослід, хв	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	35,98 $\pm$ 1,54	27,92 $\pm$ 3,89**
60	35,75 $\pm$ 3,33	27,16 $\pm$ 3,21**
90	34,40 $\pm$ 2,44	25,86 $\pm$ 2,87**
120	33,98 $\pm$ 3,97	25,16 $\pm$ 2,90**
150	32,60 $\pm$ 3,03	24,08 $\pm$ 3,17**
180	31,60 $\pm$ 3,16	23,06 $\pm$ 3,34**

Примітка. ** $P < 0,01$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

В умовах тетрациклініндукованого гепатозу в жовчі щурів (I дослідна група «Самореабілітація») виявлялося достовірне зменшення концентрації фосфатидилетаноламіну на 17,6 %, 17,5, 18,8, 21,1, 22,8 і 24,9 % відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого дослід порівняно зі значеннями цих показників в тварин контрольної групи (табл. 3.20).

При дослідженні основних фракцій фосфоліпідів у зразках печінки піддослідних щурів виявлялося достовірне зменшення вмісту усіх досліджуваних показників (табл. 3.21).

Так, уміст сумарної фракції інозитолфосфатиду і фосфатидилінозитулу в зразках печінки у піддослідних щурів (I дослідна група «Самореабілітація») характеризувався істотним зниженням на 27,7 % від контрольних показників.

Таблиця 3.20

Концентрація фосфатидилетаноламіну в зразках жовчі піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час досліджу, хв	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	9,23 $\pm$ 0,85	7,60 $\pm$ 0,84*
60	8,98 $\pm$ 0,64	7,40 $\pm$ 0,84*
90	8,80 $\pm$ 0,63	7,14 $\pm$ 0,80*
120	8,65 $\pm$ 0,68	6,82 $\pm$ 0,88*
150	8,45 $\pm$ 0,63	6,52 $\pm$ 0,81**
180	8,15 $\pm$ 0,58	6,10 $\pm$ 0,97**

Примітка. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Таблиця 3.21

Вміст фракцій індивідуальних фосфоліпідів у зразках печінки піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Показник	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
Інозитолфосфатид і фосфатидилінозитол	113,64 $\pm$ 9,0	82,14 $\pm$ 4,9*
Фосфатидилсерин	218,56 $\pm$ 16,6	174,62 $\pm$ 13,6*
Сфінгомієлін	541,76 $\pm$ 40,5	436,94 $\pm$ 33,3*
Фосфатидилхолін	760,48 $\pm$ 55,6	613,70 $\pm$ 47,5*
Фосфатидилетаноламін	329,62 $\pm$ 27,1	264,52 $\pm$ 20,8*

Примітка. * $P < 0,05$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

При цьому, вміст фосфатидилсерину в цих же зразках характеризувався зниженням на 20,1 % порівняно з відповідним контролем. Величина зменшення рівня сфінгомієліну, фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну в зразках печінки у піддослідних щурів (I дослідна група «Самореабілітація») була дещо схожою та відповідала значенням на 19,3 %, 19,3 і 19,7 % меншим за ці показники в піддослідних щурів групи «Контроль».

Отже, при дослідженні фосфоліпідного складу нативної крові, жовчі та печінки в піддослідних щурів встановлено формування дефіцитного рівня досліджуваних показників. Цей факт може вказувати на порушення процесів засвоєння фосфоліпідів на рівні кишечника, їх синтезу в гепатоцитах та секреції в кров і жовч в умовах експериментальної тетрациклініндукованої форми жирового гепатозу.

3.3.2 Коригувальна ефективність фосфоліпидовмісної біодобавки щодо фосфоліпідного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу

При дослідженні концентрації індивідуальних фракцій фосфоліпідів у нативній крові хворих піддослідних щурів, які отримували БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока (II дослідна група «Корекція») та у клінічно здорових тварин, яким задавали лише БАД «FLP-MD» (III дослідна група «Здорові тварини + БАД «FLP-MD»»), відзначали наступні результати (табл. 3.22).

Таблиця 3.22

Концентрація індивідуальних фракцій фосфоліпідів у нативній крові піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»	III Дослідна група «Здорові тварини + БАД «FLP-MD»
Інозитолфосфатид і фосфатидилінозитол	16,32±4,13	18,18±3,03	21,10±2,03*
Фосфатидилсерин	29,75±5,13	29,44±3,28	33,5±3,69
Сфінгомієлін	40,85±8,53	32,6±3,06*	40,55±7,79
Фосфатидилхолін	148,82±18,53	159,71±11,06	165,4±5,49
Фосфатидилетаноламін	33,77±9,97	28,12±3,88*	36,30±5,70

Примітка. * $P < 0,05$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

У тварин II дослідної групи «Корекція» рівень сумарної фракції інозитолфосфатиду і фосфатидилінозиту в нативній крові не відрізнявся від діапазону контрольних значень. Але концентрація цього показника в крові щурів III дослідної групи «Здорові тварини + БАД «FLP-MD» була більшою на 29,2 % від контрольних показників (див. табл. 3.22). Вміст у крові фосфатидилсерину в обох групах щурів відповідав межам контрольних значень. Введення хворим тваринам БАД «FLP-MD» (II дослідна група «Корекція») супроводжувалося формуванням дещо нижчої концентрації в крові сфінгомієліну (на 20,1 %) порівняно з відповідним контролем. А введення біодобавки клінічно здоровим тваринам (III дослідна група «Здорові тварини + БАД «FLP-MD»») не виявляло статистично значимого ефекту. За введення хворим тваринам БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів

молока (II дослідна група «Корекція») не відмічалось істотних змін у нативній крові вмісту фосфатидилхоліну порівняно з контролем. Відсутність достовірних змін щодо цього показника також була характерна і для клінічно здорових щурів (III дослідна група «Здорові тварини + БАД «FLP-MD»). Застосування хворим щурам БАД «FLP-MD» (II дослідна група «Корекція») супроводжувалось зменшенням в зразках нативної крові вмісту фосфатидилетаноламіну на 16,7 % порівняно з контролем. За проведення аналогічного дослідження в клінічно здорових щурів (III дослідна група «Здорові тварини + БАД «FLP-MD») не виявлялось істотних змін цього показника.

Застосовані фосфоліпіди молока у формі біодобавки викликали збільшення концентрації сумарної фракції інозитолфосфатиду і фосфатидилінозиту в жовчі щурів на 48,6 %, 57,7, 52,0, 50,3, 49,3 і 46,0 %, відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого дослідження порівняно з відповідними значеннями в контролі (табл. 3.23).

Таблиця 3.23

Концентрація сумарної фракції інозитолфосфатиду + фосфатидилінозиту в жовчі піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослідження, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	3,70±0,45	5,50±0,76**
60	3,60±0,45	5,68±1,10**
90	3,42±0,40	5,20±1,65**
120	3,28±0,41	4,93±1,55**
150	3,10±0,39	4,63±1,35**
180	3,00±0,39	4,38±1,36**

Примітка. ** $P < 0,01$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Введення піддослідним щурам БАД «FLP-MD» (II дослідна група «Корекція») провокувало збільшення в зразках жовчі концентрації фосфатидилсерину на 42,0 %, 50,3, 60,0, 57,1, 50,8 і 62,2 % відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого дослідження порівняно з відповідними значеннями в контролі (табл. 3.24).

Таблиця 3.24

Концентрація фосфатидилсерину в жовчі піддослідних щурів, мг% (M±m, n=4)

Час дослідження, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	4,40±0,67	6,25±0,70**
60	4,27±0,70	6,42±1,12**
90	4,08±0,68	6,53±1,36**
120	3,90±0,72	6,13±1,11**
150	3,70±0,72	5,85±1,12**
180	3,50±0,67	5,68±1,28**

Примітка. **P < 0,01, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Пероральне введення щурам біодобавки на основі фосфоліпідів молока (II дослідна група «Корекція») викликало достовірне зростання концентрації сфінгомієліну в жовчі щурів відповідно 30,3 %, 37,1, 46,1, 44,4, 44,6 і 44,4 % на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого дослідження порівняно з відповідними значеннями в контролі (табл. 3.25).

Таблиця 3.25

Концентрація сфінгомієліну в жовчі піддослідних щурів, мг% (M±m, n=4)

Час досліду, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	5,43±0,56	7,08±0,90**
60	5,30±0,76	7,27±1,15**
90	5,13±0,77	7,50±1,36**
120	4,95±0,75	7,15±1,28**
150	4,70±0,79	6,80±1,43**
180	4,50±0,75	6,50±1,23**

Примітка. **P < 0,01, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Пероральне введення піддослідним тваринам фосфоліпідів молока у формі БАД «FLP-MD» (II дослідна група «Корекція») проявлялось істотним зростанням у зразках жовчі концентрації фосфатидилхоліну на 38,8 %, 45,3, 54,3, 52,9, 59,1 і 60,2 % відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого досліду порівняно з його значеннями в контролі (табл. 3.26).

Застосування хворим щурам фосфоліпідів молока у формі біодобавки (II дослідна група «Корекція») викликало істотне зростання в зразках жовчі концентрації фосфатидилетаноламіну на 48,4 %, 53,3, 54,2, 49,4, 45,5 і 47,8 %, відповідно на 30 хв, 60, 90, 120, 150 і 180 хв гострого досліду порівняно з його значеннями в контролі (табл. 3.27).

Дослідження концентрації сумарної фракцій фосфоліпідів стосувалося визначення динаміки їх умісту в зразках печінки у піддослідних хворих щурів, які отримували БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока (II дослідна група «Корекція») та в клінічно здорових тварин, яким вводили

лише БАД «FLP-MD» (III дослідна група «Здорові тварини + БАД «FLP-MD»)) (табл. 3.28).

Таблиця 3.26

Концентрація фосфатидилхоліну в жовчі піддослідних щурів, мг%
($M \pm m$, $n=4$)

Час дослід, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	35,98 $\pm$ 1,54	49,95 $\pm$ 7,14***
60	35,75 $\pm$ 3,33	51,95 $\pm$ 8,10***
90	34,40 $\pm$ 2,44	53,10 $\pm$ 8,90***
120	33,98 $\pm$ 3,97	51,98 $\pm$ 7,85***
150	32,60 $\pm$ 3,03	51,88 $\pm$ 8,47***
180	31,60 $\pm$ 3,16	50,63 $\pm$ 7,34***

Примітка. *** $P < 0,01$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Таблиця 3.27

Концентрація фосфатидилетаноламіну в жовчі піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослід, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	9,23 $\pm$ 0,85	13,70 $\pm$ 1,64***
60	8,98 $\pm$ 0,64	13,77 $\pm$ 2,62***
90	8,80 $\pm$ 0,63	13,85 $\pm$ 3,24**
120	8,65 $\pm$ 0,68	12,93 $\pm$ 2,77**
150	8,45 $\pm$ 0,63	12,30 $\pm$ 2,83**
180	8,15 $\pm$ 0,58	12,05 $\pm$ 2,04***

Примітка. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Таблиця 3.28

Концентрація індивідуальних фракції фосфоліпідів у зразках печінки в піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»	III Дослідна група «Здорові + БАД «FLP-MD»»
Інозитолфосфатид і фосфатидилінозитол	113,64 $\pm$ 9,0	123,68 $\pm$ 5,5	138,98 $\pm$ 4,8*
Фосфатидилсерин	218,56 $\pm$ 16,6	239,84 $\pm$ 14,0	281,02 $\pm$ 9,4*
Сфінгомієлін	541,76 $\pm$ 40,5	587,1 $\pm$ 34,0	684,82 $\pm$ 23,0*
Фосфатидилхолін	760,48 $\pm$ 55,6	821,66 $\pm$ 47,6	960,26 $\pm$ 31,6*
Фосфатидилетаноламін	329,62 $\pm$ 27,1	363,13 $\pm$ 31,4	398 $\pm$ 32,9*

Примітка. * $P < 0,05$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

При дослідженні концентрації індивідуальних фракцій фосфоліпідів, отриманих з печінки щурів групи «Корекція», істотних змін не було виявлено. Всі результати відповідали межам контрольних значень, що підтверджує коригувальну ефективність БАД «FLP-MD» у відношенні досліджуваних показників. У випадку тварин III дослідної групи «Здорові + БАД «FLP-MD»» відмічали перевищення в зразках печінки значення показника вмісту сумарної фракції інозитолфосфатиду і фосфатидилінозиту на 22,2 % порівняно з контролем. При цьому, концентрація фосфатидилсерину в щурів групи «Здорові + БАД «FLP-MD»» також зростала на 28,5 % порівняно з такою у тварин групи «Контроль».

Вміст сфінгомієліну та фосфатидилхоліну в зразках печінки щурів III дослідної групи «Здорові + БАД «FLP-MD»» виявляв більші за контрольний рівень показники, відповідно на 26,4 та 26,2 % (див. табл. 3.28).

Фосфатидилетаноламін, як показник окремої фракції фосфоліпідів у печінці піддослідних щурів групи «Здорові + БАД «FLP-MD»», також вирізнявся збільшенням умісту на 24,7 % порівняно з контролем.

3.4 Жовчні пігменти крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу та при застосуванні фосфоліпідів молока

3.4.1 Зміни жовчнопігментного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу

Дослідження концентрації жовчних пігментів в нативній крові піддослідних щурів (I Дослідна група «Самореабілітація») було проведено за допомогою тонкошарової хроматографії (табл. 3.29).

Таблиця 3.29

Концентрація жовчних пігментів в нативній крові піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
Білірубін некон'югований	$0,56 \pm 0,16$	$0,34 \pm 0,10^*$
Білірубіну сульфат	$0,0087 \pm 0,0045$	$0,0042 \pm 0,0027$
Білірубіну глюкуронід	$0,054 \pm 0,016$	$0,030 \pm 0,010^*$
Білірубіну моноглюкуронід та моноглюкозид	$0,019 \pm 0,009$	$0,004 \pm 0,002^{**}$
Білірубіну диглюкуронід	$0,067 \pm 0,02$	$0,047 \pm 0,02$

Примітка. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Так, концентрація некон'югованого білірубіну в нативній крові щурів із тетрациклініндукованим ураженням печінки (II дослідна група

«Самореабілітація») виявилася на 39,3 % нижчою від величини контрольного показника (див. табл. 3.29).

Вміст білірубину сульфату в нативній крові піддослідних тварин характеризувався тенденцією до зменшення на 51,7 % від величини цього показника в тварин контрольної групи, що може бути ознакою гострих запальних процесів за токсичного впливу антибіотика (див. табл. 3.29).

Концентрація білірубину глюкуроніду в нативній крові щурів групи «Самореабілітація» також відзначалася зменшенням на 44,4 % порівняно з відповідним контролем. Вміст сумарної фракції білірубину моноглюкуроніду та моноглюкозиду вирізнявся значним зменшенням величини цього показника (на 78,9 %) порівняно з таким у тварин групи «Контроль». Концентрація білірубин диглюкуроніду в нативній крові піддослідних тварин цієї групи зменшувалася на 29,8 % від контрольних значень.

Некон'югований білірубин міститься в усіх трьох зразках жовчі, отриманої від щурів зі змодельованою патологією у концентрації нижчій, ніж у першій, другій і третій пробах контролю на 29,5 %, 26,0 і 29,9 %, відповідно (табл. 3.30).

Таблиця 3.30

Вміст некон'югованого білірубину в жовчі піддослідних щурів, мг% (M±m, n=4)

Час досліду, хв	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	2,37±0,33	1,67±0,23***
60	2,30±0,26	1,71±0,27***
90	2,21±0,27	1,55±0,26***

Примітка. ***P < 0,001, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

При цьому, концентрація білірубіну сульфату в усіх трьох зразках жовчі, отриманих від щурів з експериментальною гепатопатологією, відрізнялася істотно нижчими значеннями порівняно з першою, другою і третьою пробами в контролі, відповідно на 20,8 %, 22,6 і 36,0 % (табл. 3.31).

Таблиця 3.31

Вміст білірубіну сульфату в жовчі піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час дослід, хв	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	$1,06 \pm 0,21$	$0,84 \pm 0,13^*$
60	$1,06 \pm 0,18$	$0,82 \pm 0,10^{**}$
90	$1,00 \pm 0,17$	$0,74 \pm 0,11^{***}$

Примітка. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Встановлено, що в тварин зі змодельованим жировим гепатозом в усіх трьох зразках жовчі концентрація білірубіну глюкуроніду була значно нижча ніж у контрольних зразках жовчі. Зокрема, в першій пробі жовчі тварин групи «Самореабілітація» концентрація білірубіну глюкуроніду знижувалася на 34,0 %, у другій пробі – на 35,8 %, а у третій пробі – на 36,4 % порівняно зі значеннями цього показника у щурів контрольної групи (табл. 3.32).

Таблиця 3.32

Вміст білірубіну глюкуроніду в жовчі піддослідних щурів, мг% (M±m, n=4)

Час дослід, хв	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	11,69±1,89	7,72±1,09***
60	11,81±1,81	7,58±1,27***
90	11,06±1,82	7,03±1,21***

Примітка. ***P < 0,01, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Встановлено, що у хворих тварин групи «Самореабілітація» в усіх трьох пробах жовчі концентрація компонентів сумарної фракції білірубіну моноглюкуроніду та моноглюкозиду нижча ніж у контрольних зразках на 26,5 %, 31,2 та 25,5 %, відповідно (табл. 3.33).

Таблиця 3.33

Вміст сумарної фракції білірубіну моноглюкуроніду та моноглюкозиду в жовчі піддослідних щурів, мг% (M±m, n=4)

Час дослід, хв	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
30	1,17±0,15	0,86±0,18***
60	1,26±0,24	0,88±0,12***
90	1,10±0,14	0,82±0,11***

Примітка. ***P < 0,01, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

В умовах штучного моделювання гепатопатології завдяки уведенню токсичних доз тетрацикліну гідрохлориду (І дослідна група «Самореабілітація»), концентрація білірубіну диглюкуроніду в жовчі хворих тварин зазнавала зниження. Так, у першій пробі жовчі щурів І дослідної групи «Самореабілітація» вміст білірубіну диглюкуроніду набував нижчих значень, ніж у тварин контрольної групи на 24,0 %, у другій пробі – на 22,4 %, а у третій пробі – на 24,0 % (табл. 3.34).

Таблиця 3.34

Вміст білірубіну диглюкуроніду (мг%) в жовчі піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=4$)

Час досліді, хв	Група «Контроль»	І Дослідна група «Самореабілітація»
30	21,23 $\pm$ 2,37	16,13 $\pm$ 1,92***
60	21,03 $\pm$ 1,86	16,31 $\pm$ 1,45***
90	19,81 $\pm$ 1,98	15,06 $\pm$ 1,52***

Примітка. *** $P < 0,01$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Результати дослідження вмісту жовчних пігментів у зразках печінки піддослідних щурів за допомогою методу тонкошарової хроматографії представлено в (табл. 3.35).

Так, уміст фракції білірубіну некон'югованого у зразках печінки в щурів І дослідної групи «Самореабілітація» нижчий на 15,7 % від його значень в контролі. Фракція білірубіну сульфату, навпаки, зазнавала чисельного зростання. Зокрема, цей показник збільшувався на 14,1 % за значення в контролі. Уміст фракції білірубін глюкуроніду в хворих тварин виявляв найнижчі значення серед досліджуваних показників. Його вміст у

тварин I дослідної групи «Самореабілітація» характеризувався зменшенням на 20,6 % порівняно з таким у групі «Контроль».

Таблиця 3.35

Вміст жовчних пігментів у зразках печінки піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група «Контроль»	I Дослідна група «Самореабілітація»
Білірубін некон'югований	$3,69 \pm 0,82$	$3,11 \pm 0,51^*$
Білірубін сульфат	$1,56 \pm 0,44$	$1,78 \pm 0,27^{**}$
Білірубін глюкуронід	$13,24 \pm 1,93$	$10,50 \pm 1,77^*$
Білірубін моноглюкуронід та моноглюкозид	$1,79 \pm 0,33$	$1,51 \pm 0,21^*$
Білірубін диглюкуронід	$31,31 \pm 4,76$	$25,09 \pm 2,22^*$

Примітка. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Концентрація сумарної фракції білірубін моноглюкуроніду та моноглюкозиду в хворих щурів зменшувалась на 15,6 % порівняно з контролем. При цьому, вміст білірубін диглюкуроніду закономірно знижувався на 19,8 %, у порівнянні з відповідним контролем.

3.4.2 Коригувальна ефективність фосфоліпидовмісної біодобавки щодо жовчнопигментного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу

При дослідженні фракцій жовчних пігментів в крові піддослідних щурів за експериментальних умов отримано дані щодо їх особливостей у щурів груп «Корекція» та «Здорові + БАД «FLP-MD» (табл. 3.36).

Таблиця 3.36

Вміст жовчних пігментів у нативній крові піддослідних щурів, мг% (M±m, n=10)

Показник	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»	III Дослідна група «Здорові + БАД «FLP-MD»
Білірубін некон'югований	0,56±0,16	0,55±0,06	0,64±0,09* [#]
Білірубіну сульфат	0,0087±0,0045	0,0085±0,0021	0,0105±0,0024** ^{##}
Білірубін глюкуронід	0,054±0,016	0,066±0,007*	0,057±0,020
Білірубіну моноглюкуронід та моноглюкозид	0,019±0,009	0,020±0,006	0,019±0,006
Білірубіну диглюкуронід	0,067±0,02	0,060±0,01	0,063±0,01

Примітка. *P < 0,05, **P < 0,01, різниця достовірна відносно значень показників у щурів групи «Контроль»; [#]P < 0,05, ^{##}P < 0,01, різниця

достовірна між значеннями показників у щурів груп «Корекція» та «Здорові + БАД «FLP-MD».

При дослідженні рівня некон'югованого білірубіну в нативній крові піддослідних щурів у II дослідній групі «Корекція» істотних змін не виявлено, він відповідав значенням контролю. У III дослідній групі тварин «Здорові + БАД «FLP-MD» вміст досліджуваного показника підвищувався на 14,2 % порівняно з контролем (див. табл. 3.36).

Уміст білірубіну сульфату в нативній крові піддослідних щурів II дослідної групи «Корекція» залишався без змін. А у тварин III дослідної групи «Здорові + БАД «FLP-MD» зростав на 20,6 %, у порівнянні з групою «Контроль». Рівень білірубіну глюкуроніду в нативній крові піддослідних щурів групи «Корекція» збільшувався на 22,2 %, в порівнянні з контролем. У групі «Здорові + БАД «FLP-MD» цей показник залишався в межах норми. Рівень сумарної фракції білірубіну моноглюкуроніду та моноглюкозиду в нативній крові щурів у групах «Корекція» та «Здорові + БАД «FLP-MD» зберігався у межах контрольного діапазону. Вміст білірубіну диглюкуроніду в нативній крові щурів у групах «Корекція» та «Здорові + БАД «FLP-MD» також не відрізнявся від контрольних значень.

У разі використання БАД «FLP-MD» у тварин зі змодельованим жировим гепатозом у всіх трьох пробах жовчі концентрація некон'югованого білірубіну залишалася нижчою ніж у контрольних зразках на 19,8 %, 17,4 і 18,1 %, відповідно (табл. 3.37).

У разі введення БАД «FLP-MD» у тварин з експериментальним жировим гепатозом у всіх трьох пробах жовчі концентрація білірубіну сульфату не відрізнялася від контролю (табл. 3.38).

Таблиця 3.37

Вміст некон'югованого білірубіну в жовчі піддослідних щурів, мг% (M±m, n=4)

Час досліджу, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	2,37±0,33	1,90±0,25 ^{**}
60	2,30±0,26	1,90±0,26 ^{**}
90	2,21±0,27	1,81±0,23 [*]

Примітка. *P<0,05, **P<0,01, різниця достовірна порівняно зі значеннями відповідних показників у щурів групи «Контроль».

Таблиця 3.38

Вміст білірубіну сульфату в жовчі піддослідних щурів, мг% (M±m, n=4)

Час досліджу, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	1,06±0,21	1,17±0,18
60	1,06±0,18	1,00±0,26
90	1,00±0,17	1,01±0,23

Між значеннями вмісту білірубіну глюкуроніду в зразках жовчі щурів групи «Контроль» і II дослідної групи «Корекція» статистично достовірних відмінностей не відмічали (табл. 3.39).

Отже, згідно описаних результатів із визначення ефективності комплексу фосфоліпідів молока у складі БАД «FLP-MD» на тлі штучного моделювання патології печінки, було відмічено посилення ендogenous утворення і стимулювання надходження білірубіну моноглюкуроніду та моноглюкозиду до жовчі.

Таблиця 3.39

Вміст білірубіну глюкуроніду в жовчі піддослідних щурів, мг% (M±m, n=4)

Час досліджу, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	11,69 ± 1,89	10,96 ± 2,18
60	11,81 ± 1,81	11,27 ± 2,43
90	11,06 ± 1,82	10,52 ± 1,83

Такий ефект БАД «FLP-MD» проявлявся в тому, що вміст білірубіну моноглюкуроніду та моноглюкозиду в жовчі цих тварин наближався до рівня контрольних значень (табл. 3.40).

Таблиця 3.40

Вміст сумарної фракції білірубіну моноглюкуроніду та моноглюкозиду в жовчі піддослідних щурів, мг% (M±m, n=4)

Час досліджу, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	1,17±0,15	1,01±0,26
60	1,26±0,24	1,02±0,27
90	1,10±0,14	0,94±0,26

Корекція за допомогою БАД «FLP-MD» стану тварин із експериментальним жировим гепатозом сприяла відновленню вмісту білірубіну диглюкуроніду в жовчі щурів. Слід відзначити, що як при моделюванні жирового гепатозу, так і в групі тварин, які отримували фосфоліпіди молока у складі БАД «FLP-MD», не виявляли достовірних змін концентрації білірубіну диглюкуроніду в жовчі (табл. 3.41).

Таблиця 3.41

Вміст білірубіну диглюкуроніду в жовчі піддослідних щурів, мг%
($M \pm m$, $n=4$)

Час досліду, хв	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»
30	21,23 $\pm$ 2,37	19,90 $\pm$ 2,93
60	21,03 $\pm$ 1,86	19,89 $\pm$ 2,74
90	19,81 $\pm$ 1,98	19,44 $\pm$ 2,46

Зміни концентрації жовчних пігментів у зразках печінки піддослідних тварин представлено у (табл. 3.42.)

Таблиця 3.42

Вміст жовчних пігментів у тканині печінки піддослідних щурів, мг% ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Група «Контроль»	II Дослідна група «Корекція»	III Дослідна група «Здорові + БАД «FLP-MD»
Білірубін некон'югований	3,69 $\pm$ 0,82	4,51 $\pm$ 0,65*	2,67 $\pm$ 0,56 ^{###}
Білірубіну сульфат	1,56 $\pm$ 0,44	0,95 $\pm$ 0,16**	1,77 $\pm$ 0,34 ^{###}
Білірубіну глюкуронід	13,24 $\pm$ 1,93	9,16 $\pm$ 0,74***	13,16 $\pm$ 2,11 ^{###}
Білірубіну моноглюкуронід та моноглюкозид	1,79 $\pm$ 0,33	0,99 $\pm$ 0,16***	1,84 $\pm$ 0,29 ^{###}
Білірубіну диглюкуронід	31,31 $\pm$ 4,76	19,74 $\pm$ 2,06***	27,81 $\pm$ 3,06

Примітки: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, статистично значима відмінність порівняно з контролем; # $P < 0,05$, ## $P < 0,01$, ### $P < 0,001$, статистично значима відмінність показників групи «Корекція» та «Здорові + БАД «FLP-MD».

Так, у разі дослідження вмісту жовчних пігментів у печінці піддослідних щурів білірубін некон'югований характеризувався збільшенням на 22,2 % у II дослідній групі «Корекція», але у тварин III дослідної групи «Здорові + БАД «FLP-MD» він зазнавав зменшення на 27,6 % порівняно з контролем. Уміст білірубіну сульфату в печінці піддослідних щурів II дослідної групи «Корекція» зменшувався на 39,1 % порівняно з контролем. При цьому, значення цього показника в тварин III дослідної групи «Здорові + БАД «FLP-MD» не відрізнялись від контролю. Виявлено зниження рівня білірубіну глюкуроніду в зразках печінки піддослідних щурів у II дослідній групі «Корекція» та відсутність кількісних змін щодо цього показника у тварин III дослідної групи «Здорові + БАД «FLP-MD»». Визначено, що вміст сумарної фракції білірубіну моноглюкуроніду та моноглюкозиду в печінці щурів у II дослідній групі «Корекція» відрізнявся зменшенням на 44,6 % порівняно з контролем, але, при цьому, не відзначалось його змін у тварин III дослідної групи «Здорові + БАД «FLP-MD»». Водночас спостерігалось зменшення в печінці щурів II дослідної групи «Корекція» вмісту білірубіну диглюкуроніду на 36,9 %, а у тварин III дослідної групи «Здорові + БАД «FLP-MD»» значення цього показника відповідало діапазону параметрів контролю.

2.4.3 Заключення до розділу 3

Встановлено мікроструктурні зміни зразків печінки щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та їх особливості при застосуванні фосфоліпидовмісної БАД «FLP-MD» з коригувальними властивостями [114]. Визначено маркерні зміни жовчних пігментів та ліпідного і фосфоліпідного спектрів крові, жовчі й печінки за цитотоксичного ефекту дії тетрацикліну гідрохлориду, що супроводжувалось розвитком жирового гепатозу, а також

досліджено коригувальну ефективність застосування фосфоліпидовмісної БАД «FLP-MD», яка виявляє репаративну, гепатопротекторну та жовчогінну дію [115–127]. Розроблено науково-практичні рекомендації для реалізації отриманих результатів у клінічній ветеринарній практиці [127, 128].

Висновки до розділу 3

За результатами аналізу мікроструктури зразків печінки у щурів контрольної групи встановлено, що її паренхіма мала типову мікроскопічну будову, характерну для здорових тварин. У клінічно здорових щурів, яким додатково інтрагастрально вводили фосфоліпіди молока у вигляді БАД «FLP-MD», мікроскопічна будова печінки не відрізнялась від такої в тварин контрольної групи. Аналогічно в органі виявлялися часточки і печінкові тріади типової мікроскопічної будови з усіма їх структурними елементами. При моделюванні в піддослідних щурів тетрациклініндукованого гепатозу було встановлено, що загальна архітектоніка печінки зберігається. Проте, у печінкових часточках реєструвалися виразні мікроскопічні зміни, які, насамперед, полягали у пошкодженні гепатоцитів. При цьому, значна частина печінкових клітин перебувала в стані жирової і зернистої дистрофії. У разі застосування в якості коригувальної терапії щурам із тетрациклініндукованим ураженням печінки фосфоліпідів молока у вигляді БАД «FLP-MD» (група «Корекція») відмічалось помітне зменшення дистрофічних змін в паренхімі печінки, що також запобігало руйнуванню гепатоцитів та дезорганізації печінкових балок у печінкових часточках.

За допомогою хроматографічного аналізу ліпідного спектру нативної крові, жовчі та зразків печінки встановлено, що їх якісний склад включає п'ять ліпідних фракцій: фосфоліпіди, вільні жирні кислоти, вільний холестерол, естерифікований холестерол та триацилгліцероли. В результаті

дослідження ліпідограми нативної крові, жовчі та зразків печінки в піддослідних щурів (I група «Самореабілітація») відзначалось істотне порушення вмісту, навіть дефіцитний рівень, як показника загальні ліпіди, так й окремих індивідуальних фракцій. У разі застосування хворим щурам БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока (II дослідна група «Корекція») слід відмітити достатню коригувальну ефективність компонентів біодобавки та їх здатність усувати негативні наслідки від застосування антибіотика тетрацикліну гідрохлориду, що вказує на виражений гепатопротекторний ефект дії фосфоліпідів біодобавки.

Крім того, істотно порушуються в умовах експериментальної тетрациклініндукованої форми жирового гепатозу в лабораторних щурів процеси надходження фосфоліпідів до гепатоцитів та їх секреція до жовчі. Фосфоліпідні компоненти БАД «FLP-MD» є тваринного походження (з молока), а тому відрізняються максимально вираженою біодоступністю, про що свідчить достовірне зростання вмісту всіх визначених фракцій фосфоліпідів у нативній крові піддослідних щурів. Надалі фосфоліпіди БАД «FLP-MD», надходячи до печінки, пришвидшують відновлення метаболічних і транспортних процесів в її клітинах, а відтак сприяють формуванню повноцінного за основними біохімічними показниками складу жовчі. З огляду на патологічні порушення ліпідного гомеостазу при експериментальному жировому переродженні печінки встановлена висока ефективність БАД «FLP-MD» щодо нормалізації вмісту фосфоліпідів як у крові, так й у жовчі та печінці хворих тварин. Це дає підстави вважати перспективним застосування БАД «FLP-MD» для корекції структурного і функціонального стану печінки і поліпшення обміну фосфоліпідів за її ураження, зокрема, антибіотиками тетрациклінової групи. При цьому, в разі застосування біодобавки клінічно здоровим щурам виявляли нейтральний ефект дії на досліджувані показники, за винятком підвищення в крові

концентрації сумарної фракції інозитолфосфатиду і фосфатидилінозиту на 29.3% порівняно з контролем.

У відповідності до отриманих результатів обґрунтовано коригувальну ефективність БАД «FLP-MD» за розвитку в тварин жирового гепатозу, в тому числі для запобігання виникнення ускладнень у вигляді внутрішньопечінкового і позапечінкового холестазу. Останнє пояснюється тим, що експериментально визначене зростання вмісту фосфатидилсерину, сфінгомієліну, фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну у жовчі хворих тварин є сприятливою ознакою, оскільки поліпшує її фізико-хімічні властивості та дозволяє вивести з клітин печінки фосфатидилінозитол, як фактор ризику посиленого жирового переродження тканини печінки.

За умов експериментального тетрациклініндукованого жирового гепатозу в лабораторних щурів спостерігалось достовірне зниження в крові рівня некон'югованого білірубіну на 39,3 %, білірубіну глюкуроніду на 44,4 % та сумарної фракції білірубіну моноглюкуроніду і моноглікозиду на 78,9 % порівняно з відповідним контролем. Застосування хворим тваринам БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока усувало вказані наслідки патологічних змін у функціонуванні клітин печінки та рівня досліджуваних некон'югованої і кон'югованих форм білірубіну в крові. Виявлена здатність БАД «FLP-MD» стабілізувати рівень білірубіну та його похідних у крові на фізіологічному рівні за розвитку експериментального жирового гепатозу – один із механізмів її гепатопротективної дії, опосередкованої репаративними, антиоксидантними та жовчогінними властивостями фосфоліпідів молока.

При цьому, в тканині печінки щурів за експериментального жирового гепатозу зменшувався вміст білірубіну глюкуроніду на 20,7 % та білірубіну диглюкуроніду на 19,9 % порівняно з контролем. Застосування щурам за експериментального жирового гепатозу БАД «FLP-MD» призводило до зменшення вмісту в тканині печінки білірубіну сульфату, білірубіну

глюкуроніду, білірубін у моноглюкуроніду і сумарної фракції моноглюкозиду та білірубін у диглюкуроніду, що пов'язнюється інтенсивним виведенням кон'югованих форм білірубін у до жовчних канальців, а отже жовчогінним ефектом фосфоліпідів молока. Накопичення некон'югованого білірубін у в тканині печінки щурів при застосуванні БАД «FLP-MD» на тлі жирового гепатозу свідчить про інтенсифікацію його вилучення з крові транспортними системами гепатоцитів під впливом діючих речовин БАД «FLP-MD». Саме властивість БАД «FLP-MD» посилювати переміщення з крові до клітин печінки некон'югованого білірубін у за умов змодельованого жирового гепатозу – ще один із механізмів її терапевтичної дії, яка запобігає розвитку інтоксикації та жовтяниці.

Виявлені односпрямовані зміни – зменшення концентрації некон'югованого білірубін у та його кон'югованих форм у жовчі як при тетрациклініндукованому жировому гепатозі, так і за умов застосування хворим щурам БАД «FLP-MD» обумовлені різними механізмами. Зокрема, в умовах експериментального жирового гепатозу через пригнічення білоксинтезувальних процесів і пов'язану з цим анемію зменшувався вміст пігментів у жовчі. Припускаємо факт посилення за дії БАД «FLP-MD» синтетичних й енергозалежних, транспортних й ферментативних процесів біотрансформації білірубін у, що з одночасним жовчогінним ефектом досліджуваної фосфоліпідної біодобавки сприяло зменшенню концентрації некон'югованого і кон'югованого білірубін у в жовчі.

Встановлені закономірності дозволяють рекомендувати зазначену біодобавку в якості засобу корегувальної терапії за розвитку порушень ліпідного, фосфоліпідного і пігментного обмінів у тварин із жировим гепатозом медикаментозного генезу, а також для профілактики розвитку ускладнень у вигляді холестазу та білірубінової енцефалопатії.

РОЗДІЛ 4

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Жировий гепатоз (стеатогепатоз) (Fatty liver disease or Hepatic steatosis) – поширена у свійських тварин (до 40 %) гепатопатологія, яка характеризується порушенням балансу між синтезом та утилізацією триацилгліцеролів, надмірним їх накопиченням в гепатоцитах, дисліпідемією, активацією пероксидного окиснення жирних кислот та розладами жовчосекреторної функції печінки [129, 130]. Особливу загрозу для їхнього здоров'я становлять наслідки цієї патології у вигляді цирозу печінки (у 25 % хворих), подальшого розвитку печінкової недостатності та гепатоцелюлярної карциноми [130, 131].

Печінка відіграє провідну роль у метаболізмі ліпідів в організмі ссавців. Розвиток жирового гепатозу, насамперед, полягає у внутрішньопечінковому накопиченні триацилгліцеролів [130]. Надмірне їх відкладання у гепатоцитах може бути як зворотним, так і навпаки. Водночас зазначене захворювання може виникати вторинно за різних патологічних станів, а також бути наслідком вірусної інфекції, дії ксенобіотиків, некоректного застосування лікарських препаратів тощо [131, 132]. Зокрема, надмірне накопичення ліпідів у паренхімі печінки відмічається за ожиріння, метаболічного синдрому, цукрового діабету з інсулінорезистентністю [133, 134]. Найпоширенішим типом жирового переродження печінки вважається жировий гепатоз. Разом із тим, відзначається тенденція до зростання випадків жирового гепатозу, індукованого лікарськими препаратами [133, 135]. Викликаний токсичною дією різних груп синтетичних препаратів жировий гепатоз характеризується ушкодженням гепатоцитів, запальними процесами у паренхімі печінки та фіброзом, що значно збільшує ризик виникнення й інших ускладнень [136].

Внаслідок високого вмісту ліпідів у печінці має очікувано посилюватися виведення ліпопротеїнів дуже низької щільності до кровоносного русла, що стає основною причиною комплексної дисліпідемії, характерної для пацієнтів із жировим гепатозом. Заходи, які зменшують секрецію ліпопротеїнів дуже низької щільності у кров, здатні запобігати розвитку дисліпідемії, але водночас викликають загострення жирового гепатозу [137, 138].

У ході проведення експериментальних досліджень було визначено коригувальну ефективність фосфоліпідів молока у вигляді БАД «FLP-MD» за результатами аналізу мікроструктурних змін зразків печінки від піддослідних щурів. Зокрема, встановлено у тварин контрольної групи паренхіма печінки мала типову мікроскопічну будову, характерну для здорових тварин. У клінічно здорових щурів, яким додатково інтрагастрально вводили фосфоліпіди молока у вигляді БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока (група «Препарат»), мікроскопічна будова печінки не відрізнялась від такої в тварин контрольної групи. Аналогічно в органі виявлялися часточки і печінкові тріади типової мікроскопічної будови з усіма їх структурними елементами. При моделюванні в піддослідних щурів тетрацикліндукованого гепатозу (група «Самореабілітація») було встановлено, що загальна архітектоніка печінки зберігається. Проте, у печінкових часточках встановлені виразні мікроскопічні зміни, які, насамперед, полягали у пошкодженні гепатоцитів. При цьому, значна частина печінкових клітин перебувала в стані жирової і зернистої дистрофії. Частина дистрофічно змінених гепатоцитів руйнувалась із наступним лізисом фрагментів зруйнованих клітин. Руйнування і лізис гепатоцитів особливо виразними були на деяких ділянках печінки під її капсулою. Усі ці зміни призводили до часткової чи повної дезорганізації печінкових пластинок в усіх часточках органу. У разі застосування хворим щурам коригувальної

терапії у вигляді фосфоліпідів молока БАД «FLP-MD» (група «Корекція») дискомплексация гепатоцитів не реєструвалась, руйнування зазнавали лише поодинокі гепатоцити, у стані жирової та зернистої дистрофії перебувала помітно менша кількість печінкових клітин, а порушення впорядкованої організації печінкових пластинок було істотно менш вираженим, ніж у разі моделювання в тварин тетрациклініндукованого гепатозу (група «Самореабілітація»). Цей факт свідчить про позитивний вплив фосфоліпідів молока на процеси регенерації та відновлення гепатоцитів за тетрациклініндукованого ураження печінки в щурів.

В умовах медикаментозної форми жирового гепатозу в лабораторних щурів спостерігається пригнічення процесів, що забезпечують надходження індивідуальних ліпідних фракцій до складу жовчі. Застосування щурам одночасно з моделюванням тетрациклініндукованого ураження печінки БАД «FLP-MD» виявляє яскраво виражений коригувальний вплив на їх уміст у зразках жовчі впродовж всього 3-годинного періоду дослідження. При цьому, концентрація більшості ліпідних фракцій у жовчі тварин, які отримували на тлі розвитку жирового гепатозу БАД «FLP-MD», відновлювалася до значень, характерних для тварин групи «Контроль». Водночас застосування щурам біодобавки паралельно з моделюванням тетрациклініндукованого жирового гепатозу стимулює виведення вільних жирних кислот у жовч та призводить до збільшення їх концентрації у печінковому секреті порівняно з контролем та групою хворих тварин за самореабілітації. Враховуючи значні порушення ліпідного гомеостазу за жирового гепатозу та виявлені ефекти дії БАД «FLP-MD» на вміст загальних ліпідів у жовчі хворих тварин, можливо стверджувати про перспективність застосування зазначеної біодобавки для корекції обміну описаних ліпідних фракцій за умов медикаментозного ураження печінки, передусім, антибіотиками тетрациклінової групи.

Особливо актуальне застосування фосфоліпидовмісних препаратів за гепатопатології, що супроводжується розвитком внутрішньопечінкового холестазу. Оскільки жовчосекреторні процеси та фізико-хімічні властивості жовчі значною мірою залежать від секреції гепатоцитами до первинних жовчних каналців фосфоліпідів та холатів, важливим аспектом подальших досліджень буде експериментальне визначення ефектів БАД «FLP-MD» щодо жовчно-кислотного складу жовчі у нормі та за гепатопатології.

Процеси надходження фосфоліпідів до гепатоцитів та їх секреція до жовчі істотно порушуються в умовах експериментальної тетрациклініндукованої форми жирового гепатозу в лабораторних щурів. Фосфоліпідні компоненти БАД «FLP-MD» є тваринного походження (з молока), а тому відрізняються максимально вираженою біодоступністю, про що свідчить істотне зростання вмісту всіх визначених фракцій фосфоліпідів у крові піддослідних щурів. Надалі фосфоліпіди БАД «FLP-MD», надходячи до печінки, пришвидшують відновлення метаболічних і транспортних процесів в її клітинах, а відтак сприяють формуванню повноцінного за основними біохімічними показниками складу жовчі. З огляду на встановлені порушення ліпідного гомеостазу при експериментальному жировому переродженні печінки підтверджена висока ефективність БАД «FLP-MD» щодо нормалізації вмісту фосфоліпідів як у крові, так і у жовчі хворих тварин. Це дає підстави вважати перспективним застосування БАД «FLP-MD» для корекції структурного і функціонального стану печінки і поліпшення обміну фосфоліпідів за її ураження, зокрема, антибіотиками тетрациклінової групи. При цьому, в разі застосування біодобавки клінічно здоровим щурам виявляли нейтральний ефект дії на досліджувані показники, за винятком підвищення в крові концентрації сумарної фракції інозитолфосфатиду і фосфатидилінозиту на 29,3 % порівняно з контролем. У відповідності до отриманих результатів обґрунтовано рекомендувати БАД «FLP-MD», як

препарат ефективний за розвитку жирового гепатозу, у тому числі для запобігання виникнення ускладнень у вигляді внутрішньопечінкового і позапечінкового холестазу. Останнє пояснюється тим, що експериментально визначене зростання вмісту фосфатидилсерину, сфінгомієліну, фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну у жовчі хворих тварин є сприятливою ознакою, оскільки поліпшує її фізико-хімічні властивості та дозволяє вивести з клітин печінки фосфатидилінозитол, як фактор ризику посиленого жирового переродження тканини печінки.

За умов тетрациклініндукованого жирового гепатозу в самців щурів спостерігалось достовірне зниження в крові рівня некон'югованого білірубіну на 39,3%, білірубіну глюкуроніду на 44,4 % та сумарної фракції білірубіну моноглюкуроніду і моноглікозиду на 78,9 % порівняно з відповідним контролем. Застосування хворим тваринам комплексу фосфоліпідів молока у складі БАД «FLP-MD» усувало вказані наслідки патологічних змін у функціонуванні клітин печінки та рівня досліджуваних некон'югованої і кон'югованих форм білірубіну в крові. Виявлена здатність БАД «FLP-MD» стабілізувати вміст білірубіну та його похідних у крові на фізіологічному рівні за розвитку експериментального жирового гепатозу – один із механізмів її гепатопротекторної дії, опосередкованої репаративними, антиоксидантними та жовчогінними властивостями фосфоліпідів молока.

Поряд із цим, в паренхімі печінки щурів за експериментального жирового гепатозу зменшувався вміст білірубіну глюкуроніду на 20,7 % та білірубіну диглюкуроніду на 19,9 % порівняно з контролем. Застосування щурам за експериментального жирового гепатозу фосфоліпидовмісної біодобавки призводило до зменшення вмісту в тканині печінки білірубіну сульфату, білірубіну глюкуроніду, білірубіну моноглюкуроніду і сумарної фракції моноглікозиду та білірубіну диглюкуроніду, що пояснюється інтенсивним виведенням кон'югованих форм білірубіну до жовчних

канальців, а отже жовчогінним ефектом фосфоліпідів молока. Накопичення некон'югованого білірубіну в тканині печінки щурів при застосуванні БАД «FLP-MD» на тлі жирового гепатозу свідчить про інтенсифікацію його вилучення з крові транспортними системами гепатоцитів під впливом діючих речовин біодобавки. Саме властивість БАД «FLP-MD» посилювати переміщення з крові до клітин печінки некон'югованого білірубіну за умов змодельованого жирового гепатозу – ще один із механізмів її терапевтичної дії, яка запобігає розвитку інтоксикації та жовтяниці. Виявлені односпрямовані зміни – зменшення концентрації некон'югованого білірубіну та його кон'югованих форм у жовчі як при тетрациклініндукованому жировому гепатозі, так і за умов застосування хворим щурам БАД «FLP-MD» обумовлені різними механізмами.

Зокрема, в умовах експериментального жирового гепатозу внаслідок пригнічення білоксинтезувальних процесів і пов'язану з цим анемію відзначали зменшення вмісту пігментів у жовчі. Припускаємо факт посилення за дії БАД «FLP-MD» синтетичних й енергозалежних транспортних й ферментативних процесів біотрансформації білірубіну, що з одночасним жовчогінним ефектом досліджуваної фосфоліпідної біодобавки сприяло зменшенню концентрації некон'югованого і кон'югованого білірубіну в жовчі.

Встановлені закономірності дозволяють рекомендувати зазначену біодобавку в якості засобу коригувальної терапії за розвитку порушень ліпідного, фосфоліпідного і пігментного обмінів в організмі ссавців із жировим гепатозом медикаментозного генезу, зокрема при застосуванні антибіотиків тетрациклінової групи, а також для профілактики розвитку цирозу, печінкової недостатності, холестазу, білірубінової енцефалопатії та інших ускладнень.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання із визначення маркерних змін у мікроструктурі печінки, показників обміну ліпідів, фосфоліпідів і жовчних пігментів за штучного відтворення в лабораторних щурів тетрациклініндукованого жирового гепатозу, а також з'ясовано коригувальну ефективність фосфоліпідів молока у формі БАД «FLP-MD».

1. Мікроскопічні зміни у паренхімі печінки за експериментального жирового гепатозу свідчать про стеатогенний ефект тетрацикліну гідрохлориду. Більшість гепатоцитів перебувала у стані жирової і зернистої дистрофії. Частина з цих клітин зазнавала руйнування з наступним їх лізисом, особливо вираженим на деяких ділянках печінки під її капсулою, що призводило до часткової чи повної дезорганізації печінкових пластинок. Зафіксовано також активацію печінкових фагоцитів, зумовлену необхідністю елімінації з органу фрагментів зруйнованих гепатоцитів.

2. Застосування хворим щурам фосфоліпідів молока у вигляді БАД «FLP-MD» виявляло позитивний вплив на процеси регенерації гепатоцитів, що сприяло помітному зменшенню дистрофічних змін у паренхімі, запобігало руйнуванню гепатоцитів та дезорганізації печінкових балок у печінкових часточках. У випадку застосування фосфоліпідовмісної біодобавки клінічно здоровим щурам, мікроскопічна будова печінки не відрізнялася від такої в тварин контрольної групи.

3. Аналіз ліпідограми крові у хворих щурів свідчить про формування дефіцитного рівня як загальних ліпідів на 37,0 % ($P < 0,05$), так й індивідуальних ліпідних фракцій, зокрема: фосфоліпідів на 40,8 % ($P < 0,05$), вільних жирних кислот на 46,2 % ($P < 0,05$), естерифікованого холестеролу на 32,0 % ($P < 0,05$), вільного холестеролу на 23,1 % ($P < 0,05$) порівняно з

контролем. Найвираженіші зміни у ліпідогамі жовчі відмічалися в останні періоди гострого досліду (на 120–180 хв), що проявлялося у зменшенні концентрації вільних жирних кислот на 47,2 % ($P < 0,001$), естерифікованого холестеролу на 52,1–57,8 % ($P < 0,001$) та триацилгліцеролів на 63 % ($P < 0,001$), а у зразках печінки – естерифікованого холестеролу на 51,2 % ($P < 0,001$) порівняно з контролем. Це свідчить про порушення синтетичної, естерифікуючої та ферментативної функцій печінки за дії тетрацикліну.

4. Застосування хворим щурам фосфоліпідів молока у вигляді БАД «FLP-MD» відзначалось відновленням ліпідогамі в усіх видів біологічних зразків. При цьому, концентрація вільних жирних кислот у жовчі тварин зростала на 107,7 % ($P < 0,001$), що запобігало жировій інфільтрації печінки.

5. До найвираженіших змін фосфоліпідного складу крові, жовчі та печінки в щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу слід віднести: істотне зменшення у крові концентрація сфінгом'єліну на 32,3 % ($P < 0,05$), у жовчі – фосфатидилхоліну на 27,0 % ($P < 0,01$), а в зразках печінки – вмісту сумарної фракції інозитолфосфатиду і фосфатидилінозиту на 27,7 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем, що вказує на порушення процесів їх засвоєння у кишечнику, синтезу в гепатоцитах та секреції в кров і жовч.

6. Введення піддослідним щурам БАД «FLP-MD» сприяло відновленню більшості показників фосфоліпідного профілю, окрім зменшення у крові вмісту сфінгом'єліну на 20,1 % ($P < 0,05$) та збільшення в зразках жовчі концентрації фосфатидилсерину на 62,2 % ($P < 0,01$) порівняно з контролем.

7. За тетрациклініндукованого жирового гепатозу в лабораторних щурів відбувалось зменшення в крові концентрації некон'югованого білірубину на 39,3 % ($P < 0,05$), білірубину глюкуроніду на 44,4 % ($P < 0,05$), сумарної фракції білірубину моноглюкуроніду та моноглікозиду на 78,9 % ($P < 0,01$) порівняно з контролем. У жовчі хворих щурів за самореабілітації

знижувався рівень усіх досліджуваних фракцій білірубіну. Водночас у печінці хворих щурів зменшувався вміст білірубіну глюкуроніду й білірубіну диглюкуроніду.

8. У разі застосування хворим тваринам фосфоліпидовмісної БАД «FLP-MD» припускаємо факт посилення синтетичних й енергозалежних транспортних й ферментативних процесів біотрансформації білірубіну на тлі одночасного прояву її жовчогінного ефекту.

9. Встановлені закономірності дозволяють рекомендувати експериментальну БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока в якості засобу коригувальної терапії за розвитку порушень обміну ліпідів, фосфоліпідів і жовчних пігментів у тварин із жировим гепатозом, а також для профілактики розвитку холестазу та білірубінової енцефалопатії.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для забезпечення медикаментозного захисту печінки в тварин у разі застосування антимікробних препаратів тетрациклінової групи рекомендується пероральне введення 1 % розчину ліпосомальної форми БАД «FLP-MD» (на основі фосфоліпідів молока) в дозі 13,5 мг/кг маси тіла, один раз на добу до повного їх клінічного одужання, яка виявляє гепатопротекторну, репаративну, жовчогінну та відновлювальну дії у відношенні метаболізму ліпідів та жовчних пігментів, що знайшло відображення у розроблених науково-практичних рекомендаціях.

2. Рекомендується досліджувати маркерні показники ліпідного, фосфоліпідного і жовчнопігментного складу крові, жовчі та печінки в щурів за медикаментозної форми гепатопатології для визначення її патогенетичних особливостей на молекулярному рівні (впроваджено у ветеринарну клінічну практику та в освітній процес), а також при розробці й випробуванні ефективності новостворених препаратів гепатопротекторної дії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Berardo C., Di Pasqua L.G., Cagna M., Richelmi P., Vairetti M., Ferrigno A. Nonalcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis: Current issues and future perspectives in preclinical and clinical research. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21, No 24. P. 9646.
2. Pydyn N., Miękus K., Jura J., Kotlinowski J. New therapeutic strategies in nonalcoholic fatty liver disease: a focus on promising drugs for nonalcoholic steatohepatitis. *Pharmacological Reports*. 2020. Vol. 72, No 1. P. 1–12.
3. Arab J.P., Arrese M., Trauner M. Recent insights into the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2018. Vol. 13, No 1. P. 321–350.
4. Dajani A.I., Popovic B. Essential phospholipids for nonalcoholic fatty liver disease associated with metabolic syndrome: A systematic review and network meta-analysis. *World Journal of Clinical Cases*. 2020. Vol. 8, No 21. P. 523–5249.
5. Ota T. Molecular mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)/Nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2021. Vol. 1261. P. 223–229.
6. Kartsoli S., Kostara C.E., Tsimihodimos V., Bairaktari E.T., Christodoulou D.K. Lipidomics in non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Hepatology*. 2020. Vol. 12, No 8. P. 436–450.
7. Cui Z., Houweling M. Phosphatidylcholine and cell death. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2002. P. 87–96.
8. Hicks A. M., DeLong K. J., Thomas M. J., Samuel M., Cui Z. Unique molecular signatures of glycerophospholipid species in different rat tissues analyzed by tandem mass spectrometry. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cellular Biology of Lipids*. 2006. Vol. 9. P. 1022–1029.

9. Bleijerveld O. B., Houweling M., Thomas M. J., Cui Z. Lipidomics: profiling metabolism of phospholipids species with stable isotopic precursors and tandem mass spectrometry. *Anal. Biochem.* 2006. Vol. 352, No 1. P. 1–14.
10. Han X., Gross R. W. Global analyses of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples by ESI mass spectrometry: a bridge to lipidomics. *J. Lipid Res.* 2003. Vol. 44. P. 1071–1079.
11. Біологічна і біоорганічна хімія: кн. 2. Біологічна хімія / Ю. І. Губський та ін. Київ: ВСВ «Медицина», 2016. 544 с.
12. Dowhan W., Bogdanovic M., Mileykovskaya E. Functional roles of lipids in membranes. *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes, 5th edn.* 2008. P. 1–37.
13. Esbak H., Enyedy E. A., Kiss T., Yoshikawa Y., Sakurai H., Garribba E., et al. Aminoacid-derivatised picolinatooxidovanadium (IV) complexes: characterization, speciation, and ex vivo insulin-mimetic potential. *J Inorg Biochem.* 2009. Vol. 103, No 4. P. 590– 600.
14. Pires J. A., Grummer R. R. Specific fatty acids as metabolic modulators in the dairy cow. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 2008. Vol. 37. P. 287–298.
15. Imai J., Katagiri H. Regulation of systemic metabolism by the autonomic nervous system consisting of afferent and efferent innervation. *International Immunology.* 2022. Vol. 34, No 2. P. 67– 79.
16. Alvarez H. M., Souto M. F., Viale A., Pucci O.H. Biosynthesis of fatty acids and triacylglycerols by 2,6,10,14-tetramethyl pentadecane-grown cells of *Nocardia globberula* 432. *FEMS Microbiol Lett.* 2001. Vol. 200. P. 195–200.
17. Alvarez H. M., Kalscheuer R., Steinbuchel A. Accumulation and mobilization of storage lipids by *Rhodococcus opacus* PD630 and *Rhodococcus ruber* NCIMB 40126. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2000. Vol. 54. P. 218–23.
18. Park S. H., Lee J. E., Lee S. M., Lee J., Seo C. S., Hwang G. S., Jung J. An unbiased lipidomics approach identifies key lipid molecules as potential

therapeutic targets of Dohongsamul-tang against non-alcoholic fatty liver diseases in a mouse model of obesity. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 5. P. 260.

19. Lordan R., Tsoupras A., Zabetakis I. Phospholipids of Animal and Marine Origin: Structure, Function, and Anti-Inflammatory Properties. *Molecules*. 2017. Vol. 22, No 11. P. 964.

20. Bugianesi E., Moscatiello S., Ciaravella M.F., Marchesini G. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Pharm Des*. 2010. Vol. 16. P. 1941–1951.

21. Dosch A. R., Imagawa D. K., Jutric Z. Bile Metabolism and Lithogenesis: An Update. *Surg Clin North Am*. 2019. Vol. 99. No 2. P. 215–229.

22. Portincasa P., Moschetta A., Palasciano G. From lipid secretion to cholesterol crystallization in bile. Relevance in cholesterol gallstone disease. *Ann Hepatol*. 2002. Vol. 1, No. 3. P. 121–8.

23. Hundt M., Wu C. Y., Young M. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Biliary Ducts. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024.

24. Trovato F. M., Catalano D., Musumeci G., Trovato G. M. 4Ps medicine of the fatty liver: the research model of predictive, preventive, personalized and participatory medicine-recommendations for facing obesity, fatty liver and fibrosis epidemics. *J EPMA*. 2014. Vol. 5 P. 21.

25. Sud M. et al. LMSD: LIPID MAPS structure database. *Nucleic Acids Res*. 2007. Vol. 35. P. 527–532.

26. Feigenson G. W. Phase behavior of lipid mixtures. *Nature Chem. Biol*. 2006. Vol. 2. P. 560–563.

27. Feigenson G. W. Phase boundaries and biological membranes. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct*. 2007. Vol. 36. P. 63–77.

28. Lippincott-Schwartz J, Phair R. D. "Lipid Rafts and Signal Transduction". *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2010.

29. Devaux P. F., Morris R. Transmembrane asymmetry and lateral domains in biological membranes. *J. Traffic*. 2004. Vol. 5. P. 241–246.

30. Daleke D. L. Phospholipid flippases. *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. P. 821–825.
31. Sud M., Fahy E., Cotter D., Brown A., Dennis E. A., Glass C. K., Merrill A. H., Jr. Murphy R. C., Raetz C. R., Russell D. W. et al. LMSD: LIPID MAPS structure database. *Nucleic Acids Res.* 2007. Vol. 35. P. 527–532.
32. Basu B. W., Neff J. K. Gohil V. M. The role of nonbilayer phospholipids in mitochondrial structure and function. *FEBS Lett.* 2018. Vol. 592. P. 1273–1290.
33. Joshi A., Richard T. H., Gohil V. M. Mitochondrial phospholipid metabolism in health and disease. *J Cell Sci.* 2023. Vol. 136, No 17. P. 2–9.
34. O'Donnell V. B., Murphy R. C., Watson S. P. Platelet lipidomics: modern day perspective on lipid discovery and characterization in platelets. *Circ. Res.* 2014. Vol. 114. P. 1185–1203.
35. O'Donnell V. B., Rossjohn J., Wakelam M. J. Phospholipid signaling in innate immune cells. *J. Clin. Invest.* 2018. Vol. 128. P. 2670–2679.
36. Cooper G. M. The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition. *Sunderland (MA): Sinauer Associates.* 2000.
38. Singer S. J., Nicolson G. L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *J. Science.* 1972. Vol. 175. P. 720–731.
39. Braverman N. E., Moser A. B. Functions of plasmalogen lipids in health and disease. *Biochim. Biophys. Acta.* 2012. Vol. 1822. P. 1442–1452.
40. Vance J. E. Phospholipid synthesis and transport in mammalian cells. *J. Traffic.* 2015. Vol. 16. P. 1–18.
41. Cui Z., Houweling M. Phosphatidylcholine and cell death. *Biochim. Biophys. Acta.* 2002. Vol. 1585. P. 87–96.
42. Mapes J., Chen Y. Z., Kim A., Mitani S., Kang B. H., Xue D. CED-1, CED-7, and TTR-52 regulate surface phosphatidylserine expression on apoptotic and phagocytic cells. *Curr. Biol.* 2012. Vol. 22, No 14. P. 1267–75.

43. Fadeel B., Xue D. The ins and outs of phospholipid asymmetry in the plasma membrane: roles in health and disease. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2009. Vol. 44. P. 264–277.
44. Daleke D. L. Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry. *J. Lipid. Res.* 2003. Vol. 44. P. 233–242.
45. Tabernilla A., Dos Santos Rodrigues B., Pieters A., Caufriez A., Leroy K., Van Campenhout R., Cooreman A., Gomes A. R., Arnesdotter E., Gijbels E., Vinken M. In Vitro Liver Toxicity Testing of Chemicals: A Pragmatic Approach. *Int J Mol Sci.* 2021. Vol. 22, No 9. P. 5038.
46. Vance J. E. Historical perspective: phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine from the 1800s to the present. *J. Lipid Res.* 2018. Vol. 59. P. 923–944.
47. Calzada E., Onguka O., Claypool S. M. Phosphatidylethanolamine Metabolism in Health and Disease. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 2016. Vol. 321. P. 29–88.
48. Platre M. P., Jaillais Y. Guidelines for the use of protein domains in acidic phospholipid imaging. *Methods Mol. Biol.* 2016. Vol. 1376. P. 175–194.
49. Balla T. Phosphoinositides: tiny lipids with giant impact on cell regulation. *Physiol. Rev.* 2013. Vol. 93. P. 1019–1137.
50. Vance J. E., Steenbergen R. Metabolism and functions of phosphatidylserine. *Prog. Lipid Res.* 2005. Vol. 44, No 4. P. 207–34.
51. Sasaki T., Takasuga S., Sasaki J., Kofuji S., Eguchi S., Yamazaki M., Suzuki A. Mammalian phosphoinositide kinases and phosphatases. *Prog. Lipid Res.* 2009. Vol. 48, No 6. P. 307–43.
52. Slotte J. P. Biological functions of sphingomyelins. *Prog. Lipid Res.* 2013. Vol. 52, No 4. P. 424–37.
53. Zhang B., Kuipers F., de Boer J. F., Kuivenhoven J. A. Modulation of bile acid metabolism to improve plasma lipid and lipoprotein profiles. *Journal of Clinical Medicine.* 2021. Vol. 11, No 1. P. 4.

54. Zsembery A., Thalhammer T., Graf J. Bile formation: concerted action of membrane transporters in hepatocytes and cholangiocytes. *News Physiol. Sci.* 2000. Vol. 15, No 1. P. 6–11.
55. Гудима А. А., Ярема В. В. Порухення жовчоутворення і жовчовиділення в ранній період політравми у тварин з різною метаболізувальною здатністю печінки. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2012. № 2. С. 48–52.
56. Boyer J. L., Soroka C. J. Bile formation and secretion: An update. *Journal of Hepatology*. 2021. Vol. 75, No 1. P. 190–201.
57. Vosschenrich J., Boll D. T., Zech C. J. Passive and active magnetic resonance cholangiopancreatography : Technique, indications, and typical anatomy *Radiologe*. 2019. Vol. 59, No. 4. P. 306–314.
58. Zsembery A., Thalhammer T., Graf J. Bile formation: concerted action of membrane transporters in hepatocytes and cholangiocytes. *News Physiol. Sci.* 2000. Vol. 15. P. 6–11.
59. Shen H., Zeng C., Wu X., Liu S., Chen X. Prognostic value of total bilirubin in patients with acute myocardial infarction: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019. Vol. 98, No 3. e13920.
60. Hinds T. D., Stec D. E. Bilirubin, a Cardiometabolic Signaling Molecule. *Hypertension*. 2018. Vol. 72, No 4. P. 788–795.
61. Ngashangva L., Bachu V., Goswami P. Development of new methods for determination of bilirubin. *J. Pharm Biomed Anal.* 2019. Vol. 162. P. 272–285.
62. Seya M., Aokage T., Nojima T., Nakao A., Naito H. Bile pigments in emergency and critical care medicine. *Eur J Med Res*. 2022. Vol. 27, No 1. P. 224.
63. Cui Y., König J., Leier I., Buchholz U., Keppler D. Hepatic uptake of bilirubin and its conjugates by the human organic anion transporter SLC21A6. *J Biol. Chem.* 2001. Vol. 276. P. 962–630.

64. Bosma P. J., Chowdhury J. R., Bakker C., Gantla S., de Boer A., Oostra B. A., Lindhout D., Tytgat G. N., Jansen P. L., Oude Elferink R. P., et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *N Engl J Med*. 1995. Vol. 333, P. 1171–1175.
65. Hamoud A. R., Weaver L., Stec D. E., Hinds T. D. Bilirubin in the Liver-Gut Signaling Axis. *Trends Endocrinol Metab*. 2018. Vol. 314, No 6. P. 668–676.
66. Vitek L., Ostrow J. D. Bilirubin chemistry and metabolism; harmful and protective aspects. *Current pharmaceutical design*. 2009. Vol. 15. P. 2869–2883.
67. Vitek L., Majer F., Muchová L., Zelenka J., Jirásková A., Branný P., Malina J., Ubik K. Identification of bilirubin reduction products formed by *Clostridium perfringens* isolated from human neonatal fecal flora. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*. 2006. Vol. 833. P. 149–157.
68. Rodrigues R. R., Gurung M., Li Z., García-Jaramillo M., Greer R., Gaulke C., Bauchinger F., You H., Pederson J. W, Vasquez-Perez S., White K. D., Frink B., Pilmsus B., Jump D. B., Trinchieri G., Berry D., Sharpton T. J., Dzutsev A., Morgun A., Shulzhenko N. Transkingdom interactions between *Lactobacilli* and hepatic mitochondria attenuate western diet-induced diabetes. *Nat Commun*. 2021. Vol. 12, No. 1. P. 101.
69. Baranano D. E., Rao M., Ferris C. D., Snyder S.H. Biliverdin reductase: a major physiologic cytoprotectant. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2002. Vol. 99, No 25. P. 16093-8.
70. Wu B., Wu Y., Tang W. Heme Catabolic Pathway in Inflammation and Immune Disorders. *Front Pharmacol*. 2019. Vol. 10. P. 825.
71. Ayer A., Zarjou A., Agarwal A., Stocker R. Heme Oxygenases in Cardiovascular Health and Disease. *Physiol Rev*. 2016. Vol. 96, No. 4. P. 1449–508.

72. Bhagavan N. V., Chung-Eun Ha. Essentials of Medical Biochemistry (Second Edition), *Academic Press* 2015. P. 511–529.
73. McDonnell M., Mohiuddin S. Biochemistry, biliverdin. *Treasure Island: StatPearls Publishing*. 2022.
74. Lemos F. O., Florentino R. M., Lima Filho A. C., Dos Santos M. L., Leite M. F. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in the liver: Expression and function. *World Journal of Gastroenterology*. 2019. Vol. 25, No. 44. P. 6483–6494.
75. Gryshchenko V. A., Sysolyatin S. V., Gulevata J. V. Phospholipid composition of blood plasma and internal organs of rats with diclofenac-induced hepatitis. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2018. Vol. 8, No 3. P. 235–240.
76. Savage D. B., Semple R. K. Recent insights into fatty liver, metabolic dyslipidaemia and their links to insulin resistance. *Curr. Opin. Lipidol.* 2010. Vol. 21, No. 4. P. 329–36.
77. Tatsuta T., Scharwey M., Langer T. Mitochondrial lipid trafficking. *Trends Cell Biol.* 2014. Vol. 24, No. 1. P. 44–52.
78. Луцик О. Д., Геращенко С. Б., Дельцова О. І., Чайковський Ю. Б. Використання нового списку міжнародних термінів з гістології людини в морфології та клініці органів травного тракту. *Ліки України*. 2012. Вип. 3–4, № 1. P. 5–8.
79. Гістологія людини / О.Д. Луцик та ін. Київ.: Книга плюс, 2010. 584 с.
80. Карпезо Н. О., Бєлінська І. В., Рибальченко Т. В., Кокозей В. М., Рибальченко В. К., Врещ О. В. Вплив різнометалічного комплексу $[\text{Cu}(\text{dmen})_2][\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]$ (dmen=N, N-диметилетилендіамін) на морфофункціональний стан печінки. Доп. НАН України. 2011. Вип. 3. С. 158–63.
81. Hundt M., Wu C.Y., Young M. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Biliary Ducts. 2023 Jul 15. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459246/>.

82. van Berge Henegouwen G.P., van der Werf S.D., Ruben A.T. Fatty acid composition of phospholipids in bile in man: promoting effect of deoxycholate on arachidonate. *Clin Chim Acta*. 1987. Vol. 165, No. 1. P. 27–37.
83. Vosshenrich J., Boll D. T., Zech C. J. Passive und aktive Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie : Technik, Indikation und typische Anatomie [Passive and active magnetic resonance cholangiopancreatography : Technique, indications, and typical anatomy]. *Radiologe*. 2019. Vol. 59, No. 4. P. 306–314.
84. Imbery C. A., Dieterle F., Ottka C., Weber C., Schlotterbeck G., Müller E., Lohi H., Giger U. Metabolomic serum abnormalities in dogs with hepatopathies. *Scientific Reports*. 2022. Vol. 12, No. 1. P. 5329.
85. Björnsson E. S. Drug-induced liver injury due to antibiotics. *Scand J Gastroenterol*. 2017. Vol. 52, No. 6–7. P. 617–623.
86. Gryshchenko V. A., Musychuk V. V., Chernyshenko V. O., Gornytska O. V., Platonova T. M. Evaluation of biochemical indicators in blood plasma of rats with tetracycline-induced hepatosis and their correction by milk phospholipids. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2019. Vol. 91, No. 1. P. 92–99.
87. Korolova D., Gryshchenko V., Chernyshenko T., Platonov O., Hornytska O., Chernyshenko V., Klymenko P., Reshetnik Ye., Platonova, T. Blood coagulation factors and platelet response to drug-induced hepatitis and hepatosis in rats. *Animal Models and Experimental Medicine*. 2023. Vol. 6, No. 1. P. 66–73.
88. Svegliati-Baroni G., Pierantonelli I., Torquato P., Marinelli R., Ferreri C., Chatgililoglu C., Bartolini D., Galli F. Lipidomic biomarkers and mechanisms of lipotoxicity in non-alcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019. Vol. 144. P. 293–309.
89. Huh Y., Cho Y. J., Nam G. E. Recent epidemiology and risk factors of nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Obesity & Metabolic Syndrome*. 2022. Vol. 31, No. 1. P. 17–27.

90. Dowman J. K., Tomlinson J. W., Newsome P. N. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM*. 2010. Vol. 103. P. 71–83.
91. Cusi K. Role of insulin resistance and lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis*. 2009. Vol. 13. P. 545–563.
92. Schuster S., Cabrera D., Arrese M., Feldstein A.E. Triggering and resolution of inflammation in NASH. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018. Vol. 15. P. 349–364.
93. Trovato F.M., Catalano D., Musumeci G., Trovato G.M. 4Ps medicine of the fatty liver: the research model of predictive, preventive, personalized and participatory medicine-recommendations for facing obesity, fatty liver and fibrosis epidemics. *EPMA J*. 2014. Vol. 5. P. 21.
94. Fabbrini E., Magkos F., Mohammed B.S., Pietka T., Abumrad N. A., Patterson B. W. Intrahepatic fat, not visceral fat, is linked with metabolic complications of obesity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009. Vol. 106, No. 36. P. 15430–5.
95. Abd Ellah M. R. Involvement of free radicals in animal diseases. *Comp Clin Pathol*. 2010. Vol. 19. P. 615–619.
96. Drescher S., van Hoogevest P. The Phospholipid Research Center: Current Research in Phospholipids and Their Use in Drug Delivery. *Pharmaceutics*. 2020. Vol. 12, No. 12. P. 1235.
97. van Hoogevest P., Wendel A. The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*. 2014. Vol. 116. P. 1088–1107.
98. Fricker G., Kromp T., Wendel A., Blume A., Zirkel J., Rebmann H., Setzer C., Quinkert R.-O., Martin F., Müller-Goymann C.C. Phospholipids and Lipid-Based Formulations in Oral Drug Delivery. *Pharm. Res*. 2010. Vol. 27. P. 1469–1486.
99. van Hoogevest P., Liu X., Fahr A., Leigh M. L. S. Role of phospholipids in the oral and parenteral delivery of poorly water soluble drugs. *J. Drug Delivery Sci. Technol*. 2011. Vol. 21. P. 5–16.

100. Gallier S., Gragson D., Cabral C., Jimenez-Flores R., Everett D. W. Using confocal laser scanning microscopy to probe the milk fat globule membrane and associated proteins. *J Agric Food Chem.* 2010. Vol. 58, No 7. P. 4250–7.
101. Rombaut R., Thienpont N., Le T. T., Messens K., van Camp J. Nutritional and Technological Aspects of Milk Fat Globule Membrane Material. *International Dairy Journal.* 2008. Vol. 18. P. 436–457.
102. Contarini G., Povolo M. Phospholipids in milk fat: Composition, biological and technological significance, and analytical strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14. P. 2808–2831.
103. Garcia C., Lutz N. W., Confort-Gouny S., Cozzzone P. J., Armand M., Bernard M. Phospholipid fingerprints of milk from different mammals determined by ³¹P NMR: towards specific interest in human health. *Food Chem.* 2012. Vol. 135. P. 1777–1783.
104. Кушнір І.Е. Медикаментозне ураження печінки: епідеміологія, клінічні прояви, діагностичні критерії та принципи лікування. *Журнал Гастро.* 2020. Вип. 1. С. 10–12.
105. Dajani A.I., Popovic B. Essential phospholipids for nonalcoholic fatty liver disease associated with metabolic syndrome: A systematic review and network meta-analysis. *World Journal of Clinical Cases.* (2020). Vol. 8, No 21. P. 5235–5249.
106. Gundermann K. J., Gundermann S., Drozdik M., Mohan Prasad V. G. Essential phospholipids in fatty liver: A scientific update. *Clinical and Experimental Gastroenterology.* 2016. Vol. 5, No. 9. P. 105–117.
107. Gryshchenko V. A. Hematological profile of rats in experimental diclofenac-induced hepatitis. *Ukrainian Journal of Ecology.* 2017. Vol. 7, No. 3. P. 78–83.
108. Ветеринарна біологічно активна добавка ліпосомальної форми та спосіб репаративної терапії в гепатології: пат. 86516 Україна: А 61К 35/20, А23К 1/00: заявл. 14.09.2007. опубл. 27.04.2009.

109. Методи дослідження функціонального стану печінки та біліарної системи: навч. посіб. / Мельничук Д. О. та ін. К.:НУБіП України, 2015. 414с.
110. Методика приготування проб біорідин для визначення вмісту речовин ліпідної природи: пат. 99031324 UA, IPC A61B5/14. Опубл. 15.02.2001.
111. Патент на корисну модель 41602 Україна, МПК G01N 33/52, G01N 33/72. Спосіб визначення спектра похідних білірубину та білівердину в біологічній рідині: пат. 41602 UA, МПК G01N 33/52, G01N 33/72: заявл. 30.01.2009; опубл. 25.05.2009.
112. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки та морфофункціональних методів дослідження в нормі та патології. Житомир: Полісся, 2016. С. 288.
113. Gryshchenko V. A., Sysolatin S. V, Midyk S. V. Fatty acids of lipids of blood serum and liver of rats with tetracyclin-induced hepatitis and at correction. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2018. Vol. 10, No 4. P. 520–525.
114. Pototskyi A., Gryshchenko V. Influence of milk phospholipids on microstructural changes in rat liver under tetracycline-induced hepatitis. *Scientific Reports of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*. 2024. Vol. 20, No 4. P. 31–41.
115. Tomchuk V., Pototskyi A., Gryshchenko V., Veselskyi S., Reshetnik Y. Correction of the content of triacylglycerols and free fatty acids in the bile of rats with experimental fatty hepatitis. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 2022. Vol. 12, No. 3. P. 53–65.
116. Veselskyi S., Pototskyi A., Tomchuk V., Gryshchenko V., Reshetnik Y. Phospholipid composition of bile and blood in rats after correction of experimental fatty hepatitis. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 2023. Vol. 14, No 3. P. 25-45.
117. Illek J., Veselskyi S., Pototskyi A., Gryshchenko V., Reshetnik Y. Bilirubin derivatives in bile, blood, and liver of rats upon correction of experimental fatty

hepatosis. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 2024. Вип. 15, № 2. Р. 46–65.

118. Gryshchenko V., Pototskyi A. Blood lipid profile in rats with tetracycline-induced liver damage. *Scientific Reports of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*. 2024. Vol. 20, No 5, P. 34–48.

119. Томчук В. А., Потоцький А. К., Грищенко В. А. Вплив фосфоліпідів молока на вміст холестеролу та його фракцій в жовчі щурів за жирового гепатозу. Міжнародна наукова конференція «Глобальні виклики ветеринарної медицини XXI століття», Київ, Україна, 11.11.2021 р. С. 144–145.

120. Потоцький А. К., Грищенко В. А. Моделювання гепатодистрофії в щурів. II Conferenza scientifica e pratica internazionale «Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realta domestiche», Bologna, Repubblica Italiana. 12.11.2021 р. Р. 106–107.

121. Потоцький А. К., Грищенко В. А. Холестерол та його фракції в крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та коригувальний ефект фосфоліпідів молока. Theoretical and science bases of actual tasks. Proceedings of the XIV International Scientific and Practical Conference. Lisbon, Portugal. 2022. Р. 58–60.

122. Потоцький А. К., Грищенко В. А., Томчук В. А. Коригувальна терапія за тетрациклініндукованого гепатозу в щурів. Міжнародна наукова конференція «Єдине здоров'я-2022», 22-24 верес. 2022 р., м. Київ. С. 96–97.

123. Потоцький А. К., Грищенко В. А., Решетнік Є. М. Динаміка вмісту триацилгліцеролів у жовчі щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу / Theoretical and empirical scientific research: concept and trends: IV International Scientific and Practical Conference, Oxford, October 14, 2022. С. 57–58.

124. Pototskyi A.K., Gryshchenko V.A., Reshetnik Y.M. Free fatty acids in the bile of rats with experimental fatty hepatitis. III International Scientific and Practical Conference «The modern vector of the development of science», March 02–03, 2023, Philadelphia, USA. P. 5–9.
125. Потоцький А. К., Грищенко В. А., Томчук В. А. Порівняльна оцінка токсичної дії різних груп препаратів на метаболічну активність печінки. Продовольча та екологічна безпека в умовах війни та повоєнної відбудови: виклики для України та світу: мат. Міжн. наук.-практ. конф., секція 3: «Роль тваринництва, ветеринарної медицини та харчових технологій в умовах війни та вирішенні завдань плану відродження України» (м. Київ, 25 трав. 2023 р.). С. 117–120.
126. Потоцький А. К., Грищенко В. А., Борисевич Б. В. Мікроструктурні зміни у печінці щурів за експериментального тетрациклінового гепатозу. Міжнародна наукова конференція «Єдине здоров'я-2024», 19–20 верес. 2024 р., м. Київ. С. 50–52.
127. Грищенко В. А. Потоцький А. К. Ліпідний спектр крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу. Науковий простір: актуальні питання, досягнення та інновації: збірник наук. праць з матеріалами VIII Міжн. наук. конф., 29 листоп. 2024 р., м. Житомир. С. 283–285.
128. Коригувальна терапія за токсичного впливу на організм антимікробних і нестероїдних протизапальних препаратів: науково-практичні рекомендації / В. А. Томчука, В. А. Грищенко, А. К. Потоцького. К.: Ред.-видавн. відділ НУБіП України, 2022. 23 с.
129. Коригування змін у метаболізмі ліпідів і жовчних пігментів за медикаментозної форми гепатопатології: науково-практичні рекомендації / В. А. Томчука, В. А. Грищенко, А. К. Потоцького. К.: Ред.-видавн. відділ НУБіП України, 2024. 23с.

130. Svegliati-Baroni G., Pierantonelli I., Torquato P., Marinelli R., Ferreri C., Chatgililoglu C., Bartolini D., Galli F. Lipidomic biomarkers and mechanisms of lipotoxicity in non-alcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019. Vol. 144. P. 293–309.
131. Bechmann L. P., Hannivoort R. A., Gerken G., Hotamisligil G.S., Trauner M., Canbay A. The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases. *Journal of Hepatology*. 2012. Vol. 56, No 4. P. 952–64.
132. Bawany M. Z., Bhutto B., Youssef W. I., Nawras A., Sodeman T. Acute liver failure: an uncommon complication of commonly used medication. *American Journal of Therapeutics*. 2013. Vol. 20, No 5. P. 566–68.
133. Begriche K., Massart J., Robin M.-A., Borgne-Sanchez A., Fromenty B. Drug-induced toxicity on mitochondria and lipid metabolism: Mechanistic diversity and deleterious consequences for the liver. *Journal of Hepatology*. 2011. Vol. 54, No 4. P. 773–94.
134. Ress C., Kaser S. Mechanisms of intrahepatic triglyceride accumulation. *World Journal of Gastroenterology*. 2016. Vol. 22, No 4. P. 1664.
135. Malhotra P., Gill R. K., Saksena S., Alrefai W. A. Disturbances in Cholesterol Homeostasis and Non-alcoholic Fatty Liver Diseases. *Frontiers in Medicine*. 2020. Vol. 7. P. 467.
136. Yang K. J., Son J., Jung S.Y., Yi. G., Yoo J., Kim D. K., Koo H. Optimized phospholipid-based nanoparticles for inner ear drug delivery and therapy. *Biomaterials*. 2018. Vol. 171, No 7. P. 133–143.
137. Lytle K. A., Bush N. C., Triay J. M., Kellogg T. A., Kendrick M. L., Swain J. M., Gathaiya N. W., Hames K. C., Jensen M. D. Hepatic Fatty Acid Balance and Hepatic Fat Content in Humans With Severe Obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2019. Vol. 104, No 12. P. 6171–6181.
138. Heeren J., Scheja L. Metabolic-associated fatty liver disease and lipoprotein metabolism. *Molecular Metabolism*. 2021. Vol. 50. P. 101238.

ДОДАТКИ

Додаток А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Статті у періодичних наукових виданнях,
включених до Переліку наукових фахових видань України**

1. Tomchuk V., **Pototskyi A.**, Gryshchenko V., Veselskyi S., Reshetnik Y. Correction of the content of triacylglycerols and free fatty acids in the bile of rats with experimental fatty hepatitis. Ukrainian Journal of Veterinary Sciences. 2022. Vol. 12. № 3. P. 53–65. (*Tomchuk, V. сформульовано актуальність з наряду дослідження. Pototskyi, A. проведено хроматографічне дослідження вмісту триацилгліцеролів і вільних жирних кислот у жовчі щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, здійснено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено статтю до друку. Gryshchenko, V. проведено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Veselskyi, S. проведено порівняльний аналіз результатів досліджень та визначено відповідні узгодження і відмінності. Reshetnik Y. проведено літературний пошук*).

2. Veselskyi S., **Pototskyi A.**, Tomchuk V., Gryshchenko V., Reshetnik Y. Phospholipid composition of bile and blood in rats after correction of experimental fatty hepatitis. Ukrainian Journal of Veterinary Sciences. 2023. Vol. 14. № 3. P. 25–45. (*Veselskyi, S. проведено порівняльний аналіз результатів досліджень та визначено відповідні узгодження і відмінності з даними інших дослідників. Pototskyi, A. проведено хроматографічне дослідження фосфоліпідного складу жовчі та крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та при застосуванні коригувальної терапії, здійснено інтерпретацію отриманих результатів та підготовлено статтю до друку*).

Tomchuk, V. сформульовано актуальність напрямку дослідження. Gryshchenko, V. проведено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Reshetnik, Y. проведено літературний пошук).

3. Illek J., Veselskyi S., **Pototskyi A.**, Gryshchenko V., Reshetnik Y. Bilirubin derivatives in bile, blood, and liver of rats upon correction of experimental fatty hepatitis. Ukrainian Journal of Veterinary Sciences. 2024. Vol. 15. № 2. P. 46–65. (Ilek, J. сформульовано інноваційність наукового напрямку дослідження. Veselskyi, S. проведено порівняльну оцінку з результатами інших дослідників. Pototskyi, A. проведено хроматографічне дослідження жовчних пігментів у жовчі, крові та в печінці щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та при застосуванні коригувальної терапії, здійснено інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено статтю до друку. Gryshchenko, V. проведено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Reshetnik, Y. проведено літературний пошук).

4. **Pototskyi A.**, Gryshchenko V. Influence of milk phospholipids on microstructural changes in rat liver under tetracycline-induced hepatitis. Scientific Reports of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. 2024. Vol. 20. No. 4. P. 31–41. (Pototskyi, A. проведено гістологічні дослідження мікроструктури печінки в щурів у разі моделювання тетрациклініндукованого гепатозу та за впливу фосфоліпідів молока, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено статтю до друку. Gryshchenko, V. сформульовано актуальність наукового напрямку дослідження, визначено методологію дослідження, здійснено керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки).

5. Gryshchenko V., **Pototskyi A.** Blood lipid profile in rats with tetracycline-induced liver damage. Scientific Reports of the National University of

Life and Environmental Sciences of Ukraine. 2024. Vol. 20. № 5. P. 34–48. (Gryshchenko, V. *сформульовано мету та актуальність наукового дослідження, визначено його методологію, здійснено керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки. Pototskyi, A. проведено хроматографічне дослідження ліпідограми крові щурів за тетрациклінового ураження печінки, здійснено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено статтю до друку*).

Тези наукових доповідей

6. Томчук В. А., **Потоцький А. К.**, Грищенко В. А. Вплив фосфоліпідів молока на вміст холестеролу та його фракцій в жовчі щурів за жирового гепатозу. Глобальні виклики ветеринарної медицини ХХІ століття: Міжнародна наукова конференція, м. Київ, 11 листопада 2021 року: тези доповіді. Київ, 2021. С. 144–145. (Томчуком В.А. *сформульовано мету та актуальність наукового дослідження. Потоцьким А.К. проведено експериментальні дослідження впливу фосфоліпидовмісної біодобавки на вміст холестеролу та його фракційний склад в жовчі щурів за жирового гепатозу, здійснено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. здійснено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки*).

7. **Потоцький А. К.**, Грищенко В. А. Моделювання гепатодистрофії в щурів. Ricerche scientifiche e metodi della loro realizzazione: esperienza mondiale e realta domestiche: II Conferenza scientifica e pratica internazionale, Bologna, Repubblica Italiana, November 11, 2021: abstracts. Bologna, Repubblica Italiana, 2021. P. 106–107. (Потоцьким А.К. *проведено експериментальне моделювання гепатодистрофії в щурів, підготовлено тези до друку*).

Грищенко В.А. сформульовано наукову новизну та актуальність, проведено керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки).

8. Потоцький А. К., Грищенко В. А. Холестерол та його фракції в крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та коригувальний ефект фосфоліпідів молока. Theoretical and science bases of actual tasks: XIV International Scientific and Practical Conference, Lisbon, Portugal, April 11-12, 2022: abstracts. Lisbon, Portugal, 2022. P. 58–60. *(Потоцьким А.К. проведено хроматографічне дослідження холестеролу та його фракцій у крові щурів за тетрациклініндукованого гепатозу та визначено коригувальний ефект фосфоліпідів молока, здійснено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. сформульовано наукову мету та актуальність дослідження, визначено його методологію, проведено керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки).*

9. Потоцький А. К., Грищенко В. А., Томчук В. А. Коригувальна терапія за тетрациклініндукованого гепатозу в щурів. Єдине здоров'я-2022: Міжнародна наукова конференція, м. Київ, 22–24 вересня 2022 року: тези доповіді. Київ, 2022. С. 96–97. *(Потоцьким А.К. застосовано коригувальну терапію за тетрациклініндукованого гепатозу в щурів, проведено аналіз результатів дослідження, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. проведено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Томчуком В.А. сформульовано актуальність напряму наукового дослідження).*

10. Потоцький А. К., Грищенко В. А., Решетнік Є. М. Динаміка вмісту триацилгліцеролів у жовчі щурів за тетрациклініндукованого жирового гепатозу. Theoretical and empirical scientific research: concept and trends: IV International Scientific and Practical Conference, Oxford, October 14, 2022: abstracts. Oxford, 2022. P. 57–58. *(Потоцьким А.К. досліджено динаміку вмісту триацилгліцеролів у жовчі щурів за тетрациклініндукованого*

жирового гепатозу, здійснено аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. здійснено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Решетнік Є.М. сформульовано наукову новизну та актуальність).

11. **Pototskyi A. K.**, Gryshchenko V. A., Reshetnik Y. M. Free fatty acids in the bile of rats with experimental fatty hepatitis. The modern vector of the development of science: III International Scientific and Practical Conference, Philadelphia, USA, March 02–03, 2023: abstracts. Philadelphia, USA, 2023. P. 5–9. (*Pototskyi A. K. проведено хроматографічне дослідження вмісту вільних жирних кислот в жовчі щурів у стані експериментального жирового гепатозу, аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку. Gryshchenko V. A. проведено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Reshetnik Y. M. сформульовано актуальність дослідження*).

12. **Потоцький А. К.**, Грищенко В. А., Томчук В. А. Порівняльна оцінка токсичної дії різних груп препаратів на метаболічну активність печінки. Продовольча та екологічна безпека в умовах війни та повоєнної відбудови: виклики для України та світу: Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 25 травня 2023 року: тези доповіді. Київ, 2023. С. 117–120. (*Потоцьким А. К. проведено порівняльну оцінку токсичної дії різних груп препаратів на метаболічну активність печінки, аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. здійснено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Томчуком В.А. підготовлено огляд літератури та визначено актуальність дослідження*).

13. **Потоцький А. К.**, Грищенко В. А., Борисевич Б. В. Мікроструктурні зміни у печінці щурів за експериментального

тетрациклінового гепатозу. Єдине здоров'я-2024: Міжнародна наукова конференція, м. Київ, 19–20 вересня 2024 року: тези доповіді. Київ, 2024. С. 50–52. *(Потоцьким А. К. проведено дослідження мікроструктурних змін у печінці щурів за експериментального тетрациклінового гепатозу та їх аналіз, підготовлено тези до друку. Грищенко В.А. здійснено керівництво з написання рукопису, підготовлено висновки. Борисевичем Б. В. здійснено опис мікроструктурних змін у паренхімі печінки).*

14. Грищенко В. А., **Потоцький А. К.** Ліпідний спектр крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу. Науковий простір: актуальні питання, досягнення та інновації: VIII Міжнародна наукова конференція, м. Житомир, 29 листопада 2024 року: тези доповіді. Житомир, 2024. С. 283–285. *(Грищенко В.А. сформульовано мету та актуальність наряду дослідження, здійснено керівництво з написання рукопису, визначено методологію дослідження, підготовлено висновки. Потоцьким А. К. проведено хроматографічне дослідження ліпідного спектра крові в щурів за тетрациклініндукованого гепатозу, аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

Науково-практичні рекомендації

15. Томчук В. А., Грищенко В. А., **Потоцький А. К.** Коригувальна терапія за токсичного впливу на організм антимікробних і нестероїдних протизапальних препаратів. Київ, 2022. 23 с. *(Томчуком В. А. підготовлено огляд літератури з досліджуваного питання. Грищенко В. А. представлено аналіз результатів за токсичного впливу на печінку натрію диклофенаку. Потоцьким А. К. описано і проаналізовано отримані результати щодо ефективності коригувальної терапії за токсичного впливу на організм тетрацикліну гідрохлориду).*

16. Томчук В. А., Грищенко В. А., **Потоцький А. К.** Коригування змін у метаболізмі ліпідів і жовчних пігментів за медикаментозної форми гепатопатології. Київ, 2024. 23 с. *(Томчуком В. А. підготовлено огляд літератури з досліджуваного питання. Грищенко В. А. здійснено аналіз результатів за токсичного впливу на печінку тетрацикліну гідрохлориду. Потоцьким А. К. описано результати дослідження коригувальної ефективності фосфоліпидовмісної біодобавки у метаболізмі ліпідів і жовчних пігментів за тетрациклініндукованої гепатопатології).*

Проведення досліду



Рис. Б.1 Формування дослідних груп із лабораторних щурів



Рис. Б.2 Годівля піддослідних щурів



Рис. Б.3 Зважування і маркування підслідних щурів



Рис. Б.4 Зафіксований матеріал печінки після промивання

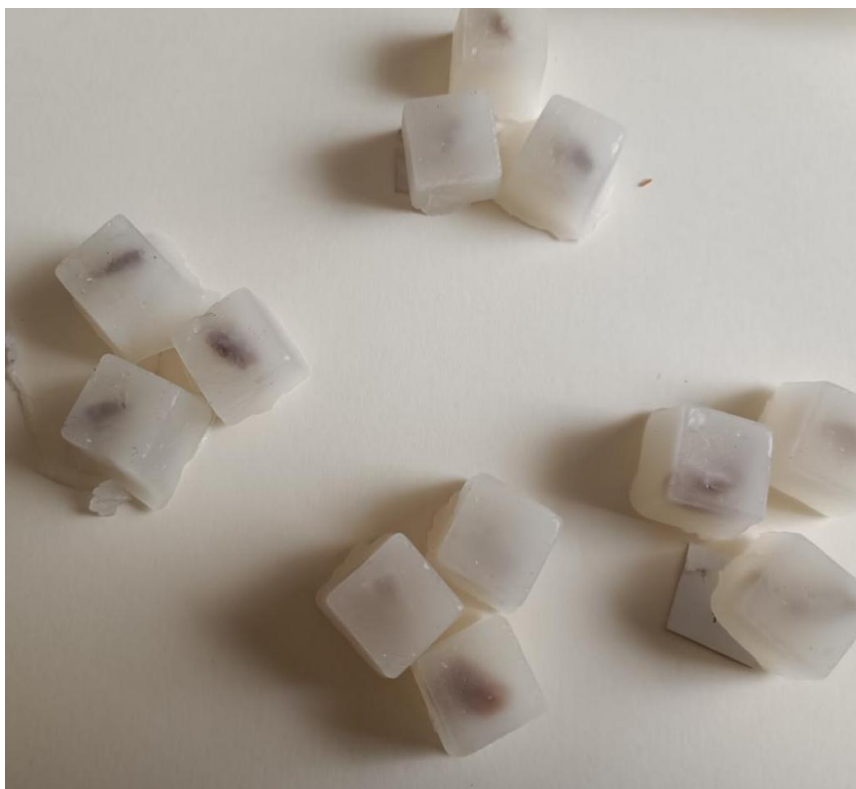


Рис. Б.5 Залиті шматочки печінки у парафін

Додаток В

Види досліджень та їх результати, підготовка проб біоматеріал

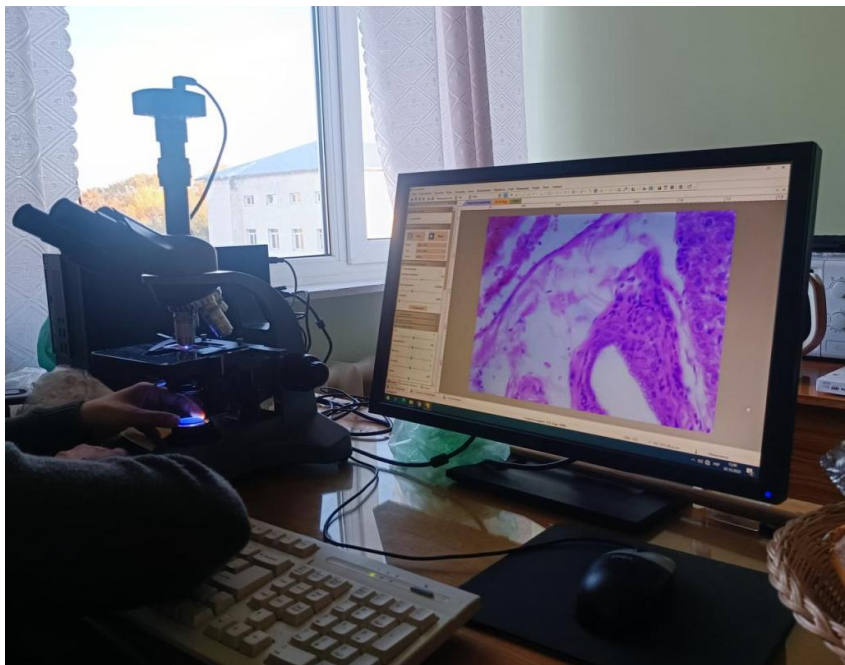


Рис. В.1 Дослідження мікроструктурних змін за допомогою світлового мікроскопа моделі MC 100 LED

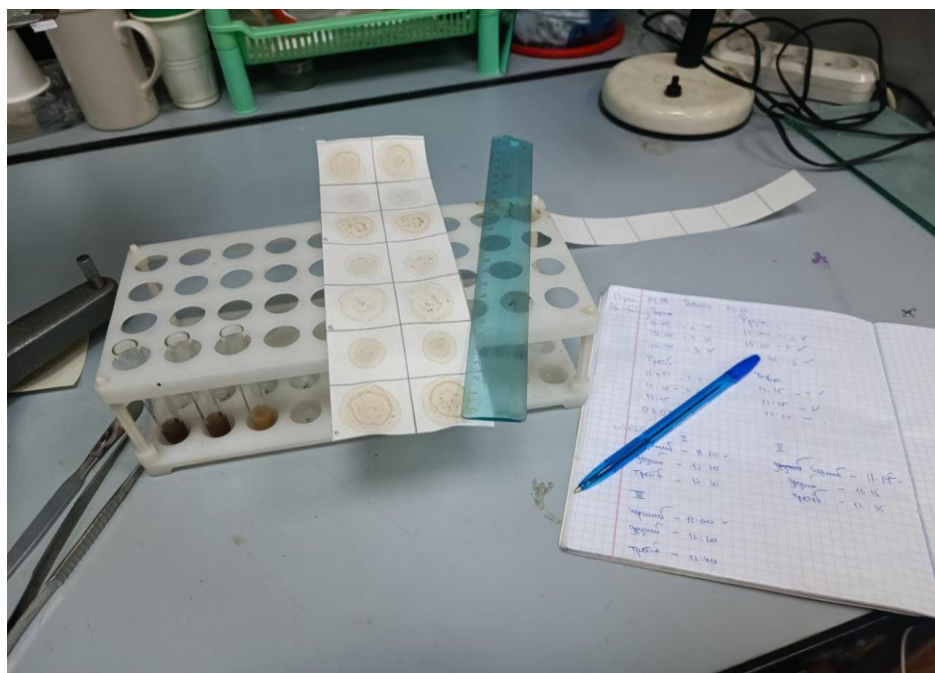


Рис. В.2 Нанесення біорідин на фільтрувальний папір



Рис. В.3 Подрібнений фільтрувальний папір з нанесеними зразками біорідин, який перенесено до пробірок

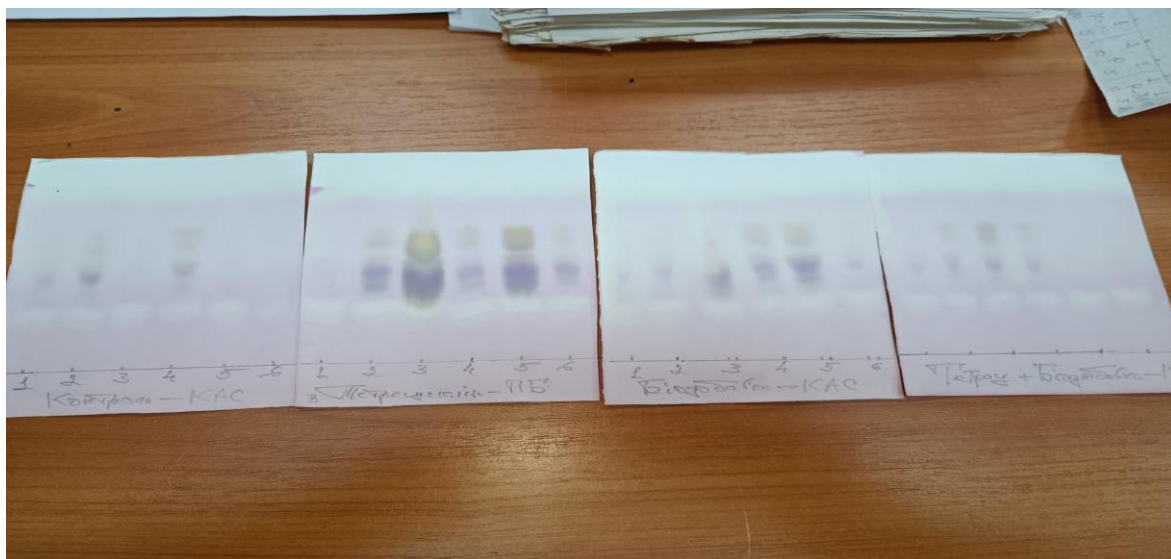


Рис. В.4 Готові хроматографічні пластини з спектром фосфоліпідів

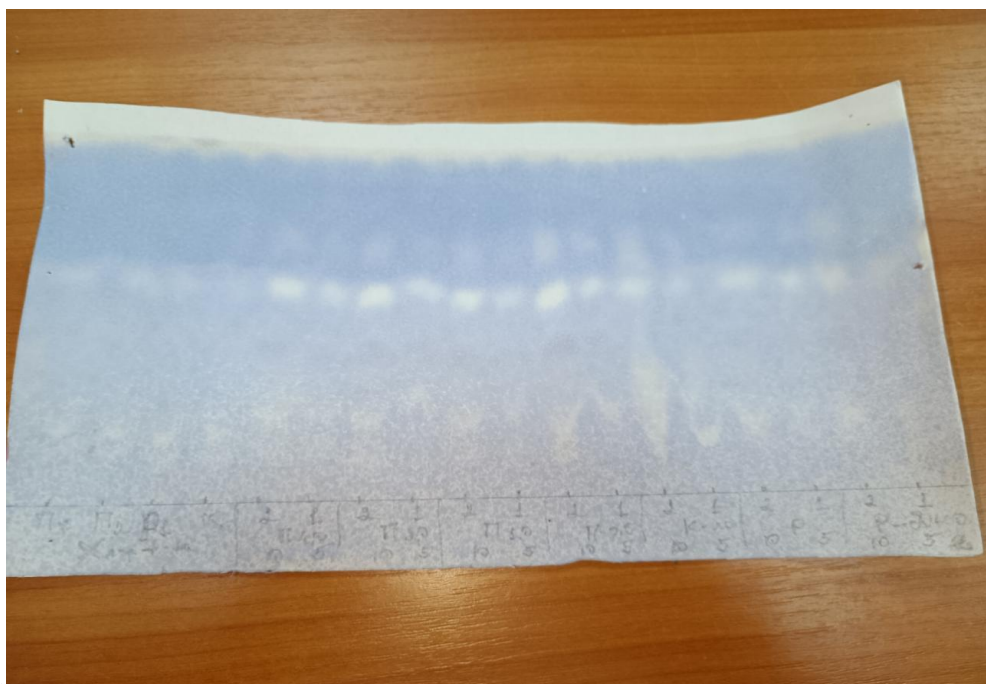


Рис. В.5 Готова хроматографічна пластина з спектром ліпідів

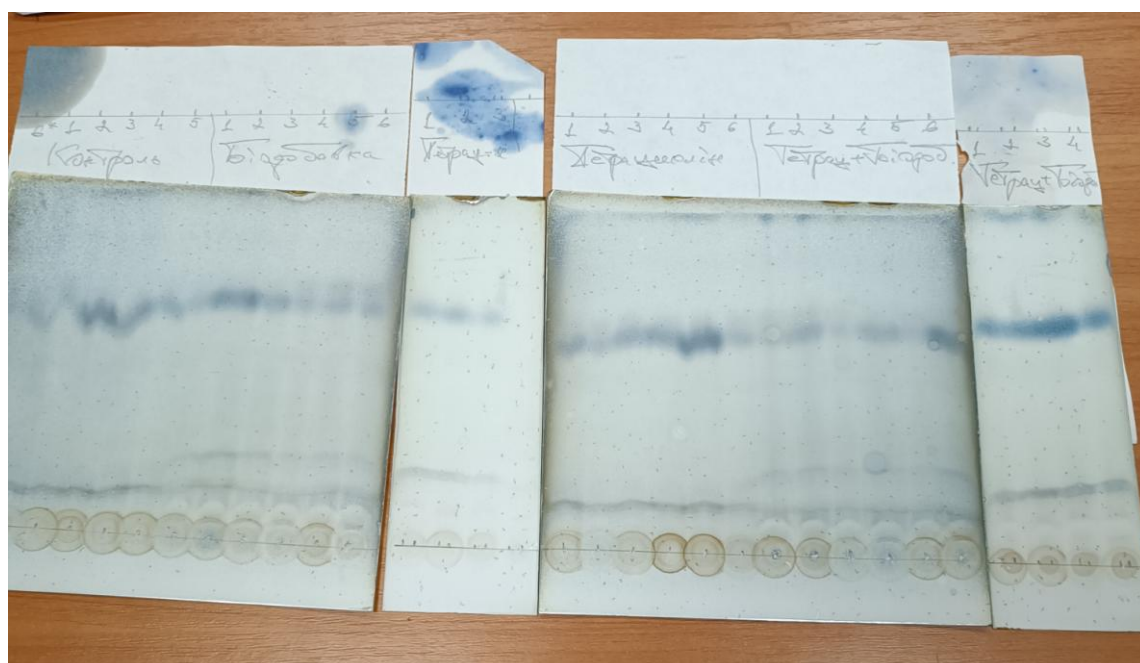


Рис. В.6 Готові хроматографічні пластини з розділенням жовчних пігментів

	Mean	Mean	t-value	df	p	t separ.	df	p	Valid N	Valid N	Std.Dev.	Std.Dev.	F-ratio	p	Levene	df	p
	Group 1	Group 2				var. est.		2-sided	Group 1	Group 2	Group 1	Group 2	Variances	Variances	F(1,df)	Levene	Levene
фосфатидна кислот	43,10000	55,56667	-3,38901	10	0,006897	-3,38901	9,987837	0,006909	6	6	6,481666	6,259286	1,072318	0,940793	0,000039	10	0,995128
фосфатидилінозитол	115,5833	132,0667	-1,54560	10	0,153235	-1,54560	9,920324	0,153479	6	6	17,62458	19,28167	1,196883	0,848468	0,025800	10	0,875588
фосфатидилсерин	221,4667	268,4167	-2,45805	10	0,033789	-2,45805	9,644209	0,034610	6	6	29,73669	36,12082	1,475469	0,679909	0,017308	10	0,897942
сфінгомелін	543,9167	652,6500	-2,31979	10	0,042788	-2,31979	9,410405	0,044314	6	6	70,29380	90,77860	1,667758	0,588252	0,086130	10	0,775157
фосфатидилхолін	763,9833	916,2167	-2,36660	10	0,039506	-2,36660	9,466905	0,040839	6	6	97,29751	123,9353	1,622507	0,608283	0,060461	10	0,810742
лізофосфатидилхолін	67,13333	74,63333	-1,27921	10	0,229709	-1,27921	8,455764	0,234810	6	6	7,684703	12,13238	2,492515	0,338903	1,211227	10	0,296875
фосфатидилетаноламін	330,0667	392,5000	-2,18205	10	0,054057	-2,18205	9,743274	0,054749	6	6	45,35754	53,42876	1,387558	0,728046	0,008151	10	0,929846

Рис. В.7 Обробка статистичних даних та їх аналіз

Документи

ПОГОДЖУЮ Проректор з наукової роботи та інноваційної діяльності Національного університету біоресурсів і природокористування України, доктор сільськогосподарських наук, професор <i>Оксана ТОНХА</i> Оксана ТОНХА 2025 р.	ЗАТВЕРДЖУЮ Директор клініки ветеринарної медицини «WSW clinic» м. Київ, Голосіївський проспект 105 Б, Україна, кандидат біологічних наук <i>Сергій ВЕЛИЧКО</i> (підпис) Сергій ВЕЛИЧКО 2025 р. М. П.
---	---

А К Т

**про впровадження у виробництво
результатів дисертації на здобуття ступеня доктора філософії**

Цим актом стверджується, що результати дисертації на тему: «Жовчні пігменти, ліпідний і фосфоліпідний склад крові та жовчі щурів за тетрацикліндукованого гепатозу»,
(назва теми)

яку представлено на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань «Ветеринарія» та спеціальності 211 «Ветеринарна медицина», виконаної Потоцьким Андрієм Костянтиновичем
(ПІБ здобувача)

впроваджено у ФОП Величко Сергій Володимирович,
(назва підприємства, де здійснювалось впровадження)

- Вид впроваджуваних результатів: науково-практичні рекомендації з реалізації у клінічній ветеринарній практиці ендоекологічної технології відновлювальної терапії з використанням вітчизняного фосфоліпідовмісного препарату та нових біохімічних маркерів в оцінці функціонального стану гепато-біліарної системи, що сприятиме ефективній діагностиці гепатопатій, збереженню здоров'я та добробуту тварин
(методика, рекомендації, пропозиції, модель, експериментальні дані тощо)
- Новизна отриманих результатів стосується численних питань патогенезу хвороб печінки в тварин, які нині є досить поширеними і часто виникають у разі некоректного застосування синтетичних препаратів, зокрема, антибіотиків тетрациклінової групи.
(патенти, авторські свідоцтва тощо)
- Значущість отриманих результатів: Економічний ефект: розроблені науково-практичні рекомендації призначені для використання в аграрному секторі, зокрема у ветеринарії. В умовах виробництва у випадку дії на організм експатогенних чинників доквізля, численних ксенобіотиків та розвитку важкої патології різної етіології, виникає необхідність у застосуванні терапевтичних засобів з репаративним ефектом дії на клітинні мембрани. У клінічній медицині задля цього використовується досить вартісний імпортований препарат (ессенціалє® форте Н). За результатами наукового дослідження доведено високу ефективність ендоекологічної технології відновлювальної терапії з використанням вітчизняного фосфоліпідовмісного препарату, який є дешевшим і ефективнішим за імпортований аналог. Науково-технічний ефект: впровадження у клінічну ветеринарію засобів репаративної (клітинної) терапії для лікування тварин, хворих на гепатопатологію та за токсикозів, викликаних ксенобіотиками (хімічними препаратами) сприятиме зменшенню чисельності летальних випадків, забезпечить профілактику виникнення

Рис. Г.1 Акт про впровадження результатів дисертації на здобуття ступеня доктора філософії у виробництво

ускладнені у період їх реабілітації.

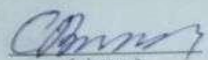
Соціальний ефект: реалізація основних положень розроблених науково-практичних рекомендацій щодо впровадження у виробництво ендоекологічної технології відновлювальної терапії сприяє зменшенню негативного впливу ксенобіотиків на організм ссавців, зниженню їх захворюваності на тяжку форму перебігу гепатопатологій, посиленню ефективності профілактичних заходів щодо розвитку їх ускладнень і рецидивів виникнення та підвищенню ефективності реабілітаційних заходів.

4. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами НДТ «Використання ендоекологічної технології відновлювальної терапії за токсичної дії ксенобіотиків на організм тварин та розвитку патологій», № держреєстрації 0123U101946.
(назва, № державної реєстрації)

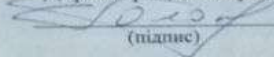
Начальник науково-дослідної
частини НУБіП України


(підпис) (Володимир ОТЧЕНАШКО)
«__» ____ р.

Керівник підрозділу, де
безпосередньо впроваджені
результати дисертації


(підпис) (Сергій ВЕЛИЧКО)
«__» ____ р.

Директор НДІ Здоров'я тварин


(підпис) (Сергій ГОЛОПУРА)
«__» ____ р.

Здобувач

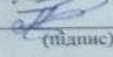
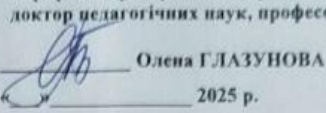

(підпис) (Андрій ПОТОЦЬКИЙ)
«__» ____ р.

Рис. Г.1 Продовження документа «Акт про впровадження результатів дисертації на здобуття ступеня доктора філософії у виробництво»

ЗАТВЕРДЖУЮ Проректор з наукової роботи та інноваційної діяльності Національного університету біоресурсів і природокористування України доктор сільськогосподарських наук, професор  «___» _____ 2025 р.	ПОГОДЖЕНО Проректор з науково-педагогічної роботи та цифрової трансформації Національного університету біоресурсів і природокористування України доктор педагогічних наук, професор  «___» _____ 2025 р.
--	--

А К Т

Про впровадження/використання результатів дисертації на здобуття ступеня доктора філософії у навчальний процес

Цим актом стверджується, що результати дисертації на тему: «Жовчні пігменти, ліпідний і фосфоліпідний склад крові та жовчі щурів за тетрациклінуіндукованого гепатозу»,
 (назва теми)

яку представлено на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань «Ветеринарія» та спеціальності 211 «Ветеринарна медицина», виконаної **Потоцьким Андрієм Костянтиновичем**,
 (ПІБ здобувача)

впроваджено у навчальну програму під час викладання дисципліни «Ветеринарна біохімія»
 (назва дисципліни(и))
 на кафедрі біохімії ім. акад М.Ф. Гулого
 (назва кафедри)

у процесі підготовки фахівців ОПР «Незаразна патологія тварин» за напрямом «Ветеринарія» зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина»
 (назва спеціальності)
 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України.
 (назва ЗВО)

У робочу програму з дисципліни «Ветеринарна біохімія» внесено дані про результати клініко-біохімічних досліджень особливостей змін у метаболізмі ліпідів і жовчних пігментів за розвитку в тварин експериментальної гепатопатології медикаментозної форми, що стосувалися визначення відповідних маркерних показників у крові, жовчі та печінці, мікроструктурних порушень в її паренхімі на тлі застосування в токсичних дозах антибіотика тетрацикліну гідрохлориду, а також коригувального ефекту впливу фосфоліпідів молока у вигляді біодобавки «FLP-MD» у відношенні показників ліпідного, фосфоліпідного та жовчнопігментного спектрів і взаємопов'язаних молекулярних процесів.

(конкретизувати, які результати дисертації і в який спосіб використано)

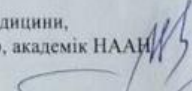
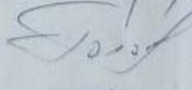
Декан факультету ветеринарної медицини, доктор біологічних наук, професор, академік НААН Директор НДІ здоров'я тварин доктор ветеринарних наук, доцент Завідувач кафедри доктор ветеринарних наук, професор	 Микола ЦВІЛІХОВСЬКИЙ  Сергій ГОЛОПУРА  Віктор ТОМЧУК
--	--

Рис. Г.2 Акт про провадження результатів дисертації на здобуття ступеня доктор філософії у навчальний процес

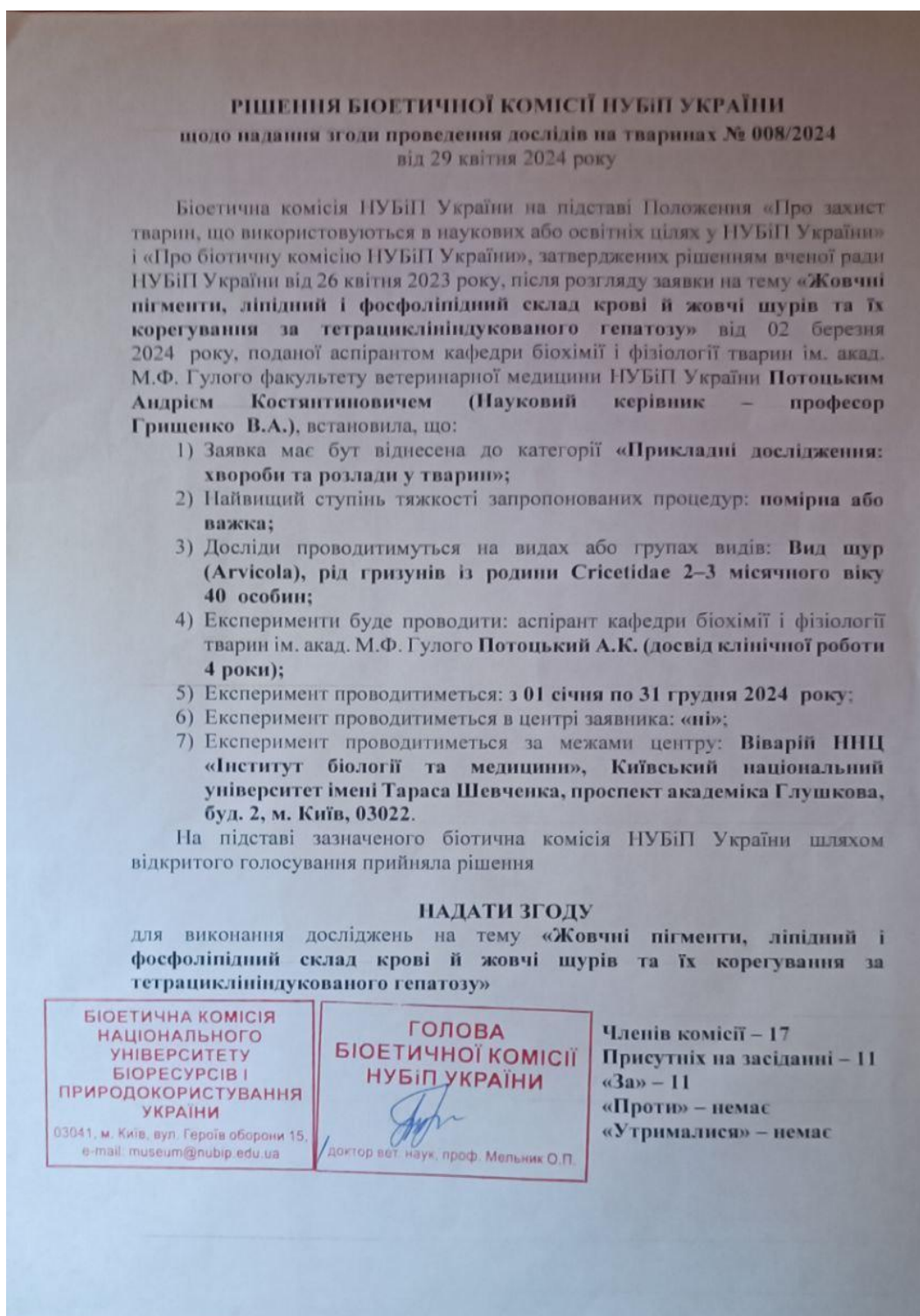


Рис. Г.3 Рішення Біоетичної комісії НУБІП України