

**В. А. Томчук, В. А. Грищенко,  
В. І. Цвіліховський**

**МЕТАБОЛІЧНІ ТА СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В  
ОРГАНІЗМІ ТВАРИН ЗА ДІЇ КСЕНОБІОТИКІВ І  
ПАТОЛОГІЇ**

**Київ-2018**

УДК 636.09:616-008.9

ББК 48:52.5

Т 56

**Автори:**

**Томчук В. А.**, доктор ветеринарних наук, професор, академік Академії наук вищої освіти України

**Грищенко В. А.**, доктор ветеринарних наук, професор

**Цвіліховський В. І.**, кандидат біологічних наук, доцент

Рецензенти:

**О. І. Віщур**, доктор ветеринарних наук, професор (Інститут біології тварин НААН)

**С. П. Весельський**, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник (Київський національний університет імені Тараса Шевченка)

**С. А. Ткачук**, доктор ветеринарних наук, професор, академік академії наук вищої освіти України (Національний університет біоресурсів і природокористування України)

*Рекомендована до друку Вченою радою Національного університету біоресурсів і природокористування України*

(протокол № 4 від 28 листопада 2018 р.)

**Томчук В. А.**

Т 56 Метаболічні та структурні зміни в організмі тварин за дії ксенобіотиків і патології: монографія / В. А. Томчук, В. А. Грищенко, В. І. Цвіліховський – К.: НУБіП України, 2018. – 160 с.

**ISBN 978-966-929-310-7**

У монографії представлено результати досліджень порушень метаболізму та його регуляції, взаємозв'язок цих процесів із деструкцією клітинних мембран за умов дії на організм екопатогенних чинників (ксенобіотиків – представники групи мікотоксинів і лікувальних препаратів) та розвитку хвороб тварин (гепато- та ентеропатології).

Для фахівців у галузі клінічної біохімії, фізіології і патофізіології, практичних лікарів ветеринарної медицини, а також для магістрантів, аспірантів і докторантів, науковців НДІ, науково-педагогічних працівників вищих навчальних закладів ветеринарного та біологічного профілю.

**ISBN 978-966-929-310-7**

**УДК 577.115+619:616.3:636.2**

**ББК 28.072**

© **В. А. Томчук,**

**В. А. Грищенко,**

**В. І. Цвіліховський, 2018**

© **НУБіП України, 2018**

## ВСТУП

Визначення особливостей молекулярних механізмів регуляції клітинного метаболізму за дії екзогенних чинників і розвитку патологій тварин є фундаментальною проблемою сучасної науки. Клітини здатні змінювати свій метаболізм у відповідь на сигнали із зовнішнього та внутрішньоклітинного середовищ. Молекулярні порушення функціонування каскаду передачі сигналу можуть проявлятися на різних етапах та реалізовуватись як шляхом структурної дезорганізації молекул рецептора чи мішені, так і через конформаційні зміни оточуючих їх білкових чи ліпідних молекул, які створюють оптимальне мембранне оточення, що призводить до функціональних розладів регуляторних систем клітини. Модифікація ліпідного бішару мембран за дії екзогенних чинників відіграє важливу роль у функціонуванні клітин організму [1].

Визнано важливу роль структурно-функціональної дестабілізації клітинних мембран внаслідок дефіциту фосфоліпідів, пероксидного окиснення ліпідів та їх гідролізу у патогенезі запальних, дистрофічних і дегенеративних процесів [2–4].

У результаті комплексного проведення молекулярно-біологічних, біохімічних і фізико-хімічних досліджень, нами встановлено низку закономірностей щодо змін метаболізму (мінерального, вуглеводного, ліпідного і білкового обміну, активності ензимів), про-антиоксидантної рівноваги і резистентного стану організму тварин (лабораторні щури, перепела, новонароджені телята), що узгоджуються зі змінами фосфоліпідного складу внутрішніх органів, які зазнають прямого чи опосередкованого ураження ксенобіотиками, за впливу спонтанної ентеропатології, та проявляються посиленням фосфоліпідного гідролізу, структурно-динамічною дезорганізацією мембранних систем функціональних клітин із одночасною індукцією пероксидних процесів і репресією факторів антиоксидантного захисту та пригніченням резистентного стану. Зокрема, при моделюванні в лабораторних

щурів диклофенак-індукованого гепатиту отримано нові дані щодо особливостей деструктивних змін плазматичної та мітохондріальної мембран ентероцитів і гепатоцитів, а саме: модифікацію поверхневої структури мембран, зміну динамічних властивостей мембранних компонентів (переміщення білкових молекул), їхньої топографії та порушення гідروفобних білок-ліпідних взаємодій, конформаційні зміни білкових молекул і зростання їхньої структурної жорсткості. Водночас у хворих на ентеропатологію новонароджених телят підвищується проникність мембран еритроцитів на 30 % та знижується їх осмотична й кислотна резистентність на 26 і 56 % відповідно.

Визначено доцільність застосування у прикладній ветеринарії репаративної терапії, яка орієнтована на особливості встановлених порушень з урахуванням природного потенціалу і фізіологічної здатності клітин до самовідновлення утрачених функцій, передусім пошкоджених внутрішньоклітинних структур – мембранних систем. Такий підхід поряд з традиційною терапією у лікувальній справі сприятиме зменшенню економічних збитків від загибелі продуктивних тварин, виникненню рецидивів та ускладнень відповідних патологій, а також вирішенню проблем екологічної та харчової безпеки тваринницької продукції.

Автори висловлюють щире вдячність за методичну і консультативну допомогу співробітникам кафедри біохімії і фізіології тварин ім. акад. М. Ф. Гулого, Української лабораторії якості і безпеки продукції АПК Національного університету біоресурсів і природокористування України, а також рецензентам цієї монографії.

**З повагою,**

**авторський колектив**

## ПЕРЕДМОВА

Актуальною проблемою теоретичної та практичної біології та ветеринарії залишається дослідження адаптації тварин до екстремальних чинників довкілля. У пристосуванні живих систем до екстремальних умов навколишнього середовища важливу роль відіграє структурно-функціональна модифікація клітинних мембран. Ліпідний склад біологічних мембран забезпечує збереження ультраструктури, вибірккову проникність, регуляцію ензиматичної активності, стабільність мембран, транспорт іонів та молекул. Порушення регуляції активності мембранозв'язаних ензимів та сигнальних протеїнів, можуть бути обумовлені модифікацією характеру молекулярних взаємодій молекул протеїнів та аннулярних ліпідів, а зміни структурної впорядкованості ліпідної компоненти впливають на організацію функціонально-активної конформації протеїнових молекул в мембрані [5, 6].

Представлені у монографії результати наукових досліджень висвітлюють встановлені особливості метаболізму та структурно-функціонального стану клітинних мембран внутрішніх органів тварин за дії на організм екзогенних чинників і розвитку патологій, що здійснювалося у розрізі пріоритетного тематичного напрямку наукових досліджень і науково-технічних розробок: «Фундаментальні проблеми наук про життя та розвиток біотехнологій» згідно науково-дослідної теми за № 110/94-ф. «Вивчення молекулярних механізмів регуляції метаболічних процесів та продуктивних функцій організму тварин».

# **1 ЗМІНИ МЕТАБОЛІЗМУ, ПРО-АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ ТА РЕЗИСТЕНТНОГО СТАНУ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ ЗА ДИКЛОФЕНАК-ІНДУКОВАНОГО ГЕПАТИТУ**

Все більшої актуальності у виникненні патології найбільшої травної залози організму набувають лікувальні препарати хімічного походження [7, 8].

В експеримент залучали білих лабораторних щурів (самців), яких підбирали за принципом аналогів [9], з масою тіла 200–220 г. Сформовано дві групи щурів (дослідну і контрольну) по дванадцять тварин у кожній. Для цього їх окремо поміщали у клітки. До початку експерименту щурів витримували на карантині з клінічним обстеженням протягом двох тижнів. Тварин утримували на збалансованому раціоні, що містив усі необхідні біологічно активні та поживні речовини. Вони мали вільний доступ до корму і питної води. Проводили моніторинг зміни маси тіла та спожитого корму дослідними тваринами. Тривалість експерименту становила 14 діб.

Моделювання токсичного гепатиту в лабораторних щурів здійснювали за авторською розробкою шляхом перорального введення натрію диклофенаку (нестероїдний протизапальний препарат, НПЗП) у дозі 12,5 мг/кг маси тіла тварини, на протязі 14 діб [10], відповідно до чинних критеріїв стандартизації та якості проведення біологічних експериментів і принципів біомоделювання. У контрольній групі знаходились інтактні тварини.

Для отримання плазми, кров у щурів відбирали з черевного відділу аорти в пробірки з гепарином, потім центрифугували при 1500 об/хв упродовж 15–20 хв. Далі проводили дослідження біохімічних показників плазми крові (вміст загального протеїну, альбуміну, загального та кон'югованого білірубіну, глюкози, креатиніну, сечовини, триацилгліцеролів, холестеролу, величину тимолової проби, активність аспартат-амінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ), лужної фосфатази (ЛФ),  $\gamma$ -глутамілтранспептидази ( $\gamma$ -ГТП),  $\alpha$ -амілази та ліпази, а також її

макроелементний склад: концентрацію Натрію, Калію, Фосфору, Кальцію, Магнію, Хлору на біохімічному аналізаторі «BioSystem A15» (Іспанія) у відповідності з рекомендаціями панелі експертів Міжнародної Федерації Клінічної Хімії (IFCC). Для виконання зазначених досліджень використовували реактиви фірми «BioSystems» (Іспанія).

На наступному етапі проводили дослідження фізичних (гематокриту, швидкості осідання еритроцитів, ШОЕ) і морфологічних (кількості еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, лейкограму) показників, які обчислювалися і вимірювалися за методом Каултера на ветеринарному гематологічному аналізаторі «Mindray BC 2800 Vet» (Китай). Вміст гемоглобіну в крові визначали на біохімічному аналізаторі «BioSystem A15» (Іспанія) за загальноприйнятими методами із використанням реактивів цієї ж фірми.

### **1.1 Біохімічний профіль плазми крові щурів за диклофенак-індукованого гепатиту**

У печінці – як найбільшій травній залозі організму сконцентровані найважливіші фізіолого-біохімічні процеси, необхідні для підтримання гомеостазу організму [11, 12]. В останні роки відмічається різке зростання числа медикаментозних уражень печінки [13, 14]. Відомо, що до 40 % всіх випадків діагностованого гепатиту обумовлено лікарськими препаратами [15, 16]. Більша частина не визначених за етіологією гепатитів і цирозів печінки також викликана застосуванням медикаментів. Важливе значення для розвитку медикаментозного ураження печінки мають власне гепатопатології: стеатоз, печінкова недостатність або холестаза, що сприяють кумуляції лікарських препаратів та їх метаболітів у гепатоцитах, тяжкі захворювання серцево-судинної, респіраторної, ендокринної систем і нирок, які супроводжуються вираженими порушеннями функціонального стану уражених органів [17, 18]. Одним із перших проявів її токсичного ураження є розвиток запальної реакції і

жирова дистрофія різного ступеня вираженості [19]. Серед лікарських препаратів, що викликають гепатопатологію, слід відзначити антибіотики, НПЗП, сульфаніламідні засоби, гормональні та інші, які продовжують широко застосовуватися у терапії, деякі з них приймаються роками. Медикаментозні гепатити супроводжуються відповідними синдромами, що спостерігаються при ураженнях печінки: інфільтрацією, дистрофією, холестазом, некрозом [20]. Їх вираженість залежить від дози ліків, але це буває далеко не завжди. Частіше ураження печінки виникає на тлі лікування декількома гепатотоксичними препаратами або при повторних курсах терапії та залежить від тривалості їх прийому [21–23].

При гострих і хронічних гепатитах, отруєнні гепатотоксичними речовинами відмічається різке зниження біоенергетичного потенціалу хімічних перетворень у гепатоцитах, прогресує індукція вільних радикалів, підвищується інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів і активність мембранних фосфоліпаз [24–26]. Це порушує проникність усіх субклітинних структур, знижує електричну міцність мембран, що призводить до деструкції гепатоцитів [27]. За таких обставин сповільнюються процеси переамінування та дезамінування амінокислот, погіршується їх використання у синтезі білка, складних білкових комплексів та біологічно активних речовин. Зазначене негативно позначається на здатності гепатоцитів синтезувати альбумін, фактори згортання крові. Поряд із цим, порушується екскреція кон'югованого білірубіну, естерифікація холестеролу (ХС) і глюкуронізація багатьох сполук. Водночас це спричинює порушення детоксикаційної функції печінки [28].

Розвиток токсичного гепатиту в тварин викликає зміни в інтенсивності та спрямуванні біохімічних процесів, які безпосередньо пов'язані з обміном мінеральних речовин і корелюють з функціональним станом печінки [29]. Це свідчить про глибокі порушення метаболізму на клітинному рівні та суттєві розлади структурно-функціонального стану клітинних мембран. Дезорганізація в структурі гепатоцитів та ендотеліоцитів жовчовивідних шляхів, що задіяні у



патологічний процес, негативно позначається на обміні макроелементів, що відображається на інтенсивності стабілізації електролітного і кислотно-основного балансу в організмі тварин, хворих на токсичний гепатит [30].

Так, у сухому залишку жовчі міститься Кальцій, Натрій, Калій, аніони гідрокарбонату, фосфату, хлору. В свою чергу жовч сприяє всмоктуванню поряд із амінокислотами, ХС, жиророзчинних вітамінів і солей Кальцію, що підтверджує регуляторну роль гепатобіліарної системи в обміні мінеральних елементів [31, 32]. Очевидно, що розвиток запальної реакції та холестазу, характерні для токсичної форми гепатиту, будуть відповідним чином відображатися на обміні мінеральних речовин в організмі хворих тварин.

Серед макроелементів особливе місце посідають Кальцій, Фосфор, Магній, Калій і Натрій, оскільки вони беруть участь у багатьох ланках метаболізму в клітинах і впливають на проникність їх мембран, задіяні в енергетичних процесах на рівні мітохондрій та в генерації потенціалу дії у м'язових і нервових клітинах, сприяють вивільненню та фізіологічній дії багатьох медіаторів і гормонів, забезпечують передачу збудження вздовж нервовом'язового волокна та підтримують кислотно-основний гомеостаз організму [33, 34].

Комплексне проведення біохімічних досліджень сприяє визначенню особливостей молекулярних механізмів патогенезу гепатопатології, які тісно пов'язані з розвитком запальних, дистрофічних і дегенеративних змін у паренхімі печінки та характеризують виникнення ускладнень, що вкрай важливо діагностувати на ранніх стадіях розвитку патології. Так, за змінами біохімічних показників крові можна визначати порушення синтетичної та видільної функцій печінки, наявність і ступінь розвитку цитолізу і холестазу [35, 36] тощо. Тому важливо було дослідити особливості біохімічних показників плазми крові та її макроелементного складу, що характеризують метаболічну і функціональну активність печінки, за експериментального токсичного гепатиту на тлі введення натрію диклофенаку.

Результати проведених біохімічних, у тому числі ензиматичних, досліджень плазми крові за експериментального токсичного гепатиту щурів представлено у табл. 1, 2.

Як видно з результатів, наведених у табл. 1, зниження у плазмі крові тварин дослідної групи рівня загального протеїну (на 17 %) на тлі зменшення вмісту альбумінів (на 11 %) підтверджує порушення протеїнсинтезувальної функції печінки та розвиток запальної реакції, що, як відомо [36], характерно для цитолітичного синдрому при ураженні гепатоцитів.

**Таблиця 1. Біохімічні показники плазми крові щурів в експериментальних умовах ( $M \pm m$ ,  $n = 12$ )**

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Загальний протеїн, г/л	72,91±3,10	60,30±3,23*
Альбумін, г/л	41,3±1,6	36,8±0,7*
Загальний білірубін, мкмоль/л	2,9±0,2	60,5±3,0*
Кон'югований білірубін, мкмоль/л	1,43±0,24	25,33± 0,81*
Глюкоза, ммоль/л	6,40±0,03	6,05±0,05*
Креатинін, мкмоль/л	68,67±4,07	55,77±5,83
Сечовина, ммоль/л	6,3±0,4	5,9±0,2
Тимолова проба, S-N	0,66±0,11	1,83±0,06*
Триацилгліцероли, ммоль/л	1,69±0,27	0,79±0,15*
Холестерол, ммоль/л	3,13±0,20	1,43±0,04*

П р и м і т к а. Результати достовірні відносно щурів контрольної групи:

\* –  $p < 0,05$ .

У відповідь на гіпоальбумінемію в плазмі крові хворих тварин відмічається компенсаторне підвищення вмісту протеїнів  $\gamma$ -глобулінової фракції, що підтверджується позитивними результатами тимолової проби

(збільшення ступеня каламутності у 2,8 раза). Крім того, як описано нами раніше [36], при токсичному гепатиті також значно пригнічується синтез факторів згортання крові. При цьому не зазнають кількісних змін показники залишкового азоту: креатинін і сечовина, що виключає на етапі їх дослідження наявність нефропатії. Важливо, що у таких хворих зберігається здатність гепатоцитів синтезувати сечовину в орнітиновому циклі, хоча помітна тенденція до зменшення її концентрації у плазмі крові.

Водночас зниження у плазмі крові щурів дослідної групи вмісту глюкози (на 6 %) порівняно з контролем пояснюється кисневим голодуванням гепатоцитів внаслідок їх набрякання й порушення мікроциркуляції, наступною деструкцією з ушкодженням мітохондрій і зниженням інтенсивності процесів окисного фосфорилювання. В свою чергу, енергодефіцит, який при цьому розвивається, є однією з причин пригнічення синтезувальної функції печінки.

Для щурів, хворих на токсичний гепатит, характерне явище гіполіпідемії і гіпохолестеролемії, що відповідно супроводжується зменшенням у плазмі крові вмісту триацилгліцеролів (ТАГ) – на 56 % і ХС – на 54 %. Розвиток у тварин дослідної групи гіполіпідемії підтверджує наявність деструктивних змін паренхіми печінки і порушення обміну ліпідів.

У плазмі крові хворих тварин має місце суттєве підвищення вмісту загального білірубину (в 21 рази) за рахунок кон'югованої фракції (у 18 разів), що вказує на порушення пігментної та жовчовидільної функцій гепатоцитів.

Результати досліджень, які наведені в табл. 2, свідчать про підвищення у плазмі крові хворих щурів активності відносноспецифічних для печінки ензимів. Так, зростає активність АлАТ, АсАТ і ЛФ, відповідно на 28 %, 45 і 30 %, а також підвищується величина коефіцієнта АсАТ/АлАТ на 12 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з контролем. Останнє підтверджує наявність у тварин дослідної групи деструктивних зміни клітинних оболонок, у тому числі мітохондріальних мембран, за токсичної дії натрію диклофенаку на печінку, а також розвиток

біохімічного синдрому гепатоцелюлярної недостатності та внутрішньопечінкового холестазу. Водночас підвищується активність  $\gamma$ -ГТП у 2,1 раза, амілази в 2,4 раза і ліпази у 8,3 раза. Висока активність  $\gamma$ -ГТП у плазмі крові є ознакою гепатотоксичності, а гіперензимемія  $\alpha$ -амілази та ліпази свідчить про залучення у патологічний процес підшлункової залози.

**Таблиця 2. Активність ензимів плазми крові щурів в експериментальних умовах, Од/л ( $M \pm m$ ,  $n = 12$ )**

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Аланінамінотрансфераза	91,5±6,6	117,3±7,2*
Аспартатамінотрансфераза	89,2±4,8	129,4±5,8*
АсАТ/АлАТ	0,98±0,01	1,10±0,03*
$\gamma$ -Глутамілтранспептидаза	11,3±0,4	24,1±0,6*
Лужна фосфатаза	350,3±15,2	456,2±16,1*
$\alpha$ -Амілаза	1024,8±52,0	2504,2±51,5*
Ліпаза	4,00±0,42	33,00±2,11*

П р и м і т к а. Результати достовірні відносно щурів контрольної групи:

\* –  $p < 0,05$ .

У плазмі крові щурів дослідної групи встановлено істотне зменшення вмісту Кальцію – на 29 %, Фосфору – на 47 % і Магнію – на 38 %, що поряд з одночасним підвищенням величини співвідношення Ca : P на 35 % свідчить про порушення обміну зазначених макроелементів в організмі за розвитку експериментального токсичного гепатиту (табл. 3).

Дефіцитний рівень вказаних елементів, очевидно, є наслідком запально-дистрофічних процесів у паренхімі печінки та явища холестазу, що, як відомо [30], призводить до зменшення вмісту глікон'югатів у жовчі та порушення засвоєння двовалентних елементів у тонкому відділі кишечника, передусім

кальцію. Водночас, зниження у плазмі крові хворих щурів рівня Фосфору, Кальцію та Магнію є результатом порушення регуляторної ролі печінки щодо їх обміну в організмі та функціональних розладів мембранних іонних pomp, які взаємопов'язані з індукцією деструктивних змін у гепатоцитах.

**Таблиця 3. Вміст макроелементів у плазмі крові дослідних щурів, ммоль/л ( $M \pm m$ ,  $n = 12$ )**

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Калій (K)	2,92±0,39	3,11±0,35
Натрій (Na)	137,89±5,79	134,01±7,08
Магній (Mg)	1,81±0,03	1,12±0,03*
Хлор (Cl)	92,48±8,52	93,43±6,17
Кальцій (Ca)	2,38±0,14	1,70±0,10*
Фосфор (P)	12,04±0,38	6,33±0,26*
Співвідношення Ca : P	0,20±0,01	0,27±0,01*

П р и м і т к а. Результати достовірні відносно щурів контрольної групи:

\* –  $p < 0,05$ .

Вочевидь, виникнення токсичного гепатиту на ґрунті застосування токсичної дози натрію диклофенаку може спровокувати розвиток ендогенного рахіту, остеодистрофії та інших нозологічних форм остеопатії, що частково вже підтверджено зростанням ензиматичної активності ЛФ (див. табл. 2).

Отже, експериментально відтворена гепатопатологія характеризується зниженням метаболічної та функціональної активності гепатоцитів (рис. 1), що проявляється гіпопротеїнемією, гіпоальбумінемією, гіпоглікемією, гіполіпідемією і гіпохолестеролемією та підтверджується високими значеннями тимолової проби.



Рис. 1. Особливості метаболічної та функціональної активності печінки за токсичного гепатиту на тлі введення натрію диклофенаку

## 1.2 Гематологічний профіль у щурів за диклофенак-індукованого гепатиту

Результати дослідження гематологічних показників у щурів дослідної групи (табл. 4, 5) характеризують розвиток реактивного лейкоцитозу на тлі нейтрофілії із зрушенням ядра праворуч (збільшення кількості лейкоцитів у 3,0 рази за рахунок зростання частки сегментоядерних нейтрофілів – на 4,9 %,  $p < 0,05$ ), що поряд із підвищенням ШОЕ в 5,5 раза відповідає стану хронічного запального процесу в печінці, спричиненого цитотоксичною дією натрію диклофенаку.

Зростання ШОЕ у хворих тварин, ймовірно, обумовлено підвищенням у плазмі крові вмісту великодисперсних протеїнів – глобулінів, передусім

імуноглобулінів (фракція  $\gamma$ -глобулінів), що підтверджується високими значеннями величини тимолової проби (у 2,9 раза) порівняно з контролем (див. табл. 4).

**Таблиця 4. Вплив диклофенаку на фізичні, біохімічні та морфологічні показники крові в дослідних щурів ( $M \pm m$ ,  $n = 12$ )**

Показник	Контроль	Дослід
Гематокрит, %	42,0 $\pm$ 2,3	42,2 $\pm$ 2,5
ШОЕ, мм/год	2,0 $\pm$ 0,1	11,0 $\pm$ 0,5*
Гемоглобін, г/л	113,0 $\pm$ 3,8	109,6 $\pm$ 3,7
Тимолова проба, S-N	0,60 $\pm$ 0,04	1,72 $\pm$ 0,08*
Еритроцити, *10 <sup>12</sup> /л	6,9 $\pm$ 0,2	3,9 $\pm$ 0,1*
Лейкоцити, *10 <sup>9</sup> /л	7,7 $\pm$ 0,2	25,3 $\pm$ 0,8*
Тромбоцити, *10 <sup>9</sup> /л	596,0 $\pm$ 18,0	766,0 $\pm$ 26,6

П р и м і т к а. \* -  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно зі значеннями у контрольній групі щурів.

Адсорбція глобулінів на поверхні клітинних мембран еритроцитів зменшує їх негативний заряд, що зумовлює агрегацію цих клітин. Внаслідок цього у хворих на токсичний гепатит тварин відмічається різке зменшення кількості еритроцитів (у 1,8 раза) і прогресує розвиток анемії. Остання також виступає одним із чинників, що викликають збільшення ШОЕ у щурів дослідної групи.

Анемія може бути наслідком не лише загальної інтоксикації організму, але й результатом змін структурно-функціонального стану мембран еритроцитів, що на тлі перебігу хронічного патологічного процесу в печінці прискорює їх руйнування та призводить до зменшення тривалості перебування у периферичному кров'яному руслі.

Водночас вміст гемоглобіну залишається в межах норми, що вказує на компенсаторну роль червоного кісткового мозку в підтриманні сталості дихальної функції крові. Без змін залишаються реологічні властивості крові, про що свідчить стабільність величини гематокриту в тварин дослідної групи.

**Таблиця 5. Диклофенак-індуковані зміни лейкограми крові в дослідних щурів, % (M ± m, n = 12)**

Показник	Контроль	Дослід
Нейтрофіли палочкоядерні	2,4±0,1	1,0±0,1
Нейтрофіли сегментоядерні	30,9±0,8	34,9±1,0*
Лімфоцити	50,9±1,4	56,5±1,0*
Моноцити	9,3±0,3	3,6±0,1*
Еозинофіли	6,5±0,3	4,0±0,2

Примітка. \* -  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно зі значеннями у контрольній групі щурів.

За диклофенак-індукованого гепатиту в щурів відмічається компенсаторне зростання в крові кількості лімфоцитів – на 5,6 % (див. табл. 5). Вони є факторами клітинної і гуморальної ланок імунної відповіді організму. Лімфоцити зв'язують в крові антитіла, транспортують їх до вогнищ запалення, нейтралізують токсини різного походження, а тому виявляють антитоксичну функцію, беруть участь в метаболізмі ліпідів та індукують гуморальні фактори, які стимулюють регенерацію.

Водночас у тварин дослідної групи за ураження печінки диклофенаком розвивається моноцитопенія (зменшення кількості моноцитів у крові в 2,6 раза) порівняно з контролем. Зазначені клітини крові виступають джерелом тканинних макрофагів і є центральною ланкою системи моноклеарних фагоцитів. До однієї з ознак запального процесу в організмі ссавців відносять посилене утворення та подальше кількісне зростання в крові моноцитів. Вони



знищують мікроорганізми, продукти розпаду клітин, поглинають та нейтралізують ендотоксини, які походять із осередків запалення, змінені форми еритроцитів, розчинні фібрин-мономерні комплекси та інші протеїни [37]. Ці клітини задіяні також в синтезі антитіл: абсорбують антигени та забезпечують утворення їх високоімуногенного типу, який сприяє його взаємодії з Т- і В-лімфоцитами. Тому, моноцитопенія, яку встановлено у тварин дослідної групи, вказує на виснаження захисного потенціалу організму і пригнічення його резистентного стану.

Отже, в результаті токсичного впливу на печінку дослідних щурів препарату диклофенак встановлено розвиток хронічного запального процесу, який проявляється реактивним лейкоцитозом із зрушенням ядра нейтрофілів праворуч, моноцитопенією на тлі компенсаторного прояву лімфоцитозу, суттєвим підвищенням рівня ШОЕ і величини тимолової проби (рис. 2).

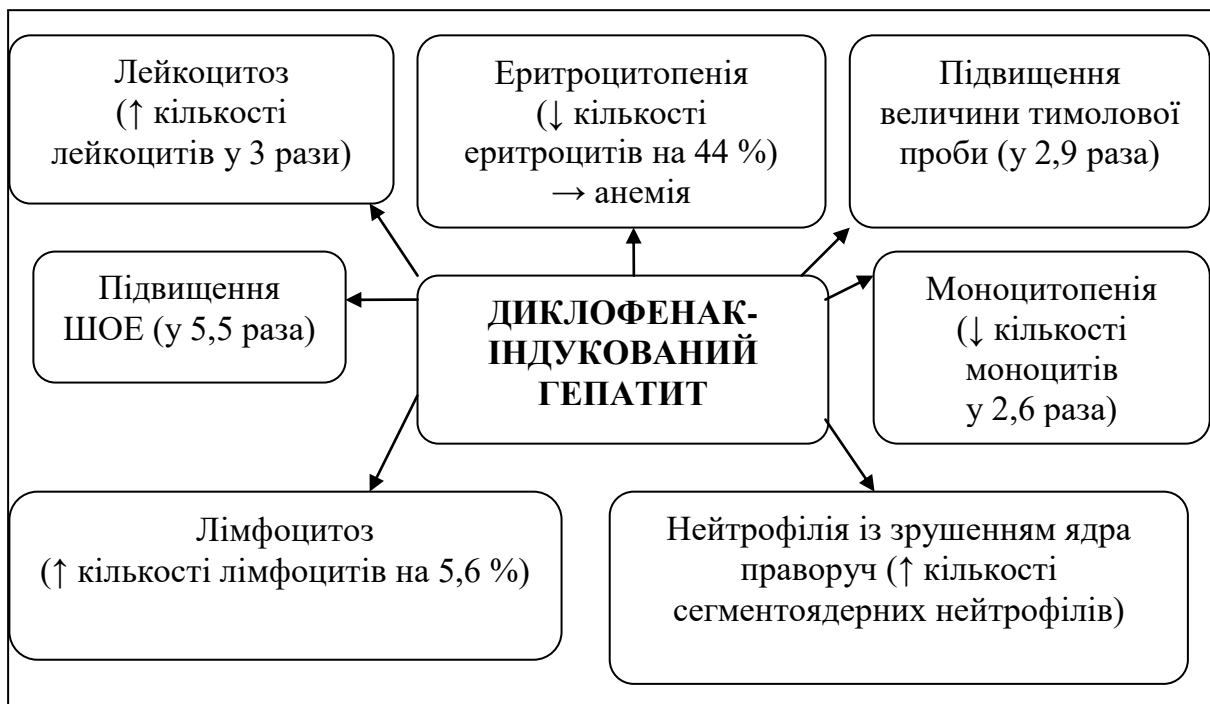


Рис. 2. Особливості гематологічних показників щурів за диклофенак-індукованого ураження печінки

Поряд із цим, у тварин при ураженні печінки диклофенаком встановлено еритроцитопенію, яка є ознакою анемії, хоча вміст у крові гемоглобіну на етапі

дослідження зберігається в межах контрольного діапазону. Останнє вказує на компенсаторну реакцію зі сторони червоного кісткового мозку у відповідь на розвиток токсичного ураження печінки. Без змін залишаються реологічні властивості крові, про що свідчить стабільність величини гематокриту в тварин дослідної групи.

### 1.3 Прооксидантно-антиоксидантна рівновага за диклофенак-індукованого гепатиту

В результаті аналізу отриманих результатів визначено (табл. 6), що в щурів за експериментального гепатиту в сироватці крові виявляється підвищення вмісту ТБК-активних продуктів – на 214,9 % та зниження активності каталази (Кат) – на 41,4 % порівняно з контролем. Це підтверджує розвиток порушень прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у таких хворих.

**Таблиця 6. Показники ПОЛ і АОЗ у сироватці крові щурів за експериментальних умов ( $M \pm m$ ,  $n = 12$ , цит. за [38])**

Показник	Контроль	Дослідна група
ТБК-активні продукти, мкмоль/мг білка	1,680±0,150	5,290±0,180*
Каталаза, мкмоль/мгхв	33,80±5,0	18,50±6,30
Глутатіонпероксидаза, мкмоль/хвмг білка	0,440±0,018	0,309±0,019*
Глутатіонтрансфераза, мкмоль/хвмг білка	92,10±5,00	54,0±4,80*
Відновлений глутатіон, мкмоль/мг білка	0,787±0,100	0,070±0,013*

П р и м і т к а. Тут і далі у табл. 7 \* –  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно зі значеннями у контрольній групі щурів.

Разом з тим, у тканинах печінки встановлено зменшення вмісту ТБК-активних продуктів – на 10,2 % одночасно зі зниженням активності сорбітолдегідрогенази (СОД) – на 22,6 % та тенденція до зниження каталазної активності порівняно з контролем (табл. 7). Дисбаланс у нейтралізації токсичних метаболітів активного Оксигену стимулює вільнорадикальні процеси в тканинах і, як наслідок, пошкодження клітин. Найчастіше причиною зниження активності СОД є інгібування продуктами пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) внутрішньоклітинного метаболізму.

**Таблиця 7. Показники ПОЛ і АОЗ у печінці щурів в експериментальних умовах ( $M \pm m$ ,  $n = 12$ , цит. за [38])**

Показник	Контроль	Дослідна група
ТБК-активні продукти, мкмоль/мг білка	1,570±0,040	1,410±0,050*
Супероксиддисмутаза, ум. од./мг білка	2,920±0,250	2,260±0,190*
Каталаза, мкмоль/мг хв	0,069±0,005	0,062±0,001
Глутатіонпероксидаза, мкмоль/хвмг білка	0,250±0,025	0,233±0,019
Глутатіонтрансфераза, мкмоль/хвмг білка	0,365±0,012	0,399±0,015
Відновлений глутатіон, мкмоль/мг білка	0,994±0,015	0,138±0,006*

Супероксиддисмутазна активність змінюється пропорційно до вмісту токсичних метаболітів ПОЛ у внутрішньоклітинному середовищі. Виходячи з цього, активність зазначеного ензиму антиоксидантного захисту істотно знижується в умовах активації вільнорадикальних процесів. Зниження каталазної активності можливе в результаті деструктивних змін мембран

гепатоцитів, а саме: плазматичних і пероксисомних, в яких найбільше зосередений цей ензим.

Глутатіонпероксидазна система антиоксидантного захисту відноситься до універсальних систем знешкодження пероксидів. В умовах диклофенак-індукованої гепатопатології встановлено виснаження потенціалу цієї системи захисту: в крові зменшується глутатіонпероксидазна (ГП) активність – на 29,8 %, глутатіонтрансферазна (ГТ) – на 41,4 %, а також рівень відновленого глутатіону (GSH) – на 91,1 % порівняно з контролем (див. табл. 6). При цьому, у печінці достовірно зменшується вміст GSH – на 86,1 % (див. табл. 7), що, можливо, є наслідком надмірної індукції активних форм Оксигену, які стимулюють вільнорадикальне окиснення фосфоліпідів (ФЛ) мембран гепатоцитів, і продуктів ліпопероксидації, надмірне утворення яких відзначається за розвитку запального процесу при ушкодженні печінки. Зазначене обертається виснаженням потенціалу системи антиоксидантного захисту (АОЗ). Це може бути причиною зниження опірності організму до негативної дії ксенобіотиків. Істотною причиною зниження активності ГП і глутатіонредуктази (ГР) за токсичного ураження печінки – це порушення синтезу їх апоферментів через деструктивну дію натрію диклофенаку на мембрани клітин. Встановлене зниження рівня GSH, можливо, є наслідком змін в його синтезі з метіоніну через ушкодження печінки. Ця ситуація обумовлює розвиток у хворих тварин порушень у ліпідному оточенні мембранозв'язаних ензимів, рецепторів та іонних каналів, в результаті чого виникає деструкція клітинних мембран.

В результаті, слід відзначити зміни у функціонуванні окисно-антиоксидантної системи організму за експериментального відтворення токсичного ураження печінки, що є одним із ключових молекулярних механізмів пошкодження біоструктур і чинником виникнення клітинної патології. На патологічні зміни ферментативної та неферментативної ланок системи АОЗ у тканинах печінки свідчить зниження активності СОД і

зменшення вмісту GSH. За таких обставин також знижується активність ензимів, що відповідають за знешкодження пероксидних сполук (Кат та ГП). Водночас тенденція до зростання активності ГТ також свідчить про підвищене використання GSH. Найвираженіші зміни відмічаються зі сторони досліджуваних показників крові. За експериментальних умов у сироватці крові суттєво накопичуються ТБК-активні продукти, знижується рівень GSH і активність ГТ, а також активності Кат і ГП, що в цілому вказує на порушення у функціонуванні системи АОЗ організму. Це вказує на високий рівень ліпопероксидації за токсичної дії препарату натрію диклофенаку, внаслідок чого проявляється структурна перебудова мембран гепатоцитів, змінюється їх проникність для іонів, ймовірний апоптоз клітин.

#### **1.4. Протеїнсинтезувальна функція печінки за диклофенак-індукованого гепатиту**

Токсичні дія речовин на печінку спричинює патологічні зміни на різних рівнях її організації [38, 39]. Зважаючи на те, що при гепатопатології відмічається пошкодження мембран гепатоцитів, а також на провідну роль у патогенезі ПОЛ, важливим є призначення терапії, яка стимулює відновлення структурно-функціонального стану клітинних мембран і гальмує деструктивні зміни в клітинах. Препаратами такої спрямованої дії є екзогенні фосфоліпіди з високим вмістом полієнових жирних кислот, які активують репаративні процеси на рівні клітинних мембран, а також модулюють ензимну відповідь, що багаторазово підтверджено на прикладі ессенціале-форте [40, 41]. Актуальним питанням залишається визначення найінформативніших лабораторних діагностичних тестів, які б дозволяли швидко і точно визначати ефективність новостворених препаратів, у т. ч. й розробленої нами на основі ФЛ молока біологічно активної добавки (БАД) «FLP-MD» [42–44].

Активність системи гемостазу взаємопов'язана з функціональним станом печінки. Гепатоцити є основним місцем синтезу протеїнів системи згортання крові та плазміногену – основного проензиму системи фібринолізу. У період розвитку захворювань печінки знижується інтенсивність не тільки синтезу вітаміну К-залежних протеїнів, але й порушується пост-трансляційне карбоксилювання залишків глутамінової кислоти Гла-домену факторів згортання крові II, VII, IX, X, протеїнів C, S і Z. Такі некарбоксильовані форми вітаміну К-залежних протеїнів називаються PIVKA-протеїнами (синтезуються за відсутності вітаміну К). Вони не утворюють ензимні комплекси на поверхні ліпідного бішару мембран у присутності іонів кальцію та втрачають здатність виконувати відповідні функції в системі згортання крові. Проте, дослідження вмісту вітаміну К-залежних протеїнів у плазмі крові з використанням імунологічних тестів свідчать про відсутність кількісних змін, тобто ці тести в такому разі не є інформативними. Водночас накопичення функціонально неактивних форм вітаміну К-залежних протеїнів внаслідок розвитку гепатопатології призводить до зниження прокоагулянтного потенціалу системи згортання крові [45–48]. Отже, визначення у плазмі крові функціонально неактивних форм протромбіну (PIVKA-протромбін) як індикатора порушення функцій гепатоцитів є важливою умовою своєчасного застосування коригувальної терапії для запобігання прогресування гепатопатології. У цьому випадку, контроль за коригувальною здатністю лікувальних препаратів базується на визначенні співвідношення між функціонально активними та неактивними формами протромбіну у плазмі крові. Отже, важливим є визначення індикаторних показників у системі гемостазу для контролю за ступенем відновлення протеїнсинтезувальної функції печінки та ефективністю лікувальних препаратів при токсичному гепатиті.

В експерименті використовували білих лабораторних щурів-самців із масою тіла 200–220 г. Тварин-аналогів залучали для формування трьох дослідних груп та однієї контрольної (по 20 тварин у кожній). Тривалість

дослідку становила 65 діб. Медикаментозну форму токсичного гепатиту в щурів викликали за розробленою нами методикою шляхом перорального введення нестероїдного протизапального препарату «Диклофенак» (таблетки ВАТ Хімфармзавод «Червона зірка», Харків) у дозі 12,5 мг/кг 1 раз на добу впродовж 2 тижнів [49]. Спостерігали за змінами загального стану тварин, наявністю симптомів інтоксикації. Стійкі та виражені клінічні симптоми гепатопатології починали відзначати в щурів вже на 7-му добу експерименту, що характеризувалось загальним пригніченням, погіршенням апетиту, зменшенням маси тіла на 10 г у середньому по групі, тьмяним шерстним покривом, зниженням еластичності шкіри, болючістю і тимпанічністю живота, рідким неприємного запаху калом із рештками неперетравленого корму. Надалі щурам 2-ої дослідної групи перорально вводили препарат есенціале-форте (A. Nattermann & Cie. GmbH, Німеччина) у дозі 7,1 мг/кг. Тваринам 3-ої дослідної групи перорально вводили БАД «FLP-MD» (ліпосомальна форма, 1%-й розчин) у дозі 13,5 мг/кг. БАД «FLP-MD» – це суміш ФЛ (80 % фосфатидилхоліну, сфінгомієліну, фосфатидилетаноламіну), ненасичених жирних кислот (лінолева, ліноленова, олеїнова) та природних антиоксидантів – вітамінів ( $\alpha$ -токоферолу і ретинолу ацетату). Лікування проводили впродовж 50 діб. До 1-ої групи віднесено щурів, які зазнавали самореабілітації (без лікування). До контрольної групи входили інтактні тварини, яких утримували на стандартному раціоні віварію з пероральним введенням їм еквівалентної кількості 0,15 М розчину натрію хлориду. Показники коагуляційної ланки досліджували у плазмі аортальної крові, яку відбирали у пробірки з додаванням стабілізатора (3,8 % розчин натрію цитрату), потім центрифугували при 1400 g впродовж 20 хв [50].

Для визначення вмісту фібриногену до плазми крові щурів додавали рівний об'єм 16 %-го розчину натрію сульфату [51]. Одержаний осад розчиняли в 0,15 М розчині натрію хлориду. Концентрацію розчину визначали спектофотометрично при довжині хвилі 280 нм на спектрофотометрі СФ-2000 (ОКБ, Спектр, Росія). Коефіцієнт молярної екстинкції фібриногену – E280, 1 %,

1 см 15,06. Вміст фібриногену у плазмі крові щурів контрольної групи приймали за 100 %. Для визначення вмісту плазміногену у плазмі крові щурів використовували метод афінної хроматографії на Lys-сефарозі [52]. Всі операції проводили при температурі +4 °С. Плазму крові щурів розводили у 2 рази 0,1 М фосфатним буфером рН 7,4, додавали контрикал (10 тис IU/дм<sup>3</sup>, PMSF(2 мкМ/см<sup>3</sup>) і наносили на колонку (0,7×2,0 см). Відмивання від неспецифічно зв'язаних протеїнів проводили 0,1 М фосфатним буфером рН 7,4 з 0,25 М розчином натрію хлориду. Елюювали плазміноген 0,2 М 6-аміногексановою кислотою в 0,05 М фосфатному буфері рН 7,4 зі швидкістю 50 мл/год. Коефіцієнт молярної екстинкції плазміногену E280, 1 %, 1 см – 17,0. Вміст плазміногену в плазмі крові щурів контрольної групи приймали за 100 %. Амідолітичну активність тромбіну (здатність гідролізувати трипептидні субстрати X-X-X-pNa) визначали відповідно до інструкції «Ренам» (Росія). Для цього в лунку планшети для культури клітин вносили 10 мкл досліджуваної плазми крові щура, 10 мкл 0,025 М розчину кальцію хлориду, 10 мкл активатора протромбіну (екамуліну 35 мкг/мл або тромбопластину 60 мкл/см<sup>3</sup>), 25 мкл 3 мМ розчину хромогенного субстрату та 0,05 М трисНСl буфер, рН 7,4, що містив 0,13 М натрію хлориду. Загальний об'єм інкубаційного середовища – 250 мкл, інкубували 5 хв при температурі 37 °С. Розчин тромбопластину готували за інструкцією фірми «Ренам» (Москва). Вивільнення п-нітроаніліну (pNa) під дією тромбіну визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 405 нм на спектрофотометрі для мікропланшетів Thermo Multiskan EX (Фінляндія).

Результати протромбінового та екамулінового тестів виражали у вигляді протромбінового (ПВ) та екамулінового (ЕВ) відношень:  $PB = A_d/A_k$  (1),  $EB = A_d/A_k$  (2), де  $A_d$  – амідолітична активність тромбіну, що утворився в досліджуваній плазмі крові під дією тромбопластину (1) та екамуліну (2);  $A_k$  – амідолітична активність утвореного тромбіну плазми крові тварин контрольної групи під дією тромбопластину (1) та екамуліну (2) [53, 54]. Показники



екамулінового та тромбопластинового тестів у щурів контрольної групи використовували для обрахунку екамулінового та протромбінового відношення.

У зв'язку з стрімким зростанням частоти захворювань гепатобіліарної системи, що характеризуються активним перебігом та несприятливим прогнозом, поряд з якісною і своєчасною діагностикою патологічного процесу, значної актуальності набуває визначення критеріїв ефективності існуючих і новостворених терапевтичних препаратів. Для відновлення функціонального стану печінки використовують препарати різних фармакологічних груп природного і синтетичного походження. Слід зазначити, що застосування вже відомих на фармацевтичному ринку фармакологічних засобів не завжди дає очікуваний результат. Тому створення нових препаратів і визначення їхньої ефективності набувають все більшої актуальності.

У разі виникнення гепатопатології часто діагностують порушення у функціонуванні окремих ланок системи гемостазу, які, як правило, проявляються значним подовженням часу згортання плазми крові в тесті «протромбіновий час» (ПЧ), підвищенням рівня продуктів деградації фібриногену/фібрину та розвитком тромбоцитопенії (менше  $100 \times 10^9 / \text{дм}^3$  тромбоцитів) [55, 56]. Проведені нами дослідження були орієнтовані на визначення інформативності окремих діагностичних тестів для контролю за ступенем відновлення функціонального стану печінки та ефективністю лікувальних препаратів при моделюванні токсичного медикаментозного гепатиту. Передусім, для загальної характеристики стану системи гемостазу в щурів з експериментальним гепатитом визначено вміст у плазмі крові ключових протеїнів системи згортання крові та фібринолізу – фібриногену і плазміногену. У зв'язку з тим, що під дією тромбіну чи тромбіноподібного ензиму полімеризація фібриногену в плазмі крові піддослідних щурів групи самореабілітації була порушена, оцінка вмісту фібриногену за утворенням фібринового згустку була недостовірною. Тому для точного визначення вмісту

фібриногену в плазмі крові використано метод його висолювання розчином натрію сульфату [51]. В результаті встановлено (табл. 8), що відносний вміст фібриногену в плазмі крові хворих щурів 1-ої групи за умов самореабілітації відзначається тенденцією до зниження на 14,7 % порівняно з контролем. У тварин 2- і 3-ої дослідних груп при застосуванні фосфоліпидовмісних лікувальних засобів з репаративними властивостями (ессенціале-форте і БАД «FLP-MD» відповідно) вміст фібриногену в плазмі крові залишався стабільним, у межах контрольних значень і вірогідно вищим (відповідно на 10,4 та 17,0%) порівняно з його значеннями у тварин 1-ої групи. Таким чином, кількісні зміни фібриногену в плазмі крові щурів хворих на токсичний гепатит свідчать про наявність порушень протеїнсинтезувальної функції печінки та нормалізуючий вплив фосфоліпидовмісних лікувальних засобів, у т. ч. БАД «FLP-MD».

**Таблиця 8. Вміст фібриногену і плазміногену в плазмі крові щурів за експериментальних умов ( $M \pm m$ ;  $n = 20$ , цит. за [26])**

Група тварин	Фібриноген <sup>1</sup>	Плазміноген <sup>1</sup>
1-а – самореабілітація	85,3±3,5	75,8±6,0
2-а – есенціале-форте	95,7±2,1*	102,3±4,9*
3-я – БАД «FLP-MD»	102,3±4,0*	93,0±6,1

П р и м і т к а: 1 – вміст фібриногену та плазміногену показано у відсотках відносно вмісту цих протеїнів у плазмі крові здорових щурів; \*  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно з показниками плазми крові щурів 1-ої групи.

Аналіз результатів визначення вмісту плазміногену в плазмі крові тварин свідчить про те, що у хворих щурів 1-ої групи за умов самореабілітації відзначається тенденція до зниження вмісту плазміногену на 24,2 % порівняно з контролем (див. табл. 8). У тварин 2- та 3-ої дослідних груп цей показник

відповідав контрольному рівню. При цьому рівень плазміногену в плазмі крові тварин 2-ої групи є вірогідно вищим на 26,5 %, а у щурів 3-ої групи виявляється тенденція до збільшення на 17,2 % порівняно з його величиною у тварин 1-ої групи.

Встановлені закономірності також свідчать про зміни протеїнсинтезувальної функції печінки у хворих тварин та можливість їхнього коригування лікувальними засобами репаративної дії. Отже, в сукупності з іншими специфічними показниками, визначення вмісту фібриногену та плазміногену може бути включено до констеляцій, що характеризують функціональний стан печінки та ефективність терапевтичних засобів. Для характеристики функціонального стану коагуляційних факторів у разі захворювань печінки, як зазначалось вище, застосовують тест ПЧ, принцип якого базується на визначенні часу згортання плазми крові під дією екзогенного тромбoplastину, що характеризує зовнішній шлях плазмового гемостазу та опосередковано вказує на рівень функціонально активного протромбіну [50]. У цьому разі протромбіновий час визначають з використанням кальцію хлориду та тромбoplastину, стандартизованого за міжнародним індексом чутливості (МІЧ).

Результати ПЧ представляють у вигляді міжнародного нормалізованого відношення (МНВ) за формулою  $MNB = (ПЧ_{\text{пацієнта}}/ПЧ_{\text{контролю}})МІЧ$ , де ПЧ пацієнта – протромбіновий час згортання плазми крові пацієнта, ПЧ контролю – протромбіновий час згортання плазми крові донорів.

У тесті реалізується низка послідовних і взаємопов'язаних реакцій і час згортання плазми крові залежить як від сумарної швидкості процесу активації коагуляційних факторів, так і від присутності інгібіторів полімеризації фібрину. У зв'язку з цим, діагностика стану системи згортання крові у разі порушення функціонування печінки коагуляційними методами ускладнена. Крім того, фібриноген внаслідок такої патології може мати аномалії в структурі (надлишок залишків сіалових кислот або зменшену молекулярну масу), що

призводить до подовження часу згортання плазми крові. Отже, незважаючи на очевидну простоту виконання тесту ПЧ, трактування його результатів становить серйозну та актуальну проблему.

Для удосконалення методу розроблено умови, при яких процес активації протромбіну фіксується спектрофотометрично за розщепленням хромогенного тромбінспецифічного субстрату. Такий підхід дає можливість виключати вплив інгібіторів полімеризації фібрину, оскільки тромбін, що утворився під дією активатора, призводить до розщеплення хромогенного субстрату, а не до перетворення фібриногену на фібрин з наступною його полімеризацією (як у коагуляційному тесті ПЧ). Дослідження стану системи гемостазу показали, що тести на основі тромбінспецифічного хромогенного субстрату, на відміну від хронометричних тестів, менш чутливі до низькомолекулярного та нефракціонованого гепарину і дозволяють визначати реальний вміст протромбіну в плазмі крові [54].

Відомо, що окрім ПЧ для моніторингу стану системи згортання крові та виявлення у кровотоці функціонально неактивних вітамін К-залежних протеїнів (PIVKA-протеїнів) використовують тест «екариновий час». Цей тест базується на визначенні часу згортання плазми крові під дією активатора протромбіну – екарину, виділеного з отрути ефи піщаної (*Echis carinatus*), який здатен активувати протромбін та його функціонально неактивні форми [46]. Таким чином, сумарний рівень протромбіну можна визначати, використовуючи ензими-активатори протромбіну з отрути змії. Одним із таких ензимів-активаторів протромбіну є екамулін, виділений з отрути ефи багатолускової (*Echis multisquamatis*), який ми застосовували в цих дослідженнях. Екамулін, на відміну від тромбопластину, активує як протромбін, так і його PIVKA-форму. Отже, за різницею показників екамулінового та тромбопластинового тестів можна оцінювати вміст функціонально неактивного протромбіну. Для контролю ефективності терапії, спрямованої на відновлення функціонального

стану печінки, необхідно визначати вміст не лише функціонально активного протромбіну, але і його PIVKA-форму.

Накопичення PIVKA-протромбіну провокує зниження прокоагулянтного потенціалу системи згортання крові. Спосіб контролю ефективності дії препаратів для лікування гепатиту та відновлення синтезу протеїнів гепатоцитами базується на порівнянні результатів тестів на основі тромбопластину та екамуліну, що дозволяє визначати загальний вміст протромбіну та PIVKA-протромбіну плазми крові.

Використання тромбінспецифічного хромогенного субстрату дає можливість визначати функціональну активність протромбіну максимально незалежно від впливу екзогенних та ендогенних інгібіторів системи згортання крові. Результати тестів з використанням екамуліну та тромбопластину представлено у вигляді протромбінового та екамулінового відношення, які розраховували за відношенням амідолітичної активності досліджуваної плазми крові до амідолітичної активності контрольної плазми крові.

За різницею між екамуліновим та тромбопластинним відношенням, визначали вміст PIVKA-протромбіну (табл. 9). Зазначений підхід використано для характеристики стану системи згортання крові щурів у разі токсичного гепатиту.

**Таблиця 9. Загальний рівень протромбіну та PIVKA-протромбіну в плазмі крові щурів за експериментальних умов ( $M \pm m$ ;  $n = 20$ , цит. за [26])**

Група тварин	Протромбінове відношення (ПВ)	Екамулінове відношення (ЕВ)
1-а – самореабілітація	$0,4 \pm 0,06$	$0,70 \pm 0,06$
2-а – есенціале-форте	$1,04 \pm 0,07^*$	$0,93 \pm 0,03^*$
3-я – БАД «FLP-MD»	$0,95 \pm 0,08^*$	$0,98 \pm 0,07^*$

П р и м і т к а: \*  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно із показниками плазми крові щурів 1-ої групи.

Досліджено плазму крові щурів, яких лікували препаратом есенціале-форте (2-га група), БАД «FLP-MD» (3-тя група) та 1-ої групи (самореабілітація). Показано, що протромбінове відношення у хворих щурів в умовах самореабілітації нижче одиниці ( $ПВ = 0,4 \pm 0,06$ ).

Отже, функціональна активність протромбіну знижена на 60 %. ЕВ дорівнює  $0,70 \pm 0,06$ , тобто синтез протромбіну в порівнянні з нормою знижений на 30 %. Про накопичення PIVKA-протромбіну свідчить низький рівень функціонально активного протромбіну. Таким чином, в умовах самореабілітації не відбувається відновлення протеїнсинтезувальної функції гепатоцитів. Протромбінове відношення та ЕВ під час лікування щурів препаратом есенціале-форте та БАД «FLP-MD» практично дорівнює 1, що свідчить про відновлення функціонального стану печінки: відбувається нормальний синтез функціонально активних вітамін К-залежних протеїнів. Можна стверджувати, що ліпосомальна форма БАД «FLP-MD» сприяє ефективному відновленню протеїнсинтезувальних процесів у печінці.

Отже, використання рекомендованого діагностичного підходу для визначення функціонального стану печінки (протеїнсинтезувальної функції) полягає в безпосередньому контролі відновлення синтезу функціонально активних вітамін К-залежних протеїнів; забезпеченні високої точності та відтворюваності результатів тесту; нечутливості тесту до впливу екзо- та ендогенних інгібіторів системи згортання крові.

Зазначені діагностичні тести дозволяють швидко та якісно здійснювати аналіз ефективності нових лікувальних схем та препаратів, як показано на прикладі порівняльної оцінки ефективності еталонного препарату есенціале-форте і новоствореної БАД «FLP-MD», виготовлених на основі ФЛ різного походження.

## **2 ГЕМАТОЛОГІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ТА СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ПАРЕНХІМИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА ТЕТРАЦИКЛІН- ІНДУКОВАНОГО ГЕПАТОЗУ**

### **2.1 Гематологічні показники та макро- і мікроскопічні зміни в паренхімі печінки щурів за тетрациклін-індукованого гепатозу**

Печінка відіграє важливу роль у розвитку компенсаторно-адаптаційних реакцій організму, що зумовлено її участю у багатьох процесах метаболізму, анатомічних і функціональних зв'язках з іншими органами та системами організму. Останнім часом все частіше ризик розвитку гепатопатології пов'язують з нераціональною фармакотерапією основного захворювання [1, 2]. Так, прийом антибіотиків тетрациклінового ряду (доксидикліну, хлортетрацикліну, метацикліну) зумовлює виникнення мітохондріальних цитопатій. Токсичний гепатит може виявлятися як на першу добу прийому антибактеріального препарату, так і через кілька місяців від початку лікування. Для з'ясування ступеня ушкодження паренхіми печінки рекомендується дослідження активності ензимів з різною внутрішньоклітинною топографією [3–5].

Клініко-морфологічні прояви токсичних уражень печінки різноманітні [6]. Виділяють три основні види пошкоджень: гепатоцелюлярні, холестатичні та змішані. Мішенню токсичного впливу можуть бути гепатоцити (дистрофія, некроз), жовчні протоки і каналці (холестаза) або синусоїдальні клітини (ендотелій). Медикаментозні ураження печінки, зокрема ушкодження паренхіми, у вигляді функціональних порушень (індукція мікосомальних ензимів, гіпербілірубінемія) призводять до некрозу або апоптозу. До інших гепатотоксичних наслідків фармакотерапії відноситься формування стеатозу у вигляді гострих жирових змін, стеатогепатиту, холестазу, гранулематозних змін і ушкодження судинної системи печінки тощо [7, 8].

Значний компенсаторний антитоксичний резерв органа нівелює негативний вплив отруйних речовин [9]. У печінці, яка виконує детоксикаційну функцію, відбувається їх інактивація і зв'язування для подальшої елімінації. Реалізація цієї функції під час першої фази суттєво залежить від активності цитохрому P450. За участі відповідних ензиматичних систем відбувається окиснення, редукція, гідроліз, гідратація і дегалогенізація токсинів. У наступній фазі – кон'югація, дезактивація токсичних речовин завдяки глюкуронізації, ацетилювання, метилування, зв'язування з амінокислотами і глутатіоном. Однак детоксикаційна здатність органа значно знижується, якщо вплив шкідливих чинників розвивається на тлі гепатопатології. Тяжкість перебігу та вираженість симптоматики визначається дозою ксенобіотику [10].

Морфологічну неоднорідність токсичних уражень печінки і переважну локалізацію некрозів зумовлює метаболічне зонування. За метаболічною активністю гепатоцити неоднорідні. Їх зонування за відмінністю в метаболічних функціях зумовлює селективну чутливість гепатоцитів до різних патологічних чинників. Зокрема, у клітинах I зони міститься більше мітохондрій, інтенсивніше перебігають окисні процеси, глюконеогенез, синтез холестеролу, сечовини і жовчних кислот. У гепатоцитах III зони найвираженіші гліколіз, літогенез, цитохром P450-залежне гідроксилювання, глюкуронізація ксенобіотиків. Застосування антибіотиків тетрациклінового ряду призводить до розвитку некрозу гепатоцитів переважно III зони [10].

Токсичні ураження печінки внаслідок прийому лікарських препаратів представляють певну діагностичну складність [11]. Іноді на тлі тривалої терапії вони перебігають без клінічного прояву, що свідчить про хронічну інтоксикацію. Зазначене спонукає до всебічного вивчення патогенезу розвитку медикаментозної гепатопатології, насамперед на молекулярному рівні, створення чутливих тест-систем ранньої діагностики, а також засобів профілактики і терапії таких станів. Тому залишається актуальним розробка способів штучного відтворення патологічних станів печінки внаслідок



медикаментозного її ураження. Нами вже розроблено спосіб моделювання медикаментозної гепатопатології шляхом введення в організм щурів нестероїдного протизапального препарату натрію диклофенаку, що провокує розвиток токсичного гепатиту [12].

Мета дослідження полягала у штучному відтворенні в лабораторних щурів гострої форми токсичної гепатодистрофії без різких змін клінічного стану, який за комплексом загальноклінічних, біохімічних, морфологічних та патолого-анатомічних змін відповідає спонтанному перебігу цієї гепатопатології в тварин та не призводить до летальних випадків.

В експеримент залучали білих лабораторних щурів (самців), яких підбирали за принципом аналогів із масою тіла 200–220 г. У разі відомої схеми моделювання жирового гепатозу в лабораторних щурів шляхом перорального введення в їх організм 1 %-го тетрацикліну гідрохлориду відмічається вкрай важкий клінічний стан, який розвивається вже на 2–3-тю добу експерименту, можливий летальний кінець. Крім того, цей вид тварин із масою тіла 200–220 г важко сприймає рекомендований об'єм розчину тетрацикліну гідрохлориду, який межує або навіть перевищує фізіологічні можливості шлунка, а це в більшості випадків становить 5 см<sup>3</sup> і більше. Зазначене стало підґрунтям для роботи над удосконаленням існуючого способу моделювання гострої форми токсичної гепатодистрофії [13]. Для цього сформовано дві групи (контрольну і дослідну) по двадцять щурів у кожній. У тварин дослідних груп штучно відтворювали гостру форму гепатодистрофії шляхом модифікованого нами методу внутрішньошлункового введення 4 %-го розчину тетрацикліну гідрохлориду за допомогою зонда в дозі 250 мг/кг маси тіла, 1 раз на добу, впродовж 7 діб, відповідно до чинних критеріїв стандартизації та якості проведення біологічних експериментів і принципів біомоделювання [14]. Тварини першої дослідної групи залишалися впродовж експерименту без лікування. У контрольній групі знаходились клінічно здорові щури, яким

внутрішньошлунково за допомогою зонду вводили еквівалентний об'єм 0,89 % розчину натрію хлориду.

Щурів окремо поміщали у клітки. До початку експерименту вони перебували на карантині з клінічним обстеженням упродовж двох тижнів. Тварин утримували на збалансованому раціоні, що містив усі необхідні біологічно активні та поживні речовини. Вони мали вільний доступ до корму і питної води. Проводили моніторинг зміни маси тіла та спожитого тваринами корму. Тривалість експерименту становила 7 діб. Евтаназію тварин і відбір біологічного матеріалу проводили на 8-му добу досліду.

Після декапітації проводили патолого-анатомічний розтин та відбір зразків печінки для гістоморфологічних досліджень. Для мікроскопічних досліджень відбирали шматочки печінки, які фіксували в 10 % розчині нейтрального забуференого формаліну за Ліллі [15], промивали у проточній воді, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації (70 і 96 °), витримували в хлороформі і заливали у парафін. Остигли парафінові блоки прикріплювали до дерев'яних кубиків. Після чого виготовляли зрізи на санному мікротомі, одержували зрізи товщиною 10 мкм. Отримані зрізи наклеювали на предметні скельця, фарбували гематоксиліном Караці та еозином і досліджували за допомогою світлового мікроскопа [16].

Нативну кров відбирали в щурів із черевного відділу аорти в пробірки з розчином гепарину, яку досліджували на вміст гемоглобіну, абсолютну кількість еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів, вираховували лейкограму та визначали тромбокрит на аналізаторі Micro CC-20 Plus Auto НТІ (США). Для отримання плазми, її центрифугували при 1500 об/хв упродовж 15–20 хв. Далі проводили дослідження біохімічних показників плазми крові (субстрати – загальний протеїн, загальний та кон'югований білірубін; ензими – аспартат-амінотрансфераза (АсАТ, ЕС 2.6.1.1), аланін-амінотрансфераза (АлАТ ЕС 2.6.1.2),  $\gamma$ -глутамілтранспептидаза ( $\gamma$ -ГТП, ЕС 2.3.2.2), лужна фосфатаза (ЛФ, ЕС 3.1.3.1 ) на біохімічному напівавтоматичному аналізаторі GBG Stat Fax 1904

Plus (Awareness Technology, Inc., Florida, США) відкритого типу з використанням реативів DAC-SPECTROMED S.R.L. (Молдова).

Регулярне введення щурам препарату тетрацикліну гідрохлориду впродовж семи діб супроводжувалося появою виражених клінічних симптомів гострої токсичної гепатодистрофії, що починали проявлятися у тварин вже на другу-третю добу його введення та характеризувалися пригніченням загального стану, зниженням апетиту, полідипсією або зменшенням спраги, стабільними втратами середньої маси тіла по групі на 10–15 г, тьмяним шерстним покривом, зниженням еластичності та сухістю шкіри, випадінням шерсті, незначним збільшенням і болючістю живота, розрідженням калових мас. Загибелі тварин не відмічали.

Дані клінічного прояву токсичної гепатодистрофії доповнюють результати патолого-анатомічних досліджень органу – печінка набуває світло-жовтого кольору або має строкатий мозаїчний рисунок, коричнево-червоні ділянки чергуються з жовтими, дещо збільшених розмірів, заокруглені краї, в'ялої консистенції. При гістоморфологічному дослідженні відмічається декомпозиція гепатоцитів, дифузне розміщення жирових крапель різної величини (дрібно-, середньо- і великокрапельне) у клітинах печінки, очагова гістіолімфоїдна інфільтрація, розширення і переповнення кров'ю судин (рис. 3). Крім ожиріння виявляється добре виражена зерниста дистрофія. В окремих місцях зустрічаються дрібні проліферати клітин Купфера. Зміни у порталних трактах виражаються у склерозі з невеликим їх потовщенням і запальною реакцією – появою дрібних, локальних гістіоцитарних і лімфоїдних елементів.

В результаті дослідження морфологічного складу крові (табл. 10) у хворих щурів дослідної групи встановлено розвиток лейкоцитозу (збільшення кількості лейкоцитів на 27 %), еритроцитопенії (зменшення кількості еритроцитів на 27 %) за одночасного прояву гіпохромемії (зменшення вмісту гемоглобіну на 23 %). При цьому середній вміст гемоглобіну в еритроциті залишається без змін, що може бути компенсаторною відповіддю на розвиток анемії, яка нами

відмічалася також при застосуванні щурам у токсичних дозах натрію диклофенаку. Одночасне зниження гематокритної величини в 1,3 раза, ймовірно, є наслідком достовірного зменшення кількості еритроцитів ( $p < 0,05$ ), а отже доводить наявність анемії у хворих щурів.

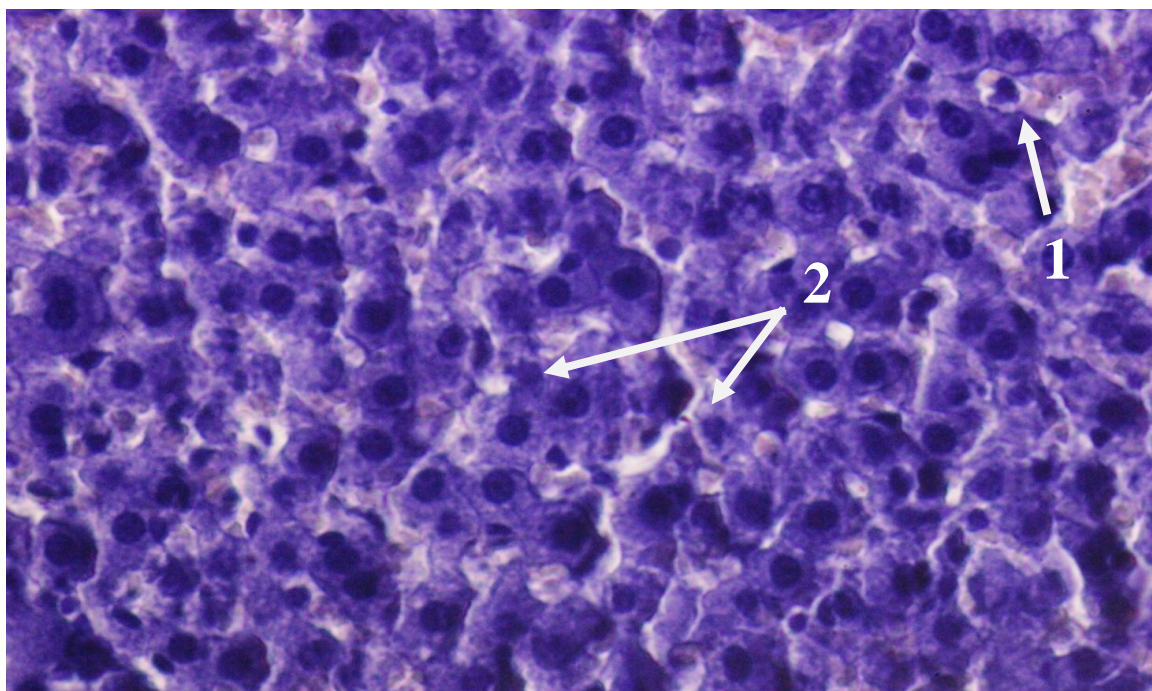


Рис. 3. Печінка щура дослідної групи (доза препарату тетрацикліну гідрохлориду 250 мкг/кг маси тіла). Гепатоцити у стані жирової дистрофії (1), гіперемія судин часточки (2). Фарбування гематоксином Караці та еозином,  $\times 200$

Причиною підвищення величини тромбокриту (в 1,3 раза), насамперед, може бути порушення у системі кровотворення або результатом реакції організму на розвиток інших патологічних процесів, які призводять до стимулювання продукції тромбоцитів і змінюють показники стану тромбоцитарної ланки. Діагностовані нами зміни тромбокриту в організмі тварин, хворих на токсичну гепатодистрофію, ймовірно, є наслідком розвитку гострої запальної реакції в паренхімі печінки, що підтверджується наявністю в цих тварин лейкоцитозу.

**Таблиця 10. Морфологічні показники крові щурів за експериментальної гепатодистрофії на тлі введення тетрацикліну гідрохлориду у дозі 250 мкг/кг маси тіла ( $M \pm m, n = 20$ )**

Показник	Контроль	Дослідна група
Лейкоцити, $10^9/\text{л}$	4,8±0,2	6,1±0,5*
Еритроцити, $10^{12}/\text{л}$	6,6±0,5	4,8±0,3*
Гемоглобін, г/л	182,7±12,1	141,0±3,6*
Середній вміст гемоглобіну в еритроциті	28,3±1,1	29,5±1,7
Гематокрит, %	35,2±2,3	27,2±1,7*
Тромбоцити, $10^9/\text{л}$	470,0±18,0	515,0±21,0
Тромбокрит, %	0,249±0,018	0,322±0,016*
Лімфоцити, %	54,0±1,1	52,0±1,1
Паличкоядерні нейтрофіли, %	8,0±0,2	5,5±0,5*
Сегментоядерні нейтрофіли, %	33,5±0,8	36,0±0,4*
Моноцити, %	2,5±0,1	2,5±0,1
Еозинофіли, %	1,5±0,2	3,5±0,5*
Базофіли, %	0,5±0,0	0,5±0,1

П р и м і т к а. \* -  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно зі значеннями у контрольній групі щурів.

В лейкограмі хворих тварин відмічається достовірне зростання відносної кількості сегментоядерних нейтрофілів у 1,1 раза поряд із зменшенням – паличкоядерних (в 1,5 раза), що свідчить про зрушення ядра нейтрофілів вправо і, насамперед, є результатом токсичного впливу тетрацикліну гідрохлориду на кістковий мозок. Для цих тварин характерним є збільшення у крові кількості еозинофілів у 2,3 раза, що пояснюється їх відомою антитоксичною функцією. Вони адсорбують токсичні продукти протеїнової природи і руйнують їх, а в ділянках запалення фагоцитують імунні комплекси,

продукти розпаду тканин, хоча фагоцитарна активність їх нижча, ніж нейтрофілів.

Експериментальне відтворення токсичної гепатодистрофії в лабораторних щурів супроводжувалось змінами біохімічного профілю плазми крові (табл. 11).

**Таблиця 11. – Біохімічні показники плазми крові щурів за експериментального тетрациклін-індукованої гепатодистрофії ( $M \pm m$ ,  $n = 20$ )**

Показник	Контроль	Дослідна група
Загальний протеїн, г/л	68,0±0,2	60,9±0,1*
Загальний білірубін, мкмоль/л	3,0±0,2	45,5±3,0*
Кон'югований білірубін, мкмоль/л	1,46±0,24	27,34± 0,83*
Аланінамінотрансфераза, Од/л	24,10±3,32	72,03±2,39*
Аспаратамінотрансфераза, Од/л	70,24±3,11	127,81±4,05*
Лужна фосфатаза, Од/л	251,01±10,01	400,11±9,81*
γ-Глутамілтранспептидаза, Од/л	12,33±0,69	21,33±1,11*

П р и м і т к а. \* -  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно зі значеннями у контрольній групі щурів.

Так, у хворих на токсичну гепатодистрофію щурів відмічали вірогідне підвищення активності відносноспецифічних для печінки ензимів: АлАТ – в 3 рази, АсАТ – на 81 %, ЛФ – на 60 % та γ-ГТП на 73 % за одночасного зменшення вмісту загального протеїну – на 11 %, підвищення концентрації загального білірубіну в 15 разів за рахунок кон'югованої фракції, рівень якої збільшився у 19 разів, порівняно з контролем.

Встановлені закономірності щодо характеру змін біохімічних показників плазми крові у щурів дослідної групи свідчать про порушення структурного і функціонального стану клітин печінки, що супроводжуються зниженням

інтенсивності протеїнсинтезувальних процесів і розладами пігментного обміну, та розвиток внутрішньопечінкового холестазу.

В результаті внутрішньошлункового введення лабораторним щурам 4 %-го розчину тетрацикліну гідрохлориду за допомогою зонда в дозі 250 мг/кг маси тіла, 1 раз на добу, впродовж семи діб відмічається розвиток комплексу симптомів, характерних для гострої токсичної гепатодистрофії з середньою тяжкістю клінічного перебігу та відсутністю летальних випадків. Регулярне введення щурам препарату тетрацикліну гідрохлориду впродовж семи діб супроводжується появою виражених клінічних симптомів гострої токсичної гепатодистрофії, що починають проявлятися у тварин вже на другу-третю добу його введення та характеризуються пригніченням загального стану, зниженням апетиту, полідипсією або зменшенням спраги, стабільними втратами середньої маси тіла по групі на 10–15 г, тьмяним шерстним покривом, зниженням еластичності та сухістю шкіри, випадінням шерсті, незначним збільшенням і болючістю живота, розрідженням калових мас.

Патолого-анатомічні зміни при експериментальній гепатодистрофії – печінка набуває світло-жовтого кольору або має строкатий мозаїчний рисунок, коричнево-червоні ділянки чергуються з жовтими, дещо збільшених розмірів, заокруглені краї, в'ялої консистенції. При гістоморфологічному дослідженні відмічається декомпозиція гепатоцитів, дифузне розміщення жирових крапель різної величини у клітинах печінки, очагова гістіолімфоїдна інфільтрація, розширення і переповнення кров'ю судин. Крім ожиріння виявляється добре виражена зерниста дистрофія.

Для хворих на токсичну гепатодистрофію щурів характерний розвиток лейкоцитозу, еритроцитопенії за одночасного прояву гіпохромемії, зменшення гематокритної величини і зростання тромбокрити, що свідчить про наявність у цих тварин запального процесу й анемії. В лейкограмі хворих тварин відмічається зрушення ядра нейтрофілів вправо, що, насамперед, є результатом

токсичного впливу тетрацикліну гідрохлориду на кістковий мозок. Для цих тварин характерна еозинофілія, яка пояснюється їх антитоксичною функцією.

Для біохімічного профілю плазми крові хворих на токсичну гепатодистрофію щурів характерне підвищення активності відносноспецифічних для печінки ензимів: АлАТ, АсАТ, ЛФ і  $\gamma$ -ГТП та одночасна гіпопротеїнемія, гіпербілірубінемія за рахунок кон'югованої фракції, що свідчить про деструктивні зміни гепатоцитів, зниження інтенсивності протеїнсинтезувальних процесів, порушення пігментного обміну та розвиток внутрішньопечінкового холестазу.

Запропонований нами спосіб моделювання гострої форми токсичної медикаментозної гепатодистрофії може бути використаний в експериментальній медицині та ветеринарії з метою визначення особливостей ультраструктурних та метаболічних змін в організмі тварин за аналогічної спонтанної патології печінки, а також для клінічного випробування новостворених препаратів гепатопротекторного профілю.

Таким чином, нами запропоновано спосіб моделювання гострої форми токсичної медикаментозної гепатодистрофії у лабораторних щурів з вираженими клінічними, патолого-анатомічними та біохімічними змінами як у печінці, так і на рівні цілісного організму. Зазначена експериментальна модель може бути використана, насамперед, у медицині та ветеринарії з метою визначення особливостей ультраструктурних та метаболічних змін в організмі тварин за розвитку токсичної дистрофії печінки, а також для клінічного випробування ефективності препаратів гепатопротекторного профілю і впровадження у тваринництво ефективних схем лікування з аналогічним проявом спонтанної гепатопатології. Найважливішим результатом розвитку експериментальної гепатодистрофії є отримання бажаних змін у паренхімі печінки при відносно середній тяжкості клінічного перебігу в щурів та їх 100 % виживаності.



## **2.2 Біохімічні та коагуляційні процеси в щурів за тетрациклін-індукованого гепатозу**

Незважаючи на прогрес у створенні та впровадженні в клінічну практику нових антимікробних препаратів з високою активністю і мінімальними побічними ефектами, дотепер у терапевтичних схемах продовжують застосовувати традиційні та доступні антибіотики, такі як пеніцилін, ампіцилін, тетрациклін та інші [17, 18]. На сьогодні за статистикою до 7–8 % фармацевтичного ринку належить тетрациклінам і цефалоспоринам [19, 20]. Основною побічною дією цих антибіотиків за тривалої терапії високими дозами є різні порушення функцій печінки – від жовтяниці до гепатозу з подальшим розвитком цирозу і фіброзу [21, 22]. В деяких випадках гепатопатологія переходить у стадію декомпенсації, що потребує тривалого використання гепатопротекторів.

Тетрациклін відноситься до препаратів прямої цитотоксичної дії на печінку [20, 21]. Одним із перших проявів токсичного ураження печінки є жирова дистрофія різного ступеню, або жировий гепатоз – накопичення триацилгліцеролів в гепатоцитах. Однією з причин цієї патології є порушення балансу між утворенням та катаболізмом ліпідів [23, 24]. Введення тетрацикліну спричинює зниження активності мітохондріального бета-окиснення жирних кислот, підвищення синтезу ендогенних жирних кислот і недостатню інкорпорацію або експорт триацилгліцеролів у ліпопротеїди низької щільності [25].

У токсичній дії тетрацикліну важливим ефектом впливу є пригнічення синтезу ензимів мітохондріального окисного фосфорилування, регуляція яких відбувається на рівні транскрипції, ензимних комплексів I і IV дихального ланцюга мітохондрій, наслідком чого є збільшення кількості продуктів пероксидного окиснення ліпідів у печінці та крові [21, 26, 27]. Останні можуть бути причиною порушення структурної організації мембран гепатоцитів та

їхніх органел, що проявляється деполяризацією мембран мітохондрій з подальшим їх набуханням внаслідок підвищення проникності для іонів внутрішньої мембрани, спричиненої вільними радикалами [20].

Зазначене корелює з відомими фактами підвищення рівня іонів кальцію в мікросомах гепатоцитів, що підтверджує мембранотропну і прооксидантну дію тетрацикліну, а також свідчить про основну роль дисфункції мітохондрій у розвитку тетрациклін-індукованого гепатозу.

Печінка відіграє ключову роль у первинному і вторинному гемостазі, оскільки є осередком синтезу всіх факторів згортання крові та їх інгібіторів [28, 29]. Гепатопатологія призводить до складних комплексних порушень в системі гемостазу і до нестійкого балансу між її про- і антикоагулянтною ланками [30, 31]. Основними порушеннями гемостазу, що виникають за патології печінки, є зниження синтезу факторів згортання крові та якісні зміни тромбоцитів (порушення функціональної активності тромбоцитів, зменшення їхньої кількості, розвиток тромбоцитопенії); зниження вмісту інгібіторів фібринолізу [32].

Тетрациклінове ураження печінки у тварин широко використовується у фармакологічних експериментах при визначенні терапевтичної ефективності препаратів гепатопротекторного профілю [20, 33]. За тетрациклінового гепатозу відмічається деструкція клітинних мембран із порушенням їх фосфоліпідної організації, стимуляція утворення колагену з наступним формуванням фіброзу [22, 24]. Тому в останні роки для відновлення структури і функцій мембран гепатоцитів, підвищення їх «плинності», активації мембранних ензимів, нормалізації метаболізму і транспорту ліпідів при жировому гепатозі використовують есенційні ФЛ [34]. Це стало підґрунтям для випробування ефективності впливу фосфоліпідів молока, які за своїм жирнокислотним спектром відповідають ліпідній компоненті клітинних мембран внутрішніх органів ссавців. Мета дослідження полягала у визначенні функціонального

стану печінки та репаративних властивостей ФЛ молока за умов експериментальної моделі гепатозу в щурів, який індуковано тетрацикліном.

До експерименту було залучено 60 білих лабораторних щурів-самців лінії Вістар з масою тіла 200–220 г, яких підбирали за принципом аналогів [35]. Щурів окремо поміщали у клітки. До початку експерименту вони перебували на карантині з клінічним обстеженням упродовж двох тижнів. Тварин утримували на збалансованому раціоні, що містив усі необхідні біологічно активні та поживні речовини. Вони мали вільний доступ до корму і питної води. Протягом карантину проводили моніторинг зміни маси тіла та спожитого тваринами корму.

Для проведення досліджень було сформовано три групи щурів (контрольну і дві дослідні) по 20 тварин у кожній. Відповідно до чинних критеріїв стандартизації та якості проведення біологічних експериментів і принципів біомодельовання [35], щурам першої і другої дослідних груп для моделювання гострої форми жирового гепатозу за модифікованим нами методом [36] впродовж 7 діб за допомогою зонда внутрішньошлунково вводили суспензію тетрацикліну гідрохлориду в 4 % розчині крохмального гелю 1 раз на добу в дозі 250 мг/кг маси тіла тварин, яку визначали їх щоденним зважуванням. Це сприяло підтримувannya токсичного ефекту дії тетрацикліну гідрохлориду на печінку щурів упродовж експерименту. Тваринам контрольної групи вводили аналогічний об'єм фізіологічного розчину (0,89 % розчин натрію хлориду).

Впродовж експерименту тварини першої дослідної групи залишалися без лікування (самореабілітація), а тваринам другої дослідної групи внутрішньошлунково вводили 1%-ий розчин фосфоліпидовмісної БАД «FLP-MD» у ліпосомальній формі в дозі 13,5 мг/кг маси тіла за одну годину до застосування тетрацикліну і в наступні 2 доби після завершення затравки. Біодобавка «FLP-MD» є авторською розробкою [37] і містить комплекс різних класів фосфоліпідів молока (маслянки), які мають природний для клітинних

мембран тварин жирнокислотний спектр, суміш ненасичених жирних кислот (олеїнова, лінолева, ліноленова) та антиоксидантів (вітаміни А і Е).

Тривалість експерименту становила 9 діб. Відбір біологічного матеріалу в щурів проводили на 10-ту добу експерименту під етерним наркозом.

Кров для проведення гематологічних досліджень відбирали з черевного відділу аорти щурів. Для біохімічних досліджень використовували цільну кров стабілізовану гепарином. Для визначення показників системи гемостазу, кров змішували з 3,8 % розчином натрію цитрату в співвідношенні 9:1. Для отримання плазми, кров центрифугували при 1300 g упродовж 15–20 хв [38].

У стабілізованій гепарином крові визначали вміст гемоглобіну на аналізаторі Micro CC-20 Plus Auto НТІ (США) згідно інструкції до останнього. В плазмі крові досліджували вміст загального протеїну, альбуміну, загального і кон'югованого білірубіну, креатиніну, сечовини, глюкози; активність ензимів: аспартат-амінотрансферази (АсАТ, ЕС 2.6.1.1), аланін-амінотрансферази (АЛАТ ЕС 2.6.1.2),  $\gamma$ -глутамілтранспептидази ( $\gamma$ -ГТП, ЕС 2.3.2.2),  $\alpha$ -амілази ( $\alpha$ -АМ, ЕС 3.2.1.1); концентрацію електролітів (калій, фосфор, кальцій) за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора GBG Stat Fax 1904 Plus (Awareness Technology, Inc., Florida, США) відкритого типу з використанням реактивів DAC-SPECTROMED S.R.L. (Молдова).

Для визначення гемостатичних показників виконували відповідні лабораторно-діагностичні тести:

- вміст фібриногену (Ф) з використанням тромбіноподібного ензиму анцистрон-Н із отрути щитомордника звичайного (*Agkistrodon halys halys*) [39];

- вміст протромбіну із залученням ензиму – активатора протромбіну з отрути ефі багатолускової (*Echis multisquamatis*) та хромогенного субстрату S2238 (Chromogenic, Sweden) [29];

- активність протеїну С (ПС) за допомогою активатора протеїну С з отрути щитомордника звичайного (*Agkistrodon halys halys*) і хромогенного субстрату S2236 (Chromogenic, Sweden) [40];

- активність фактору Ха згортання крові відповідно до методичних рекомендацій KABI Diagnostica з використанням RVV – активатора фактора X із отрути гадюки Рассела (*Russel viper*) (Sigma, USA) та хромогенний субстрат S2765 (Chromogenic, Sweden).

Моделювання у щурів дослідних груп тетрациклін-індукованого жирового гепатозу супроводжується функціонально-біохімічними змінами на рівні цілісного організму та печінки зокрема. Так, у хворих тварин першої дослідної групи встановлено незначне підвищення в плазмі крові вмісту загального протеїну на 10,4 % порівняно з контролем, тоді як рівень альбуміну залишався на рівні контролю (табл. 12). Це свідчить про те, що кількісних змін в організмі дослідних щурів зазнають протеїни глобулінових фракцій, які виконують гомеостатичні, захисні, транспортні, регуляторні, імунні та інші численні функції [30]. Такі зміни вказують на інтенсивний розвиток в організмі тварин з експериментальним жировим гепатозом компенсаторно-адаптаційних процесів, спрямованих на підтримання гомеостазу внутрішнього середовища організму, через активну участь печінки в проміжному обміні протеїнів.

Підвищення в плазмі крові щурів першої дослідної групи активності АсАТ і АлАТ відповідно у 4,0 і 1,7 раза (див. табл. 12) свідчить про посилення інтенсивності проміжного обміну амінокислот на рівні печінки та зростання ролі процесів переамінування та дезамінування за розвитку жирового гепатозу. Це частково компенсує характерний для цієї патології дефіцит енергетичних субстратів в гепатоцитах.

Водночас збільшення у плазмі крові щурів першої дослідної групи величини співвідношення АсАТ/АлАТ у 2,4 раза у відношенні до контролю вказує на мітохондріальну цитопатію і взаємопов'язані з нею структурно-функціональні порушення клітин. Збільшення в крові цих хворих тварин концентрації головних кінцевих продуктів азотистого обміну – сечовини у 2,0 рази і креатиніну на 18,1 % (див. табл. 12) у відповідності до змін активності амінотрансфераз підтверджує тенденції щодо посилення процесів

**Таблиця 12. Біохімічні показники нативної крові/плазми щурів за експериментального гепатозу на тлі введення тетрацикліну та при застосуванні коригувальної терапії (M ± m, n = 20)**

Показник	Контроль	Перша дослідна група (самореабілітація)	Друга дослідна група (терапія БАД «FLP-MD»)
Загальний протеїн, г/л	66,7±2,10	73,6±2,20*	71,9±3,01
Альбумін, г/л	37,5±1,5	34,2±1,3	40,5±1,6
Аланінамінотрансфераза, IU	97,6±6,9	162,3±10,3*	137,3±7,1*
Аспаратамінотрансфераза, IU	90,3±3,6	361,9±14,8*	178,2±8,2*
АсАТ/АлАТ	0,93±0,01	2,23±0,08*	1,30±0,02*
Креатинін, мкмоль/л	40,40±2,11	47,71±2,23*	42,30±2,04
Сечовина, ммоль/л	6,9±0,3	13,9±0,4*	6,8±0,2
Гемоглобін, г/л	184,5±12,4	156,0±6,1*	310,5±20,2*
Загальний білірубін, мкмоль/л	3,1±0,2	54,4±2,1*	7,3±0,6*
Кон'югований білірубін, мкмоль/л	1,43±0,24	27,22± 0,84*	3,02± 0,23*
Глюкоза, ммоль/л	6,40±0,13	6,60±0,07	7,1±0,09*
γ-Глутамілтранспептидаза, IU	6,9±0,4	7,1±0,2	7,0±0,4
α-Амілаза, IU	609,6±22,4	649,7±18,2	446,5±16,3*
K <sup>+</sup> , ммоль/л	3,54±0,18	6,30±0,21*	3,70±0,16
Ca <sup>2+</sup> , ммоль/л	2,03±0,10	4,37±0,23*	2,58±0,06*
P неорг., ммоль/л	3,35±0,24	4,05±0,12*	1,85±0,10*

П р и м і т к а: \* – p < 0,05, результати достовірні порівняно зі значеннями контрольної групи щурів.

дезамінування в тканинах та водночас може вказувати на розвиток вторинної нефропатії. Як правило, зазначене призводить до загальної інтоксикації організму хворих тварин кінцевими продуктами азотистого обміну.

Водночас дослідження біохімічних показників плазми крові у щурів другої дослідної групи свідчать про позитивний вплив фосфоліпідів молока у формі ліпосомальної БАД «FLP-MD» на метаболізм протеїнів (див. табл. 12). Так, межах контрольних значень відповідав вміст загального протеїну і альбуміну (див. табл. 12). Встановлено тенденцію до зниження активності АсАТ і АлАТ, хоча показники були ще досить високими порівняно з контролем: в 1,7 і 1,4 раза відповідно. Величина коефіцієнту співвідношення АсАТ/АлАТ також зменшувалася, однак відносно контролю залишалася вищою в 1,4 раза.

Незважаючи на підвищену активність АсАТ, АлАТ і величину їхнього співвідношення, отримані дані вказують на поступову нормалізацію активності амінотрансфераз у плазмі крові хворих щурів при застосуванні БАД «FLP-MD» у ліпосомальній формі. Крім того, у крові щурів цієї групи зафіксовано нормалізацію вмісту сечовини і креатиніну (див. табл. 12).

Розвиток експериментального гепатозу негативно позначається на обміні гемоглобіну, який зазнає істотних змін у тварин першої дослідної групи. В результаті відмічається гіпохромемія (зменшення вмісту гемоглобіну на 15,4 % порівняно з контролем) і розвиток анемії (див. табл. 12). Прояв останньої може бути результатом зниження гемопоетичної активності червоного кісткового мозку, посилення гемолітичних процесів внаслідок негативної дії токсинів на структурну організацію мембранних систем еритроцитів у кров'яному руслі та індукції патологічного процесу в паренхімі печінки, яка є факультативним органом кровотворення. В результаті, у плазмі крові тварин цієї групи встановлено розвиток гіпербілірубінемії (загальний білірубін зростає у 17,6 раза порівняно з контролем) на тлі підвищення рівня кон'югованої і

некон'югованої його форм, що свідчить про порушення пігментної функції печінки.

У щурів другої дослідної групи при застосуванні БАД «FLP-MD» у ліпосомальній формі рівень гемоглобіну крові навіть перевищує контрольний в 1,7 раза, що, можливо, є результатом компенсаторної мобілізації еритроцитів із відповідних депо. Показники пігментного обміну також мають підвищені значення, проте вони вже значно наближені до рівня контролю (див. табл. 12).

Встановлено збільшення концентрації глюкози в плазмі крові щурів другої дослідної крові на 11 % порівняно з контролем, що вказує на мобілізацію глюкози організмом для підтримання енергетичного балансу і прискорення відновлювальних процесів у тканинах.

Поряд з цим, відсутність достовірних змін у плазмі крові щурів першої дослідної групи активності ГГТП і  $\alpha$ -АМ виключає розвиток внутрішньопечінкового холестазу та ускладнень з боку підшлункової залози (див. табл. 12). Зменшення активності  $\alpha$ -АМ на 26,8 % в плазмі крові щурів другої дослідної групи порівняно з контролем може свідчити про метаболічні зрушення у підшлунковій залозі, які відповідним чином обумовлюють описані вище зміни концентрації глюкози в плазмі крові.

Для гострого перебігу жирового гепатозу в щурів першої дослідної групи характерне підвищення в плазмі крові внутрішньоклітинних макроелементів, зокрема Калію в 1,8 раза, Кальцію у 2,2 раза і Фосфору в 1,2 рази, що може негативно позначатися на внутрішньоклітинному метаболізмі (див. табл. 12). Водночас мобілізація Кальцію і Фосфору із основного місця їхнього депонування – кісткової тканини здатна призвести до розвитку вторинної остеопатії, що вочевидь посилить негативні наслідки анемії, яку діагностовано у тварин першої дослідної групи за самореабілітації. При цьому деяке відхилення від норми вмісту Кальцію і Фосфору (відповідно зростання на 27 % і зменшення на 45 %) в плазмі крові щурів другої дослідної групи вказує на



поступовий характер відновлення структурної організації кісткової тканини, навіть, при застосуванні коригувальної терапії.

Печінка є головним регулятором стабільності та рівноваги системи гемостазу і відповідає за синтез практично всіх факторів її коагулянтної та антикоагулянтної ланок, а також за процеси елімінації метаболітів, утворених внаслідок протікання коагуляційних процесів. Вміст/активність компонентів системи згортання крові пов'язані з функціональним станом печінки, і саме ці показники є індикатором її протеїнсинтезувальної функції.

Оскільки печінка є місцем синтезу ключових прокоагулянтних компонентів – фібриногену, фактору II (протромбін), фактору Ха згортання крові, основного антикоагулянту – протеїну С, саме ці показники підлягали дослідженню в плазмі крові хворих щурів.

Фібриноген є протеїном гострої фази запалення і його вміст або залишається в нормі, або підвищується за патології печінки. Низький вміст фібриногену (менше 1 г/л) виявляють тільки при дуже важких ураженнях печінки внаслідок порушення його синтезу [30]. При визначенні вмісту фібриногену в плазмі крові щурів першої дослідної групи за умов тетрациклін-індукованого гепатозу встановлено зниження його рівня на 44,2 % порівняно з контролем. У плазмі крові хворих тварин другої дослідної групи за дії БАД «FLP-MD» у ліпосомальній формі вміст фібриногену знаходився в межах норми (табл. 13).

Таким чином, зниження вмісту фібриногену в плазмі крові щурів першої дослідної групи свідчить про порушення протеїнсинтезувальної функції печінки після введення тетрацикліну. Нормалізація цього показника в плазмі крові щурів другої дослідної групи свідчить про гепатопротекторну дію БАД «FLP-MD» у ліпосомальній формі.

**Таблиця 13. Показники стану системи гемостазу за тетрациклін-індукованого жирового гепатозу щурів та при застосуванні коригувальної терапії (M ± m, n = 20)**

Показник	Контроль	Перша дослідна група (самореабілітація)	Друга дослідна група (терапія БАД «FLP-MD»)
Фібриноген, г/л	1,90±0,31	1,06±0,20*	1,76±0,19
Протромбін, %	97,2±9,3	69,4±8,2*	79,0±8,9
Фактор Ха, %	100,0±9,0	72,1±8,2*	98,4±13,5
Протеїн С, %	96,0±11,0	55,4±13,0*	77,0±14,4

П р и м і т к а: \* –  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно зі значеннями контрольної групи щурів.

Для оцінки стану системи гемостазу за патології печінки використовують стандартні (скринінгові) і специфічні (уточнюючі) діагностичні тести. Однак, діагностика із застосуванням коагулологічних лабораторних тестів ускладнена, оскільки час згортання плазми крові залежить не тільки від сумарної швидкості процесу активації коагуляційних факторів, але і від присутності інгібіторів згортання та вмісту фібриногену [41].

Зважаючи на зазначене, нами для визначення вмісту коагуляційних факторів – протромбіну, фактору Х та протеїну С – розроблено умови, за яких процес активації зазначених компонентів фіксують спектрофотометрично за розщепленням специфічного хромогенного субстрату. Такий підхід, на відміну від коагуляційних тестів, дає можливість виключити вплив інгібіторів полімеризації фібрину, оскільки утворений в процесі активації тромбін призводить до розщеплення хромогенного субстрату, а не до перетворення фібриногену на фібрин та наступну його полімеризацію (як у коагуляційному тесті).

За вмістом протромбіну оцінюють коагулопатію і ступінь тяжкості пошкодження печінки, а саме – зміни її протеїнсинтезувальної функції. В процесі дослідження було встановлено тенденцію до зниження (порівняно з контролем) вмісту протромбіну в плазмі крові як щурів першої дослідної групи (на 27,8 %) за умов тетрациклін-індукованого гепатозу, так і хворих щурів другої дослідної групи за коригувальної дії ліпосомальної БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока (на 18,2 %). Необхідно відзначити коригувальний ефект БАД: вміст протромбіну в плазмі крові щурів другої дослідної групи знижений порівняно з контролем, але вірогідно підвищений відносно першої дослідної групи (на 9,6 %). Аналогічну тенденцію виявлено і при визначенні активності фактора Ха: в плазмі крові щурів першої дослідної групи за умов тетрациклін-індукованого гепатозу вміст цього компонента було знижено на 27,9 % порівняно з контролем, тоді як у щурів другої дослідної групи при застосуванні ліпосомальної БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока зафіксовано відновлення цього показника (див. табл. 11). Таким чином отримані дані свідчать про наявність порушень протеїнсинтезувальної функції печінки і підтверджують гепатопротекторний ефект БАД.

Протеїн С – вітамін-К-залежний глікопротеїн, який синтезується переважно гепатоцитами. При гострих і хронічних захворюваннях печінки його вміст знижується разом з іншими факторами згортання крові, що характеризує ступінь порушення протеїнсинтезувальної функції печінки [30]. Відзначається зниження (порівняно з контролем) активності протеїну С в плазмі крові як щурів першої дослідної групи за умов тетрациклін-індукованого гепатозу (на 40,6 %), так і щурів другої дослідної групи за коригувальної терапії БАД «FLP-MD» у ліпосомальній формі (на 19,0 %). Про коригувальний ефект БАД свідчить підвищення на 21,6 % вмісту протеїну С в плазмі крові щурів другої дослідної групи відносно першої дослідної групи (див. табл. 13).

Таким чином, зміни вмісту фібриногену, факторів II і Ха згортання крові, протеїну С є, з одного боку, показниками протеїнсинтезувальної дисфункції

печінки, а, з іншого боку, – показниками ефективності терапії гепатопротектором у вигляді БАД «FLP-MD» у ліпосомальній формі. Використання рекомендованого нами діагностичного підходу полягає в безпосередньому контролі відновлення синтезу вітамін К-залежних протеїнів та фібриногену.

Отже, за моделювання тетрациклін-індукованого жирового гепатозу констатовано істотні деструктивні зміни клітинних мембран гепатоцитів, у тому числі мітохондріальних, про що свідчить підвищена активність амінотрансфераз та їхнього співвідношення, пригнічення протеїнсинтезувальної функції печінки – зниження вмісту факторів згортання крові. Водночас у плазмі крові виявлено підвищення вмісту креатиніну, сечовини і загального білірубіну.

Застосування фосфоліпідів молока у вигляді 1 %-го розчину ліпосомальної БАД «FLP-MD» з вираженою мембранотропною і репаративною дією на пошкоджені клітини печінки стимулює відновлення порушень метаболізму, передусім протеїнів. Використання з коригувальною метою зазначеної біодобавки запобігає розвитку можливих ускладнень – анемії, коагуло-, нефро- і остеопатії, паренхіматозної жовтяниці та інтоксикації організму. Отримані результати дозволяють розглядати ліпосомальну БАД «FLP-MD» на основі фосфоліпідів молока як засіб для профілактики та фармакологічної корекції жирового гепатозу медикаментозного генезу.

### **З ЗМІНИ МЕТАБОЛІЗМУ, ПРО-АНТИОКСИДАНТНОЇ РІВНОВАГИ ТА РЕЗИСТЕНТНОГО СТАНУ ОРГАНІЗМУ ЗА ЕНТЕРОПАТОЛОГІЇ ТЕЛЯТ**

В організмі новонароджених тварин після ініціації власних процесів газообміну набувають розвитку механізми травлення, регуляції кислотно-лужного й електролітного балансу, терморегуляції, детоксикації та інші, що забезпечується генетично детермінованою метаболічною перебудовою в тканинах. Тому ранній постнатальний період життя телят характеризується значною напруженістю метаболізму і легкістю виникнення "транзиторних" або субклінічних порушень гомеостазу [1, 2]. В цей період у телят часто виникає ентеропатологія різної етіології (проста і токсична диспепсія, колібактеріоз тощо), що негативно позначається на стабілізації процесів обміну та зумовлює розвиток розладів структурно-функціонального стану органів системи травлення, у т. ч. найбільшої в організмі травної залози – печінки [3, 4].

Схема досліджень: з телят 2-добового віку формували дві групи по 10 тварин у кожній: I група була контрольною і включала тварин, які залишалися клінічно здоровими протягом першого місяця життя; до II групи залучали телят, які, з другої доби життя починали хворіти на диспепсію та їх лікували за традиційною схемою. У терапевтичну схему традиційно включали патогенетичну терапію: напівголодну дієту впродовж 6–12 год. і випоювання теплого 1 %-го розчину натрію хлориду; за виражених симптомів токсикозу підшкірне введення розчинів електролітів у дозі 400–500 см<sup>3</sup>, випоювання відварів лікарських рослин, введення антибактеріальних препаратів тромексину і тіломіцину В та нутрілу Se (вітамінно-амінокислотної добавка з Селеном). Зразки крові відбирали у телят відразу після зникнення клінічних симптомів ентеропатології. Дослідження проводилися також з використанням плазми/сироватки крові.

У цільній гепаринізованій крові досліджували: вміст дієнових кон'югатів (ДК) і ТБК-активних продуктів, активність СОД, Кат і ГП, рівень відновленого глутатіону (ВГЛ) і вміст гемоглобіну методами В.А. Костюк та ін. (1984) [5]; Е.В. Макаренко (1988) [6]; С. Чевари та ін. (1991) [7]; С.Н. Власова та ін. (1990) [8] і загальноприйнятим методом відповідно. При дослідженні вищезазначених показників були використані реактиви фірм «Sigma» (США) і «Reanal» (Угорщина).

Ліпопротеїни високої (ЛПВЩ), низької (ЛПНЩ) та дуже низької щільності (ЛПДНЩ) контролювали в сироватці крові модифікованим методом Р. Trinder (1969) [9] при  $\lambda$  492 нм. Вміст ЛПНЩ, ЛПДНЩ і коефіцієнт атерогенності визначали шляхом обчислення (Назаренко Г.Н., 2002 [10]). Встановлення вмісту ліпідів: ТАГ, ХС і ФЛ здійснювали на біохімічному аналізаторі „Stat Fax” фірми «Awareness Tehnology INC» (США) за стандартними наборами реактивів фірми «Intero, LTD».

Кількість лейкоцитів та еритроцитів вираховували на апараті “Пікоскель” (Угорщина); лейкограму виводили в мазках крові, пофарбованих за Романовським-Гімза; вміст гемоглобіну – гемоглобінціанідним методом; кількість Т- та В-лімфоцитів і субпопуляцій Т-лімфоцитів – у тесті розеткоутворення; фагоцитарну активність (ФА, %) та інтенсивність фагоцитозу (ІФ, %) лейкоцитів – методом В. Ю. Чумаченко (1990) [11] з використанням тест-культури *Staphylococcus aureus* (штам 209-Р); титр природних антитіл та імунорегуляторний індекс (ІРІ) як описано у роботі В.Ю. Чумаченко (1990); рівень тимічного сироваткового фактора (ТСФ, титр, -  $\log_2$  титра) – за методом J.F. Bach et al. (1973) [12].

У гепаринізованій крові та її плазмі визначали такі біохімічні показники: загальний білок, альбумін, сечовину, глюкозу, гемоглобін, загальний і прямий білірубін, креатинін та активність ензимів – АсАТ, АлАТ,  $\gamma$ -ГТП, ЛФ на біохімічному аналізаторі показників крові «Microlab-200» фірми «AVL» (Німеччина). Пробопідготовку і дослідження біохімічних показників проводили

згідно з інструкцією та використанням реактивів фірми «Human» (Німеччина). Рівень аміаку у стабілізованій гепарином крові досліджували методом А. І. Силакової (1969) [13] на спектрофотометрі Specord M-40.

Ліпіди екстрагували із гомогенатів тканин за методом J. Folch et al. [14]. Фосфоліпіди розділяли за допомогою двовимірної мікротонкошарової хроматографії на стандартних платівках фірми «Sorbfil» (Росія) згідно методу Vaskovsky [15]. Вміст ФЛ виражали за кількістю в них неорганічного фосфору, визначеного за допомогою молібдатного реагенту. Для ідентифікації окремих фракцій ліпідів використовували специфічні реагенти і очищені стандарти.

### **3.1 Морфо-біохімічні показники крові за ентеропатології телят**

Встановлено істотні розбіжності у показниках крові, що характеризують основні ланки метаболізму речовин у тканинах телят реабілітаційного періоду, які з перших діб життя хворіли на диспепсію.

Показники кислотно-лужного стану (КЛС) крові найвірогідніше розкривають стан гомеостатичних регуляторних механізмів в організмі тварин.

Порушення кислотно-лужного балансу в організмі перехворілих телят водночас свідчить про дефіцит лужного резерву та буферної ємності їх тканин (табл. 14).

Визначено, що у таких телят виникає сидеропенія і залізодефіцитна анемія з гіпохромією, що частково компенсується еритроцитозом. Це особливо актуально для раннього постнатального періоду життя тварин, для яких характерне явище природної гемолітичної анемії, що виникає внаслідок генетично детермінованого перелаштування синтезу фетального типу гемоглобіну на дорослий.

Функціональні розлади ентероцитів у перехворілих телят порушує транспортування і всмоктування поживних речовин корму, в т. ч. і тих, що є факторами гемоцитопоезу (незамінні амінокислоти, Ферум, Купрум, Кобальт,

Цинк, вітаміни групи В). Слід враховувати, що іони феруму входять до складу ферумпорфіринових сполук, представниками яких є ензими системи АОЗ (Кат, пероксидаза).

**Таблиця 14. Гематологічні показники за диспепсії телят,  
M ± m; n = 10**

Показник	Контроль	Дослід
pH	7,36±0,02	7,33±0,02*
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	50,2±1,43	56,1±1,12*
pO <sub>2</sub> , мм рт. ст	29,8±0,48	29,4±0,94
[HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ], ммоль/л	28,1±0,95	29,9±1,06
ЗБО, мг-екв/л	4,7±0,65	3,9±0,27*
CO <sub>2</sub> заг., ммоль/л	30,9±0,52	31,4±0,57
Загальний протеїн, г/л	61,1±0,9	58,7±2,3
Нітроген сечовини, ммоль/л	2,4±0,2	2,9±0,3
Глюкоза, ммоль/л	4,1±0,26	3,6±0,27
Триацилгліцероли, мг %	3,5±0,9	8,6±1,8*
Гемоглобін, г/л	81,2±3,0	94,0±6,0
Вміст гемоглобіну в 100 см <sup>3</sup> еритроцитів	32,0±0,8	25,3±0,9*
Ферум, мкмоль/л	17,8±1,6	10,7±1,2*
Еритроцити, Т/л	5,7±0,2	6,7±0,4
Гематокрит, %	30,3±1,1	39,6±0,9*

П р и м і т к а. \* p < 0,05, достовірна різниця між показниками дослідної та контрольної груп.



Тому дефіцит Феруму сприяє мембранопатологічним змінам за рахунок активації ПОЛ, що викликає порушення інтегрованості клітин і дезорганізацію метаболічних процесів, які перебігають на мембранах та за участю їх компонентів. Водночас, встановлено зростання у плазмі крові телят, які перехворіли на диспепсію, вмісту ТАГ, що свідчить про суттєві порушення обміну ліпідів в їх організмі.

Висока напруженість метаболізму в органах і тканинах хворих телят, повільний характер їх відновлення поряд із наявною дисфункцією ентероцитів, гепатоцитів і інших функціональних клітин організму підтверджують доцільність застосування таким тваринам терапевтичних засобів репаративної дії, що сприятиме пришвидшенню регенерації ушкоджених клітинних мембран і відповідному відновленню мембранозв'язаних процесів.

### **3.2 Імунорезистентний стан організму за ентеропатології телят**

Функціональний стан імунної системи є важливою умовою підтримання життєздатності тварин на різних стадіях індивідуального розвитку, особливо в неонатальний період. Причиною, яка стримує достатню реалізацію генетичного потенціалу продуктивності тварин і знижує опірність організму новонароджених до захворювань, є низький рівень резистентності організму з подальшим ризиком виникнення імунодефіцитного стану.

В останні роки у ветеринарній імунології отримано нові результати щодо особливостей функціонування клітинних та гуморальних факторів імунітету в тварин неонатального періоду розвитку з врахуванням ролі материнського організму в процесі створення адаптивного імунітету. Проте питання функціонування імунних факторів у новонароджених тварин у період реабілітації після зникнення клінічних симптомів ентеропатології потребує детального вивчення. Доцільність таких досліджень пояснюється появою у значного відсотку тварин після клінічного одужання рецидивів шлунково-

кишкової патології та виникнення на їх фоні ускладнень з боку інших органів і систем.

Важливою причиною розвитку вторинного імунодефіциту у хворих на ентеропатологію новонароджених тварин є підвищення проникності пошкоджених клітинних мембран, надходження в кров'яне русло імуносупресуючих субстанцій і виділення під їхнім впливом медіаторів імунної відповіді імунокомпетентними клітинами. Припускається, що ефективна корекція імунологічних функцій і залежних від них неімунних процесів може бути досягнута введенням в організм хворих тварин сполук, які здатні впливати на структурну організацію клітинних мембран.

В результаті дослідження морфологічних показників крові в телят відразу після зникнення симптомів ентеропатології, свідчать переважно про відсутність достовірних змін за винятком відносного вмісту еозинофілів і моноцитів (табл. 15).

У цей віковий період телят ще годують молоком, що відіграє важливу роль у формуванні імунного статусу їхнього організму. Молоко містить бактеріостатичні, антитоксичні та противірусні фактори, що пояснює відносну стабільність більшості показників крові у новонароджених тварин. Розвиток еозинопенії в телят може бути наслідком тяжкою інтоксикації організму. Моноцити є джерелом різноманітних тканинних макрофагів і, відповідно, є центральною ланкою мононуклеарної фагоцитарної системи (МФС). Вони також беруть участь у синтезі антитіл. Тому, моноцитоз, який було встановлено у перехворівших тварин, розглядається як відповідь організму на прояв гострих запальних процесів під час клінічного прояву хвороби і вказує на мобілізацію захисних факторів організму. При дослідженні фагоцитозу були визначені ФА, ІФ та інші показники (див. табл. 15).

**Таблиця 15. Морфологічні та імунологічні показники крові за  
ентеропатології телят ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )**

Показник	Контроль	Дослід
Лейкоцити, $10^9/л$	$8,5 \pm 1,2$	$7,8 \pm 0,5$
Нейтрофіли, %, у тому числі:	$35,1 \pm 1,7$	$34,0 \pm 1,4$
паличкоядерні, %	$3,8 \pm 0,5$	$3,5 \pm 0,5$
сегментоядерні, %	$31,3 \pm 1,7$	$30,5 \pm 2,7$
Еозинофіли, %	$4,3 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,2^*$
Базофіли, %	-	-
Лімфоцити, %	$50,2 \pm 3,1$	$53,2 \pm 2,4$
Моноцити, %	$7,8 \pm 0,4$	$11,3 \pm 1,5^*$
Фагоцитарна активність (ФА), %	$37,0 \pm 0,6$	$37,2 \pm 0,5$
Індекс фагоцитозу (ІФ), мк.кл.	$8,4 \pm 0,1$	$8,1 \pm 0,2$
Титр природних антитіл	$1:12,0 \pm 2,5$	$1:12,0 \pm 2,2$

П р и м і т к а. \*–  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно з телятами контрольної групи.

Тенденції щодо змін інших показників або навіть їх відповідність контрольному рівню при тяжкій формі перехворювання на ентеропатологію, насамперед, пояснюються змінами реологічних властивостей крові внаслідок дегідратації організму тварин. Отже, наближення цих показників до рівня контролю є відносним і може мати “прихований” характер щодо справжніх змін функціонального стану організму перехворілих телят.

Клітинні та гуморальні фактори забезпечення резистентного стану організму ссавців пов’язані з функціональною активністю імунокомпетентних клітин.

Лімфоцити периферичної крові часто розглядаються як центральний ланцюг в імунологічних реакціях. Вони є неоднорідною популяцією клітин, яка складається з Т-лімфоцитів (тимусзалежних), що беруть участь у прояві клітинного імунітету та В-лімфоцитів (бурсазалежних), які важливі для функціонування гуморальної ланки імунітету і, так званих, О-клітин.

Т-лімфоцити відіграють провідну роль у протівірусному, протипухлинному та трансплантаційному імунітеті, гіперчутливості повільного типу (ГПТ) і аутоімунних процесах. Їх диференціюють на: Т-кілери, які мають специфічну цитотоксичну активність щодо клітин-мішеней без участі антитіла та комплемента; ТФР-Т-лімфоцити (помічники), які взаємодіють з В-лімфоцитами, стимулюють їх трансформацію у клітини плазматичного ряду (антитілоутворюючі); ТФЧ-Т-лімфоцити, що блокують функцію ТФР-Т-лімфоцитів в імунній реакції і відповідно зумовлюють знижену продукцію антитіл. В-лімфоцити дозрівають у ссавців у кістковому мозку та інших тканинах і органах. Вони є попередниками плазмоцитів, які продукують антитіла і відіграють головну роль у реакціях гуморальної ланки імунітету, а також беруть участь в реакції гіперчутливості негайного типу.

У перехворівших телят здебільшого не виявлено вірогідних змін з переважної більшості імунокомпетентних клітин крові порівняно з контролем (табл. 16), що у разі зникнення клінічних ознак захворювання у тварин є показником адекватного потенціалу адаптаційних можливостей їхнього організму.

Натомість, при оцінці імунного статусу організму тварин важливе значення надається співвідношенню в їх крові ТФР-Т-лімфоцитів до ТФЧ-Т-лімфоцитів. Так, у телят II групи було зафіксовано вірогідне зниження ІРІ на 22 %, що вказує на зниження інтенсивності антитіло утворення і пригнічення гуморальної ланки імунітету. Зазначене може спровокувати вторинний імунодефіцит.

**Таблиця 16. Показники імунокомпетентних клітин крові за диспепсії телят ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )**

Показник	Контроль	Дослід
Абсолютна кількість лімфоцитів, $\times 10^9/\text{л}$	$3,8 \pm 0,5$	$4,5 \pm 0,6$
Т-лімфоцити, %	$40,3 \pm 0,9$	$41,3 \pm 1,0$
В-лімфоцити, %	$18,2 \pm 0,8$	$19,7 \pm 0,4$
О-лімфоцити, %	$41,5 \pm 1,7$	$37,2 \pm 1,8$
Т-активні, %	$6,0 \pm 0,6$	$6,7 \pm 0,5$
ТФР-Т-лімфоцити, %	$28,0 \pm 0,6$	$28,3 \pm 2,3$
ТФЧ-Т-лімфоцити, %	$10,4 \pm 1,2$	$12,4 \pm 1,1$
ІРІ	$2,7 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,2^*$

П р и м і т к а. \* –  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно з телятами контрольної групи.

Зниження ІРІ активності клітинної ланки специфічного захисту організму є показником ряду порушень: у розпізнаванні антигенів і Т-клітинної активації, ефекторної функції у відношенні до В-клітин й ТФЧ-Т-лімфоцитів.

### **3.3 Пероксидне окиснення ліпідів та антиоксидантна система захисту організму за ентеропатології телят**

Організм ссавців активно використовує Оксиген для запасання енергії, насамперед, у вигляді АТФ. В свою чергу, розвиток гіпоксії тканин є фактором активації вільнорадикального і пероксидного окиснення органічних сполук [16–18].

За дефіциту Оксигену в клітинах знижується їх енергетичний потенціал, що призводить до порушення функціонування іонних насосів, які викачують з клітини іони кальцію і натрію, і, як результат, – підвищується вміст іонів

першого в цитозолі. Означене стимулює мембранні фосфоліпази, що проявляється зростанням іонної проникності мітохондріальних мембран і втратою їх бар'єрних властивостей. В результаті, у мітохондріях зменшується продукування енергії у вигляді АТФ, що провокує низку інших негативних наслідків [19], як це показано на схемі (рис. 4).

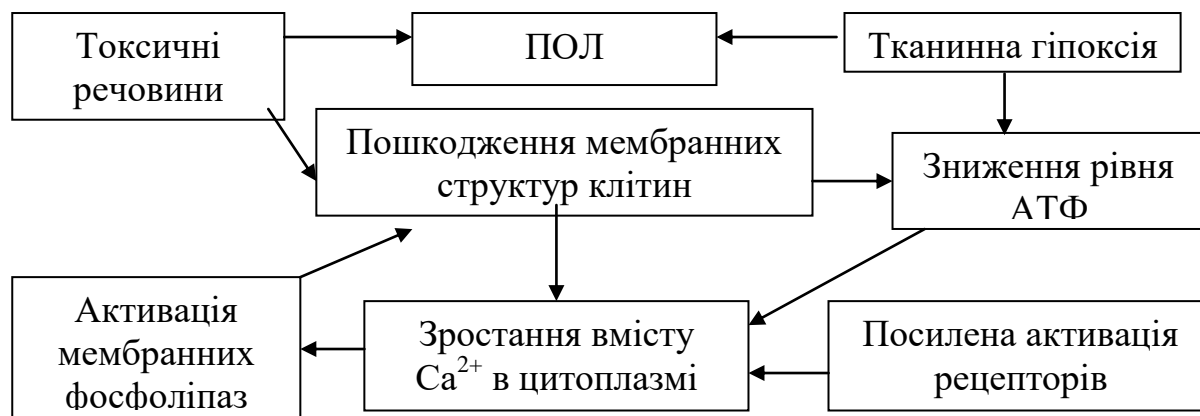


Рис. 4. Схема хибного кола в патології клітини (цитата за [19])

В основі біохімічних механізмів продукування вільних радикалів при потраплянні в організм ссавців ксенобіотиків лежать реакції за участю цитохром Р450-залежних монооксигеназ клітин. Варто відзначити, що в результаті детоксикації за участю цитохрому Р450 відбувається утворення високотоксичних продуктів вільнорадикальної природи під час біотрансформації ксенобіотиків (тетрахлоретан, трийодметан, 1,2-дибром-3-хлорпропан тощо) [20, 51].

Порушення рівноваги у процесах ПОЛ і системи АОЗ, що виникає під час гіперпродукції вільних радикалів або падіння рівня тканинних антиоксидантів, призводить до лавиноподібної реакції переокиснення, яка обертається загибеллю клітин [22, 23].

Пероксидне окиснення ліпідів, як відомо, потрібне для повноцінного функціонування біохімічних і фізіологічних систем, властивих для усіх клітин живих організмів [24, 25]. Продукти ПОЛ (гідрогену пероксиду, гідроксильного радикалу, супероксидного аніон-радикалу, синглетного кисню) є

мембранотоксичні внаслідок їх потужної окисної здатності. Вони викликають окиснення органічних субстратів різноманітної хімічної природи, що обертається функціональними порушеннями ферментативних систем, пошкодженням структури і деформацією клітинних мембран, зниженням їх осмотичної резистентності та електричного потенціалу, окисненням тіолових сполук і SH-груп протеїнів мембран, розривом нуклеїнових кислот, денатурацію білків, пошкодженням амінокислот, вітамінів, деградацію макромолекул сполучної тканини, а також зниженням активності  $\text{Ca}^{2+}$ -залежної АТФази, цитохрому С та інших ензимів шляхом зміни їх субстратної специфічності [26, 27].

Вільні радикали є токсичними для клітини, тому в організмі функціонують захисні механізми, що запобігають прояву їх негативного впливу на клітини. Існують ферментативна та неферментативна ланки детоксикації продуктів ПОЛ. До першої відносяться циклооксигенази та ліпооксигенази. Ферментативна ланка антиоксидантної системи функціонує за такою схемою: СОД утилізує супероксидні радикали в організмі до  $\text{H}_2\text{O}_2$ . У подальшому  $\text{H}_2\text{O}_2$  нейтралізується до  $\text{H}_2\text{O}$  і  $\text{O}_2$  Кат і ГП. Глутатіонпероксидаза і ГР із залученням глутатіону відновлюють гідропероксидази ЖК. Відновлення глутатіону забезпечує ГР. Неферментативна ланка цієї системи залучає іони Феруму та аскорбату в якості відновлювачів (аскорбатзалежне неферментативне ПОЛ). Неферментативні реакції ПОЛ виявляються в усіх видах мембран, ферментативні – тільки в ендоплазматичному ретикулумі клітин [28].

Біотрансформація лікарських речовин і токсинів переважно каталізується ензимами і відбувається в ендоплазматичному ретикулумі гепатоцитів. Нейтралізація біологічно активних речовин, токсинів і лікарських речовин ферментативним шляхом у гепатоцитах проходить у два етапи [29, 30]:

I етап – окисно-відновні реакції: мікросомального окиснення (ароматичне гідроокиснення; дезамінування; дезалкілювання; ациклічне гідроксилування;

сульфоокиснення; реакції відновлення); немікросомального окиснення (гідролізу; окисного дезамінування; окиснення спиртів);

II етап – реакції кон'югації або комплексоутворення: глюкурування; гліцинова кон'югація; ацетилювання [29].

Розрізняють три рівні антиоксидантного захисту: антиоксигенний, антирадикальний та антипероксидний. Антиоксигенний процес відбувається за активної участі дихальних ензимів. Наступна лінія захисту – антирадикальна – забезпечується завдяки СОД, ГР, а також вітамінів А, С, Е, церулоплазмину. Вони інгібують ПОЛ під час взаємодії з вільними радикалами. При цьому, вже утворені пероксиди знищуються за участю ензимів або неферментативно, шляхом зв'язування їх чи включення до метаболізму з наступним руйнуванням і виведенням з організму. Каталаза і ГП здійснюють антипероксидну функцію, яка полягає у розщепленні гідро- і ліпопероксидів, що утворюються в надлишку, чим запобігають автокаталітичному посиленню ПОЛ [25].

Провідну роль у захисті клітин від негативного впливу вільних радикалів відіграє GSH. При токсичному ураженні печінки відмічається інгібування продукції GSH, ГП і ГР внаслідок надлишкового утворення активних форм Оксигену і виснаження потенціалу антиоксидантної системи за розвитку запального процесу. Це свідчить про виснаження відновних еквівалентів і пригнічення антирадикального захисту АОЗ. Насамперед, причиною зниження активності ГП і ГР за uszkodження гепатоцитів пов'язують із порушенням синтезу апоферментів внаслідок деструктивної дії ксенобіотиків на мембрани ендоплазматичного ретикулума і рибосоми. Водночас зниження рівня GSH може бути результатом порушення його синтезу з метіоніну. Зазначений процес є АТФ залежним. Виходячи з цього, при гепатопатології відмічається зменшення потенціалу АТФ і фактично встановлені порушення мітохондріального окиснення відіграють істотну роль у механізмах пригнічення системи ГП [24, 26].



На тлі активації реакцій ПОЛ відмічаються порушення у функціонуванні АОЗ на рівні тканин. Зміни у спроможності організму нейтралізувати токсичні метаболіти активного Оксигену проявляються посиленням вільнорадикальних процесів і пошкодженням клітин. У випадку токсичного ураження внутрішніх органів виявляється пригнічення активності СОД, що може бути результатом надмірного зростання у клітинах концентрації синглетного Оксигену, гідроксильних радикалів, гідропероксидів, що обертається окисненням у структурі ензиму функціональних груп, зокрема тіолових. Посилення ПОЛ у внутрішньоклітинних мембранах гепатоцитів призводить до змін їх ліпідної компоненти. В результаті відмічається структурна перебудова мембран, змінюється їх проникність для різних іонів, що проявляється загибеллю клітин [26].

Таким чином, провідним патогенетичним чинником у виникненні та прогресуванні патологій внутрішніх органів є оксидативний стрес, що супроводжується пошкодженням клітин. Токсичне ураження клітин організму проявляється одночасним пригніченням глутатіонової системи захисту щодо активних форм Оксигену та продуктів ліпопероксидації, накопичення яких відмічається при цій патології. Процеси пероксидації викликають зміни в усіх клітинних структурах, модифікуючи функціональну активність різних ланок внутрішньоклітинного метаболізму. Наявні зміни обумовлюють мозаїчність порушення плинності ліпідної компоненти, підвищення “жорсткості”, утворення каналів проникнення і мікророзривів у різних локусах клітинних мембран, а також відмінності кінетичних властивостей ензимів. Отже, інтенсивність ПОЛ варіює із розвитком патологічного процесу та його проявом.

Як представлено у табл. 17, інтенсивність ПОЛ у нативній крові еритроцитах, лейкоцитах, гранулоцитах, сироватці та її плазмі у телят, хворих на ентеропатологію, посилюється, і, навпаки, антиокисна активність (АОА) ліпідів знижується.

**Таблиця 17. Пероксидне окиснення ліпідів й антиокиснювальна активність крові та її компонентів у дослідних телят,**

**$M \pm m, n = 10$ , цит. за [4]**

Показник	Контроль (здорові)	Телята, хворі на диспепсію
<i>Цільна кров</i>		
Дієнові кон'югати	0,5±0,05	1,1±0,2*
ТБК-активні продукти	0,7±0,03	12,4±1,2*
Антиокисна активність	3710,0±65,0	2850,0±55,0*
<i>Еритроцити</i>		
Дієнові кон'югати	0,65±0,05	1,2±0,2*
ТБК-активні продукти	5,2±0,5	13,4±1,2*
Антиокисна активність	3610,0±25,0	2850,0±25,0*
<i>Лейкоцити</i>		
Дієнові кон'югати	0,8±0,05	1,37±0,25*
ТБК-активні продукти	4,95±0,4	9,2±1,2*
Антиокисна активність	3610,0±0,35	3150,0±25,0*
<i>Сироватка крові</i>		
Дієнові кон'югати	0,8±0,02	1,6±0,2*
ТБК-активні продукти	6,1±0,5	16,5±1,5*
Антиокисна активність	3210,0±22,0	2450,0±24,0*
<i>Плазма крові</i>		
Дієнові кон'югати	0,8±0,04	1,8±0,2*
ТБК-активні продукти	6,4±0,5	17,5±1,5*
Антиокисна активність	3210,0±25,0	2650,0±33,0*
<i>Гранулоцити</i>		
Дієнові кон'югати	0,65±0,05	1,0±0,03*
ТБК-активні продукти	4,8±0,8	9,4±1,2*
Антиокисна активність	3720,0±34,0	3280,0±21,0*

П р и м і т к а: \* $p < 0,05$ , результати достовірні у відношенні до контролю; \*\* $p < 0,05$ , результати достовірні у відношенні до хворих тварин. ДК (дієнові кон'югати), нмоль/мл; ТБК-активні продукти (тіобарбітурової кислоти активні продукти), нмоль/мл; АОО – антиокисна активність,  $\frac{ч \cdot мл}{2}$

У нативній крові вміст ДК підвищується в 2,1 раза. Вміст ТБК-активних продуктів також збільшується у 2,1 раза, тоді як антиокисна активність ліпідів

зменшується майже в 1,3 раза. Подібні зміни зафіксовані з ліпідами еритроцитів. У ліпідах лейкоцитів також простежуються зміни, але менш виражені, ніж у нативній крові й еритроцитах. Зокрема, вміст ДК у лейкоцитах підвищений в 1,9, а ТБК-активних продуктів – у 1,8 раза. Водночас антиокисна активність знижується лише в 1,4 раза. У ліпідах гранулоцитів крові хворих телят рівень ДК збільшується в 1,3 раза, ТБК-активних продуктів – у 1,2 раза, проте антиокисна активність зменшується в 1,1 раза. У ліпідах сироватки і плазми крові зміни інтенсивності пероксидного окиснення та антиокисна активність найвираженіші.

Результати експериментальних досліджень свідчать, що у телят, хворих на ентеропатологію, відмічається порушення гомеостазу в крові, що підтверджується зміною показників як пероксидного окиснення, так й антиокисної активності. Остання в організмі ссавців не менш важлива для регуляції численних біохімічних процесів, ніж імунна, лімфатична та ін.

Відзначені порушення ПОЛ й антиокисної активності в крові та її компонентах, ймовірно, обумовлені надмірним утворенням токсичних продуктів у травному тракті, подальшим їх всмоктуванням із наступною зміною гомеостазу організму хворих тварин.

Отже, у крові здорових телят і її компонентах (еритроцитах, лейкоцитах, гранулоцитах, плазмі і сироватці) вміст ДК і ТБК-активних продуктів відрізняється. Антиокисна активність ліпідів залежить від компонента крові, з якого екстрагуються ліпіди.

При ентеропатології телят відмічається інтенсифікація ПОЛ та інгібування антиокисної активності крові, у т. ч. її компонентів. Ступінь вираженості цих змін визначається природою компонента крові.

Отримані результати вказують (табл. 18), що активність СОД у нативній крові здорових телят становить 1,85 ум. од., а хворих – 0,95, в сироватці – 1,65 і 0,86 відповідно, а у плазмі 1,70 і 0,72 відповідно.

**Таблиця 18. Спероксиддисмутазна активність крові та її компонентів у здорових і хворих на ентеропатологію новонароджених телят, ум.од./мг/Нв (M ± m, n = 10, цит. за [4])**

Кров та її компоненти	Контроль	Телята, хворі на ентеропатологію
Цільна кров	1,85±0,03	0,95±0,05*
Сироватка	1,65±0,05	0,86±0,04*
Плазма	1,70±0,03	0,72±0,02*
Еритроцити	2,35±0,05	1,65±0,05*
Гранулоцити	2,17±0,02	1,05±0,05*
Лейкоцити	2,40±0,02	1,10±0,04*

Примітка: \*p < 0,05, результати достовірні у відношенні до контролю; \*\*p < 0,05, результати достовірні у відношенні до хворих тварин.

В еритроцитах крові здорових телят активність СОД становить 2,35, у хворих – 1,65 ум. од. У гранулоцитах та лейкоцитах здорових телят активність ензиму складає 2,17 та 2,40 ум. од., а у хворих – 1,05 та 1,10 відповідно.

Є статистично ймовірні відмінності активності СОД нативної крові, плазми та сироватки в порівнянні з еритроцитами, лейкоцитами та гранулоцитами як у здорових, так і хворих телят. Отже, нами встановлено, що в крові та її компонентах у телят, хворих на ентеропатологію, знижується активність СОД порівняно зі здоровими.

Суттєве пригнічення активності цього ензиму вказує на важкий перебіг хвороби і неможливість СОД виявляти в повній мірі захисну роль у відношенні супероксидного аніон-радикалу. Зокрема, за патологічних станах легкого та

середнього ступеня СОД виступає як компенсаторна альтернатива активації пероксидного окиснення.

Активність ензиму в цьому разі підвищується і, як результат, зменшується тяжкість перебігу хвороби

Водночас активність СОД залежить від компонента крові і, насамперед, пов'язана зі складом, вмістом та природою ліпідів, що впливає характерним чином на всю систему пероксидного окиснення – антиокиснювальну активність. На тлі істотного зниження активності СОД значно зростає така Кат як в нативній крові хворих телят, так і її компонентах (еритроцитах, лейкоцитах, плазмі та сироватці). Поряд із цим, виявляється зменшення вмісту SH-груп, що доводить тяжкість змін метаболізму за розвитку ентеропатології у новонароджених телят (табл. 19).

Регуляція активності СОД і Кат регулюється всією багатоконпонентною редокс-системою клітини. Інтермедіати окисно-відновного метаболізму НАД(Ф)Н-залежні редокс-ланцюги мітохондрій, ендоплазматичного ретикулуму, які є генераторами  $O_2$ , здатні виконувати триггерну роль; активувати синтез ензиму за умов зростання концентрації донорів електронів або гальмувати його активність при накопиченні акцепторів.

Активність СОД може знижуватися при збільшенні концентрації гідрогену пероксиду, накопиченні сполук, що взаємодіють з іонами металів в активному центрі або впливати на ступінь їх відновленості. Її активність прямо взаємопов'язана з інтенсивністю ПОЛ і залежить від інтенсивності накопичення інтермедіатів останнього. З одного боку, нагромадження токсичних продуктів ПОЛ інгібує активність СОД та інших антиоксидантних ензимів, а з іншого, є адаптаційно-компенсаторною відповіддю на інтенсифікацію пер оксидатії. При цьому система АОЗ повинна активізуватися.

**Таблиця 19. Активність каталази та вміст сульфгідрильних груп крові (у її компонентах) у здорових і хворих на ентеропатологію новонароджених телят, ммоль  $\text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$  білка ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ , цит. за [4])**

Кров та її компоненти	Активність Кат	Кількість SH-груп (ум. од. оптичної щільності)		
		небілкові	білкові	сума
<i>Здорові</i>				
Цільна кров	21,2±0,6	0,76±0,60	1,66±0,20	2,55±0,60
Еритроцити	16,4±0,2	0,54±0,02	1,00±0,03	1,54±0,50
Лейкоцити	16,6±0,5	0,62±0,04	1,02±0,02	1,64±0,06
Плазма	22,3±1,2	0,80±0,02	1,70±0,30	2,90±0,50
Сироватка	26,0±1,2	0,86±0,20	1,66±0,20	2,52±0,50
<i>Хворі</i>				
Нативна кров	67,9±6,0*	0,49±0,06*	0,56±0,06*	1,05±0,12*
Еритроцити	92,4±4,0*	0,46±0,04*	0,82±0,06*	1,28±0,11*
Лейкоцити	98,6±9,0*	0,52±0,04*	0,82±0,06*	1,34±0,11*
Плазма	69,4±6,0*	0,51±0,03*	0,59±0,03*	1,10±0,05*
Сироватка	72,6±6,2*	0,46±0,03*	0,58±0,06*	1,04±0,09*

П р и м і т к а. \*  $p < 0,05$ , результати достовірні у відношенні до хворих тварин.

Регуляторну дію у відношенні активності СОД виявляє глутатіон, цистеїн, інші SH-вмістні сполуки, а також опосередковано ензимами АОС. Так, встановлено підвищення активності Cu, Zn-СОД у печінці щурів *in vitro* при введенні GSH, цистеїну та інших сполук, що містять сульфгідрильні групи. Зазначені зміни активності ензиму, можливо, пов'язані з відновленням  $\text{Cu}^{2+}$  SH-сполуками.

Активність СОД також регулюється за участі нейрогуморальних механізмів організму. Зростання вмісту нейромедіаторів й викид гормонів, зокрема естрогенів, інсуліну, глюкагону істотно впливає на біосинтез і деградацію ензиму [31]. Зміни у регуляції синтезу та активності СОД можуть виникати при накопиченні  $O_2^-$ , інших активних форм Оксигену та пероксидів ліпідів, які, в свою чергу, призводять до порушення структурної та функціональної організації клітинних мембран, їх проникності та іонного дисбалансу, пошкодження ДНК, мутагенезу, порушення біосинтезу протеїну тощо.

Регуляція активності Кат вивчена в аеробних мікроорганізмів і відбувається на рівні транскрипції за позитивним принципом. В якості індуктора різних оперонів (охі, kat) використовується  $H_2O_2$  та молекулярний Оксиген. Гідроген пероксиду індукує синтез 33 протеїнів, які забезпечують підвищення резистентності клітин до впливу зростаючих концентрацій цього окисника. Ці протеїни входять до складу регулону охуR. Зокрема, протеїн охуR є чутливим сенсором щодо підвищення у середовищі вмісту гідрогену пероксиду. Він відноситься до родини активаторів транскрипції Lis R [32]. Цей протеїн існує у двох формах – окисненій і відновленій. Але лише окиснена форма активує транскрипцію. За фізіологічних умов у цитозолі охуR є у відновленому (неактивному) стані. У відповідь на збільшення концентрації гідрогену пероксиду відзначається окиснення цистеїну охуR у положенні 199, а з часом другого залишку цистеїну в положенні 208.

Утворення між згаданими залишками цистеїну внутрішньомолекулярного дисульфідного зв'язку зумовлює конформаційні зміни, які активують транскрипційний фактор охуR, що зв'язується зі специфічними ділянками ДНК та призводить до експресії ефекторних генів. Передбачено, що у клітинах еукаріот активність Кат регулюється також шляхом впливу субстрату на транскрипцію структурних генів. Проте точний механізм залишається невідомим.

#### 4 ФОСФОЛІПІДИ І ЖИРНІ КИСЛОТИ ЛІПІДІВ КРОВІ ТА ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ТВАРИН ЗА ТОКСИЧНОЇ ДІЇ НА ОРГАНІЗМ КСЕНОБІОТИКІВ

У досліді були використані самки перепелів породи Фараон. Експеримент починався з одномісячного віку птиці в масі  $190 \pm 5$  г. Перепелам згодовувався комерційний комбікорм для дорослої дичини із розрахунку 30 г на одну голову на добу. Доступ птиці до води – вільний. Перепелів було поділено на три групи: контрольну та дві дослідні по 5 особин у кожній. Контрольній групі (К) птиці згодовували комбікорм, вільний від ОТА. Перепелам першої дослідної групи ( $D_1$ ) згодовували комбікорм із додаванням стандартного зразку ОТА в дозі  $150 \pm 10$  мкг/кг, а другій ( $D_2$ ) –  $300 \pm 10$  мкг/кг. Комбікорм перепелам згодовували без зміни дози токсину та маси корму. Перед відбором крові птицю витримували на 18-годинному голодуванні, з вільним доступом до води. Кров відбирали з підкрильцевої вени на 0-ву, 7-, 14-, 21-, 42- та 63-тю доби життя птиці і стабілізували гепарином. Кров відразу відправляли в лабораторію не піддаючи її охолодженню.

Підготовка комбікорму для експерименту. Стандартний зразок ОТА (*Petromyces albertensis*,  $\geq 98\%$ , «Sigma») розводився в 95 % етиловому спирті в концентрації  $0,5 \text{ мг/см}^3$  і рівномірно з допомогою розпилювача наносився на шар комбікорму. Після випаровування спирту комбікорм перемішувався.

Визначення вмісту охратоксину А в плазмі крові. Для виділення ОТА з плазми крові використовували імуноафінні колонки (Ochraperp<sup>®</sup>) [74]. Суть методу полягає в тому, що  $1 \text{ см}^3$  сироватки крові екстрагували  $10 \text{ см}^3$  розчину ортофосфорної кислоти з додаванням натрію хлориду та дворазовим додаванням хлороформу, який поетапно переносився в колбу та випаровувався за допомогою нітрогену. Сухий залишок розводився розчином фосфатно-сольового буферу з 5 % вмістом ацетонітрилу та пропускався крізь імуноафінну колону. З колонки ОТА елюювався в кілька етапів розчином оцтової кислоти з



метанолом та 100 % метанолом, після чого випарювався до сухого залишку. Сухий залишок розчиняли в ацетонітрилі та проводили аналіз за допомогою ВЕРХ, як наведено вище для комбікорму.

Плазму крові відділяли за допомогою центрифугування на центрифугі типу «Eppendorf» (Німеччина), протягом 5 хв при 13 тис об/хв. Ліпіди екстрагували з плазми крові за методикою Blight E. G. і Dyer W. J. [1]. До отриманих ліпідів додавали розчин суміші хлороформ-метанол (2:1) в такій кількості, щоб отримати 3 % розчин ліпідів, який використовували для розділення загальних ліпідів на тонкошарових платівках «Sorbfil» (Росія).

Для розділення загальних ліпідів на фракції були використані тонкошарові платівки розміром 15x15 см з алюмінієвою підкладкою. На стартову лінію наносили плями розчину ліпідів, кожна з яких містила в середньому від 700 до 900 мкг ліпідів. Платівку з підсушеними плямами ліпідів поміщали в герметично закриті хроматографічні камери, в яких містилася суміш гексан-діетиловий етер-оцтова кислота (90:10:1). Після проходження розчинника платівку підсушували і обробляли парами йоду, які зафарбовували ліпіди в коричневий колір. Ліпіди плазми крові у використаній системі розчинників розділялися наступним чином: на старті знаходилася загальна фракція ФЛ, далі фракція ХС, вільні жирні кислоти (ВЖК), діацилгліцероли (ДАГ), ТАГ і естерифікований холестерол (ЕХС) [2].

#### **4.1 Фосфоліпідний склад плазми крові перепелів за дії мікотоксину (кормового охратоксину А)**

Метаболічні перетворення мікотоксинів здійснюються шляхом окиснення, відновлення або гідролізу за участі відповідних ензимів. У результаті метаболічних перетворень в структурі мікотоксинів з'являються нові функціональні групи, знижується їх токсичність, а молекула мікотоксину стає більш полярною. Полярні форми мікотоксинів мають меншу розчинність і

легше виводяться з організму. Однак як і інші ксенобіотики, окремі мікотоксини в процесі метаболічних перетворень можуть набувати більшої токсичності. Це явище має назву метаболічної активації (летальний синтез) [3].

Основні метаболічні перетворення мікотоксинів каталізуються монооксигеназами, що локалізовані у мембранах ендоплазматичної сітки.

Основними продуцентами охратоксинів є гриби *Aspergillus ochraceus* та *Penicillium viridicatum*. Окрім них, здатність продукувати охратоксини виявлена у *A. sulfureus*, *A. sclerotiorum*, *A. alliaceus*, *A. melleus*, *A. ostianus*, *A. petrakii*, *P. purpurescens*, *P. commune*, *P. palitans*, *P. cyclopium*, *P. variabile* та *P. verruculosum* [4].

За хімічною будовою охратоксини є ізокумаринами, що зв'язані пептидним зв'язком з L-фенілаланіном.

Найчастіше, як природний забруднювач кормів та харчових продуктів, виявляється охратоксин А (ОТА), в окремих випадках – охратоксин В (ОТВ).

Як природні забруднювачі кормів та продуктів харчування охратоксини виявляють у кукурудзі, пшениці, ячмені, вівсі, житі та комбікормах. У Данії, в районах з високою частотою захворюваності свиней на нефропатію, до 58 % зразків досліджуваного ячменю містили охратоксин А в кількості 28–27500 мкг/кг. До 53 % досліджуваних зразків кормового зерна Канади (ячменю, пшениці, вівса, кукурудзи, жита) містили від 30 до 2700 мкг/кг охратоксинів, у Югославії – 5125 мкг/кг, Польщі – до 1200 мкг/кг, Австрії – до 600 мкг/кг. Їх також виявляли у бобах, рисі, сорго, арахісі, зернах кави.

Метаболізм ОТА був широко вивчений лабораторією Стормера за останні 25 років [5], використовуючи *in vitro* і *in vivo* дослідження печінки різних тварин [6]. Як відомо, інкубація ОТА *in vitro* в присутності мікросом або клітинних ліній з ОТА призводить до утворення принаймні 20 похідних [7].

Біотрансформація ОТА на похідні особливо важлива, оскільки період напіврозпаду і шлях виведення залежить від метаболітів [8]. Найбільш токсичним є ОР-ОТА (відкритий кільцевий лактон) [9].

У дослідях, проведених з використанням лабораторних тваринах та свиней, встановлено, що після всмоктування охратоксин А локалізується, перш за все, у нирках, печінці, міокарді та жировій тканині. У печінці та нирках його виявляли протягом 14 діб після введення.

Токсичність ОТА коливається в широких межах, залежно від виду тварини, статі та шляху введення. LD<sub>50</sub> за перорального введення в діапазонах від 0,2 мг/кг маси тіла у собак до 30,3 мг/кг у самців щурів (самки більш чутливіші). ОТА є токсичнішим при внутрішньочеревному введенні, ніж пероральному. Di Paolo et al. [10] описали випадок гострої інтоксикації в людини з олігурією та тубулярним некрозом, які можуть бути викликані вдиханням *Aspergillus ochraceus*.

Охратоксин А дуже токсичний для багатьох видів тварин. При цьому нирки є основним органом-мішенню [11]. Токсичні ефекти спостерігаються також у відношення серця і печінки, що супроводжуються відхилення факторів згортання крові у щурів, кровотечею і тромбозом у селезінці, мозку, печінці, нирках і серці, ураженням шлунково-кишкового тракту і лімфоїдної тканини в хом'яків, мієлотоксичністю у мишей та кишковою крихкістю і ураженням нирок у курей. Prior et al. [12] відзначили, що в курей, яких годували забрудненим кормом на рівні 0,5 мг/кг ОТА, знижується споживання корму. При годуванні птиці ОТА із забрудненістю 2 мг/кг, з'являються ознаки охратоксикозу (втрата ваги, зниження яєценоскості, збільшення водозабору, діарея, і надмірне виділення сечі, яке характерне для ниркових розладів), відзначалися також гематологічні зміни. За навантаження 4 мг/кг ОТА, смертність різко зростала. Naazele співавт. [13] встановили, що вітамін С мав лікувальний вплив на курей, яким згодовували корм з вмістом ОТА.

Для охратоксинів доведена ембріотоксична та тератогенна дії на мишах, щурах, хом'яках та курячих ембріонах. Охратоксини також мають канцерогенну дію. Пухлини найчастіше зустрічаються у нирках та печінці [14].

Біохімічні ефекти та молекулярні і клітинні механізми дії охратоксинів вивчені недостатньо. В експериментах *in vitro* та *in vivo* на мікроорганізмах і тваринах встановлено, що охратоксини мають здатність інгібувати синтез РНК і білка, викликати порушення обміну вуглеводів, що призводить до збільшення вмісту глікогену в печінці та зниження процесу згортання крові. Останнє відбувається за рахунок зниження рівнів фібриногену та факторів II, V, VII і X згортання крові.

Охратоксини мають здатність зв'язуватись з альбумінами сироватки крові. Вважають, що такі сполуки утворюються за рахунок гідрофобних та іонних зв'язків. Порушення синтезу білка є наслідком пригнічення процесу аміноацилювання фенілаланін-т-РНК. Порушення обміну вуглеводів проявляється зростанням рівня глікогену в печінці. Цей процес відбувається на тлі зниження активності фосфорилази за одночасного збереження активності гексокінази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Порушення глюконеогенезу встановлено також у нирках, як наслідок зниження активності ключового ферменту фосфоенолпіруваткарбоксилази. Охратоксин А порушує транспорт електронів у дихальному ланцюзі та процеси окисного фосфорилування. Крім того вважають, що причиною нефротоксичної дії охратоксинів може бути підвищення рівня Кальцію у клітинах нирок.

Охратоксини, зокрема охратоксин А, належать до сильнодіючих отруйних речовин.  $DL_{50}$  охратоксину А для більшості тварин та птиці за різних шляхів введення становить від 3,5 до 70 мг/кг маси тіла, зокрема для щурів – 32 мг/кг м.т., для одноденних курчат – 2–4 мг/кг, для трьохденних курчат – 3,6 мг/кг, для індичок – 5 мг/кг, для кіз – 3 мг/кг, для корів – 13 мг/кг маси тіла. Для каченят  $DL_{50}$  ОТА становить 150 мг/кг маси тіла. Встановлено, що МДР ОТА у кормах, що не виявляє токсичного впливу на курчат-бройлерів, становить 0,3; для курей-несучок – менше 0,5; для свиней – менше 0,2 мг/кг.

Найбільш чутливими до нефротоксичного впливу охратоксинів вважаються свині, кури та собаки. Тому мікотоксикоз, що обумовлюється

охратоксинами, отримав назву “нефропатія свиней” або датська чи балканська нефропатія.

В досліді були використані самки перепелів породи Фараон. Експеримент починався з одномісячного віку птиці в масі  $190 \pm 5$  г. Перепелам згодовувався комерційний комбікорм для дорослої дичини із розрахунку 30 г на одну голову на добу. Доступ птиці до води – вільний. Перепелів було поділено на три групи: контрольну та дві дослідні по 5 особин у кожній. Контрольній групі (К) згодовували комбікорм, вільний від ОТА. Перепелам першої дослідної групи ( $D_1$ ) згодовували комбікорм, з додаванням стандартного зразку ОТА в дозі  $150 \pm 10$  мкг/кг, а другій ( $D_2$ ) –  $300 \pm 10$  мкг/кг. Комбікорм перепелам згодовували без зміни дози токсину та маси корму. Перед відбором крові птицю витримували на 18-годинному голодуванні, з вільним доступом до води. Кров відбирали з підкрильцевої вени на 0-ву, 7, 14, 21, 42 та 63-тю доби життя птиці і стабілізували гепарином. Кров відразу відправляли в лабораторію не піддаючи її охолодженню.

Підготовка комбікорму для експерименту. Стандартний зразок ОТА (*Petromyces albertensis*,  $\geq 98$  %, «Sigma») розводився в 95 % етиловому спирті в концентрації  $0,5$  мг/см<sup>3</sup> і рівномірно з допомогою розпилювача наносився на шар комбікорму. Після випаровування спирту комбікорм перемішувався.

*Визначення вмісту охратоксину А в плазмі крові.* Для виділення ОТА з плазми крові використовували імуноафінні колонки (Ochrapprep<sup>®</sup>) [15]. Суть методу полягає в тому, що 1 см<sup>3</sup> сироватки крові екстрагуємо 10 см<sup>3</sup> розчину ортофосфорної кислоти з додаванням хлориду натрію та дворазовим додаванням хлороформу, який поетапно переносився в колбу та випаровувався за допомогою азоту. Сухий залишок розводився розчином фосфатно-сольового буферу з 5 % вмістом ацетонітрилу та пропускався крізь імуноафінну колону. З колонки ОТА елюювався в кілька етапів розчином оцтової кислоти з метанолом та 100 % метанолом, після чого випарювався до сухого залишку. Сухий

залишок розчиняли в ацетонітрилі та проводили аналізування за допомогою ВЕРХ як наведено вище для комбікорму.

Виділення ліпідів плазми крові. Плазму крові відділяли за допомогою центрифугування на центрифусі типу Eppendorf (Німеччина), протягом 5 хв при 13 тис об/хв. Ліпіди екстрагували з плазми крові за методикою Blight E. G. і Dyer W. J. [1]. До отриманих ліпідів додавали розчин суміші хлороформ-метанол (2:1) в такій кількості, щоб отримати 3 % розчин ліпідів, який використовували для розділення загальних ліпідів на тонкошарових платівках «Sorbfil» (Росія).

Розділення ліпідів тонкошаровою хроматографією. Для розділення загальних ліпідів на фракції були використані тонкошарові платівки розміром 15x15 см з алюмінієвою підкладкою. На стартову лінію наносили плями розчину ліпідів, кожна з яких містила в середньому від 700 до 900 мкг ліпідів. Платівку з підсушеними плямами ліпідів поміщали в герметично закриті хроматографічні камери, в яких містилася суміш гексан-діетиловий етер-оцтова кислота (90:10:1). Після проходження розчинника платівку підсушували і обробляли парами йоду, які зафарбовували ліпіди в коричневий колір.

Зафарбовані плями ліпідів відмічали простим олівцем і звільняли від парів йоду. Плями ліпідів з платівки зішкрібали в пронумеровані пробірки.

У дослідах на перепелах нами встановлено, що вміст загальних фосfolіпідів (ЗФЛ) у плазмі їх крові за дії кормового охратоксину А вірогідно змінюється (табл. 20).

Зокрема, з віком вміст ЗФЛ має тенденцію знижуватися в контрольній та Д<sub>1</sub> (згодовували корм з вмістом 150±10 мкг/кг ОТА) групах, тоді як в Д<sub>2</sub> групі (згодовували корм з вмістом 300±10 мкг/кг ОТА) незначне зниження відбувається лише на 63-тю добу.

Встановлено, що вміст ЗФЛ у плазмі крові птиці в Д<sub>1</sub> групі на 14- та 21-шу доби підвищується на 4 %, 42-гу – на 5 % та 63-тю – на 6 %, а в Д<sub>2</sub> групі

на 14-ту добу підвищується на 5 %, 21-шу – на 7 %, 42-гу – на 10 % та 63-тю – на 9 % порівняно з контрольною групою.

Таким чином, вплив кормового охратоксину А в концентраціях 150 і 300 мкг/кг комбікорму призводить до руйнування клітинних мембран з виділенням у кров індивідуальних ФЛ.

**Таблиця 20. Вміст загальних фосфоліпідів у плазмі крові перепелів за дії кормового охратоксину А, %,  $M \pm m$ , n = 5**

Група	14-та доба	21-ша доба	42-га доба	63-тя доба
Контроль	41,36±0,05	40,39±0,06	39,34±0,03	39,15±0,02
Д <sub>1</sub>	42,92±0,03*	42,12±0,11*	41,33±0,01*	40,91±0,02*
Д <sub>2</sub>	43,50±0,13*	43,34±0,05*	43,44±0,07*	43,09±0,09*

П р и м і т к а. \* $p < 0,05$ , результати достовірні відносно контрольної групи (тут і далі у табл. 21–25).

Дослідження ФЛ-спектру плазми крові перепелів за дії кормового охратоксину А показало, що їх якісний склад не змінюється і містить п'ять фракцій: фосфатидилхолін (ФХ), фосфатидилетаноламін (ФЕ), сфінгомієлін (СМ), фосфатидилсерин (ФС) і фосфатидилінозитол (ФІ).

Виявлено, що вміст ФХ у плазмі крові перепелів за дії кормового ОТА з віком майже не змінюється (табл. 21).

Встановлено, що вміст ФХ плазми крові в Д<sub>1</sub> і Д<sub>2</sub> групах птиці з 14-ої по 63-тю добу експерименту підвищується на 1–3 % порівняно з контрольною групою.

**Таблиця 21. Вміст фосфатидилхоліну в плазмі крові перепелів за дії  
кормового охратоксину А, %, М ± m, n = 5**

Група	14-та доба	21-ша доба	42-га доба	63-тя доба
Контроль	56,05±0,13	56,16±0,10	56,19±0,12	56,24±0,17
Д <sub>1</sub>	57,9±0,17*	57,69±0,20*	57,52±0,17*	57,82±0,14*
Д <sub>2</sub>	57,38±0,11*	56,86±0,16*	57,08±0,14*	57,22±0,17*

Таким чином, вплив кормового ОТА в концентраціях 150 та 300 мкг/кг комбікорму призводить до незначного підвищення вмісту ФХ у плазмі крові перепелів.

Виявлено, що вміст ФЕ в плазмі крові перепелів за дії кормового ОТА з віком майже не змінюється (табл. 22).

**Таблиця 22. Вміст фосфатидилетаноламіну в плазмі крові перепела за дії  
кормового охратоксину А, %, М ± m, n = 5**

Група	14-та доба	21-ша доба	42-га доба	63-тя доба
Контроль	12,20±0,13	12,78±0,22	13,01±0,11	12,81±0,08
Д <sub>1</sub>	12,92±0,11*	13,76±0,11*	13,58±0,16*	13,47±0,11*
Д <sub>2</sub>	13,29±0,13*	13,93±0,26*	13,82±0,20*	13,67±0,13*

Встановлено, що вміст ФЕ в плазмі крові птиці Д<sub>1</sub> групи на 14-ту добу на 5 % вірогідно підвищувався, на 21-шу – на 7 %, на 42-гу – 4 % та 63-тю – на 5 %, а в Д<sub>2</sub> групі на 14-ту добу – на 8 %, 21-шу – на 8 %, на 42-гу – на 6 % та 63-тю – на 6 % порівняно з контрольною групою.

Таким чином, вплив кормового ОТА в концентраціях 150 і 300 мкг/кг комбікорму призводить до підвищення вмісту ФЕ в плазмі крові перепелів.

Виявлено, що вміст СМ в плазмі крові перепелів за дії кормового ОТА з віком майже не змінюється (табл. 23).



Встановлено, що вміст СМ плазми крові в Д<sub>1</sub> групі птиці на 14-ту добу на 9 % вірогідно підвищувалася, на 21-шу – на 8 %, на 42-гу – 8 % та 63-тю – на 6 %, а в Д<sub>2</sub> групі на 14-ту добу – 14 %, 21-шу – на 11 %, на 42-гу – на 14 % та 63-тю – на 14 % порівняно з контрольною групою.

Таким чином, вплив кормового ОТА в концентраціях 150 та 300 мкг/кг комбікорму призводить до вірогідного підвищення вмісту СМ в плазмі крові перепелів залежно від дози мікотоксину в комбікормі. Слід відмітити, що в групі Д<sub>2</sub> перепелів з 14- до 63-ої доби зниження вмісту СМ у плазмі крові не відбувається.

**Таблиця 23. Вміст сфінгомієліну в плазмі крові перепелів за дії кормового охратоксину А, %, М ± m, n = 5**

Група	14-та доба	21-ша доба	42-га доба	63-тя доба
Контроль	17,33±0,12	17,54±0,18	17,56±0,12	17,64±0,11
Д <sub>1</sub>	19,00±0,14*	19,07±0,20*	19,04±0,14*	18,77±0,07*
Д <sub>2</sub>	20,07±0,16*	19,77±0,23*	20,32±0,14*	20,58±0,17*

Виявлено, що вміст ФС у плазмі крові перепелів за дії кормового ОТА змінюється залежно від періоду росту птиці (табл. 24).

**Таблиця 24. Вміст фосфатидилсерину в плазмі крові перепела за дії кормового охратоксину А, %, М ± m, n = 5**

Група	14-та доба	21-ша доба	42-га доба	63-тя доба
Контроль	8,60±0,12	9,20±0,15	8,64±0,15	8,20±0,07
Д <sub>1</sub>	6,73±0,10*	6,63±0,13*	6,82±0,10*	6,64±0,19*
Д <sub>2</sub>	6,21±0,12*	6,19±0,19*	6,13±0,04*	6,15±0,10*

Встановлено, що вміст ФС в плазмі крові птиці Д<sub>1</sub> групи на 14-ту добу вірогідно знижується на 22 %, на 21-шу – на 28 %, на 42-гу – 21 % та 63-тю – на

19 %, а в Д<sub>2</sub> групі на 14-ту добу – 28 %, 21-шу – на 33 %, 42-гу – на 29 % та 63-тю – на 25 % порівняно з контрольною групою.

Таким чином, вплив кормового ОТА в концентраціях 150 і 300 мкг/кг комбікорму призводить до вірогідного зниження вмісту ФС в плазмі крові перепелів залежно від дози мікотоксину в комбікормі.

Виявлено, що вміст ФІ в плазмі крові перепелів за дії кормового ОТА змінюється залежно від періоду росту птиці (табл. 25).

**Таблиця 25. Вміст фосфатидилінозитулу в плазмі крові перепелів за дії кормового охратоксину А, %, М ± m, n = 5**

Група	14-та доба	21-ша доба	42-га доба	63-тя доба
Контроль	5,91±0,14	6,05±0,08	5,90±0,07	5,72±0,10
Д <sub>1</sub>	4,88±0,12*	4,54±0,17*	4,42±0,08*	4,16±0,05*
Д <sub>2</sub>	3,65±0,09*	3,80±0,10*	3,68±0,07*	3,50±0,11*

Встановлено, що вміст ФІ в плазмі крові птиці Д<sub>1</sub> групи на 14-ту добу вірогідно знижується на 17 %, на 21-шу – на 23 %, на 42-гу – 25 % та 63-тю – на 28 %, а в Д<sub>2</sub> групі на 14-ту добу – 38 %, 21-шу – на 37 %, 42-гу – на 38 % та 63-тю – на 39 % порівняно з контрольною групою.

Таким чином, вплив кормового ОТА в концентраціях 150 і 300 мкг/кг комбікорму призводить до вірогідного зменшення вмісту ФІ в плазмі крові перепелів залежно від дози мікотоксину в комбікормі.

## 4.2 Жирні кислоти ліпідів плазми крові перепелів за дії охратоксину

### А в низьких дозах у комбікормі

#### *Вміст жирних кислот ліпідів плазми крові перепелів контрольної групи*

У результаті дослідження вмісту жирних кислот (ЖК) ліпідів у плазмі крові перепелів контрольної групи було встановлено 14 представників, із яких п'ять – насичених (14:0, 16:0, 17:0, 18:0, 21:0) і дев'ять ненасичених (16:1 n-9, 18:1 n-9, 18:2 n-6, 18:3 n-6, 20:1 n-11, 20:2, 22:1 n-11, 22:6 n-3, 24:1 n-9,) (табл. 26).

**Таблиця 26. Відсотковий вміст жирних кислот ліпідів крові у перепелів контрольної групи  $M \pm m$ , n = 5**

№ п/п	ЖК	Період досліду (діб)			
		14	21	42	63
1	14:0	4,76±0,55	2,95±0,27	1,93±0,31	1,72±0,16
2	16:0	26,41±1,21	25,13±0,54	32,41±0,82	27,15±2,05
3	16:1 n-9	2,22±0,11	1,93±0,15	3,06±0,33	3,60±0,45
4	17:0	0,40±0,05	0,19±0,01	0,18±0,02	0,15±0,03
5	18:0	19,17±0,96	20,25±1,35	12,18±0,26	11,27±0,15
6	18:1 n-9	25,61±1,52	20,92±1,27	34,26±2,82	35,23±2,55
7	18:2 n-6	12,14±0,57	20,11±1,45	8,63±0,56	13,79±0,43
8	18:3 n-6	1,65±0,14	1,01±0,15	0,89±0,16	0,77±0,14
9	20:1 n-11	0,63±0,21	0,23±0,07	0,15±0,03	0,13±0,04
10	20:2	0,22±0,02	0,82±0,09	0,25±0,04	0,19±0,03
11	21:0	0,09±0,01	0,20±0,04	0,08±0,02	0,08±0,02
12	22:1 n-11	5,08±0,12	4,37±0,14	4,44±0,18	4,23±0,24
13	22:6 n-3	1,26±0,24	1,63±0,32	1,33±0,39	1,55±0,41
14	24:1 n-9	0,36±0,12	0,26±0,05	0,21±0,04	0,14±0,05

Експеримент тривав з 14-ої до 63-ої доби. За цей період вміст 14:0 ЖК характеризувався тенденцією до зниження. Так, на 21-шу добу досліду її вміст знизився на 38 %, на 42-гу – на 59 % та на 63-тю добу – на 64 % порівняно з 14-ою добою.

Вміст 16:0 ЖК на 21-шу добу знизився на 5 %, а на 42-гу добу підвищився 22,7 %, на 63-тю добу встановлено незначне підвищення вмісту пальмітинової жирної кислоти на 2,8 % порівняно з 14-ою добою досліду.

Вміст пальмітоолеїнової жирної кислоти (16:1 n-9) у плазмі крові перепелів на 21-шу добу характеризувався зменшенням на 13,1 %, на 42-гу підвищенням на 38 %, на 63-тю добу – значним підвищенням (на 62,1 %) порівняно з 14-добовим періодом.

Рівень у плазмі крові перепелів 17:0 ЖК упродовж всього періоду відрізнявся підвищенням на 53–54 %.

Вміст у плазмі крові перепелів C18:0 ЖК на 21-шу добу досліду відзначався тенденцією до підвищення (на 6 %) порівняно з результатами 14-добового періоду дослідження, а на 42-гу і 63-тю добу дослідження вміст стеаринової кислоти (18:0) знижувався на 36,4 і 41 %.

Концентрація олеїнової мононенасиченої кислоти (18:1 n-9) у плазмі крові птиці на 21-шу добу була менше на 18,3 %, а на 42-гу – вище на 34 %, а на 63-тю добу досліду встановлено підвищення її вмісту на 37,5 %.

Лінолева кислота (18:2 n-6) відзначалася підвищенням вмісту в плазмі крові перепелів контрольної групи на 21-шу добу на 65,6 %, а на 42- і 63-тю доби спостерігалось зменшення концентрації відповідно на 29 і 13,5 % порівняно з 14-ою добою експерименту.

Вміст 18:3 n-6 ЖК у плазмі крові перепелів на 21-шу добу досліду значно знижений порівняно з 14-ою, на 42-гу добу – зниження концентрації цієї ЖК становить на 46 %, а на 63-тю – на 53 %.

Вміст 20:1 n-11 ЖК впродовж експерименту зазнавав зниження. Так, на 21-шу добу – на 63 %, на 42-гу – на 76 %, на 63-тю – на 79 % порівняно з 14-ою добою експерименту..

Концентрація у плазмі крові 21:0 ЖК значно підвищувалась на 21-шу добу – на 122 %. На 42- і 63-тю вміст генейкозанової кислоти знижувався на 11 % порівняно з 14-ою добою експерименту.

Вміст 20:2 ЖК у плазмі крові перепелів на 21-шу добу дослідження підвищувався на 3 % порівняно з 14-ою добою, на 43-тю добу спостерігали незначне зростання на 13 %, а на 63-тю – зменшення концентрації ейкозадієнової кислоти на 14 %.

Порівняно з 14-ою добою експерименту, вміст 22:1 n-11 ЖК в плазмі крові перепелів на 21-шу, 42- і 63-тю добу знижувався на 14 %, 12,5 і на 16,7 %.

Вміст нервонової кислоти (24:1 n-9) також стабільно знижувався, на 21-шу добу – на 27 %, 42-гу добу – на 41 %, 63-тю добу – на 66 %.

Концентрація докозангексаєнової кислоти (22:6 n-3) у плазмі крові перепелів протягом періоду досліду відзначалася вищими показниками порівняно з 14-ою добою досліду. Так, на 21-шу добу вміст ЖК підвищувався на 29 %, на 42-гу – на 5,5 %, а на 63-тю добу – 23 %.

### ***Вміст жирних кислот у крові перепелів дослідної групи***

У результаті дослідження ЖК ліпідів плазми крові перепелів дослідної групи встановлено наявність 14 ЖК, із яких п'ять є насиченими (14:0, 16:0, 17:0, 18:0, 21:0) і дев'ять ненасиченими (16:1 n-9, 18:1 n-9, 18:2 n-6, 18:3 n-6, 20:1 n-11, 20:2, 22:1 n-11, 22:6 n-3, 24:1 n-9) (табл. 27).

В експерименті перепела дослідної групи перебували впродовж 63-х діб. На 21-шу добу вміст ЖК (14:0) у плазмі крові перепелів знижувався на 12,4 %, на 42-гу – на 18,2 % та на 63-тю – на 50 % порівняно з 14-ою добою досліду.

**Таблиця 27. Відсотковий вміст жирних кислот ліпідів крові дослідної групи перепела  $M \pm m$ ,  $n = 5$**

№ п/п	ЖК	Період досліду (діб)			
		14	21	42	63
1	14:0	2,58±0,35	2,26±0,28*	2,11±0,24	1,27±0,11*
2	16:0	29,13±1,92	26,77±1,05*	31,20±0,94*	27,72±1,54
3	16:1 n-9	2,19±0,56	1,72±0,44	3,90±0,24*	3,40±0,62
4	17:0	0,22±0,02	0,16±0,02	0,23±0,04	0,17±0,03
5	18:0	19,91±2,35*	20,27±2,56	16,45±0,86*	11,63±0,17*
6	18:1 n-9	25,60±2,56	18,81±1,44*	31,49±3,05	36,02±3,12
7	18:2 n-6	11,19±0,65*	20,34±2,12	7,05±0,84*	12,58±0,52*
8	18:3 n-6	1,27±0,27*	0,93±0,14	0,75±0,11	0,52±0,08*
9	20:1 n-11	0,32±0,03	0,14±0,02	0,09±0,03	0,06±0,01
10	20:2	0,25±0,02	0,80±0,03	0,17±0,04	0,16±0,03
11	21:0	0,12±0,01	0,15±0,01	0,04±0,01	0,06±0,01
12	22:1 n-11	5,66±0,15*	5,92±0,46	5,22±0,42*	4,69±0,18*
13	22:6 n-3	1,21±0,15	1,47±0,18	1,28±0,12	1,59±0,16
14	24:1 n-9	0,35±0,05	0,26±0,04	0,02±0,01	0,13±0,03

П р и м і т к а : \*  $p < 0,05$ , результати достовірні відносно контрольної групи.

Вміст пальмітинової кислоти (16:0) у плазмі крові перепелів на 21-шу добу знижувався на 8 %, на 43-тю – підвищувався на 7 %, а на 63-тю добу знову знижувався на 5 %.

Концентрація у плазмі крові перепелів дослідної групи 16:1 ЖК на 21-шу добу була нижчою на 21 %, порівняно з 14-ою добою, але на 43-тю добу її вміст різко підвищився на 78 %, а на 63-тю – на 55 %.

Вміст гептадеканової кислоти (17:0) на 21-шу добу досліду в ліпідах плазми крові перепелів був знижений на 27 %, на 43-тю добу підвищений на 4 %, а на 63-тю добу знижувався до 23 % порівняно з 14-ою добою експерименту.

Вміст 18:0 ЖК на 21-шу добу був незначно підвищений (на 2 %), але на 42- та 63-тю добу знижений на 17 і 41 % порівняно з 14-ою добою досліду.

Показник вмісту олеїнової кислоти (18:1 n-9) на 21-шу добу досліду знижувався на 26 %, на 42-гу добу підвищувався на 23 %, а на 63-тю – на 41 %.

Концентрація лінолевої кислоти (18:2 n-6) у плазмі крові перепелів на 21-шу добу підвищувалася на 81 %, на 42-гу знижувалася до 37 %, а на 63-тю добу експерименту підвищувалася на 12 % порівняно з 14-ою добою.

Вміст у плазмі крові перепелів ліноленової кислоти (18:3 n-6) стабільно знижувався впродовж експерименту: на 21-шу добу – на 26,7 %, на 42-гу – на 41 %, на 63-тю добу – на 59 %.

Стабільно знижувалась концентрація ейкозамоноєнової кислоти (20:1 n-11) в плазмі крові перепелів дослідної групи. На 21-шу – 56 %, на 42-гу – на 71 %, на 63-тю добу – на 81 %.

У перепелів дослідної групи встановлено підвищення вмісту генейкозанової кислоти (21:0) на 21-шу добу – на 25 %, а на 42-гу добу різке зниження – на 66 %, на 63-тю добу – підвищення на 50 % порівняно з 14-ою добою досліду.

Вміст ейкозадієнової кислоти (20:2) у плазмі крові перепелів дослідної групи на 21-у добу досліду був підвищений на 69 %, а на 42-гу – на 32 % та 63-тю добу цей показник знижувався на 36 %.

Рівень ерукової кислоти (22:1 n-11) у плазмі крові перепелів підвищувався на 4,5 % на 21-шу добу дослідження. На 42-гу і 63-тю добу він знижувався на 7,7 і 17 %.

Концентрація нервонової кислоти (24:1 n-9) у плазмі крові перепелів дослідної групи на 21-шу добу знижувалась на 26 %, також зниження її вмісту спостерігалось і в інші доби досліду, на 42-гу – на 94 %, 63-тю – на 63 %.

Концентрація докозангексаєнової кислоти (22:6 n-3) протягом періоду дослідження постійно була підвищеною, порівняно з 14 добою досліду, на 21-шу добу – на 21,4 %, на 42-гу – на 5,7 %, на 63-тю – на 31,4 %.

Вміст окремих ЖК розраховували у відсотках до загальної їх кількості встановленої у суміші ліпідів проби.

Вміст ЖК ліпідів плазми крові перепелів за кормового навантаження ОТА в дозі 150 мкг/кг вказує на їх зміни у птиці дослідної групи порівняно з контрольною.

На 14-ту добу дослідження було виявлено, що домінуючий вміст у двох групах займає насичена пальмітинова кислота (16:0), якої в плазмі крові птиці дослідної групи було вірогідно більше на 9 %, ніж у контрольній групі перепелів (рис. 5).

На 14-ту добу експерименту відбувається вірогідне зменшення концентрації міристинової (14:0) на 46 %, гептадеканової (17:0) на 45 %, лінолевої (18:2 n-6) на 8 %, ліноленової (18:3 n-6) на 23 %, ейкозенової (20:1 n-11) на 51 % і ерукової (22:1 n-11) на 10 % та незначне підвищення стеаринової (18:0) на 4 % ЖКт ліпідів плазми крові дослідної групи перепелів порівняно з контрольною групою.

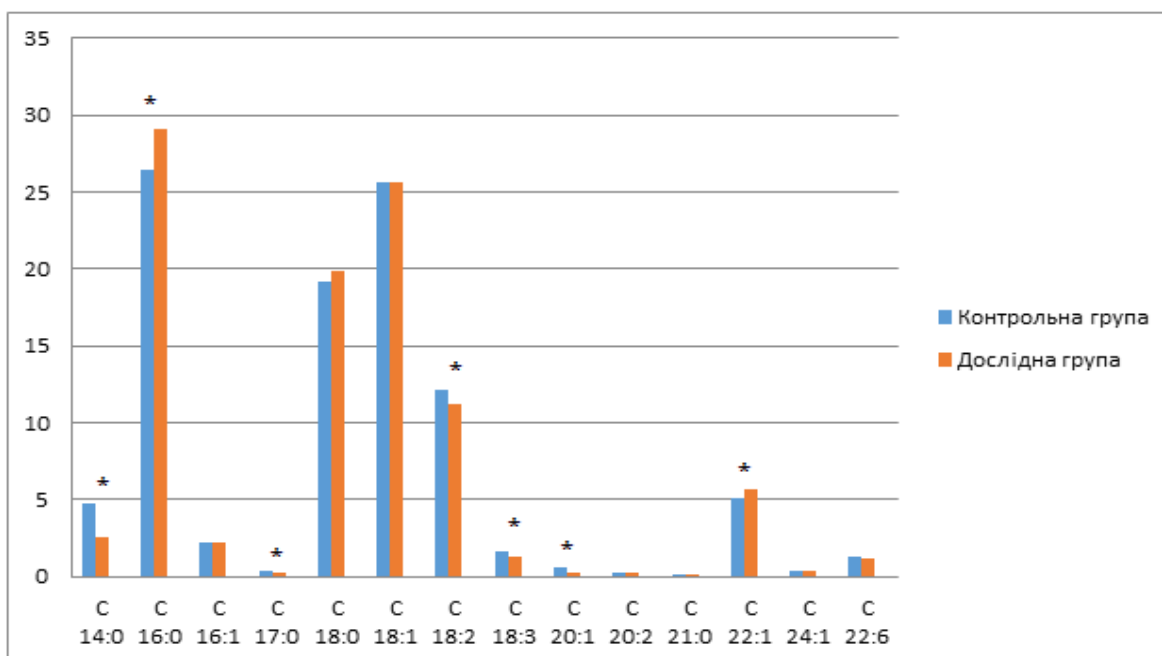


Рис. 5. Жирні кислоти ліпідів крові перепелів на 14-ту добу експерименту

П р и м і т к а: \* -  $p < 0,05$ , результати достовірні відносно контрольної групи (тут і далі).



На 21-шу добу дослідження було виявлено, що домінуючий вміст в двох групах займає насичена пальмітинова кислота (16:0), якої в плазмі крові дослідної групи було вірогідно на 7 % більше, ніж в контрольній групі перепелів (рис. 6).

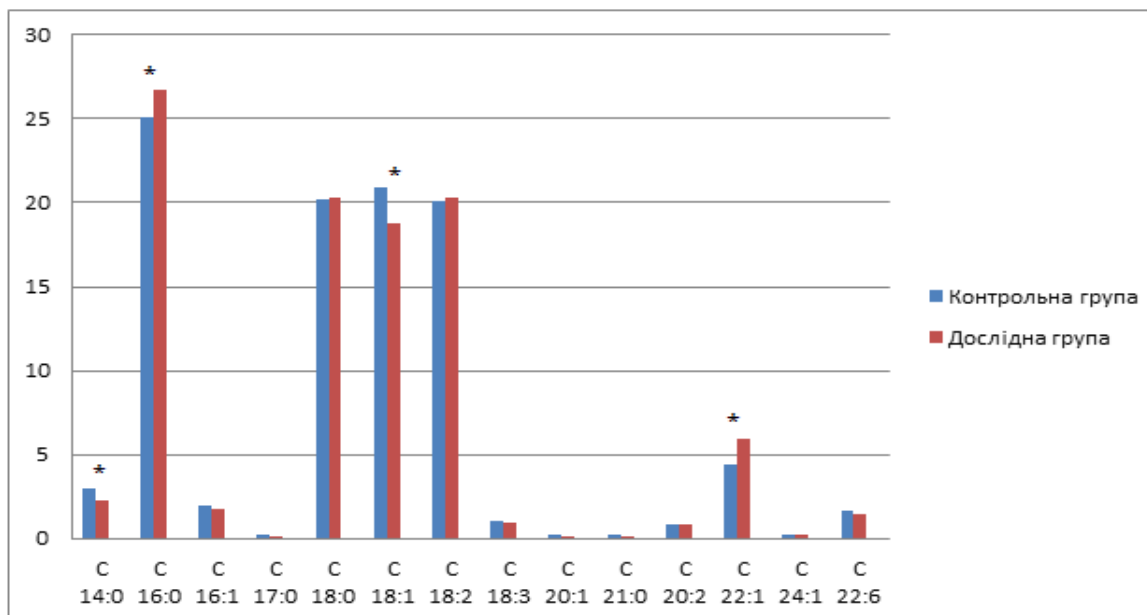


Рис. 6. Жирні кислоти ліпідів плазми крові перепелів на 21-шу добу експерименту

На 21-шу добу експерименту, також відбувається вірогідне зменшення концентрації міристинової (14:0) на 23 %, олеїнової (18:1 n-9) на 7 % та підвищення ерукової (22:1 n-11) на 26 % кислот ліпідів плазми крові дослідної групи перепелів порівняно з контрольною групою.

На 42-гу добу дослідження було виявлено, що домінуючий вміст в двох групах займає ненасичена олеїнова кислота (18:1 n-9), якої в плазмі крові дослідної групи було вірогідно на 8 % менше, ніж в контрольній групі перепелів (рис. 7).

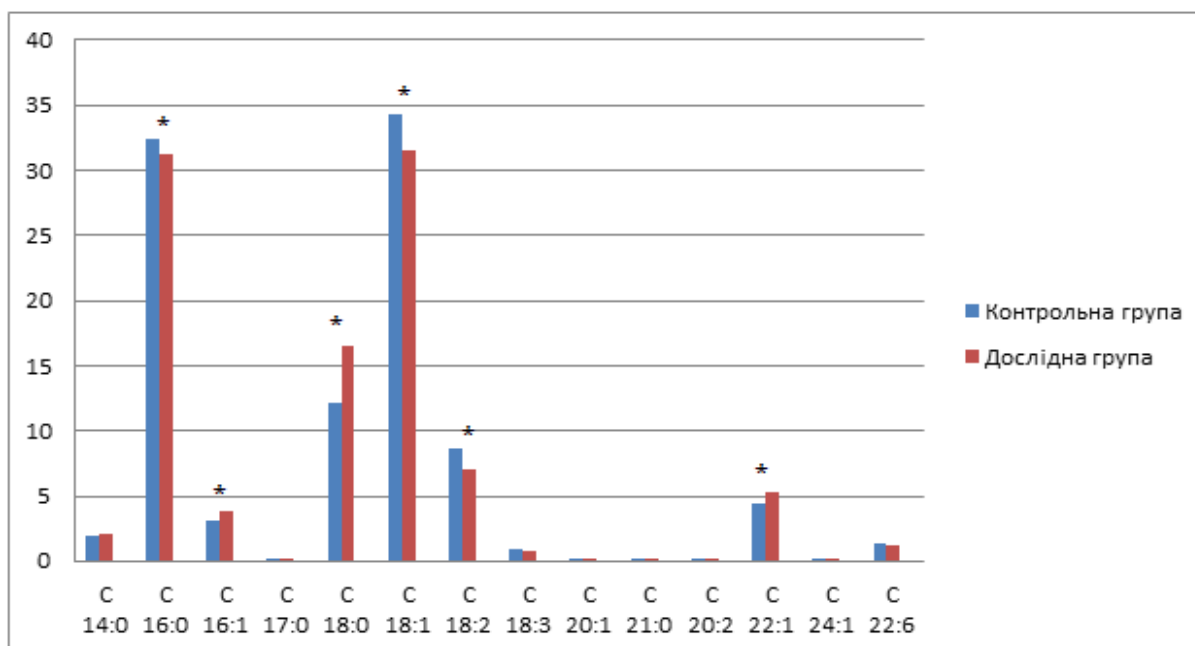


Рис. 7. Жирні кислоти ліпідів плазми крові перепелів на 42-гу добу експерименту

В експерименті на 42-гу добу також відбувається вірогідне зменшення концентрації пальмітинової (16:0) на 4 %, лінолевої (18:2 n-6) на 18 % та підвищення пальмітоолеїнової (16:1 n-9) на 22 %, стеаринової (18:0) на 26 % та ерукової (22:1 n-11) на 15 % кислот ліпідів плазми крові перепелів дослідної групи порівняно з контрольною групою.

На 63-тю добу дослідження було виявлено, що домінуючий вміст у двох групах займає ненасичена олеїнова кислота (18:1 n-9), якої в плазмі крові дослідної групи було вірогідно на 3 % більше, ніж в контрольній групі перепелів (рис. 8).

В експерименті на 63-тю добу відбувається вірогідне зменшення у плазмі крові перепелів дослідної групи концентрації міристинової (14:0) на 26 %, лінолевої (18:2 n-6) на 9 %, ліноленової (18:3 n-6) на 32 % та незначне пальмітоолеїнової (16:1 n-9) на 6 %. Водночас відмічається вірогідне підвищення вмісту в плазмі крові перепелів дослідної групи стеаринової (18:0) на 4 %, ерукової (22:1 n-11) на 10 % та незначне пальмітинової (16:0) на 3 % кислот порівняно з контрольною групою.

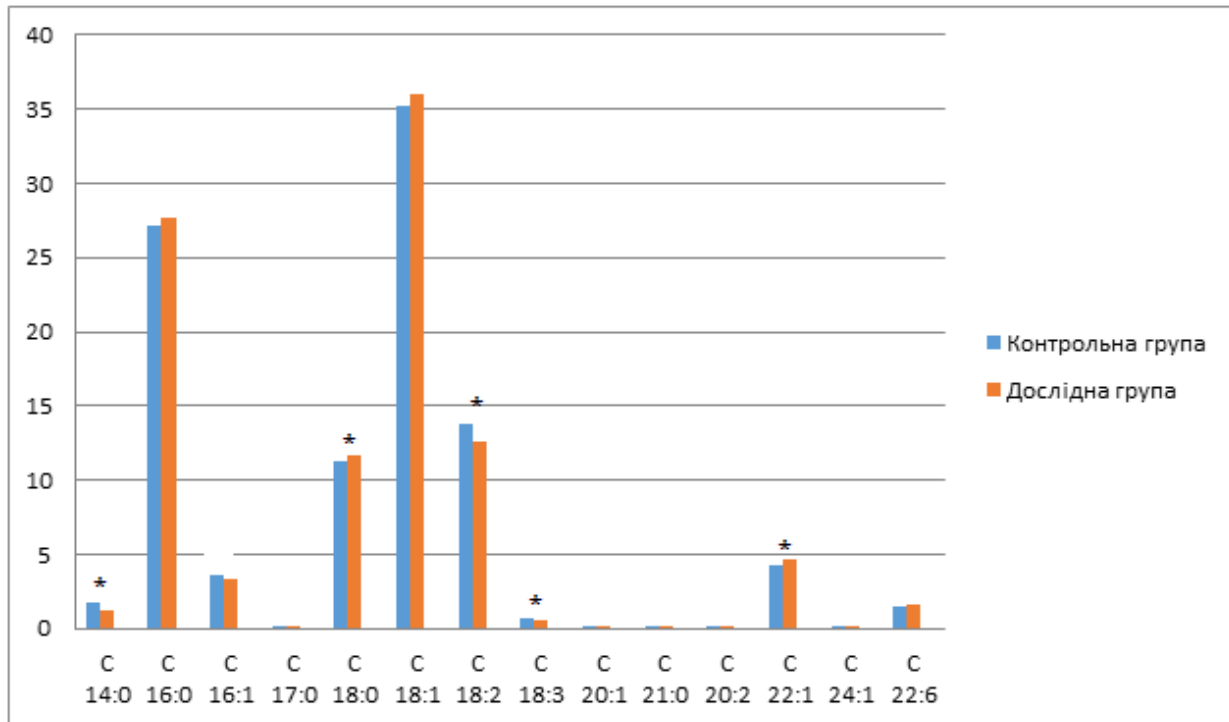


Рис. 8. Жирні кислоти ліпідів плазми крові перепелів на 63-тю добу експерименту

За ступенем насиченості жирні кислоти були згруповані таким чином: насичені (НЖК), мононенасичені (МНЖК), поліненасичені (ПНЖК) та ненасичені (ННЖК).

В результаті аналізу в плазми крові перепелів як в контрольній, так і дослідній групах було виявлено п'ять НЖК (14:0, 16:0, 17:0, 18:0, 21:0), п'ять МНЖК (16:1 n-9, 18:1 n-9, 20:1 n-11, 22:1 n-11, 24:1 n-9) і чотири ПНЖК (18:2 n-6, 18:3 n-6, 20:2, 22:6 n-3).

Вміст НЖК у плазмі крові перепелів дослідної групи на 14- та 21-шу доби підвищувався на 2 %, на 42-гу – 6,5 %, а на 63-тю – залишався на рівні контрольної групи.

Вміст МНЖК у плазмі крові перепелів дослідної групи на 14-ту добу залишався на рівні контрольної групи, тоді як на 21- та 42-гу доби їх вміст знижувався на 3,5 %, а на 63-тю – підвищувався на 2,5 % порівняно з контрольною групою птиці.

Вміст ПНЖК у плазмі крові перепелів дослідної групи на 14- та 63-тю доби знижувався на 9 %, на 42-гу – 16,5 %, а на 21-шу – залишався на рівні контрольної групи.

Вміст ННЖК у плазмі крові перепелів дослідної групи на 14-ту добу знижувався на 8 %, на 21-шу – на 3 %, на 42-гу – на 12,5 % та на 63-тю – 2 % порівняно до контрольної групи птиці.

Таким чином, за згодовування охратоксину А в дозі 150 мкг/кг корму вміст ЖК ліпідів плазми крові перепелів з 14-ої до 63-ої доби змінюється, особливо знижується вміст фракції ненасичених ЖК відносно контрольної групи птиці.

Отже, слід відмітити наступне:

1. Склад ЖК ліпідів плазми крові перепелів за дії кормового охратоксину А в дозі 150 мкг/кг не змінюється і містить 14 ЖК, із яких п'ять є насиченими (14:0, 16:0, 17:0, 18:0, 21:0) і дев'ять ненасиченими (16:1 n-9, 18:1 n-9, 18:2 n-6, 18:3 n-6, 20:1 n-11, 20:2, 22:1 n-11, 22:6 n-3, 24:1 n-9).

2. З віком у ліпідах плазми крові перепелів домінуючу позицію за вмістом з 14- до 21-ої доби займає насичена пальмітинова кислота, тоді як з 42-ої до 63-ої доби – ненасичена олеїнова кислота і ця залежність не змінюється у птиці дослідної групи.

3. За згодовування охратоксину А в дозі 150 мкг/кг корму вміст фракції ненасичених ЖК ліпідів плазми крові перепелів з 14- до 63-ої доби знижується.

#### **4.3 Фосфоліпідний склад плазми крові і внутрішніх органів щурів за диклофенак-індукованого гепатиту**

Нині в клінічній медицині та ветеринарії реєструється суттєве зростання випадків токсичного ураження печінки, з яких до 40 % пов'язано з лікарськими препаратами [16, 17]. Значна частина гепатитів і цирозів печінки, не визначених за етіологією, також спричинюється застосуванням терапевтичних засобів [18]. Серед останніх із прямою цитотоксичною дією на клітини печінки при

тривалому застосуванню та у підвищених дозах виявляються НПЗП, зокрема, натрію диклофенак [19–21]. Тому використання зазначених препаратів для відтворення медикаментозного ураження печінки в ссавців застосовується у фармакологічних експериментах при визначенні лікувальної ефективності препаратів гепатопротекторного профілю [22].

Більшість НПЗП після засвоєння у травному тракті надходить до печінки, яка специфічно реагує на введення препаратів. У її клітинах складники препаратів зазнають біотрансформації, насамперед, під дією ізоензимів цитохрому P450, 2E1 та 1A2 з наступним утворенням N-ацетилбензохіноніміну (NAPQI) [23]. Подальші етапи трансформації НПЗП пов'язують із взаємодією їх похідних з глутатіоном. В результаті утворюються гідрофільні метаболіти, які транспортуються мембранозв'язаними протеїнами гепатоцитів у кров або жовч. З організму вони видаляються через травний канал і нирки. При збільшенні добової дози препарату зростає вміст NAPQI. При цьому спостерігається дефіцит глутатіону. N-ацетилбензохінонімін реагує з нуклеофільними групами протеїнів клітин, що спричинює їх некроз. Індукція або інгібування активності ензимів гепатоцитів в результаті дії ксенобіотиків провокує зростання чи зменшення їх концентрації у сироватці крові і, як наслідок, до розвитку ускладнень, насамперед, запалення.

За токсичної дії НПЗП також констатують посилення інтенсивності ПОЛ, що проявляється за одночасного підвищення рівня вільних радикалів, ковалентного зв'язування електрофільних метаболітів із протеїнами, окиснення або зменшення вмісту вільного глутатіону. Вказані порушення можуть призвести до подальших функціональних і морфологічних змін: зростання рівня цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$ , який активує фосфоліпази і протеїнази та здатний гальмувати приєднання мікрофіламентів до плазмалеми гепатоцитів; полімеризації актину, що також призводить до руйнування мікрофіламентів. Внаслідок надлишкового утворення продуктів ПОЛ, у клітинах зазнає змін ліпідна компонента мембран, що заключається у зменшенні в них вмісту ФЛ із

одночасним зростанням рівня ХС. Нині вже встановлено провідну роль порушень ліпідного бішару мембран у патогенезі тяжких гепатопатологій, функціональних розладів серцево-судинної та нервової систем, розладах багатьох функціональних змін клітин крові тощо.

Взаємодія патологічного фактора з поверхнею плазмалеми клітин запускає ланцюг взаємопов'язаних біохімічних процесів, які перебігають як на мембрані, так і в цитозолі клітин. Процес відновлення внутрішньоклітинного гомеостазу за розвитку патології істотно залежить від тривалості дії етіологічного фактора й адаптаційного потенціалу організму, що опосередковано характером ураження клітинних мембран. Встановлено, що багаточисленні функції клітин, такі як ензиматична активність, гормональна відповідь та проникність мембран, визначаються фізико-хімічними властивостями їх ліпідного бішару, основу якого складають ФЛ. Таким чином, функціонування мембранних систем клітин взаємопов'язане із структурною організацією їхніх фосфоліпідних молекул. В той же час слід зауважити, що біосинтез ФЛ – це складний багатостадійний процес, який чутливий до дії чинників екзо- та ендogenous середовищ. Окремі стадії біосинтезу окремих індивідуальних ФЛ тісно переплітаються, що заважає їх тонкій регуляції (Gula and Margitich, 2009).

Отже, встановлення ФЛ-складу тканин і органів тварин сприятиме визначенню особливостей патогенетичних змін структурної організації їх основних функціональних клітин. Це також необхідно враховувати у визначенні лікарської тактики терапії гепатопатології, а також при створенні та клінічному випробуванні ефективності нових препаратів гепатопротекторного профілю. Тому завдання нашого дослідження полягало у визначенні особливостей ФЛ-складу плазми крові і внутрішніх органів щурів при токсичному гепатиті на тлі введення препарату натрію диклофенаку.

Експериментальне відтворення токсичного ураження печінки проявляється зниженням метаболічної та функціональної активності

гепатоцитів, що характеризується гіпопротеїнемією, гіпоальбумінемією, гіпоглікемією, гіполіпідемією, гіпохолестеролемією та високими значеннями тимолової проби, що описано нами у роботі [24]. Крім того, у дослідних тварин діагностовано розлади пігментної функції печінки, розвиток гепатоцелюлярної недостатності, цитолітичного синдрому і біліарної обструкції, що підтверджується гіперензимемією амінотрансфераз, ЛФ і  $\gamma$ -ГТП.

При патолого-анатомічному розтині щурів за токсичного ураження печінки виявляється темно-вишневий колір, в'яла консистенція і кровонаповнення органу, встановлено ознаки її дистрофії, а у тварин контрольної групи вона відрізнялася рівномірним червоно-бурим кольором, пружною консистенцією. При мікроскопічному дослідженні зрізів печінки у цих щурів відмічається розширення кровоносних судин та переповнення їх кров'ю, окремі клітини в стані жирової дистрофії (ядра зміщені на периферію клітини, цитоплазма прозора, клітини мають перснеподібну форму), виражений набряк просторів Діссе, відмічається дисконплексація печінкових балок і лімфоцитарна інфільтрація сполучної тканини [25]. Останнє свідчить про розвиток запальної реакції при регулярному продовж 14 діб застосуванні дослідним щурам препарату натрію диклофенаку.

Таким чином, встановлені макро- і мікроскопічні зміни паренхіми печінки у тварин дослідної групи характеризують розвиток неспецифічного реактивного гепатиту. Із гісто-морфологічних змін у паренхіми печінки відмічається жирова і зерниста дистрофія, втрата радіальної орієнтації пластинок гепатоцитів та розширення просторів Діссе, повнокрів'я судин.

Зразки крові у щурів відбирали з черевного відділу аорти в пробірки з гепарином, потім центрифугували при 1500 об/хв упродовж 15 хв і відокремлювали плазму. Далі проводили дослідження індивідуальних ФЛ плазми крові, печінки, легень, серця і нирок. Екстракцію ліпідів із плазми крові та гомогенатів зразків печінки, легень, серця і нирок проводили методом [26]. Хроматографічне розділення індивідуальних ФЛ здійснювали методом

двовимірної тонкошарової хроматографії на стандартних платівках фірми «Сорбфіл» [27] у системі розчинників: хлороформ-метанол-бензол-аміак (65:35:10:6) та хлороформ-метанол-бензол-оцтова кислота-вода-ацетон (70:30:10:5:1:4). Вміст індивідуальних ФЛ досліджували за кількістю неорг. фосфору ( $P_{\text{неорг.}}$ ) з використанням молібдатного реактиву методом [27]. Індивідуальні ФЛ ідентифікували з використанням специфічних реакцій [28] та їхніх маркерів, а вміст – спектрофотометрично на Specol-II при  $\lambda$  830 нм із застосуванням калібрувальної кривої, побудованої за  $P_{\text{неорг.}}$ .

В основі необоротного ураження клітин лежить порушення функцій плазмалеми та внутрішньоклітинних мембран, основною ліпідною компонентою яких виступають ФЛ. Саме тому у разі моделювання в лабораторних щурів медикаментозної форми токсичного гепатиту на тлі застосування натрію диклофенаку було проведено дослідження якісних і кількісних змін індивідуальних ФЛ плазми крові та внутрішніх органів щурів, результати яких представлено у табл. 26–28.

Згідно результатів, наведених у табл. 26, у плазмі крові щурів дослідної групи порівняно з контролем відбувається зменшення вмісту як загальних фосфоліпідів (ЗФЛ) на 26 %, так і окремих представників індивідуальних ФЛ, зокрема ФЕ і СМ відповідно на 22 і 57 %, а також тенденція до зменшення вмісту ФХ на 26 %.

Встановлені закономірності щодо кількісних змін ФЛ-спектру плазми крові щурів, хворих на токсичний гепатит, свідчать про розвиток в їх організмі дефіцитного рівня ФЛ. Як відомо [29], це може призвести до підвищення жорсткості та мікрров'язкості клітинних мембран, порушення мікроциркуляції та зменшення їх проникності, що безперечно порушує роботу мембранних структур, дезорганізує життєдіяльність клітин всього організму та може сприяти розвитку патологічних процесів.



**Таблиця 26. Фосфоліпідний склад плазми крові щурів за диклофенак-індукованого гепатиту, ммоль/л ( $M \pm m$ ,  $n = 12$ )**

Показник	Контроль	Дослід
Загальні фосфоліпіди	0,84±0,07	0,62±0,06*
Фосфатидилхолін	0,34±0,05	0,25±0,04
Фосфатидилетаноламін	0,23±0,02	0,18±0,01*
Фосфатидилсерин	0,05±0,01	0,04±0,01
Сфінгомієлін	0,07±0,01	0,03±0,01*
Фосфатидилінозитол	0,09±0,02	0,07±0,02
Фосфатидна кислота	0,03±0,01	0,02±0,01
Лізофосфатидилхолін	0,02±0,001	0,02±0,003
Лізофосфатидилетаноламін	0,01±0,001	0,01±0,001

П р и м і т к а. Тут і у табл. 27, 28 \* -  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно зі значеннями у контрольній групі щурів.

Тому наступним етапом нашого дослідження стало визначення особливостей змін фосфоліпідної організації внутрішніх органів хворих щурів за токсичного ураження печінки.

Як видно з табл. 27, у печінці щурів дослідної групи порівняно з контролем також відмічається зменшення вмісту ЗФЛ (на 21 %), що відбувається на тлі зниження рівня окремих індивідуальних ФЛ, зокрема ФС і ФІ відповідно на 28 і 41 %. Це може бути наслідком порушення їх ендogenous синтезу в гепатоцитах. Незважаючи на те, що зазначені ФЛ відносяться до мінорних фракцій, але вони є біологічно активними сигнальними сполуками, які виступають регуляторами процесів, взаємопов'язаних із внутрішньоклітинним метаболізмом.

Виходячи з даних табл. 27, у нирках щурів дослідної групи порівняно з контролем відбувається зниження рівня окремих індивідуальних ФЛ, зокрема

ФЕ – на 19 %, СМ – на 13 % та підвищення вмісту лізофосфатидилетаноламіну (ЛФЕ) – на 26 %. Це може бути пов'язано з гепатотоксичним впливом НПЗП диклофенак не тільки на функціональні клітини печінки, але й нирок. При цьому, зростання в тканині нирок вмісту ЛФЕ, ймовірно, є наслідком деструктивних змін ФЕ.

**Таблиця 27. Фосфоліпідний склад печінки та нирок у щурів за диклофенак-індукованого гепатиту, мг/100 г сирової тканини (M ± m, n = 12)**

Показник	Печінка		Нирки	
	контроль	дослід	контроль	дослід
Загальні фосфоліпіди	94,27±4,72	74,71±3,60*	79,88±5,97	69,25±3,35
Фосфатидилхолін	43,79±3,47	36,30±2,93	35,30±3,10	30,44±2,15
Фосфатидилетаноламін	20,50±2,76	15,21±2,15	21,05±1,58	17,00±0,61*
Фосфатидилсерин	16,08±1,19	11,61±1,28*	12,85±1,20	11,70±0,89
Сфінгомієлін	5,60±0,50	4,58±0,21	4,60±0,17	4,02±0,10*
Фосфатидилінозитол	1,75±0,11	1,03±0,06*	1,10±0,03	1,05±0,06
Фосфатидна кислота	1,65±0,25	1,53±0,19	1,19±0,09	1,10±0,11
Лізофосфатидилхолін	2,61±0,18	2,56±0,23	2,39±0,20	2,32±0,11
Лізофосфатидилетаноламін	1,51±0,12	1,22±0,17	1,10±0,08	1,38±0,04*
Лізофосфатидилінозитол	0,78±0,10	0,67±0,15	0,30±0,05	0,24±0,04

Згідно даних табл. 28 у легенях щурів дослідної групи спостерігається зниження вмісту ЗФЛ на 28 % та окремих індивідуальних ФЛ, зокрема ФХ, ФЕ і СМ відповідно на 30 %, 40 і 38 % порівняно з контролем, що може свідчити про порушення їх синтезу в тканинах організму. Кількісні зміни ліпідної компоненти мембран гепатоцитів, зокрема, найбільш представлених в їх структурі ФЛ – ФХ і ФЕ, призводить до порушення їх структурно-динамічних

властивостей, у т. ч. мікрів'язкості та проникності, що безумовно негативно впливає на трофіку клітин і ще більше на їх функціональний стан.

**Таблиця 28. Фосфоліпідний склад легень та серця у щурів за диклофенак-індукованого гепатиту, мг/100 г сирової тканини (M ± m, n = 12)**

Показник	Легені		Серце	
	контроль	дослід	контроль	дослід
Загальні фосфоліпіди	20,21±0,33	14,51±0,26*	83,70±4,26	68,11±3,77*
Фосфатидилхолін	7,89±0,23	5,55±0,09*	28,05±3,02	22,15±0,99
Фосфатидилетаноламін	6,55±0,58	3,95±0,21*	19,78±2,80	16,08±1,88
Фосфатидилсерин	0,46±0,06	0,35±0,08	4,26±0,19	3,17±0,27*
Сфінгомієлін	0,55±0,08	0,34±0,05*	4,43±0,16	4,28±0,25
Фосфатидилінозитол	2,00±0,07	1,92±0,10	3,92±0,25	2,40±0,14*
Фосфатидна кислота	1,09±0,11	0,86±0,13	3,57±0,31	2,26±0,25*
Кардіоліпін	-	-	13,55±0,46	12,02±0,31*
Лізофосфатидилхолін	-	-	1,69±0,10	2,08±0,08*
Лізофосфатидилетаноламін	0,80±0,20	0,79±0,17	1,85±0,09	1,78±0,07
Лізофосфатидилінозитол	0,87±0,14	0,75±0,10	2,60±0,29	1,89±0,23

Разом із тим, у серці щурів дослідної групи порівняно з контролем (див. табл. 28) відбувається зниження вмісту як ЗФЛ на 19 %, так і окремих індивідуальних ФЛ, зокрема ФС, ФІ і ФК, відповідно на 26 %, 39 і 37 %, а також підвищення вмісту ЛФХ на 23 %.

Водночас відмічається зниження рівня важливого компоненту мембран кардіоміоцитів – кардіоліпіну (КЛ) на 11 %, який є структурним компонентом внутрішньої мембрани мітохондрій і необхідний для функціонування численних мембранозв'язаних ензимів, задіяних в енергетичному обміні.

Відомо, що попередником КЛ та інших гліцерофосфоліпідів у клітинах ссавців є фосфатидна кислота (ФК), а синтез останньої відбувається на зовнішній мітохондріальній мембрані. Звідти ФК переходить на внутрішню мітохондріальну мембрану, де виконує роль попередника синтезу кардіоліпіну (КЛ) [29]. Оскільки у хворих тварин відмічається одночасне зменшення в серцевому м'язі вмісту ФК і, можливо, взаємопов'язане з цим фактом зниження рівня КЛ, очевидним є розвиток мітохондріальної дисфункції в кардіоміоцитах за диклофенак-індукованого гепатозу. Хоча ендоплазматичний ретикулум посідає чільне місце у синтезі ФЛ, мітохондріальні дисфункції можуть негативно позначитися на регуляції ліпідного гомеостазу. В свою чергу підвищення рівня лізо-ФЛ (зокрема, ЛФХ) до цитотоксичних концентрацій може бути наслідком порушення процесу деацилювання/реацилювання ФЛ. Так, акумуляція ЛФЛ при гострій ішемії міокарда є важливим чинником патогенезу серцевих аритмій [29].

Фізіологічна регенерація серцевого м'язу відбувається на внутрішньоклітинному рівні з високою інтенсивністю, тому що для кардіоміоцитів характерне швидке їх зношування. Відповідно через зниження рівня ФЛ у серці порушується його регенеративна здатність, яка прямо взаємопов'язана зі змінами їх співвідношення у мембранах кардіоміоцитів.

Отже, в результаті проведення оцінки результатів ФЛ-спектра плазми крові та внутрішніх органів (печінки, нирок, легень, серця) лабораторних щурів варто відмітити, що при моделюванні в цих тварин експериментального гепатиту на тлі введення препарату натрію диклофенаку відмічаються істотні зміни вмісту як ЗФЛ, так і окремих індивідуальних ФЛ, що, в цілому, характеризуються їх зменшенням (рис. 9).

Зазначені дані щодо змін кількісного співвідношення окремих ФЛ характеризує розвиток клітинної недостатності на мембранному рівні, що в свою чергу призводить до порушення структурної організації життєво

важливих внутрішніх органів, насамперед, печінки, що безумовно чинить негативний вплив на функціональний стан всього організму.

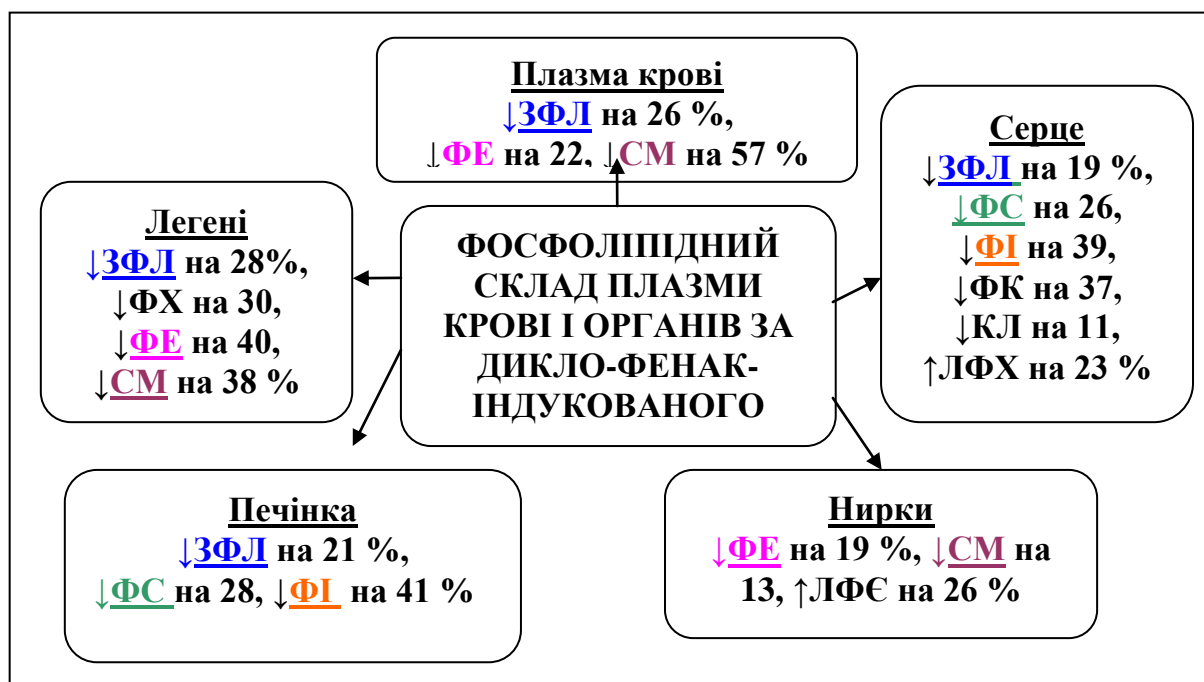


Рис. 9. Закономірності змін фосфоліпідного складу плазми крові та внутрішніх органів щурів за диклофенак-індукованого гепатиту

Встановлене зменшення в тканинах внутрішніх органів (печінка, серце) вмісту ФС може слугувати індикатором апоптозу. Такі клітини поглинаються фагоцитами. Водночас відмічається дефіцит в тканинах ФІ (печінка, серце), який відіграє важливу роль у внутрішньоклітинних сигнальних процесах. Серед інших ФЛ істотно зменшується вміст ФХ (легені) і ФЕ (плазма крові, легені, нирки), які є основними структурними компонентами клітинних мембран, а тому це може негативно позначатися на їх функціях і цілісності клітин. Вказані ФЛ метаболічно зв'язані між собою та забезпечують стабілізацію структури плазмолемі і мембран клітинних органел. Зменшення вмісту цих ФЛ у біологічних мембранах може бути фактором, який спричиняє порушення їх ультраструктурної організації, зміни біосинтетичних процесів, випадання окремих ланок метаболізму, зниження рівня життєво важливих енергозалежних

процесів, активного транспорту іонів тощо. Все це призводить до підвищення проникності клітинних мембран і, відповідно, порушення їх транспортних функцій, що є загальновідомою універсальною ознакою пошкодження клітин.

Зміни вмісту ФІ здатні впливати на швидкість і спрямування процесів метаболізму, оскільки цей ФЛ відповідає за активний транспорт речовин через клітинні мембрани [30]. Водночас зміни вмісту СМ можливі за рахунок активації чи пригнічення реакції синтезу СМ із ФХ.

Незбалансовані зміни в розподілі ФЛ в ушкоджених тканинах різних органів і, передусім, печінці зумовлюють порушення специфічних функцій задіяних у патологічний процес клітин. Привертає увагу факт, що незважаючи на тенденцію щодо зменшення в досліджуваних органах вмісту основних структурних ФЛ клітинних мембран – ФХ і ФЕ, достовірні зміни відбуваються із мінорними фракціями (ФС, ФІ), а також СМ, які є біологічно активними, сигнальними речовинами, здатними компенсувати метаболічний дисбаланс, що виникає у відповідь на токсичну дію ксенобіотика. При цьому накопичення в тканині нирок і серця детергентних лізо-ФЛ на тлі зменшення вмісту як основних, так і мінорних фракцій ФЛ є фундаментальним біохімічним механізмом перетворення одного їх виду на інший, який лежить в основі реалізації адаптації організму на клітинному рівні. Тому ліпідний дисбаланс набуває важливого значення з точки зору молекулярних основ розвитку патологічного процесу.

Отже, в результаті експериментального моделювання токсичного гепатиту в щурів, встановлено особливості змін ФЛ-складу плазми крові та внутрішніх органів, що доводить деструктивну дію натрію диклофенаку на мембрани клітин.

Таким чином, у хворих на токсичний гепатит щурів на тлі введення натрію диклофенаку встановлено достовірне зменшення в плазмі крові вмісту як ЗФЛ на 26 %, так і окремих індивідуальних ФЛ, а саме: ФЕ і СМ відповідно на 22 і 57 % порівняно з контролем, що свідчить про розвиток в їх організмі

дефіцитного рівня цих структурних ліпідів. Останнє може призвести до підвищення жорсткості та мікрів'язкості клітинних мембран, порушення мікроциркуляції та зменшення їх проникності, що безперечно порушує роботу мембранних структур, дезорганізує життєдіяльність клітин всього організму.

Моделювання у лабораторних щурів медикаментозної форми токсичного гепатиту призводить також до зменшення вмісту ЗФЛ у більшості внутрішніх органах, а саме: у печінці – на 21 %, у серці – на 19 і у легенях на 28 %, що узгоджується із встановленою закономірністю у плазмі крові і вказує на формування дефіцитного рівня структурних ліпідів у досліджуваних органах. Водночас на такому фоні в печінці зменшується вміст ФС і ФІ відповідно на 28 і 41 %, у серці ФС, ФІ, ФК і КЛ відповідно на 26 %, 39, 37 і 11 % (підвищується рівень ЛФХ на 23 %), в легенях – ФХ, ФЕ і СМ відповідно на 30 %, 40 і 38 % і незважаючи на відсутність достовірних змін ЗФЛ у нирках формується дефіцитний рівень окремих індивідуальних ФЛ, а саме: ФЕ і СМ відповідно на 19 і 13 % (підвищується вміст ЛФЕ на 26 %), що доводить деструктивний вплив натрію диклофенаку на мембрани клітин.

За диклофенак-індукованого гепатиту в щурів встановлено подібність кількісних змін окремих індивідуальних ФЛ. Зокрема, ФЕ і СМ кількісно зменшуються у плазмі крові, нирках і легенях, а вміст мінорних фракцій ФІ і ФС – у печінці та серці, що може вказувати на деяку схожість механізмів структурно-функціональної перебудови у клітинних мембранах відповідних внутрішніх органів, яка корелює із проявом адаптаційних процесів на субклітинному рівні у відповідь на токсичне ураження печінки ксенобіотиком.

Наведені дані теоретично обґрунтовують доцільність пошуку біологічно активних речовин (БАР), які стимулюють перебіг адаптації клітини й компенсують дисбаланс ФЛ за гепатопатології. Адже ФЛ-склад мембран клітини визначає її функціональну активність, а зміни їх вмісту та видового спектру в організмі тварин призводять до порушення функціонування біомембран, що може бути як наслідком, так і причиною виникнення патології.

#### 4.4 Жирині кислоти ліпідів плазми крові та печінки щурів при диклофенак-індукованому гепатиті

Печінка ссавців займає провідне місце у підтриманні гомеостазу внутрішнього середовища організму, в т. ч. і в обміні екзо- та ендогенних ЖК [31].

Найважливішою характеристикою ліпідних сполук є ЖК-склад, який суттєво впливає їх фізико-хімічні, біологічні та інші властивості. Довжина вуглецевого ланцюга та ступінь ненасиченості ЖК у ліпідних молекулах впливають на їх консистенцію, доступність для внутрішньоклітинного метаболізму, зв'язування з протеїнами та ін. речовинами, а також здатність до утворення міцел, бішарів клітинних мембран, транспортних ЛП тощо [31, 32]. Окремі ПНЖК та їхні похідні є попередниками простагландинів, що зумовлює їх вплив на обмін речовин в якості внутрішньоклітинних ліпідних месенджерів. Тому ПНЖК відносяться до незамінних (есенційних) факторів годівлі та харчування. Насамперед, це ліолева, ліоленова та арахідонова кислоти, нестача яких в організмі тварин здатна викликати затримку й уповільнення росту, призводити до порушення метаболізму, зокрема проміжного обміну ХС, холіну тощо [33]. Жирині кислоти є структурними компонентами ФЛ, які входять до складу бішарової організації клітинних мембран, що зумовлює їхню плинність і забезпечує повноцінну роботу протеїнових мембранних структур. В свою чергу, інгібування ендогенного синтезу ФЛ призводить не лише до зменшення інтенсивності окиснення ЖК, але й до затримки їх у печінці, що є однією з причин жирової інфільтрації гепатоцитів [34, 35].

Під час розвитку патологічного процесу основними структурами, що першими контактують з етіологічним чинником і зазнають ушкодження, є клітинні мембрани, функціональний та фізико-хімічний стан яких, насамперед, визначається ФЛ- і ЖК-складом [36, 37]. За використання методу хроматографії



нами ідентифіковано у сироватці крові та печінці 18 індивідуальних ЖК – насичені, мононенасичені та поліненасичені (табл. 29, 30).

**Таблиця 29. Жирні кислоти ліпідів плазми крові щурів в умовах експерименту, % ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ , цит. за [40])**

Жирна кислота	Контроль	I група
14:0	0,40±0,01	0,50±0,01 <sup>*</sup>
15:0	0,29±0,03	0,40±0,01 <sup>*</sup>
16:0	12,97±0,39	16,01±0,13 <sup>*</sup>
16:1	0,32±0,01	0,22±0,01 <sup>*</sup>
17:0	1,25±0,02	1,33±0,01 <sup>*</sup>
18:0	29,19±0,33	30,07±0,05 <sup>*</sup>
18:1 n-9t	6,12±0,03	5,91±0,05 <sup>*</sup>
18:1 n-9c	2,36±0,06	1,85±0,05 <sup>*</sup>
18:2 n-6t	20,51±0,26	19,17±0,09 <sup>*</sup>
18:2 n-6c	1,17±0,02	0,88±0,02 <sup>*</sup>
20:1	0,62±0,02	0,56±0,01 <sup>*</sup>
18:3 n-3	1,66±0,09	1,54±0,03
20:2	0,60±0,02	0,51±0,02 <sup>*</sup>
22:0	0,21±0,02	0,29±0,02 <sup>*</sup>
20:3 n-6	0,63±0,03	0,57±0,01
20:3 n-3	0,31±0,01	0,23±0,02 <sup>*</sup>
20:4 n-6	12,17±0,45	12,58±0,02
22:6 n-3	3,11±0,11	3,10±0,02
$\sum \omega 6$	34,87±0,78	33,46±0,16
$\sum \omega 3$	7,13±0,27	6,72±0,10
K ( $\sum \omega 6 / \sum \omega 3$ )	4,9	5,0

Примітка. Тут і у табл. 32 \* -  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно зі значеннями у контрольній групі щурів.

У щурів першої групи в сироватці крові встановлено вірогідне підвищення рівня НЖК та зниження – МНЖК і ПНЖК (див. табл. 29).

**Таблиця 30. Жирні кислоти ліпідів печінки щурів в умовах експерименту, % ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ , цит. за [40])**

Жирна кислота	Контроль	I група
14:0	0,83±0,03	0,93±0,01 <sup>*</sup>
15:0	0,39±0,02	0,78±0,02 <sup>*</sup>
16:0	15,71±0,27	21,80±0,04 <sup>*</sup>
16:1	0,40±0,01	0,81±0,01 <sup>*</sup>
17:0	0,80±0,04	0,98±0,02 <sup>*</sup>
18:0	23,98±0,08	29,59±0,10 <sup>*</sup>
18:1 n-9t	5,41±0,30	3,27±0,04 <sup>*</sup>
18:1 n-9c	2,80±0,15	1,52±0,02 <sup>*</sup>
18:2 n-6 t	14,67±0,20	12,63±0,05 <sup>*</sup>
18:2 n-6c	0,19±0,02	0,06±0,01 <sup>*</sup>
20:1	0,52±0,02	0,80±0,02 <sup>*</sup>
18:3 n-3	2,54±0,04	1,02±0,01 <sup>*</sup>
20:2	0,94±0,03	0,41±0,01 <sup>*</sup>
22:0	0,20±0,01	0,51±0,01 <sup>*</sup>
20:3 n-6	0,48±0,03	0,20±0,00 <sup>*</sup>
20:3 n-3	0,25±0,03	0,06±0,01 <sup>*</sup>
20:4 n-6	24,76±0,47	19,99±0,10 <sup>*</sup>
22:6 n-3	2,14±0,04	1,38±0,02 <sup>*</sup>
$\sum \omega 6$	40,32±5,84	33,05±4,86
$\sum \omega 3$	5,20±0,65	2,57±0,35
K ( $\sum \omega 6 / \sum \omega 3$ )	7,8	12,9

Поліненасичені ЖК локалізуються переважно в ліпідах клітинних мембран, тому зменшення їхнього вмісту в плазмі крові, ймовірно, пов'язано з процесами інтенсивного окиснення і деструктивними змінами мембранних утворень гепатоцитів під дією патологічного чинника. Насичені ЖК формують у мембрані локальні домени і неспецифічні іонні канали, через які в клітину надходять іони  $\text{Na}^+$  та  $\text{Ca}^{2+}$ , а з клітини виходять іони  $\text{K}^+$  та  $\text{Mg}^{2+}$ . При цьому зростає активність  $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$ -АТФази,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази та інтенсивність синтезу в клітинах ХС.

Схожа картина спостерігається і у паренхімі печінки – вірогідне підвищення вмісту НЖК, МНЖК, окрім міристоолеїнової, пентадеценової, гептадеценової та нервонової кислот, та вірогідне зниження – ПНЖК порівняно з контролем (див. табл. 30).

Підвищення вмісту НЖК у тканині печінки корелює з вмістом ТАГ у мікосомальній (МК) і субмітохондріальній частині (СМЧ) мембран гепатоцитів. Порушення процесу регуляції розподілу ЖК між метаболічними шляхами у гепатоцитах часто призводить до надмірної акумуляції ТАГ у печінці. Зростання рівня НЖК сприяє збільшенню вмісту води в мембранах і зниженню їх мікров'язкості, що обертається набряканням клітин.

Природні гліцерофосфоліпіди виявляють у центральному положенні залишки ПНЖК, а в крайньому – НЖК. В результаті підвищення вмісту НЖК на тлі зменшення – ПНЖК зростає щільність гліцерофосфоліпідів, що призводить до втрати еластичності мембран [38, 39]. Тому зменшення вмісту ПНЖК, які здатні легко окиснюватися в структурі ФЛ за умов розвитку медикаментозного гепатиту, може вказувати на наявність виражених змін їхньої молекулярно-структурної організації.

Есенційні ЖК (ЕЖК), зокрема ліолева і ліоленова, необхідні для утворення в організмі біологічно активних сполук, а саме арахідонової кислоти (АК) та докозагексаєнової (ДГК). Арахідонова кислота, докозапентаєнова (ДПК) і ДГК входять до складу ФХ і ФЕ. Дефіцит ЕЖК зумовлює зниження

вмісту АК у ФЛ печінки. Попередником ДГК є ліноленова кислота. Підтримання високого рівня ДГК має важливе значення для функціонування печінки. Зниження рівня ДГК пов'язано з дефіцитом ЕЖК, що в свою чергу призводить до структурних змін МК мембран печінки.

Дефіцит ЕЖК проявляється при підвищенні рівня ЛФЕ, ЛФХ та ВЖК, а також при високій активності ендогенних фосфоліпаз А<sub>2</sub>. Внаслідок цього зростає гідроліз мембранних ФЛ, змінюється проникність мембран, порушується іонний гомеостаз і збільшується продукція ліпідних пероксидів.

У сироватці крові тварин контрольної групи співвідношення сумарної величини  $\omega 6/\omega 3$  ЖК становить 4,9, а у першої групи – 5,0. У печінці щурів контрольної групи його величина дорівнює 7,8, у тварин першої групи – 12,9. Отже, величина цього співвідношення у печінці хворих щурів зазнає зростання порівняно з контролем, що може свідчити про наявність запального процесу в дослідних тварин першої групи.

Отже, виявлені зміни якісних і кількісних показників ЖК-складу печінки у щурів першої групи за самореабілітації можуть свідчити про наявність суттєвих порушень їх обміну в організмі за розвитку токсичного гепатиту.

Збалансованість вмісту ЖК  $\omega 6$  і  $\omega 3$  в організмі ссавців відіграє важливу роль у забезпеченні повноцінного метаболізму простагландинів, що слід враховувати при лікуванні тварин за різних патологій. Головним завданням при маніпуляції обміном простагландинів є зниження рівня арахідонової кислоти (попередника простагландинів) і підвищення вмісту докозагексаєнової й ейкозапентаєнової кислот (входять до складу ФХ і ФЕ – представники ФЛ зовнішнього і внутрішнього шарів). Жирні кислоти  $\omega 3$  посилюють опірність організму до розвитку запальних реакцій шляхом збільшення активних компонентів простагландинів, які володіють протизапальними властивостями.

## **5 СТРУКТУРНИЙ СТАН КЛІТИННИХ МЕМБРАН ЗА ТОКСИЧНОЇ ДІЇ НА ОРГАНІЗМ КСЕНОБІОТИКІВ ТА ЕНТЕРОПАТОЛОГІЇ ТВАРИН**

Біологічні мембрани – надмолекулярні інтегральні системи, які відіграють провідну роль у структурній організації та функціонуванні будь-якої клітини організму. Вони не тільки формують внутрішньоклітинні компартменти, але й беруть участь у забезпеченні життєвоважливих клітинних функцій, наприклад, біоенергетичних процесів, трансклітинного перенесення іонів і метаболітів, біосинтезу та секреції протеїнів, синтезу ФЛ і стероїдів тощо. Загальновідомо, що зміни структурної організації і пошкодження біомембран призводять до порушень у функціонуванні клітини в цілому [1].

Бішарова будова клітинної мембрани представлена молекулами ліпідів, гідрофобні ділянки яких спрямовані одна до одної, а гідрофільні у бік зовнішнього та внутрішнього середовищ клітини. Молекули ліпідів порівняно легко дифундують у ліпідних шарах [2]. У мембрану вбудовані протеїнові молекули, які або пронизують всю її товщу (інтегральні білки), чи занурюються на різну глибину, локалізуючись на зовнішньому або внутрішньому боці (периферичні білки).

Клітинні мембрани є достатньо динамічними структурами [2]. Зміни їхньої структури відбуваються у відповідності до умов довкілля і потреб клітини. Функціонування мембран визначається впорядкованістю системи міжмолекулярних нековалентних взаємодій типу протеїн-протеїн, протеїн-ліпід, ліпід-ліпід, для яких характерні кооперативні переходи, що ініціюються за зміни функціональних станів та впливу екзогенних чинників [3]. У підсумку, це свідчить про необхідність глибокого ознайомлення з адаптивними змінами структурної організації клітинних мембран за дії екопатогенних чинників на організм тварин.

## 5.1 Механізми розвитку патології клітини

Пошкодження плазмалеми клітин за різних причин – механічний чи осмотичний розрив, електричний пробій, випромінювання, дія ксенобіотиків (фармацевтичні препарати, пестициди, діоксини, нітрати, нітрити), вплив вірусів, бактерій, грибів, ультразвуку, поля ЗВЧ – викликає характерні патохімічні зміни, котрим відповідають певні патохімічні та морфологічні картини [4, 5].

Владимиров Ю. А. (1994) описує чотири головні типи ушкодження плазматичних мембран [6]:

- пероксидне окиснення мембранних ліпідів;
- гідроліз мембранних ліпідів фосфоліпазами;
- механічно-осмотичне розтягнення мембран;
- адсорбція на мембрані надлишку поліелектролітів.

Практично будь-які причини, що провокують формування активних вільних радикалів-окисників (радіація, озон і високі концентрації Оксигену, отрути-окисники, запалення), зумовлюють у мембрані блокування сульфгідрильних груп поверхневих протеїнів, зшивання ліпідних молекул і пероксидне окиснення ЖК. В результаті цього можуть зрізуватися чи змінювати свою локалізацію у мембрані кінцеві ділянки трансмембранних глікопротеїнів, у т. ч. клітинних рецепторів. Також утворюються і звільняються токсичні для клітини продукти розпаду, зокрема, ТБК-реактивні продукти. Пероксидні процеси часто поширюються з плазматичної мембрани на внутрішньоклітинні мембранні структури [5].

Інтенсивне надходження Кальцію до клітини, що виникає при гіпоксії або під дією важких металів, активує мембранні фосфоліпази, чим зумовлює подальший гідроліз ліпідного бішару [7].

На початковій, оборотній стадії клітинного пошкодження виявляються структурні зміни у вигляді випинань на поверхні клітини. У клітинах, які мають

мікрворсинки, вони можуть частково зникати. Порушуються міжклітинні контакти.

Надалі можуть утворитися мієлінові фігури внаслідок порушення контактів між протеїновими та ліпідними структурними компонентами, що обертається розшаруванням мембран. У випадку необоротного пошкодження в плазмолемі відмічають утворення розривів.

Порушення функцій плазмалеми при її ураженні проявляються внаслідок змін трансмембранних градієнтів, що проявляється посиленням проникності цих мембран [6]. Але найхарактернішою причиною є збільшення дефіциту енергії через розвиток тканинної гіпоксії. Значні витрати енергії в клітинах обумовлені функціонуванням  $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$ -АТФази. За дефіциту енергії передусім, порушується функція цього ензиму, що ускладнюється деполяризацією плазматичної мембрани. Ураження клітини супроводжується підвищенням вмісту внутрішньоклітинного Натрію, який утримує в клітині надлишок води. Проте у міжклітинному просторі зростає концентрація Калію. Локальне пошкодження тканини і масивний некроз клітин супроводжуються надлишком Калію у вогнищі запалення і/або системною гіперкаліємією. Разом із тим, незначне пошкодження клітин внаслідок гіпоксії супроводжується їх „каламутним набуханням”, а при посиленні гіпоксії можливе і збільшення надлишку внутрішньоклітинної рідини, що проявляється „балонною дистрофією”. Ця ситуація зумовлює порушення мікроциркуляції в тканині, що ускладнює гіпоксію.

Інтенсивне спрямування Кальцію у внутрішньоклітинне середовище клітин активує мембранні фосфоліпази  $\text{A}_2$ , що зумовлює звільнення з ФЛ ушкодженої мембрани арахідонової кислоти, яка згодом поетапно трансформується в ейкозаноїди – медіатори запалення. Внаслідок цього через пошкоджену плазмалему в позаклітинне середовище інтенсивно надходить внутрішньоклітинний Калій. Це призводить до нестабільності мембрани, відмічається електричний пробій. Проте сили поверхневого натягу чинять опір

електричному пробою плазматичної мембрани і запобігають значним дефектам ліпідного бішару. Водночас при пошкодженні клітини паралельно діють такі фактори, як активні оксигенові радикали та ендогенні детергенти, які здатні розпушувати бішар і сприяють його пробою [20].

Отже, при ураженні клітинної мембрани відбувається низка поетапних змін, що включає:

1. Порушення функцій натрій-калієвого насосу та іонних каналів;
2. Втрату фізіологічних трансмембранних градієнтів;
3. Надлишкове надходження Натрію і води у клітину;
4. Набухання клітини;
5. Надлишкове надходження Кальцію у клітину;
6. Активацію мембранних фосфоліпаз;
7. Звільнення і перетворення арахідонової кислоти;
8. Порушення локальної мікроциркуляції;
9. Появу навколо клітин ліпідних медіаторів запалення [6].

Послідовні процеси окисних змін арахідонової кислоти відмічаються внаслідок будь-яких пошкоджень плазматичної мембрани або за рецепції різних регуляторів-гормонів, нейромедіаторів та імуноглобулінів [6, 8].

Ейкозаноїди не відкладаються в клітинах, а продукуються знову і представляють собою медіаторну систему гострої клітинної відповіді на ушкодження. Оскільки ефект дії ейкозаноїдів проявляється локально, в місці їхнього утворення, вони відносяться до аутокоїдів або паракринних регуляторів.

*Ключові ланки арахідонового каскаду.* При ураженні клітинних мембран відмічається трансформація просеринестерази в активну серинестеразу. Далі вона за участю іонів Кальцію і метилтрансферази, залучає ФС, який переходить у ФХ. В результаті каталітичної дії фосфоліпази  $A_2$  на мембранні у гліцерофосфоліпідів відбувається відщеплення арахідонової кислоти. Остання також може утворюватися з ДАГ, який є результатом впливу фосфоліпази С на



мембранні ФЛ. Активність фосфоліпаз інгібується за дії глюкокортикоїдів, що пояснює протизапальний ефект цих регуляторів.

Важливим етапом у залученні вільної арахідонової кислоти на шлях відтворення простагландинів і тромбоксанів є залучення простагландин-синтазного комплексу. В результаті підключення циклооксигенази та пероксидази відбувається подальше послідовне перетворення арахідонату на простагландин G<sub>2</sub> та простагландин H<sub>2</sub>, який виступає безпосереднім попередником простаноїдів і тромбоксанів.

Отже, з'ясування механізмів ушкодження біомембран та їхньої ролі у виникненні клітинної патології є важливим підґрунтям у визначенні патогенезу захворювань на клітинному і субклітинному рівнях організації живих організмів.

## **5.2 Структурні зміни мембран ентероцитів і гепатоцитів у щурів за диклофенак-індукованого гепатиту**

Структурно-динамічні показники клітинних мембрани у хворих на експериментальний гепатит щурів оцінювали шляхом використання флуоресцентних зондів, які знаходяться в різних ділянках мембрани: 1-анілінонафталін-8-сульфонат (АНС) – переважно у поверхневому шарі, пірен – в зоні жирнокислотних ланцюгів ФЛ.

В результаті встановлено, що в умовах експериментальної моделі (І група) відбувається зростання інтенсивності флуоресценції АНС (F), зв'язаного з препаратами апікальної мембрани (АМ) епітеліоцитів слизової оболонки тонкої кишки в середньому на 19 % щодо контролю (табл. 31).

Практично вся вимірювана флуоресценція АНС обумовлена лише флуоресценцією зв'язаного зонду, що надає можливість за результатами флуоресценції встановлювати параметри його зв'язування з мембраною: константу зв'язування (K<sub>АНС</sub>) і кількість місць зв'язування (N<sub>АНС</sub>) [9, 10].

Визначено зміни характеристик зв'язування АНС за експериментальної моделі (І група) – величини  $K_{АНС}$  та  $N_{АНС}$  зменшується відповідно на 53 та 23 %. Поряд із цим, в умовах експериментальної моделі виявлено зменшення інтенсивності флуоресценції зонда АНС, зв'язаного з мембранами мікросом (МК) клітин печінки у середньому на 26 % проти контролю. Величини зв'язування АНС ( $K_{АНС}$  та  $N_{АНС}$ ) зменшуються відповідно на 28 та 30 %.

**Таблиця 31. Спектральні характеристики флуоресцентного зонда АНС, зв'язаного з препаратами апікальної мембрани ентероцитів тонкої кишки та мікросомальної мембрани гепатоцитів,  $M \pm m$ ,  $n = 6$ , цит. за [40]**

Умови досліджу	Інтенсивність F, від.од.	Константа зв'язування, $мкМ^{-1}$	Кількість центрів зв'язування, нмоль/мг білка
<i>Апікальна мембрана ентероцитів тонкої кишки</i>			
Контроль	1,0±0,0	3,05±0,35	17,36±1,45
І група	1,19±0,05*	1,43±0,43*	11,85±1,42*
<i>Мікросомальна мембрана гепатоцитів</i>			
Контроль	1,0±0,0	2,61±0,37	25,83±1,35
І група	0,74±0,05*	1,87±0,41*	18,28±1,33*

Примітка. Тут і у табл. 32–38 \* -  $p < 0,05$ , результати достовірні порівняно зі значеннями у контрольній групі щурів.

Зменшення константи зв'язування за експериментальної моделі може свідчити про зміну спорідненості певних ділянок мембран до АНС, очевидно, внаслідок зміни фізичних властивостей мембран.

Аналогічні дослідження відтворено також для препаратів внутрішньої мембрани мітохондрій (субмітохондріальних частин) ентероцитів (СМЧЕ) та гепатоцитів (СМЧП) (табл. 32).

Виявлено зменшення інтенсивності флуоресценції АНС, зв'язаного з препаратами СМЧ ентероцитів, та зміни характеристик асоціації зонда (величина  $K_{АНС}$  зростає на 28 % та  $N_{АНС}$  зменшується на 20 %).

Різні відхилення параметрів зв'язування зонда та кількості відповідних центрів є характеристикою інтегральних процесів (зміни поверхневого заряду, мікрооточення зонда, структурних перебудов тощо), які відбуваються у мембрані, враховуючи, що флуоресценція АНС визначається її складом [11].

За умов експериментальної моделі для СМЧ печінки також встановлено зміни досліджуваних показників, однак їх прояв різниться з таким у мембранах мітохондрій ентероцитів.

**Таблиця 32. Спектральні характеристики флуоресцентного зонда АНС, зв'язаного з препаратами внутрішньої мембрани мітохондрій ентероцитів і гепатоцитів,  $M \pm m$ ,  $n = 6$ , цит. за [40]**

Умови досліджу	Інтенсивність F, від.од.	Константа зв'язування, $мкМ^{-1}$	Кількість центрів зв'язування, нмоль / мг білка
<i>Внутрішня мембрана мітохондрій ентероцитів</i>			
Контроль	1,0±0,0	1,27±0,15	22,65±2,45
I група	0,78±0,03*	1,63±0,13*	18,09±2,42*
<i>Внутрішня мембрана мітохондрій гепатоцитів</i>			
Контроль	1,0±0,0	2,10±0,23	17,56±1,35
I група	1,06±0,03	1,61±0,31*	26,34±2,33*

Одержані результати щодо особливостей взаємодії флуоресцентного зонда АНС з мембранами вказують на зміни структурної організації поверхні мембран в умовах моделі експериментального гепатиту. Зазначене може бути результатом модифікації як ліпідної компоненти, так і мембранних протеїнів,

оскільки молекула зонда АНС розташовується в полярній області мембрани та утворює комплекси з протеїновою і ліпідною компонентами.

Визначення мікрів'язкості ліпідної компоненти мембран здійснювали шляхом використання флуоресцентного зонда пірену. Його гідрофобні молекули розміщуються в зоні жирнокислотних ланцюгів ФЛ [11]. При відповідній температурі та концентрації зонда ступінь ексимеризації пірену суттєво залежить від мікрів'язкості його оточення і може слугувати її характеристикою. В експерименті визначали відносні зміни ступеню ексимеризації пірену в дослідних зразках порівняно з контролем, зважаючи на те, що флуоресценція пірену при  $\lambda_{36}=280$  нм переважно відбувається за рахунок ІРПЕ з триптофанових залишків протеїнів.

Отримані результати вказують, що у контролі ступінь ексимеризації пірену  $N_{280}$  менший, ніж  $N_{335}$ , що свідчить про більш виражену мікрів'язкість ліпідів, які безпосередньо контактують з протеїновими глобулами, у порівнянні з загальною ліпідною фазою (табл. 33, 34).

**Таблиця 33. Ступінь ексимеризації пірену в препаратах мембран апікальної ентероцитів та мікросомальної гепатоцитів для загальної ліпідної фази ( $N_{335}$ ) та анулярних ліпідів ( $N_{280}$ ) в умовах експерименту,**

**$M \pm m, n = 6$ , цит. за [40]**

Умови досліджу	$N_{335}$ , відн.од.	$N_{280}$ , відн.од.
<i>Апікальна мембрана ентероцитів</i>		
Контроль	0,27±0,02	0,22±0,01
I група	0,36±0,04*	0,27±0,02*
<i>Мікросомальна мембрана гепатоцитів</i>		
Контроль	0,26±0,03	0,22±0,02
I група	0,28±0,01	0,25±0,04

Це відповідає відомим фактам про імобілізувальний вплив протеїнів на карбонові залишки молекул ліпідів.

**Таблиця 34. Ступінь ексимеризації пірену в препаратах внутрішньої мембрани мітохондрій ентероцитів і гепатоцитів для загальної ліпідної фази (N<sub>335</sub>) та анулярних ліпідів (N<sub>280</sub>) в умовах експерименту, M ± m, n = 6, цит. за [40]**

Умови досліджу	N <sub>335</sub> , відн.од.	N <sub>280</sub> , відн.од.
<i>Внутрішня мембрана мітохондрій ентероцитів</i>		
Контроль	0,33±0,02	0,27±0,01
I група	0,27±0,03*	0,25±0,02
<i>Внутрішня мембрана мітохондрій гепатоцитів</i>		
Контроль	0,29±0,05	0,23±0,01
I група	0,26±0,04	0,24±0,02

Фактично, лише в умовах експериментальної моделі (I група) підвищується ступінь ексимеризації для загальної ліпідної фази (N<sub>335</sub>) та анулярних ліпідів (N<sub>280</sub>) АМ ентероцитів відповідно на 33 і 22 %, що може вказувати на зменшення мікров'язкості ліпідної фази. Водночас зменшується на 18 % величина ступеня ексимеризації пірену (N<sub>335</sub>) для препаратів СМЧЕ, що свідчить про збільшення мікров'язкості ліпідної фази мембран.

Інтенсивність триптофаної флуоресценції – один із важливих спектральних параметрів, який характеризує конформаційний стан протеїнової молекули, оскільки максимумами флуоресценції окремих триптофанових залишків різняться залежно від їхнього розташування в протеїновій молекулі і від оточення [11].

Виявлено, що в препаратах АМ ентероцитів і МК гепатоцитів за умов експериментальної моделі (І група) інтенсивність флуоресценції триптофанових залишків протеїнових молекул зменшується на 10 % відносно контрольних параметрів (табл. 35).

**Таблиця 35. Триптофанова флуоресценція білкових молекул препаратів апікальної мембрани ентероцитів і мікросомальної мембрани гепатоцитів в умовах експерименту,  $M \pm m$ ,  $n = 6$ , цит. за [40]**

Умови досліджу	Триптофанова флуоресценція, відн.од.	Частка доступних гасінню триптофанових залишків	Константа Штерна-Фольмера ( $K_{SV}$ ), $M^{-1}$
<i>Апікальна мембрана ентероцитів</i>			
Контроль	1,00±0,0	0,61±0,05	6,05±0,65
І група	0,90±0,02*	0,90±0,04*	2,58±0,61*
<i>Мікросомальна мембрана гепатоцитів</i>			
Контроль	1,00±0,0	0,62±0,05	5,78±0,68
І група	0,90±0,02*	0,81±0,07*	4,72±0,37*

Встановлені зміни, ймовірно, пов'язані як з конформаційною перебудованою протеїнової молекули, яка супроводжується переходом триптофанових залишків у гідрофільнішу область, так і з внутрішньо-молекулярною динамікою протеїнів і характером взаємодії їх триптофанових залишків із поряд розміщеними групами, оскільки флуоресценція триптофанів чутлива до рухомості сусідніх груп [11].

Виходячи з цього, для визначення конформаційних змін мембранних протеїнів досліджували гасіння триптофанової флуоресценції зовнішнім нейтральним полярним гасником – акриламідом.

Так, одержано результати щодо гасіння триптофанової флуоресценції препаратів АМ ентероцитів і МК мембран клітин печінки. Зокрема, в умовах експериментальної моделі (І група) частка триптофанових залишків, що піддаються гасінню, збільшується на 48 %. В той же час, розмір ефективної константи гасіння зменшується на 57 % щодо контрольних величин. Слід відмітити, що зменшення ефективності гасіння триптофанової флуоресценції (див. табл. 33), про що свідчить зниження величини  $K_{SV}$ , ймовірно, є наслідком підвищення структурної жорсткості мембранних протеїнів [11].

Схожі визначення здійснено у відношенні препаратів МК мембран клітин печінки. Визначено, що за умов експериментальної моделі (І група) відбувається зменшення на 10 % інтенсивності флуоресценції, збільшення на 31 % частки доступних гасінню залишків та зменшення на 18 % величини  $K_{SV}$  (див. табл. 35). Аналогічні дослідження проведено і для препаратів СМЧ гепатоцитів та ентероцитів (табл. 36).

**Таблиця 36. Триптофанова флуоресценція білкових молекул препаратів внутрішньої мембрани мітохондрій ентероцитів і гепатоцитів в умовах експерименту,  $M \pm m$ ,  $n = 6$ , цит. за [40]**

Умови досліджу	Триптофанова флуоресценція, відн.од.	Частка доступних гасінню триптофанових залишків	Константа Штерна-Фольмера ( $K_{SV}$ ), $M^{-1}$
<i>Внутрішня мембрана мітохондрій ентероцитів</i>			
Контроль	1,00±0,0	0,92±0,05	6,06±0,75
І група	0,89±0,03*	0,96±0,04	2,38±0,21*
<i>Внутрішня мембрана мітохондрій гепатоцитів</i>			
Контроль	1,00±0,0	0,57±0,05	5,73±0,78
І група	1,09±0,04	0,93±0,07*	1,57±0,17*

Зокрема встановлено, що за умов експериментальної моделі інтенсивність флуоресценції триптофанових залишків протеїнових молекул СМЧЕ зменшується в середньому на 15 % відносно контрольних параметрів. Для препаратів СМЧП за умов експерименту інтенсивність флуоресценції триптофанових залишків протеїнових молекул істотно не змінюється.

Результати аналізу результатів відносно гасіння акриламідом триптофаної флуоресценції препаратів СМЧЕ та СМЧП свідчать, що в умовах експериментальної моделі (І група) частка триптофанових залишків СМЧЕ, що підлягають гасінню, істотно не змінюється. Поряд із цим, величина ефективної константи гасіння знижується на 57 % відносно контрольних параметрів, що, ймовірно, вказує на підвищення структурної жорсткості мембранних протеїнів [11]. Водночас для препаратів СМЧП в умовах експериментальної моделі відмічається збільшення частки триптофанових залишків, які підлягають гасінню (на 63 %), а також зменшення величини ефективної константи гасіння (на 73 %) (див. табл. 36).

Таким чином, в умовах експериментальної моделі (І група) відзначається зменшення інтенсивності триптофаної флуоресценції, що може бути результатом структурних перебудов протеїнової молекули, що проявляється переходом триптофанових залишків у менш гідрофобну зону, оскільки флуоресценція триптофанілів надзвичайно чутлива до полярності розчинника.

Поряд із цим, особливим є збільшення частки триптофанових залишків, які підлягають гасінню, а також збільшення внутрішньомолекулярної жорсткості протеїнових молекул препаратів мембран, що свідчить про конформаційну модифікацію протеїнів.

Просторову організацію протеїн-ліпідних комплексів у препаратах мембран визначали за методом індуктивно-резонансного перенесення енергії (ІРПЕ) в парі флуорофорів донор-акцептор. Ефективність ІРПЕ з донора на акцептор насамперед визначається взаємним розміщення ділянок переважної локалізації флуорофорів у мембрані [12], що дозволяє встановити зміни



відстані між цими зонами мембрани. В якості донорно-акцепторних пар досліджували: „триптофан-пірен”; „пірен-АНС”; „триптофан-АНС” [12].

В аналізі результатів ІРПЕ враховували, що найвірогіднішими зонами локалізації триптофанових залишків є гідрофобні ділянки протеїнів, які можуть розміщуватися в мембрані як в протеїновому, так і в ліпідному оточенні [11], флуоресцентний зонд АНС переважно розташовується в мембрані на межі розподілу ліпід-вода [12], пірен – в зоні жирнокислотних ланцюгів ФЛ. У зразках препаратів встановлено, що для всіх донор-акцепторних пар частка молекул донора, доступних гасінню акцептором, залишається без змін.

Для пари флуорофорів „триптофан-пірен” достовірно збільшення величини  $F_0/F_0-F$  на 40 % (де  $F_0$  – інтенсивність флуоресценції за відсутності гасника;  $F$  – у присутності гасника) за умов експериментальної моделі (І група) відмічається тільки для препаратів СМЧЕ (табл. 37).

**Таблиця 37. Ефективність індуктивно-резонансного перенесення енергії в парах флуорофорів для препаратів внутрішньої мембрани мітохондрій ентероцитів і гепатоцитів в умовах експерименту ( $F_0/F_0-F$ , відн. од.),  $M \pm m$ ,  $n = 6$ , цит. за [40]**

Умови досліджу	Пірен-АНС, $\times 10^{-3}$	Триптофан-пірен	Триптофан-АНС, $\times 10^{-2}$
<i>Внутрішня мембрана мітохондрій ентероцитів</i>			
Контроль	6,51±0,34	0,15±0,02	1,19±0,04
І група	2,02±0,51*	0,21±0,03*	1,26±0,03*
<i>Внутрішня мембрана мітохондрій гепатоцитів</i>			
Контроль	12,8±0,34	0,21±0,04	1,58±0,01
І група	11,8±0,24	0,21±0,03	1,96±0,04*

Отже, найбільш ймовірно, що встановлені зміни передусім обумовлені переміщенням протеїнів у гідрофільну зону.

Результати експерименту з використанням пари „пірен-АНС” свідчать, що за умов експериментальної моделі (І група) величина  $F_0/F_0-F$  зменшується відповідно на 67 і 70 % для препаратів АМ і СМЧЕ порівняно з контролем. Для препаратів МК і СМЧП клітин печінки ці зміни менш виражені (табл. 37, 38).

**Таблиця 38. Ефективність індуктивно-резонансного перенесення енергії в парах флуорофорів для препаратів апікальної мембрани ентероцитів і мікросомальної мембрани гепатоцитів в умовах експерименту ( $F_0/F_0-F$ , від. од.),  $M \pm m$ ,  $n = 6$ , цит. за [40]**

Умови досліджу	Пірен-АНС, $\times 10^{-3}$	Триптофан-пірен	Триптофан-АНС, $\times 10^{-2}$
<i>Апікальна мембрана ентероцитів</i>			
Контроль	3,10±0,80	0,19±0,02	1,00±0,27
І група	0,98±0,60*	0,19±0,03	1,15±0,36
<i>Мікросомальна мембрана гепатоцитів</i>			
Контроль	13,48±0,84	0,19±0,04	1,03±0,46
І група	12,22±0,54	0,18±0,03	1,26±0,37*

В результаті визначення ефективності ІРПЕ в парі „пірен-АНС” слід зазначити про зміни ефективної товщини ліпідної компоненти мембрани за експериментальних умов, оскільки критичний проміжок для перенесення енергії в парі „пірен-АНС” дорівнює 2,8 нм [12].

У підсумку необхідно зазначити, що ефективність ІРПЕ зростає і, відповідно збільшується проміжок між зондами, що вказує на збільшення ефективної товщини АМ за умов експериментальної моделі (І група).

В результаті дослідження ІРПЕ з використанням пари „триптофан’АНС” встановлено, що величина співвідношення  $F_0/F_0-F$  зростає за умов експериментальної моделі для мембран різних типів. Зниження ефективності ІРПЕ між флуорофорами за експериментальних умов свідчить про зростання відстані між ними. Оскільки максимальна відстань ІРПЕ для пари „триптофан’АНС” становить 2,0–3,5 нм [12], а товщина мембрани – близько 4,0 нм, то найбільший вклад у перенесення енергії вносять флуорофори, що розміщені з одного боку мембрани відносно ліпідної фази.

Встановлені закономірності щодо досліджених параметрів зв’язування АНС з мембраною, свідчать про модифікацію структурної організації її поверхневих ділянок.

Таким чином, виконані дослідження вказують на особливості прояву деструктивних змін плазматичної та мітохондріальної мембран за умов експериментальної моделі, а саме: модифікацію поверхневої структури мембран, зміну динамічних властивостей мембранних компонентів (переміщення протеїнових молекул), їхнього розміщення та порушення гідрофобних протеїн-ліпідних взаємодій, конформаційні зміни протеїнових молекул і збільшення їхньої структурної жорсткості.

### **5.3 Характеристика мембран еритроцитів крові новонароджених телят, хворих на ентеропатологію**

Структурна організація мембран еритроцитів є одним із важливих факторів регуляції біофізичних і біохімічних процесів щодо збереження гомеостазу внутрішньоклітинного середовища та цілісного організму. Розвиток будь-якого патологічного процесу з відповідним порушенням метаболізму

клітин призводить, насамперед, до змін структурної та бар'єрної функцій мембран, змін їх фізико-хімічних характеристик і проникності, активації ПОЛ [1].

Нині встановлено, що продукти ПОЛ викликають зміни структурно-функціонального стану клітинних мембран. Активні форми Оксигену переважно в залишках ПНЖК ліпідів провокують ланцюгові реакції з накопиченням ліпідних радикалів, пероксидів та гідропероксидів. У цілому ПОЛ є фізіологічним для клітин і має важливе значення для перебігу низки біохімічних процесів, насамперед, захисних реакцій. Водночас інтенсифікація ПОЛ є однією з причин деструктивних змін клітинних мембран із наступним ушкодженням клітин [13].

Кількісні зміни окремих фракцій ліпідів і протеїнів можуть виступати індикаторами численних патологій в організмі ссавців.

Плазмалема різних типів клітин відрізняється своїм ліпідно-протеїновим складом. Він вирізняється функціональним призначенням відповідних тканин і органів. Зокрема, у клітин слизової оболонки шлунка до 80 % загального вмісту полярних ліпідів мембран складають ФЛ, що забезпечує їх цілісність і повноцінне функціонування [14].

Фосфатидилхолін і ФЕ – головні ФЛ, що визначають структурно-функціональні властивості клітинної оболонки. Водночас провідну роль серед зазначених ФЛ відіграє ФХ, до складу якого входить насичена пальмітинова кислота.

Фосфатидилінозитол, на відміну від структурних ФЛ, задіяний у сигнальній трансдукції. Крім того, фосфоінозитиди задіяні в утворенні мембрано-зв'язаних сайтів для розчинних протеїнів, а шляхом стабілізування протеїнових комплексів на мембранах або активації мембранних протеїнів, задіяні в цитоскелет-мембранних взаємодіях і у везикулярному транспорті.

В умовах експерименту досліджено стан мембран еритроцитів телят 1–3-добового віку, хворих на ентеропатологію.

У табл. 39 представлено результати дослідження проникності еритроцитарних мембран (ПЕМ), осмотичної резистентності еритроцитів (ОРЕ) та кислотної резистентності еритроцитів (КРЕ). Виявлено, що у групі здорових телят ПЕМ складає 32,7 %, а у хворих 41,7 %. Осмотична резистентність еритроцитів становить у здорових телят – 63,5 %, а у хворих цей показник зменшується і складає 50,5 %.

**Таблиця 39. Проникність еритроцитарних мембран (ПЕМ), осмотична резистентність (ОРЕ) та кислотна резистентність (КРЕ) еритроцитів крові здорових і хворих на ентеропатологію новонароджених телят, %**  
( $M \pm m$ ,  $n = 10$ , цит. за [7])

Показник	Контроль (здорові телята)	Хворі на ентеропатологію телята
ПЕМ	32,66±1,75	41,65±1,55*
ОРЕ	63,53±2,5	50,54±2,50*
КРЕ	25,65±1,55	16,85±1,50*

Примітка: \* $p < 0,05$ , результати достовірні у відношенні до контролю.

В основі патогенезу прояву діареї першочергова роль відводиться процесам вільнорадикального окиснення ліпідів клітинних мембран. Тому, перспективу розробки превентивних засобів пов'язують з їх здатністю пришвидшувати відновлення обміну речовин, позитивно впливати на резистентність організму та стимулювати функціонування природних систем адаптації.

Транспорт ліпідів в організмі ссавців здійснюється шляхом створення ліпопротеїнових комплексів. У складі ліпопротеїнів (ЛП) в кров'яному руслі доставляються до клітин-мішеней естери ХС, ВХС, ТАГ, ФЛ та незначна

кількість НЕЖК. Водночас ЛП зв'язують і транспортують у крові деяку кількість жиророзчинних вітамінів, гормонів та інших біологічно активних сполук [15].

Відомо кілька класифікацій ЛП, в яких зважається на їх властивості: гідратованість, швидкість флотації, електрофоретична рухливість, а також відмінності в апопротеїновому складі частинок. Найпоширенішою з них є класифікація, що базується на поведінці окремих ЛП у гравітаційному полі в процесі ультрацентрифугування за щільності розчину  $1,063 \text{ г/см}^3$  для хіломікронів (ХМ) ( $S_f - > 2000$ ), ЛПДНЩ ( $S_f 20-400$ ) і ЛПНЩ ( $S_f 0-20$ ), а за щільності  $1,20 \text{ г/см}^3$  – для ЛПВЩ. В основу другої класифікації ЛП враховано відмінності між їх електрофоретичною рухливістю у відношенні до глобулінів сироватки крові, згідно з якою розпізнають ХМ, що залишаються на старті,  $\beta$ -ліпопротеїни, пре $\beta$ -ліпопротеїни і  $\alpha$ -ліпопротеїни, які мають відповідне розташування після стартової зони [16].

До ЛП, які збагачені на ТАГ, відносять ХМ і ЛПДНЩ (пре $\beta$ -ліпопротеїни), що мають чимало спільного в структурі, властивостях і процесах катаболізму. Хіломікрони плазми крові ссавців представляють собою частинки сферичної форми низької щільності ( $d < 0,95$ ), найбільші за розміром ЛП-частинки діаметром від 100 до 1000 нм, у складі яких переважають ТАГ, а також незначний вміст естерів ХС, ВХС, ФЛ, протеїну та ін. Відомою функцією ХМ є доставка ТАГ вмісту з кишечника, де відбувається їх всмоктування, надходження в кров і подальше транспортуються до місць їхньої утилізації (серцевий та скелетні м'язи, молочна залоза та ін.) та депонування (жирова тканина). Максимальної концентрації ХМ у плазмі крові досягають після вживання надмірної кількості жиру в складі корму. Час їх існування у крові менше однієї години. Плазма крові здорових ссавців, які не вживали корму впродовж 12–14 год, майже не містить ХМ. Протеїнова частина ХМ складає 1–2 % і представлена апоВ, апоА, апоС, що визначає їх основні функціональні властивості [17].

Ліпопротеїни дуже низької щільності за складом і структурою аналогічні з ХМ, проте менші за розміром (25–100 нм) та включають менше ТАГ, але більше протеїну ХС, і ФЛ. Протеїновий компонент представлений апоС, апоВ, апоЕ. Ліпопротеїни дуже низької щільності відмінні від ХМ за двома такими ознаками: місцем синтезу ХМ і походженням ТАГ, що транспортуються. Вони утворюються, переважно, в печінці і насамперед необхідні для транспортування ендогенних ТАГ. Незначна їх частина синтезується в тонкому відділі кишечника, де вони задіяні у перенесенні реабсорбованих ендогенних ЖК і ХС печінкового походження. Головний протеїн ЛПДНЩ – апоВ-100 утворюється на рибосомах ендоплазматичного ретикулуму клітин печінки. У гладкому ендоплазматичному ретикулумі поряд із синтезом ліпідних компонентів відбувається формування ЛПДНЩ. Ліпідні складові можуть надходити в гепатоцити з крові у складі інших видів ЛП. Одним із основних факторів стимулювання утворення ЛПДНЩ є збільшення концентрації НЕЖК, які транспортуються до печінки разом з альбумінами крові або у складі ХМ, а також можуть синтезуватися в гепатоцитах. Для створення ЛПДНЩ також використовуються ТАГ, які містяться в цитозолі гепатоцитів. У разі надходження НЕЖК, ТАГ передаються на рибосоми ендоплазматичного ретикулуму, що є стимулює синтез протеїну (апоВ-100), який взаємодіє з ФЛ-бішаром мембрани шорсткого ретикулуму. В результаті цієї взаємодії від мембрани відшаровується ділянка, яка складається з протеїну і ФЛ, що становить основу ліпопротеїнів частинки. Зазвичай протеїн-фосфоліпідний комплекс на ендоплазматичному ретикулумі реагує з ТАГ і естерами ХС, що після характерних структурних перебудов сприяє формуванню незавершених частинок (н-ЛПДНЩ). Останні прямують через турбулярну сітку апарату Гольджі в секреторні везикули і вже у такому сполученні транспортуються до поверхні клітин. В кров н-ЛПДНЩ надходять шляхом ендоситозу з простору Діссе. Виявляється, що швидкість утворення ЛПДНЩ зростає у разі збільшення вмісту ВЖК, які надходять до печінки, а також при інтенсифікації синтезу

ендогенних ЖК, що синтезуються за умов потрапляння в організм значної кількості вуглеводів. Обмін ЛПДНЩ у людей відбувається повільніше, ніж обмін ХМ. Період співіснування ЛПДНЩ становить 2–4 год [17].

В процесі ліполізу ЛПДНЩ, звільняються частинки ще меншого розміру, відомі як ремнантні частинки ЛПДНЩ, або ЛППЩ – проміжних продуктів, що утворюються в результаті перетворення ЛПДНЩ у ЛПНЩ [17]. Ліпопротеїни дуже низької щільності різняться значною гетерогенністю як за розмірами частинок, так і за їх складом та фізико-хімічними властивостями. Вміст ТАГ прямо пропорційний їх діаметру і швидкості флоатації, але зворотно пропорційний вмісту протеїну та ФЛ.

Катаболізм ХМ і ЛПДНЩ відбувається при їх надходженні до кровотоку. При цьому відбувається їх обмін з поверхнево розміщеними ліпідними компонентами мембран формених елементів крові, ендотеліальних та інших клітин та розщеплення під впливом ліполітичних ензимів, основними з яких є ЛПЛ і печінкова триацилгліцеролліпаза. В результаті гідролізу ТАГ, відзначаються істотні зміни в структурі поверхневого шару частинки, що супроводжується переміщенням ТАГ із ядра до її поверхні. За цих умов відбувається зменшення більшої маси ТАГ. При цьому, кількість естерів ХС, зберігається повністю і може навіть зростати внаслідок надходження з інших ліпопротеїнів. За цих умов у частинках ХМ і ЛПДНЩ відмічається акумуляція естерів ХС як в ядрі, так і у поверхневій оболонці, що призводить до зменшення розчинності ТАГ у ФЛ-моношарі з 3–4 до 15 % [18].

У табл. 40 представлено результати щодо вмісту ЗХЛ в крові здорових телят, а також рівень ХС у ЛП різної щільності. Виявляється, що у крові здорових телят загальний вміст ХС становить 4,0 %, а у хворих тварин – 3,1 %. Подібна закономірність простежується і щодо змін вмісту ХС ліпопротеїнів з різною щільністю. Так, у телят, хворих на ентеропатологію, виявляється зростання проникності мембран еритроцитів та зменшення їх осмотичної



кислотної резистентності. Вказані показники стабілізуються після лікування телят ентеросорбентами.

**Таблиця 40. Вміст загального холестеролу та холестеролу в ліпопротеїнах різної щільності у крові здорових і хворих на ентеропатологію новонароджених телят, ммоль/л ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ , цит. за [7])**

Показник	Здорові (контроль) телята	Хворі на ентеропатологію телята
ЗХС	4,03±0,30	3,10±0,25*
ХС-ЛПДНЩ	1,90±0,25	1,62±0,22*
ХС-ЛПНЩ	1,11±0,02	0,80±0,15*
ХС-ЛПВЩ	1,02±0,01	0,68±0,03*

П р и м і т к а. \* $p < 0,05$ , результати достовірні у відношенні до контролю.

Результати дослідження вмісту ХС свідчать, що у крові хворих телят його рівень знижується, що характерно і для ЛП різної щільності. Ентеропатологія новонароджених телят аліментарної природи виявляє багатофакторну етіологію. Захворювання може виникати на тлі впливу різних факторів – складу молозива, які телята одержують від корів-матерів, що істотно залежить від якості кормів, умов утримання і т. д.

Таким чином, досліджено проникність еритроцитарних мембран, осмотичну та кислотну стійкість еритроцитів у хворих на ентеропатологію телят порівняно із здоровими. Вміст ЗХС у плазмі крові та ХС в ЛП різної щільності при захворюванні телят на ентеропатологію зменшується. Встановлені параметри змін в еритроцитах можна рекомендувати як критерій для визначення ефективності лікування.

## ЗАКЛЮЧЕННЯ

У результаті аналізу результатів комплексу біохімічних і фізико-хімічних досліджень виявлено низку закономірностей щодо особливостей метаболізму, про-антиоксидантної рівноваги і резистентного стану організму тварин (лабораторні щури, перепела, новонароджені телята), які узгоджуються зі змінами фосфоліпідного складу внутрішніх органів, що прямо чи опосередковано зазнають ураження ксенобіотиками і за розвитку спонтанної ентеропатології. Зокрема відмічається, посилення фосфоліпідного гідролізу, структурно-динамічна дезорганізація мембранних систем функціональних клітин із одночасною індукцією пероксидних процесів і репресією факторів антиоксидантного захисту, пригнічення резистентного стану організму таких тварин. Це вказує на доцільність застосування у прикладній ветеринарії репаративної терапії, яка орієнтована на особливості встановлених порушень з урахуванням природного потенціалу і фізіологічної здатності клітин до самовідновлення порушених функцій, передусім пошкоджених внутрішньоклітинних структур – мембранних систем. Зокрема встановлено наступне:

1. При моделюванні у щурів експериментального гепатиту на тлі введення натрію диклофенаку встановлено:

1.1 Зниження метаболічної активності печінки, що проявляється зменшенням у плазмі крові концентрації загального протеїну на 17 %, альбуміну – на 11, глюкози – на 6, ТАГ – на 53 і ХС – на 54 % та зростанням у 2,8 раза величини тимолової проби порівняно з контролем;

1.2 Розлади пігментної функції печінки, розвиток цитолітичного синдрому і внутрішньопечінкового холестазу;

1.3 Зміни макроелементного складу плазми крові у вигляді гіпокальціємії, гіпофосфатемії та гіпомагніємії із зростанням величини співвідношення Са : Р

на 35 % порівняно з контролем, що може спровокувати розвиток ендогенної остеопатії;

1.4 Розвиток хронічного запального процесу, який проявляється реактивним лейкоцитозом та анемією;

1.5 Пригнічення функціонування системи АОЗ організму і посилення інтенсивності ПОЛ.

2. Метаболічний статус організму телят, які перехворіли на ентеропатологію в період новонародженості, свідчить про:

2.1 Недостатнє відновлення структурно-функціонального стану органів травної системи;

2.2 Дефіцит лужного резерву і буферної ємності тканин (респіраторно-метаболічний ацидоз), явище сидеропенії і залізодефіцитної анемії з гіпохромемією (частково компенсується еритроцитозом) та суттєві порушення обміну ліпідів і показників загальної резистентності організму;

2.3 Підвищення інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів, зокрема накопичення у крові ДК і ТБК-активних продуктів за одночасного зменшення на 30 % антиокиснювальної активності крові та її компонентів, у 2 рази активності СОД і у 3 рази Кат. При цьому, вміст непротеїнових і протеїнових SH-груп зменшується в 2,4 рази.

3. У плазмі крові перепелів з 14- по 63-тю добу за кормового навантаження охратоксином А в дозах 150 і 300 мкг/кг корму достовірно підвищується вміст загальних ФЛ, що пропорційно залежить від дози та періоду згодовування мікотоксину. Передусім у плазмі крові таких перепелів зростає вміст ФХ, ФЕ та СМ, тоді як рівень ФС і ФІ – знижується.

4. У хворих на токсичний гепатит щурів на тлі введення в організм натрію диклофенаку встановлено достовірне зменшення в плазмі крові вмісту ФЕ, СМ, ФІ і ФК відповідно на 22 %, 17, 10 і 18 % порівняно з контролем, що характерно і для внутрішніх органів зокрема: в печінці ФС, ФІ та ЛФІ відповідно на 73 %, 52 і 15 %; у нирках – ЗФЛ, ФХ, СМ і ЛФС відповідно на

45 %, 29, 20 і 54 %; в легенях – ЗФЛ і ФХ відповідно на 24 і 29 %; в серці – ФС, КЛ і ЛФХ відповідно на 40 %, 10 і 2 %.

5. При моделюванні диклофенак-індукованого гепатиту в щурів встановлено різнобічні деструктивні зміни плазматичної та мітохондріальної мембран еритроцитів і гепатоцитів, а саме: модифікацію поверхневої структури мембран, зміну динамічних властивостей мембранних компонентів (переміщення протеїнових молекул), їхньої топографії та порушення гідрофобних протеїн-ліпідних взаємодій, конформаційні зміни протеїнових молекул і зростання їхньої структурної жорсткості.

6. У хворих на ентеропатологію новонароджених телят підвищується проникність мембран еритроцитів на 30 % та знижується осмотична й кислотна резистентність еритроцитів крові на 26 і 56 % відповідно. Це свідчить про структурні зміни в мембранах еритроцитів хворих тварин, які можуть бути пов'язані з вільнорадикальними процесами.

7. В результаті дії на організм тварин екопатогенних чинників (охратоксином А і лікарського препарату прямої цитолітичної дії) та спонтанної ентеропатології встановлено розвиток характерних порушень метаболізму, що узгоджується зі змінами ФЛ-складу внутрішніх органів, які зазнають прямого чи опосередкованого ураження, та проявляються посиленням фосфоліпідного гідролізу, структурно-динамічною дезорганізацією мембранних систем функціональних клітин з одночасною індукцією пероксидних процесів і репресією факторів антиоксидантного захисту.

## РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Пропонується при розробці нових або призначенні традиційних терапевтичних схем враховувати особливості метаболічних і структурно-динамічних змін в уражених органах і тканинах з урахуванням природного потенціалу та фізіологічної здатності клітин відновлювати утрачені функції і структурну організацію, насамперед мембранних систем.

2. Впроваджувати на виробництві лікувально-профілактичні та реабілітаційні заходи із використанням відновлюючої (клітинної) терапії, яка є елементом ендоекологічної технології вирощування продуктивних тварин, що спрямовано на вирішення проблем екологічної і харчової безпеки продукції АПК.

## ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ, УМОВНИХ ПОЗНАК, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ І ТЕРМІНІВ

АЛАТ	– аланінамінотрансфераза (ЕС 2.6.1.2);
АО	– антиокиснювальна система;
АОЗ	– антиоксидантний захист;
АсАТ	– аспартатамінотрансфераза (ЕС 2.6.1.1);
АТФ	– аденозинтрифосфорна кислота;
АДФ	– аденозиндифосфорна кислота;
АМФ	– аденозинмонофосфорна кислота;
ВГЛ	– відновлений глутатіон
ВЖК	– вільні жирні кислоти;
ГГТП	– $\gamma$ -глутамілтранспептидаза (ЕС 2.3.2.2);
ГЛДГ	– глутаматдегідрогеназа (ЕС 1.4.1.2);
ГП	– глутатіонпероксидаза (ЕС 1.11.1.9);
ГР	– глутатіонредуктаза (ЕС 1.6.4.2);
ДК	– дієнові кон'югати;
ДПК	– докозапентаєнова кислота;
ЕЖК	– есенційні жирні кислоти;
ЕПР	– ендоплазматичний ретикулум;
ЕХС	– естерифікований холестерол;
ЖК	– жирні кислоти;
ЗЛ	– загальні ліпіди;
ЗФЛ	– загальні фосfolіпіди;
Кат	– каталаза (ЕС 1.11.1.6);
КЛ	– кардіоліпін;
ЛДГ	– лактатдегідрогеназа (ЕС 1.1.1.27);
ЛП	– ліпопротеїн;

ЛПВЩ	– ліпопротеїни високої щільності;
ЛПДНЩ	– ліпопротеїни дуже низької щільності;
ЛПЛ	– ліпопротеїніліпази (ЕС 3.1.1.34);
ЛПНЩ	– ліпопротеїни низької щільності;
ЛФ	– лужна фосфатаза (ЕС 3.1.3.1);
ЛФХ	– лізофосфатидилхолін;
ЛХК	– літохолева кислота;
МДА	– малоновий діальдегід;
МНЖК	– мононенасичені жирні кислоти;
МЕОС	– мікросомальна ензимна окиснювальна система;
НАДН	– нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений;
НАДФН	– нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений;
НЖК	– насичені жирні кислоти;
НПЗП	– нестероїдні протизапальні препарати;
ПНЖК	– поліненасичені жирні кислоти;
ПОЛ	– пероксидне окиснення ліпідів;
14:0	– міристинова кислота;
16:0	– пальмітинова кислота;
16:1 n-9	– пальмітоолеїнова кислота;
17:0	– гептадеканова кислота;
18:0	– стеаринова кислота;
18:1 n-9	– олеїнова кислота;
18:2 n-6	– лінолева кислота;
18:3 n-6	– ліноленова кислота;
20:1 n-11	– ейкозамоноєнова кислота;
21:0	– генейкозанова кислота;
20:2	– ейкозадієнова кислота;
22:1 n-11	– ерукова кислота;
22:6 n-3	– докозангексаєнова кислота;

24:1 n-9	– нервонова кислота;
СМ	– сфінгомієлін;
СМЧЕ	– субмітохондріальні частини (ентероцити);
СМЧП	– субмітохондріальні частини (печінка);
СОД	– супероксиддисмутаза (ЕС 1.15.1.1);
ТАГ	– триацилгліцерол(и);
ТБК- активні продукти	– тіобарбітурової кислоти активні продукти;
ТХОК	– трихлороцтова кислота;
ФЕ	– фосфатидилетаноламін;
ФІ	– фосфатидилінозитол;
ФЛ	– фосфоліпід(и);
ФС	– фосфатидилсерин;
ФХ	– фосфатидилхолін;
ХК	– холева кислота;
ХС	– холестерол;
ЦТК	– цикл трикарбонових кислот (цикл Кребса).



## ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

### *До частини I*

1. Nonenzymatic Reactions above Phospholipid Surfaces of Biological Membranes: Reactivity of Phospholipids and Their Oxidation Derivatives / C. Solís-Calero, J. Ortega-Castro, J. Frau [et al.] // *Oxid Med Cell Longev.* – 2015;2015:319505.
2. Топорков А. С. Застосування есенціальних фосфоліпідів у терапії алкогольної хвороби печінки / А. С. Топорков. – 2012: <http://doctor.wponline.com/article/18248>.
3. Эссенциальные фосфолипиды в комплексной терапии стеатогепатита / А. О. Буеверов, В. С. Ешау, М. В. Маевская [та ін.] // *Клин. перспект. гастроэнт. и гепатол.* – 2012. – № 1. – С. 27–34.
4. Эссенциальные фосфолипиды в терапии неалкогольной жировой болезни печени / Ю. М. Степанов, Ю. А. Гайдар, В. Б. Ягмур [та ін.] // *Гастроэнтерология.* – 2015. – 4 (58).
5. Brown V. S. Biological membranes/ V. S. Brown. – Manchester: «Oxford Road», 1999. – 45 p.
6. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции/ Р. Геннис. – М. : Мир, 1997. – 624 с.
7. Acute liver failure in Scotland: changes in aetiology and outcomes over time (the Scottish Look-Back Study) / M. C. Donnelly, J. S. Davidson, K. Martin [et al.] // *J. Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* – 2017. – Vol. 45, N 6. – P. 833–843.
8. Herbal hepatotoxicity: suspected cases assessed for alternative causes / R. Teschke, J. Schulze, A. Schwarzenboeck [et al.] // *European J. Gastroenterology & Hepatology.* – 2013. – Vol. 25, N 9. – P. 1093–1098.
9. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич [та ін.]; за ред. В. В. Влізла. – Львів: 2012. – 762 с.

10. Пат. на КМ № 105657 Україна. А61К31/196, G09B23/28. Спосіб моделювання токсичного гепатиту / Мельничук Д. О., Грищенко В. А. – № и 201510370, заявл.23.10.2015; опубл.25.03.2016, Бюл. № 6.
11. Chang C. Y. Review article: drug hepatotoxicity / C. Y. Chang, T. D. Schiano // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. – 2007. – Vol. 25, N 10. – P. 1135–1351.
12. Shapiro M. A. Causality assessment of drug-induced hepatotoxicity: promises and pitfalls / M. A. Shapiro, J. H. Lewis. // *Clinics in Liver Disease*. – 2007. – Vol. 11, N 3. – P. 477–505.
13. Bunchorntavakul C. Review article: Herbal and dietary supplement hepatotoxicity / C. Bunchorntavakul, K. R. Reddy // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2012. – Vol. 37, N 1. – P. 3–17.
14. Treatment of Non-alcoholic Fatty Liver Disease with Curcumin: A Randomized Placebo-controlled Trial / S. Rahmani, S. Asgary, G. Askari [et al.] // *Phytotherapy Research*. – 2016. – Vol. 30, N 9. – P. 1540–1548.
15. Acute liver failure in Scotland: changes in aetiology and outcomes over time (the Scottish Look-Back Study) / M. C. Donnelly, J. S. Davidson, K. Martin [et al.] // *J. Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2017. – Vol. 45, N 6. – P. 833–843.
16. Assessment of treatment response in non-alcoholic steatohepatitis using advanced magnetic resonance imaging / S. C. Lin, E. Heba, R. Bettencourt [et al.] // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2017. – Vol. 45, N 6. – P. 844–854.
17. The effect of atorvastatin on liver function among patients with coronary heart disease in Gaza Strip / M. Taleb, I. Almasri, N. Siam [et al.] // *Pharmacology & Pharmacy*. – 2014. – Vol. 5, N 8. – P. 781–788.
18. Roux-en-y gastric bypass attenuates hepatic mitochondrial dysfunction in mice with non-alcoholic steatohepatitis / J. Verbeek, M. Lannoo, E. Pirinen [et al.] // *Gut*. – 2015. – Vol. 64. – P. 673–683.

19. Endoplasmic reticulum and mitochondria: independent roles and crosstalk in fatty liver diseases and hepatic inflammation / A. Blas-Garcia, N. Apostolova, V. Valls-Belles [et al.] // *Curr. Pharm. Des.* – 2016. – Vol. 22, N 18. – P. 2607–2618.

20. Okudo J. Hepatotoxicity due to clindamycin in combination with acetaminophen in a 62-year-old african american female: a case report and review of the literature / J. Okudo, N. Anusim // *Case Reports in Hepatology.* – 2016. – P. 1–5.

21. Statins in the treatment of dyslipidemia in the presence of elevated liver aminotransferase levels: a therapeutic dilemma / R. M. Calderon, L. X. Cubeddu, R. B. Goldberg [et al.] // *Mayo Clinic Proceedings.* – 2010. – Vol. 85. – P. 349–356.

22. Acute liver failure: an uncommon complication of commonly used medication / M. Z. Bawany, B. Bhutto, W. I. Youssef [et al.] // *American J. Therapeutics.* – 2013. – Vol. 20, N 5. – P. 566–568.

23. Oral clindamycin causing acute cholestatic hepatitis without ductopenia: a brief review of idiosyncratic drug-induced liver injury and a case report / H. Moole, Z. Ahmed, N. Saxena [et al.] // *Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspective.* – 2015. – Vol. 5, N 4. – P. 1–5.

24. Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis / C. Koliaki, J. Szendroedi, K. Kaul [et al.] // *Cell Metab.* – 2015. – Vol. 21, N 5. – P. 739–746.

25. Ipsen D. H. Normal weight dyslipidemia: Is it all about the liver? / D. H. Ipsen, P. Tveden-Nyborg, J. Lykkesfeldt // *Obesity.* – 2016. – Vol. 24, N 3. – P. 556–567.

26. Gariani K. Inhibiting poly ADP-ribosylation increases fatty acid oxidation and protects against fatty liver disease / K. Gariani, D. Ryu, K. J. Menzies // *Journal of Hepatology.* – 2017. – Vol. 66, N 1. – P. 132–141.

27. Malhi H. Endoplasmic reticulum stress in liver disease / H. Malhi, R. J. Kaufman // *Journal of Hepatology.* – 2011. – Vol. 54, N 4. – P. 795–809.

28. Allen K. Bile acids induce inflammatory genes in hepatocytes: a novel mechanism of inflammation during obstructive cholestasis / K. Allen, H. Jaeschke, B. L. Copple // *Am J. Pathol.* – 2011. – Vol. 178, N 1. – P. 175–186.

29. Fabbrini E. Hepatic steatosis as a marker of metabolic dysfunction / E. Fabbrini, F. Magkos // *Nutrients.* – 2015. – Vol. 7, N 6. – P. 4995–5019.

30. Inhibition of intestinal bile acid absorption improves cholestatic liver and bile duct injury in a mouse model of sclerosing cholangitis / A. Baghdasaryan, C. D. Fuchs, C. H. Osterreicher [et al.] // *Journal of Hepatology.* – 2016. – Vol. 64, N 3. – P. 674–681.

31. Shapiro M. A. Causality assessment of drug-induced hepatotoxicity: promises and pitfalls / M. A. Shapiro, J. H. Lewis // *Clinics in Liver Disease.* – 2007. – Vol. 11, N 3. – P. 477–505.

32. Cole H. L. The impact of proton pump inhibitor therapy on patients with liver disease / H. L. Cole, S. Pennycook, P. C. Hayes // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* – 2016. – Vol. 44, N 11–12. – P. 1213–1223.

33. Koliaki C. Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis / C. Koliaki, J. Szendroedi, K. Kaul // *Cell Metab.* – 2015. – Vol. 21, N 5. – P. 739–746.

34. Roux-en-y gastric bypass attenuates hepatic mitochondrial dysfunction in mice with non-alcoholic steatohepatitis / J. Verbeek, M. Lannoo, E. Pirinen [et al.] // *Gut.* – 2015. – Vol. 64. – P. 673–683.

35. Link between non-alcoholic fatty liver disease and atrial fibrillation: a systematic review and meta-analysis / A. M. Minhas, M. S. Usman, M. S. Khan [et al.] // *Cureus.* – 2017. – Vol. 9, N 4. – e 1142.

36. Allen K. Bile acids induce inflammatory genes in hepatocytes: a novel mechanism of inflammation during obstructive cholestasi / K. Allen, H. Jaeschke, B. L. Copple // *Am J. Pathol.* – 2011. – Vol. 178, N 1. – 175–186.

37. Kostyuk S. S. Leucogram blood of white rats under the influence of gamma irradiation on the back-ground of pyridoxine / S. S. Kostyuk // Journal of Medical and Biological Problems. – 2014. – Vol. 4, N 3:115. – P. 56–59.

38. Використання ліпосом на основі фосфоліпідів молока у гепатології / [Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, В. А. Томчук та ін.]: за ред. Д. О. Мельничука. – К.: НУБіП України, 2010. – 400 с.

39. Оцінка протеїнсинтезуючої функції печінки за експериментального гепатиту / В. А. Грищенко, В. А. Томчук, О. М. Литвиненко [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2011. – Vol. 83, N 1. – С. 63–68.

### *До частини 2*

1. Herbal hepatotoxicity: suspected cases assessed for alternative causes / R. Teschke, J. Schulze, A. Schwarzenboeck [et al.] // European J. Gastroenterology & Hepatology, 2013. – Vol. 25, N 9. – P. 1093–1098.

2. Acute liver failure in Scotland: changes in aetiology and outcomes over time (the Scottish Look-Back Study) / M. C. Donnelly, J. S. Davidson, K. Martin [et al.] // Alimentary Pharmacology & Therapeutics. – 2017. – Vol. 45, N 6. – P. 833–843.

3. Abd Elazem M. A. Adverse effects of diclofenac potassium and dexamethason on some hematobiochemical and immunological parameters in Egyptian goat bucks. / Abd Elazem, M. A. & Seham, Y. Abo-Kora // Journal of American Science. – 2015. – Vol. 11, N 7. – P. 92–99.

4. Inhibiting poly ADP-ribosylation increases fatty acid oxidation and protects against fatty liver disease / K. Gariani, D. Ryu, K. J. Menzies [et al.] // Journal of Hepatology. – 2017. – Vol. 66, N 1. – 132–141.

5. Gryshchenko V. A. Biochemical properties of the plasma of rats with the experimentally induced hepatitis after oral administration of sodium diclofenac /

V. A. Gryshchenko // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. – 2017. – Vol. 8, N 2. – P. 191–196.

6. Genetic polymorphisms associated with adverse events and elimination of metho-trexate in childhood acute lymphoblastic leukemia and malignant lymphoma / H. Imanishi, N. Okamura, M. Yagi [et al.] // *J. Hum. Genet.* – 2007. – Vol. 52, N 2. – P. 166–171.

7. Fabbrini E. Hepatic steatosis as a marker of metabolic dysfunction / E. Fabbrini, F. Magkos // *Nutrients*. – 2015. – Vol. 7, N 6. – P. 4995–5019.

8. Cole H. L. The impact of proton pump inhibitor therapy on patients with liver disease / H. L. Cole, S. Pennycook, P. C. Hayes // *Alimentary Pharmacology & Therapeutic*. – 2016. – Vol. 44, N 11–12. – P. 1213–1223.

9. Rykalo N. A. Features of reparative regeneration of the liver tissue in rats during experimental tetrachloromethanic and alcoholic hepatitis / N. A. Rykalo, L. A. Yarovenko // *Pathologia*. – 2015. – Vol. 1, N 33. – 84–89.

10. Chernova V. M. (2016). Liver pathology in patients with blood diseases / V. M. Chernova // *Modern gastroenterology*. – 2016. – Vol. 3, N 89. – P. 105–113.

11. Okudo J. Hepatotoxicity due to clindamycin in combination with acetaminophen in a 62-year-old african american female: a case report and review of the literature / J. Okudo, N. Anusim // *Case Reports in Hepatology*. – 2016. – P. 1–5.

12. Melnychuk, D. O., Gryshchenko, V. A. (2016). Method modeling of toxic hepatitis. Patent UA, 105657.

13. Research methods of liver and biliar system functional state / D. O. Melnychuk, , V. A. Tomchuk, P. I. Yanchuk [et al.]. – NUBiP Ukraine, 2015.

14. Vlizlo V. V. Laboratory methods of investigation in biology, stock-breeding and veterinary / V. V. Vlizlo, R. S. Fedoruk, I. B. Ratych. – Spolom, Lviv, 2012.

15. Pototsky M. K. Fundamentals of histopathological engineering: methodical instructions / M. K. Pototsky – NUBiP Ukraine, 2001.

16. Volkova O. V. Fundamentals of histology and histological techniques / O. V. Volkova, Yu. K. Eletsy, – Moscow: Medicine, 1987.

17. Harirforoosh S. Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications./ S. Harirforoosh, W. Asghar, F. Jamali // Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences: a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques. – 2013. – Vol. 16, N 5. – P. 821–847.

18. Acute liver failure: an uncommon complication of commonly used medication / M. Z. Bawany, B. Bhutto, W. I. Youssef [et al.] // American J. Therapeutics. – 2013. – Vol. 20, N 5. – P. 566–568.

19. Drug-induced toxicity on mitochondria and lipid metabolism: Mechanistic diversity and deleterious consequences for the liver / K. Begriche, J. Massart, M.-A. Robin [et al.] // J. of Hepatology. – 2011. – Vol. 54, N 4. – P. 773–794.

20. Herbal hepatotoxicity: suspected cases assessed for alternative causes / R. Teschke, J. Schulze, A. Schwarzenboeck [et al.] // European J. Gastroenterology & Hepatology. – 2013. – Vol. 25, N 9. – P. 1093–1098.

21. Björnsson E. S. Categorization of drugs implicated in causing liver injury: critical assessment based on published case reports / E. S. Björnsson, J. H. Hoofnagle // Hepatology. – 2016. – Vol. 63, N 2. – P. 590–603.

22. Gryshchenko V. A. Hematological profile of rats in experimental diclofenac-induced hepatitis / V. A. Gryshchenko // Ukrainian Journal of Ecology. – 2017. – Vol. 7, N 3. – P. 78–83.

23. Kawano Y. Mechanisms of hepatic triglyceride accumulation in non-alcoholic fatty liver disease / Y. Kawano, D. E. Cohen // Journal of Gastroenterology. – 2013. – Vol. 48, N 4. – P. 434–441.

24. Bechmann L. P. The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases / L. P. Bechmann, R. A. Hannivoort, G. Gerken [et al.] // Journal of Hepatology. – 2012. – Vol. 56, N 4. – P. 952–964.

25. Esplugues J. V. Endoplasmic reticulum and mitochondria: independent roles and crosstalk in fatty liver diseases and hepatic inflammation / A. Blas-Garcia, N. Apostolova, V. Valls-Belles // *Curr. Pharm. Des.* – 2016. – Vol. 22, N 18. – P. 2607–2618.

26. Devbhuti P. Clindamycin: effects on plasma lipid profile and peroxidation parameters in rabbit blood plasma. / P. Devbhuti, A. Saha, C. Sengupta // *Acta Poloniae Pharmaceutica.* – 2015. – Vol. 72, N 2. – P. 253–260.

27. Rui L. Energy metabolism in the liver / L. Rui // *Comprehensive Physiology.* – 2014. – Vol. 4, N 1. – P. 177–197.

28. Decreased procoagulant phospholipids in patients treated by vitamin K antagonists / A. Rousseau, B. Woodhams, M. Paunet-Bobo [et al.] // *Thrombosis Research.* – 2012. – Vol. 130, N 3. – P. 491–494.

29. Оцінка протеїнсинтезуючої функції печінки за експериментального гепатиту / В. А. Грищенко, В. А. Томчук, О. М. Литвиненко [та ін.] // *Укр. біохім. журн.* – 2011. – Vol. 83, N 1. – С. 63–68.

30. Минов А. Ф. Нарушение гемостаза при заболеваниях печени. Вестник трансплантологии и искусственных органов / А. Ф. Минов, А. М. Дзядзько, О. О. Руммо. – 2010. – XII(2). – С. 82–91.

31. New fundamentals in hemostasis / H. H. Versteeg, J. W. Heemskerk, M. Levi // *Physiological Reviews.* – 2013. – Vol. 93, N 1. – P. 327–358.

32. Owens A. P. Microparticles in hemostasis and thrombosis / A. P. Owens, N. Mackman // *Circulation Research.* – 2011. – Vol. 108, N 10. – P. 1284–1297.

33. Protective effect of bicyclol on tetracycline-induced fatty liver in mice / M. Y. Yu, B. L. Wang, J. Zhao [et al.] // *Toxicology.* – 2009. – Vol. 261, N 3. – P. 112–118.

34. Udut V. V. Effects of phospholipid hepatoprotectors on apoptosis during experimental liver pathology induced by isoniazid and paracetamol / V. V. Udut, A. I. Vengerovsky, A. Dygai // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* – 2013. – Vol. 154, N 5. – P. 614–617.



35. Влізло В. В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В. В. Влізло, З. С. Федорук, І. Б. Ратич. – Львів: СПОЛОМ, 2012. – 764 с.

36. Методи дослідження функціонального стану печінки та біліарної системи / Д. О. Мельничук, В. А. Томчук, П. І. Янчук [та ін.]. – К.: НУБіП України, 2015. – 414 с.

37. Пат. 86516 UA, МПК А 61К 35/20, А23К 1/00. Ветеринарна біологічно активна добавка ліпосомальної форми та спосіб репаративної терапії в гепатології / Мельничук Д. О., Грищенко В. А., Литвиненко О. М. Опубл. 27.04.2009, Бюл. № 8.

38. Долгов В. В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В. В. Долгов, П. В. Свиринов. – М.-Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005 – 227 с.

39. Соколовська А. С. Порівняльна характеристика методів визначення вмісту фібриногену в плазмі крові / А. С. Соколовська, Т. М. Чернишенко, Т. І. Іваненко // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2002. – № 3. – С. 82–86.

40. Горницкая О. В. Выделение и свойства активатора протеина С из яда щитомордника обыкновенного / О. В. Горницкая, Т. Н. Платонова // Биомед. химия. – 2003. – т. 49, № 5. – С. 470–479.

41. Морозов Ю. А. Нарушения системы гемостаза при патологии печени и их диагностика. Геморрагические диатезы, тромбозы, тромбофилии / Ю. А. Морозов, Р. В. Медников, М. А. Чарная. – 2014. – № 1. – С. 162–174.

42. Сердюков Я. К. Патолого-анатомічні та гістологічні зміни в печінці щурів за медикаментозного гепатиту / Я. К. Сердюков, О. М. Литвиненко, В. А. Грищенко // Соврем. пробл. токсикол. – 2008. – № 2. – С. 63–65.

43. Литвиненко О. М. Показники ліпідного та жовчно-кислотного обмінів за експериментального медикаментозного гепатиту та їх корекція. Дис. канд. біол. наук. – К. 2010. – 24 с.

44. Бышевский А. Ш. Биохимические сдвиги в диагностике патологических состояний (с элементами патохимии) / А. Ш. Бышевский, С. Л. Галян. – Новосибирск, 1993. – 200 с.

45. Кунц Э. «Эссенциальные фосфолипиды» в гепатологии (экспериментальный и клинический опыт) / Э. Кунц, К.-Й. Гундерманн, Э. Шнайдер // Терапев. архив. – 1994. – 66, № 2. – С. 66–72.

46. Мельничук Д. О. Порівняльна оцінка впливу препаратів на основі фосфоліпідів різного походження на фосфоліпідний склад печінки за токсичного гепатиту мишей / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, О. М. Литвиненко // Доповіді НАН України. – 2007. – № 12. – С. 173–175.

47. Грищенко В. А. Біохімічні показники сироватки крові при медикаментозному гепатиті щурів та їх зміни за різних способів корекції / В. А. Грищенко, О. М. Литвиненко // Наук. вісн. Львівської нац. академії ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького. – 2007. – 9, № 3 (34). Ч. 2. – С. 54–57.

48. Пат. 86516 Україна, МПК А 61К 35/20 А 23К 1/00. Ветеринарна біологічно активна добавка ліпосомальної форми та спосіб репаративної терапії в гепатології / Мельничук Д. О., Грищенко В. А., Литвиненко О. М. Опубл. 27.04.2009, Бюл. № 8.

49. Hematology: basic and practice // Ed. by Hoffman R., Benz E. J., Shattil S. J. [et al.]. – Silberstein. – New York: Churchill Livingstone, 1995. – 2369 p.

50. Solano C., Cobcroft R. G., Scofield D. C. // Thromb. Haemost. – 1990. – 64, N 3. – P. 353–357.

51. Зубаиров Д. М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования / Д. М. Зубаиров. – Казань : ФЭН, 2000. – 362 с.

52. Катикова О. Ю. Особенности витаминного статуса у больных с заболеваниями печени различной этиологии. Возможности витаминотерапии / О. Ю. Катикова, Е. В. Ших // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2009. – № 3. – С. 21–31.

53. Литвиненко О. М. Моделювання медикаментозного гепатиту в лабораторних щурів / О. М. Литвиненко, В. А. Грищенко // Тези доп. IV Міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» / Львів, квітень 2008 р. – С. 432–433.

54. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В. В. Долгов, П. В. Свирин – М.-Тверь: ООО издательство «Триада», 2005. – 227 с.

55. Варецька Т. В. Одержання фібрин-мономеру та вивчення деяких його властивостей / Т. В. Варецька // Укр. біохім. журн. – 1960. – 32, № 2 – С. 13–24.

56. Deutsch D. G. Plasminogen: purification from human plasma by affinity chromatography / D. G. Deutsch, E. T. Mertz // Science. – 1970. – 170, N 3962. – P. 1095–1096.

57. Визначення функціонально неактивних форм протромбіну для контролю ефективності лікування антикоагулянтами непрямой дії / Корольова Д. С., Деєв В. А., Куповська С. І. [та ін.] // Лаб. діагностика. – 2009. – № 2 (48). – С. 3–12.

58. Використання екамуліну – активатору протромбіну із отрути ефі багатолускової в клінічній лабораторній діагностиці / Д. С. Корольова, Р. П. Виноградова, Т. М. Чернишенко [та ін.] // Лаб. діагностика. – 2006. – № 3 (37). – С. 18–22.

59. Сучасні методи біохімічних досліджень / М. Є. Кучеренко, Ю. Д. Бабенюк, Войціцький В. М. – К.: Фітосоціоцентр, 2001 – 424 с.

60. Rescue therapy by portal infusion of autologous stem cells in a case of drug-induced hepatitis / A. Gasbarrini, G. L. Rapaccini, S. Rutella [et al.] // Dig. Liver Dis. – 2007. – 39. – P. 878–882.

### *До частини 3*

1. Профилактика ранних постнатальных заболеваний и лечение новорожденных телят / В. И. Мозжерин, Н. Г. Фенченко, В. Р. Хусаинов [та ін] // *Ветеринария*. – 2006. – № 1. – С. 48–49.

2. Грищенко В. А. Теоретично-прикладні аспекти застосування репаративної терапії на основі фосфоліпідів молока при ентеропатології телят / В. А. Грищенко. – К.: Видавн. центр НАУ, 2008. – 162 с.

3. Хомич В. Т. Вплив фосфоліпідвмісної біологічно активної добавки на ультрамікроструктурні зміни гепатоцитів у телят реабілітаційного періоду, перехворілих на диспепсію / В. Т. Хомич, В. А. Грищенко // *Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету* – 2005. – № 1. – С. 82–85.

4. Томчук В. А. Ліпіди та ентеропатологія телят // В. А. Томчук, В. А. Грищенко. – К.: ЦП «Компринт», 2016. – 508 с.

5. Костюк В. А., Потапович А. И., Лунец Е. Ф. // *Вопр. мед. химии*. – 1984. – т. 30, № 4. – С. 125–127.

6. Макаренко Е. В. Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах у больных с хроническими заболеваниями печени / Е. В. Макаренко // *Лаборат. дело*. – 1988. – № 11. – С. 48–50.

7. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Ануял, Я. Штенгер // *Лаборат. дело*. – 1991. – № 10. – С. 9–13.

8. Власова С. Н. Определение активности глутатионпероксидазы в крови / С. Н. Власова, У. И. Шабунина, И. А. Пересмегина // *Лабор. дело*. – 1990. – № 8. – С. 19–22.

9. Trinder P. // *J. Clin. Path.* – 1969. – Vol. 22. – P. 158.

10. Назаренко Г. Н. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. – 2-е изд. / Г. Н. Назаренко, А. А. Кишку – М.: Медицина, 2002. – 544 с.
11. Чумаченко В. Е. Определение естественной резистентности и обмена веществ у сельскохозяйственных животных / В. Е. Чумаченко, А. М. Высоцкий, Н. А. Сердюк [и др.]. – К.: Урожай, 1990. – 136 с.
12. Bach J. Demonstration of circulation thymic hormon in mouse and in man / J. Bach, M. Dardemic // Transplantation proc. – 1973. – Vol. 23. – P. 99–104.
13. Силакова А. И. Аммиак и глутамин крови и методы их определения / А. И. Силакова, Н. П. Корнюшенко // Лаборат. дело. – 1969. – № 1. – С. 61–66.
14. Folch J. A rapid method for isolation and purification from animal tissues total lipid / J. Folch, M. Lees, C. Sloane-Stanley // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, N 1. – P. 497–511.
15. Vaskovsky V. E. A universal reagent for phospholipids analysis / V. E. Vaskovsky, K. G. Kostetsky, J. M. Vasendin // J. Chromatogr. – 1975. – Vol. 115, N 1. – P. 123–141.
16. Медведев Ю. В. Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма / Ю. В. Медведев, А. Д. Толстой. – М.: Терра-Календер и Промоушн, 2000. – 232 с.
17. Temple M. D. Complex cellular responses to reactive oxygen species / M. D. Temple, G. G. Perrone, I. W. Dawes // Trends in Cell biology. – 2005. – Vol. 15, N 6. – P. 319–326.
18. The role of polymorphisms of glutathione S-transferases GSTM1, M3, P1, T1 and A1 in susceptibility to alcoholic liver disease / A. Brind, A. Hurlstone, D. Edrissinghe // Alcohol. – 2004. – Vol. 39, N 6. – P. 478–483.
19. Владимиров Ю. А. Биологические мембраны и незапрограммированная смерть клетки / Ю. А. Владимиров // Соровский образовательный журнал. – 2000. – т. 6, № 9. – С. 2–9.

20. Huang Y. S. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis / Y. S. Huang, H. D. Chern, W. J. Su // *J. Hepatol.* – 2003. – Vol. 37, N 4 – P. 924–930.

21. Zables A. C. Glutathione modulates ryanodine receptor from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum / A. C. Zables, T. G. Terence, J. J. Abramsonis // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272, N 11. – P. 7069–7077.

22. Костюшов Е. В. Антиоксиданты в генезе пиелонефрита у беременных / Костюшов Е. В., Джанашия М. М., Омельянюк Е. В. – СПб.: Петрополис, 2002. – 156 с.

23. Овсянникова Л. М. Антиоксидантные препараты: проблема выбора / Л. М. Овсянникова, Е.В. Носач // *Doctor.* – 2003. – № 1. – С. 74–76.

24. Данчук В. В. Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці / Данчук В. В. – Кам'янець-Подільський: «Абетка», 2006. – 189 с.

25. Скворцов В. В. Пероксидація ліпидов и антиоксидантная система в гепатологии / В. В. Скворцов // *Гепатология.* – 2003. – № 3. – С 7–13.

26. Корда М. М. Порушення окислювальних процесів і захисних систем організму за гострого хімічного ураження печінки та шляхи їх корекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук: спец. 14.03.04 “Патологічна фізіологія” / М. М. Корда. – Одеса, 1998. – 35 с.

27. Шаповал Г. С. Механизмы антиоксидантной защиты организма при действии активных форм кислорода // *Укр. биохим. журн.* – 2003. – т. 75, № 2. – С. 5–14.

28. Тихазе А. К. Свободнорадикальное окисление липидов при атеросклерозе и антиоксидантная коррекция нарушений метаболизма липопероксидов: автореф. дисс. ... д-ра. мед. наук. – М., 1999. – 48 с.

29. Барабой В. А. Биоантиоксиданты / Барабой В. А. – К.: Книга плюс, 2006. – 462 с.

30. Биологические мембраны. Методы / [Перевод с англ. А. Д. Виноградова] – М.: Мир, 1990. – 424 с.

31. Профилактика ранних постнатальных заболеваний и лечение новорожденных телят / В. И. Мозжерин, Н. Г. Фенченко, В. Р. Хусаинов [та ін] // Ветеринария. – 2006. – № 1. – С. 48–49.

32. Тимошок Н.О. Стимуляція інтерфероноутворення пробіотичним препаратом біфідім при шлунково-кишкових захворюваннях новонароджених телят / Н. О. Тимошок, В. М. Зоценко, М. Я. Співак // Бюл. Інституту сільськогосподарської мікробіології. – 2000. – № 7. – С. 84–85.

#### *До частини 4*

1. Blight E. G. A rapid method for total lipid extraction and purification / E. G. Blight, W. J. Dyer // Can. J. Biochem. Physiol. – 1959. – Vol. 37, N 8. – P. 911–917.

2. Куксис А. Липиды / А. Куксис // Хроматография. Практическое предложение метода; под. ред. Э. Хефтмана. – М., 1986. – ч. 1. – 130 с.

3. Антиоксидантна система захисту організму / І. Ф. Беленічев, Є. Л. Левицький, Ю. І. Губський [та ін.] // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 3. – С. 24–31.

4. Moldy grains, mykotoksins and feeding problems / Erik De Wolf, Gretchen Kuldau, Patrik Lipps [et al.] // J. Anim. Sci. – 1992. – Vol. 70. – P. 3941–3949.

5. Ochratoxin A. A mycotoxin of concern in Handbook of Applied Mycology / F. C. Strurmer, D. Bhatnagar, Lillehoj [et al.]. – Marcel Dekker, New York, 1992. – P. 403–432.

6. Formation of (4R)- and (4S)-4-hydroxyochratoxin A and 10-hydroxyochratoxin A from ochratoxin A by rabbit liver microsomes / F. C. Strurmer, C. E. Hansen, J. I. Pedersen [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 1983. – Vol. 45. – P. 1183–1187.

7. Correlation between ochratoxin A metabolites produced by several pig organs microsomes and DNA-adduct formation / V. Faucet, El Adlouni, C. Dekant [et al.] // *Drug Metab. Rev.* – 2003. – Vol. 35. – P. 112.

8. Силакова А. И. Аммиак и глутамин крови и методы их определения / А. И. Силакова, Н. П. Корнюшенко // *Лаборат. дело.* – 1969. – № 1. – С. 61–66.

9. Metabolites of ochratoxins in rat urine and in a culture of *Aspergillus ochraceus* / H. Xiao, R. R. Marquardt, D. Abramson [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1996. – Vol. 62. – P. 648–655.

10. Acute renal failure from inhalation of mycotoxins / N. Di Paolo, A. Guarnieri, F. Loi [et al.] // *Nephron.* – 1993. – Vol. 64. – P. 621–625.

11. Marquardt R. R. A review of recent advances in understanding ochratoxicosis / R. R. Marquardt, A. A. Frohlich // *J. Animal Sci.* – 1992. – Vol. 70. – P. 3968–3988.

12. Prior M. G. Effects of ochratoxin A on growth response and residues in broilers / M. G. Prior, J. B. O'Neil, C. S. Sisodia // *Poultry Sci.* – 1980. – Vol. 59. – P. 1254–1257.

13. Beneficial effects of dietary ascorbic acid supplement on hens subjective to ochratoxin A toxicosis under normal and high ambient temperature / F. M. Haazele, W. Guenter, R. Marquardt [et al.] // *Can. J. Animal Sci.* – 1993. – Vol. 73. – P. 149–157.

14. Діагностика, лікування і профілактика мікотоксикозів тварин та птиці : методичні вказівки / Хмельницький Г.О., Духницький В.Б., Риженко В.П. [та ін.]. – К. : Геопринт, 2004. – 49 с.

15. Skaug M. A. Levels of ochratoxin A and IgG against conidia of *Penicillium verrucosum* in blood samples from healthy farm workers / Skaug M. A. // *Ann Agric Environ Med.* – Vol. 10. – 2003. – P. 73–77.

16. Acute liver failure in Scotland: changes in aetiology and outcomes over time (the Scottish Look-Back Study) / M. C. Donnelly, J. S. Davidson, K. Martin [et



al.] // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2017. – Vol. 45, N 6. – P. 833–843.

17. Assessment of treatment response in non-alcoholic steatohepatitis using advanced magnetic resonance imaging / S. C. Lin, E. Heba, R. Bettencourt [et al.] // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2017. – Vol. 45(6). – P. 844–854.

18. Roux-en-y gastric bypass attenuates hepatic mitochondrial dysfunction in mice with non-alcoholic steatohepatitis / J. Verbeek, M. Lannoo, E. Pirinen [et al.] // *Gut*. – 2015. – Vol. 64. – P. 673–683.

19. Statins in the treatment of dyslipidemia in the presence of elevated liver aminotransferase levels: a therapeutic dilemma / R. M. Calderon, L. X. Cubeddu, R. B. Goldberg [et al.] // *Mayo Clinic Proceedings*. – 2010. – Vol. 85. – P. 349–356.

20. Haematobiochemical alterations induced by diclofenac sodium toxicity in Swiss albino mice / S. B. Basavraj, D. T. Fefar, K. S. Prajapati [et al.] // *Veterinary World*. – 2012. – Vol. 5, N 7. – P. 417–419.

21. Abd Elazem M. A. Adverse effects of diclofenac potassium and dexamethason on some hematobiochemical and immunological parameters in Egyptian goat bucks / M. A. Abd Elazem, Y. Abo-Kora Seham [et al.] // *Journal of American Science*. – 2015. – Vol. 11, N 7. – P. 92–99.

22. Melnychuk D. O., Gryshchenko V. A. (2016). Method modeling of toxic hepatitis. Patent UA, 105657.

23. Fabbrini E. Hepatic steatosis as a marker of metabolic dysfunction / E. Fabbrini, F. Magkos // *Nutrients*. – 2015. – Vol. 7, N 6. – P. 4995–5019.

24. Gryshchenko V. Biochemical properties of the plasma of rats with the experimentally induced hepatitis after oral administration of sodium diclofenac / V. Gryshchenko // *Regulatory Mechanisms in Biosystem*. – 2017. – Vol. 8, N 2. – P. 191–196.

25. Serdyukov Y. K. Pathological anatomical and histological changes are in liver of rats at a medicamentous hepatitis / Y. K. Serdyukov, O. N. Lytvynenko, V. A. Gryshchenko // *Modern Problems of Toxicology*. – 2008. – № 2. – C. 63–65.

26. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G. H. Sloane-Stanley // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226. – P. 497–509.

27. Vaskovsky V. E. A universal reagent for phospholipid analysis / V. E. Vaskovsky, E. Y. Kostetsky, I. M. Vasendin // Journal of Chromatography. – 1975. – Vol. 114. – 129–141.

28. Vlizlo V. V. Laboratory methods of investigation in biology, stock-breeding and veterinary / V. V. Vlizlo, R. S. Fedoruk, I. B. Ratych. – Spolom, Lviv, 2012.

29. Gula N. M. Fatty acids and their derivatives in pathologic starts / N. M. Gula, V. M. Margitich. – Naukova dumka, Kyiv, 2009.

30. Melnychuk D. O. Indices of lipid and phospholipid spectra of the blood plasma during neonathal enteropathology of calves under reparative therapy / D. O. Melnychuk, V. A. Gryshchenko // The Ukrainian Biochemical Journal. – 2005. – Vol. 77, N 1. – P. 89–95.

31. Афонина Г. Б. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ / Г. Б. Афонина, Л. А. Куюн. – К.: Нац. мед. ун-т, 2000. – 285 с.

32. Пат. 1289440 А1 СССР, А 61 К 37/22. Способ получения фосфолипидов / Мельничук Д. А., Лишко В. К., Стефанов А. В. и др.; заявитель и патентообладатель Национальный аграрный ун-т. – заявл. 23.01.85; опубл. 15.02.87.

33. Конев С. В. Структурная лабильность биологических мембран и регуляторные процессы / С. В. Конев. – Минск, 1987. – 128 с.

34. Карякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор) / Е. В. Карякина, С. В. Белова // Клинич. лабор. диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3–8.

35. Сердюков Я. К. Патолого-анатомічні та гістологічні зміни в печінці щурів за медикаментозного гепатиту / Я. К. Сердюков, О. М. Литвиненко,

В. А. Грищенко // Современные проблемы токсикологии. – 2008. – № 2. – С. 63–65.

36. Совалкин В. И. Цитокиновые механизмы в формировании воспалительных заболеваний печени / В. И. Совалкин, Г. Р. Бикбавова, Н. А. Жуков [и др.] // Гепатология. – 2005. – № 1. – С. 4–7.

37. Кагава Я. Биомембраны / Я. Кагава. – М.: Высшая школа, 1985. – С. 16–61.

38. Антиоксидантное действие гепатопротектора максара при экспериментальном диабете / В. И. Янькова, С. А. Иванова, С. А. Федорев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65, № 4. – С. 33–36.

39. Никитин Ю. П. Печень и липидный обмен / Ю. П. Никитин, Г. С. Курилович. – Новосибирск: Наука, 1985. – С. 86–93.

40. Використання ліпосом на основі фосфоліпідів молока у гепатології / [Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, В. А. Томчук та ін.]: за ред. Д. О. Мельничука. – К.: НУБіП України, 2010. – 400 с.

### *До частини 5*

1. Болдырев А. А. Биомембранология: учебн. пособие / А. А. Болдырев, Е. И. Кяйвяряйнен, В. А. Илюха. – Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН, 2006. – 226 с.

2. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции / Р. Геннис. – М.: Мир, 1997. – 624 с.

3. Конев С. В. Структурная лабильность биологических мембран и регуляторные процессы / С. В. Конев. – Минск.: Наука и техника, 1987. – 238 с.

4. Яковенко Э. П. Эффективность эссенциальных фосфолипидов в терапии алкогольного и неалкогольного стеатогепатита / Э. П. Яковенко,

П. Я. Григорьев, А. В. Яковенко // Рос. науч.-практ. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2005. – № 6. – С. 78–84.

5. Сандер Дж. Робинс. Коррекция липидных нарушений. Основные принципы и практическое осуществление терапевтических вмешательств / Сандер Дж. Робинс: пер. с англ. д-ра биол. наук В. А. Метельской. – М.: Медицина, 2001. – 176 с.

6. Владимиров Ю. А. Биологические мембраны и патология клетки / Ю. А. Владимиров // Природа. – 1987. – № 3. – С. 34–48.

7. Томчук В. А. Ліпіди та ентеропатологія телят: монографія / В. А. Томчук, В. А. Грищенко. – К.: ЦП «Компринт», 2016. – 507 с.

8. Грищенко В. А. Теоретично-прикладні аспекти застосування репаративної терапії на основі фосфоліпідів молока при ентеропатології телят / В. А. Грищенко. – К.: Видавн. центр НАУ, 2008. – 162 с.

9. The physiology of artificial hibernation / C. Marcel, Dirkes [et al.] // J. of Clinical and Translational Research. – 2015. – Vol. 2. – P. 78–93.

10. Вміст неполярних ліпідів у тканинах печінки деяких видів риб малих річок Західного Поділля / Б. З. Ляврін, Ю. І. Сеник, В. О. Хоменчук [та ін.] // Гидробиол. журн. – 2014. – Vol. 50, N 6. – С. 60–66.

11. Zhirnov V. The effects of ultra-low dose-radiation on the physical properties of human erythrocyte membranes / V. Zhirnov, S. Khyzhnyak, V. Voitsitsky // Int. J. Rad. Biol. – 2010. – Vol. 86, N 6. – P. 499–506.

12. Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеидов / Г. Е. Добрецов. – М.: Наука, 1989. – 277 с.

13. Липиды ядерных фракций нейронов и глии неокортекса при искусственном гипобиозе крыс / И. К. Коломийцева, Л. Н. Маркевич, Д. А. Игнатъев [и др.] // Биохимия. – 2010. – т. 75. № 9. – С. 1265–1272.

14. Гайдук Б. С. Лікування телят, хворих на гострі розлади травлення / Б. С. Гайдук, Г. М. Віничук, Д. І. Мудрак // Сільський господар. – 2003. – № 3–4. – С. 26.

15. Афолина Г. Б. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ / Г. Б. Афолина, Л. А. Куюн. – К.: Национальный мед. ун-т, 2000. – 285 с.

16. Засекін Д. А. Антиоксидантна ефективність апіфіпрепаратів при хворобах молодняка великої рогатої худоби / Д. А. Засекін, В. О. Постоєнко // Аграрна наука і освіта. – 2006. – т. 7, № 3–4. – С. 90–93.

17. Bell-Quint J. Synthesis of two forms of apolipoprotein B by cultured rat hepatocytes / J. Bell-Quint, T. Forte, P. Graham // Biochem Biophys Res Comm. – 1981. – Vol. 99. – P. 700–706.

18. Human macrophage metabolism of low density lipoprotein oxidized by stimulated neutrophils and ferritin / D. S. Abdalla, L. F. Costa-Rosa, H. P. Monteiro [et al.] // Atherosclerosis. – 1994. – Vol. 107, N 2. – P. 157–163.

## ЗМІСТ

Вступ .....	3
Передмова .....	5
1 Зміни метаболізму, про-антиоксидантної рівноваги та резистентного стану організму щурів за диклофенак-індукованого гепатиту (Томчук В. А., Грищенко В. А.) .....	6
1.1 Біохімічний профіль плазми крові щурів за диклофенак-індукованого гепатиту .....	7
1.2 Гематологічний профіль у щурів за диклофенак-індукованого гепатиту .....	14
1.3 Прооксидантно-антиоксидантна рівновага за диклофенак-індукованого гепатиту .....	18
1.4 Протеїнсинтезувальна функція печінки за диклофенак-індукованого гепатиту .....	21
2 Гематологічний профіль та структурна організація паренхіми печінки щурів за тетрациклін-індукованого гепатозу (Грищенко В. А.) .....	31
2.1 Гематологічні показники, макро- і мікроскопічні зміни в паренхімі печінки щурів за тетрациклін-індукованого гепатозу	31
2.2 Біохімічні та коагуляційні процеси в щурів за тетрациклін-індукованого гепатозу .....	41
3 Зміни метаболізму, про-антиоксидантної рівноваги та резистентного стану організму за ентеропатології телят (Томчук В. А., Грищенко В. А.) .....	53
3.1 Морфо-біохімічні показника крові за ентеропатології телят ....	55
3.2 Імунорезистентний стан організму за ентеропатології телят ....	57
3.3 Пероксидне окиснення ліпідів та антиоксидантна система захисту організму за ентеропатології телят .....	61

4	Фосфоліпиди і жирні кислоти ліпідів крові та внутрішніх органів тварин за токсичної дії на організм ксенобіотиків (Цвіліховський В. І., Грищенко В.А.) .....	72
4.1	Фосфоліпідний склад плазми крові перепелів за дії мікотоксину (кормового охратоксину А) .....	73
4.2	Жирні кислоти ліпідів плазми крові перепелів за дії охратоксину А в низьких дозах у комбікормі .....	82
4.3	Фосфоліпідний склад плазми крові і внутрішніх органів щурів за диклофенак-індукованого гепатиту .....	92
4.4	Жирні кислоти ліпідів плазми крові та печінки щурів при диклофенак-індукованому гепатиті .....	104
5	Структурний стан клітинних мембран за токсичної дії на організм ксенобіотиків та ентеропатології тварин (Грищенко В. А., Томчук В. А.) .....	109
5.1	Механізми розвитку патології клітини .....	110
5.2	Структурні зміни мембран ентероцитів і гепатоцитів у щурів за диклофенак-індукованого гепатиту .....	113
5.3	Характеристика мембран еритроцитів крові новонароджених телят, хворих на ентеропатологію .....	123
	Заключення .....	130
	Рекомендації .....	133
	Перелік скорочень, умовних познач, символів, одиниць і термінів .....	134
	Перелік джерел посилання .....	137

**Наукове видання**

**Томчук Віктор Анатолійович,  
Грищенко Вікторія Анатоліївна,  
Цвіліховський Валерій Іванович**

Монографія

**МЕТАБОЛІЧНІ ТА СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИН ЗА ДІЇ  
КСЕНОБІОТИКІВ І ПАТОЛОГІЇ**