

ЖОВЧОУТВОРЮВАЛЬНА ФУНКЦІЯ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛІМЕНТАРНОГО ОЖИРІННЯ

Пологовий будинок Рівненської міської ради (м. Рівне)

*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

МОЗ України» (м. Тернопіль)

Дана робота є фрагментом міжкафедральної НДР «Біохімічні механізми токсичності наночастинок різної природи та інших антропогенних і біогенних токсикантів в біологічних системах», № держ. реєстрації 0112U000542.

Вступ. Дослідження останніх років довели багатофакторний характер ожиріння, яке розвивається у результаті взаємодії соціальних, поведінкових, психологічних, метаболічних, клітинних і молекулярних факторів [5]. При цьому поряд з генетичною схильністю велика роль у розвитку даного захворювання належить зовнішнім факторам, зокрема способу життя, особливостям харчування, фізичній активності, психоемоційному стану [1, 2]. Наслідки ожиріння настільки шкідливі, що збільшення індексу маси тіла понад 20% нормальної ваги пов'язане із зростанням смертності на 20% [6].

Значний інтерес викликають дослідження функцій печінки за умови розвитку і прогресування ожиріння, яке з властивим йому цілим рядом метаболічних та гормональних порушень вносить свій власний специфічний додатковий вклад у розвиток ураження гепатобілярної системи. Впродовж останніх років були отримані дані про вплив аліментарного ожиріння на енергетичні процеси в тканині печінки, проте у літературних джерелах практично відсутні роботи, присвячені дослідженням жовчоутворювальної та жовчовидільної функцій печінки. Поодинокі суперечливі повідомлення з цього приводу не дозволяють скласти певну думку про зміни у механізмах регуляції рівня холерезу і якісного складу жовчі на фоні аліментарного ожиріння.

Метою дослідження було вивчити жовчоутворювальну функцію печінки у динаміці експериментального аліментарного ожиріння.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження проводили на статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях масою від 160,0 г до 200,0 г у відповідності з Женевською конвенцією "International Guiding principles for Biochemical research involving animals" (Geneva, 1990) та згідно із загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001). Щури перебували в

належних санітарно-гігієнічних умовах віварію ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України».

Експериментальна модель аліментарного ожиріння відтворювалась шляхом застосування індуктора харчового потягу – натрієвої солі глютамінової кислоти у співвідношенні 0,6:100,0 та висококалорійної дієти, яка складалася із стандартної їжі (47%), солодкого концентрованого молока (44%), кукурудзяної олії (8%) і рослинного крохмалю (1%). Контроль відтворення аліментарного ожиріння здійснювали шляхом зважування тварин.

Тварин поділили на три групи: контрольна група – інтактні тварини (6 щурів); перша дослідна група – термін спостереження через 14 днів після початку експерименту при ІМТ > 25 (6 щурів); друга дослідна група – через 28 днів після початку експерименту при ІМТ > 30 (6 щурів).

У тварин досліджували жовчоутворювальну функцію печінки через 14 і 28 днів після початку експерименту, що відповідає надмірній масі тіла й ожирінню. Під тіопентал-натрієвим знеболенням (60 мг·кг⁻¹) у тварин катетеризували спільну жовчну протоку і збирали жовч протягом 1 год. Розташування катетера в загальній жовчній протоці в усіх експериментах стандартизувалося, оскільки подразнення проксимальної чи дистальної його частини по-різному впливає на інтенсивність виділення жовчі [3].

В отриманій жовчі відповідно до рекомендацій [4] визначали концентрацію сумарних жовчних кислот, холестеролу, розраховували холато-холестеролове співвідношення. У жовчі також за методом Ван ден Берга в модифікації М. П. Скакуна визначали концентрації загального і прямого білірубину. На основі цих даних розраховували ступінь кон'югації білірубину за співвідношенням: прямий білірубін/загальний білірубін (%).

Евтаназію щурів після забору жовчі проводили методом тотального кровопускання з серця. Дослідження ферментного обміну – амінотрансферази (аланінамінотрансфераза (АЛТ), аспартатамінотрансфераза (АСТ)) проводили у сироватці крові

Таблиця

Відхилення показників жовчоутворювальної функції печінки у динаміці експериментального дієт-індукованого ожиріння ($M \pm \sigma$)

Показник	Контрольна група (n=6)	Дослідна група № 1 (n=6)	Дослідна група № 2 (n=6)
Загальні жовчні кислоти, г/л ⁻¹	3,70±0,10	3,75±0,08	2,93±0,11 p1 < 0,05 p2 < 0,05
Холестерол, г/л ⁻¹	0,25±0,01	0,28±0,01	0,65±0,05 p1 < 0,05 p2 < 0,05
Холато-холестероловий коефіцієнт	14,63±0,44	13,68±0,50	4,62±0,29 p1 < 0,05 p2 < 0,05
Загальний білірубін, мкмоль/л ⁻¹	96,65±2,83	102,77±2,67	115,65±4,35 p1 < 0,05 p2 < 0,05
Прямий білірубін, мкмоль/л ⁻¹	63,18±0,78	64,02±0,79	82,45±1,24 p1 < 0,05 p2 < 0,05
Ступінь кон'югації білірубину, %	65,60±1,74	62,51±1,80	71,60±1,66 p1 < 0,05 p2 < 0,05

Примітка: p1 – різниця достовірна у порівнянні з контрольними тваринами; p2 – різниця достовірна у порівнянні з ураженими тваринами.

за допомогою тест-набору «Lachema» виробництва Чехії.

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення «Excel» (Microsoft, США) та «STATISTICA» 6.0. («Statsoft», США) з використанням непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними

кількісними величинами визначали за допомогою критерію Мана–Уїтні.

Результати досліджень та їх обговорення. Як видно з **табл.**, за умови дієт-індукованого ожиріння (28 дів спостереження) відмічалось достовірне зниження вмісту в жовчі загальних жовчних кислот (на 20,72%, p < 0,05) і підвищення рівня холестеролу (на 155,26%, p < 0,05). Відхилення вмісту в жовчі загальних жовчних кислот і холестеролу призвели до статистично значимого зменшення холато-холестеролового співвідношення через 28 дів після початку експерименту (на 68,42%, p < 0,05). Потрібно відмітити, що у дослідній групі № 1 практично не змінювався вміст у жовчі загальних жовчних кислот і холестеролу, не спостерігалось відхилення й за холато-холестероловим співвідношенням.

Вміст загального і прямого білірубину, а також ступінь його кон'югації через 14 дів спостереження істотно не змінювалися стосовно контролю (p > 0,05). У той же час у другій дослідній групі відмічалось підвищення вмісту прямого білірубину в жовчі на 28,79%, що виявилось статистично достовірним (p < 0,05) і зумовило зростання ступеня кон'югації білірубину (на 14,55%, p < 0,05) (**табл.**).

Отримані дані дозволяють припустити, що в патогенезі порушення жовчоутворення за умови дієт-індукованого ожиріння лежить пошкодження мембран ендоплазматичного ретикулуму, де відбувається синтез основних компонентів жовчі і які, як свідчить література, найчутливіші до впливу активних форм кисню та вільних радикалів [6].

Накопичення реакційно здатних вільних радикалів і продуктів ПОЛ за умови експериментального ожиріння веде до дезінтеграції ліпідного бішару мембранних структур клітин з розвитком цитолітичного синдрому, що проявляється вибіркоким підвищенням активності амінотрансфераз у крові і печінці (**рис.**).

За умови експериментального дієт-індукованого ожиріння активність АЛТ протягом часу спостереження статистично значимо зменшилася у гомогенаті печінки, але зросла у сироватці крові (p < 0,05).

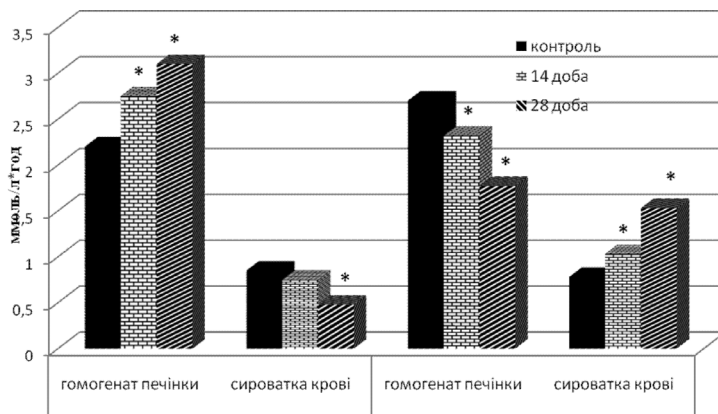


Рис. Динаміка активності амінотрансфераз за умови дієт-індукованого ожиріння у щурів (* – різниця достовірна у порівнянні з контрольними тваринами).

Також виявлено зростання активності АСТ у гомогенаті печінки на 25,00% у 1-й дослідній групі і на 40,91% – у 2-й групі, стосовно контролю (p < 0,05). Тенденція до зниження активності АСТ у сироватці крові на 11,76% через 14 дів експерименту із статистично значимим зменшенням активності досліджуваного показника на 43,14% через 28 дів досліду свідчить, очевидно, про зв'язування фермента по двох його активних центрах з його SH-групами. Порушення ферментного обміну були пов'язані з втягненням печінки у патологічний процес, який супроводжувався підвищенням проникності клітинних мембран, що сприяло виходу ферментів із клітинних структур у кров.

Висновки.

1. Порушення жовчоутворювальної функції печінки у щурів за умови дієт-індукованого ожиріння проявляється зміною біохімічних властивостей жовчі, що передусім характеризується підвищенням вмісту холестеролу, зниженням суми жовчних кислот зі збільшенням показників холато-холестеринового коефіцієнта ($p < 0,05$).

2. Порушення ферментного обміну при експериментальному аліментарному ожирінні пов'язано

з втягненням печінки у патологічний процес, який супроводжується підвищенням проникності клітинних мембран, що характеризується зростанням активності АСТ у гомогенаті печінки та сприяє виходу АЛТ із клітинних структур у кров.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі планується провести дослідження пероксидного окиснення ліпідів та встановити його зв'язок із жовчоутворювальною функцією печінки за умови дієт-індукованого ожиріння.

Література

1. Дедов И. И. Ожирение: этиология, патогенез, клинические аспекты / И. И. Дедов, Г. А. Мельниченко. – М., 2004. – 456 с.
2. Ожирение и другие нарушения метаболизма липидов / Под ред. С. И. Удинцева, В. Ю. Сереброва. – Томск : Изд-во Том. гос. ун-та, 2008. – 326 с.
3. Сван О. Вплив подразнень з різних відділів жовчовивідних шляхів на стан вегетативних реакцій в експерименті / О. Сван, І. Смільська, М. Швалюк // Тези доп. III Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1999. – С. 331-332.
4. Чекман И. С. Микросомальная ферментная система организма / И. С. Чекман, К. А. Посохова, Е. Г. Береговая. – Киев, 1996. – 80 с.
5. Fernández-Sánchez A. Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity / A. Fernández-Sánchez, E. Madrigal-Santillán, M. Bautista [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2011. – Vol. 12. – P. 3117-3132.
6. Von Diemen V. Experimental model to induce obesity in rats / V. Von Diemen, E. N. Trindade, M. R. M. Trindade // Acta Cirúrgica Brasileira. – 2006. – Vol 21 (6). – P. 425-429.

УДК 612.357-02:616-056.52]-092.9

ЖОВЧОУТВОРЮВАЛЬНА ФУНКЦІЯ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛІМЕНТАРНОГО ОЖИРІННЯ

Мялюк О. П., Кліщ І. М., Марущак М. І.

Резюме. Метою дослідження було вивчити жовчоутворювальну функцію печінки у динаміці експериментального аліментарного ожиріння.

Експериментальна модель аліментарного ожиріння відтворювалась на статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях шляхом застосування індуктора харчового потягу – натрієвої солі глютамінової кислоти та висококалорійної дієти.

У ході нашого дослідження виявилось, що за умови дієт-індукованого ожиріння (28 днів спостереження) відмічалось статистично достовірне зниження вмісту в жовчі загальних жовчних кислот і підвищення рівня холестеролу ($p < 0,05$). Відхилення вмісту в жовчі загальних жовчних кислот і холестеролу призвели до статистично значимого зменшення холато-холестеролового співвідношення через 28 днів після початку експерименту (на 68,42%, $p < 0,05$). У цей же період відмічалось підвищення вмісту прямого білірубину в жовчі на 28,79%, що виявилось статистично достовірним ($p < 0,05$) і зумовило зростання ступеня кон'югації білірубину.

За умови експериментального дієт-індукованого ожиріння виявлено також порушення ферментного обміну, що проявляється вибіркоvim підвищенням активності амінотрансфераз у крові і печінці.

Отже, порушення жовчоутворювальної функції печінки у щурів за умови дієт-індукованого ожиріння проявляється зміною біохімічних властивостей жовчі, що передусім характеризується підвищенням вмісту холестеролу, зниженням суми жовчних кислот зі збільшенням показників холато-холестеринового коефіцієнта, що супроводжується підвищенням проникності клітинних мембран і порушенням ферментного обміну.

Ключові слова: дієт-індуковане ожиріння, жовчоутворювальна функція печінки

УДК 612.357-02:616-056.52]-092.9

ЖЕЛЧЕОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛИМЕНТАРНОГО ОЖИРЕНИЯ

Мялюк О. П., Клищ И. М., Марущак М. И.

Резюме. Целью исследования было изучить желчеобразовательную функцию печени в динамике экспериментального алиментарного ожирения.

Экспериментальная модель алиментарного ожирения воспроизводилась на половозрелых нелинейных белых крысах-самцах путем применения индуктора пищевого влечения – натриевой соли глютаминової кислоты и высококалорийной диеты.

В ходе нашего исследования оказалось, что в условиях диет-индуцированного ожирения (28 суток наблюдения) отмечалось статистически достоверное снижение содержания в желчи общих желчных кислот и повышение уровня холестерина ($p < 0,05$). Отклонение содержания в желчи общих желчных кислот и холестерина привели к статистически значимому уменьшению холато-холестеролового соотношения через 28 суток после начала эксперимента (на 68,42%, $p < 0,05$). В этот же период отмечалось повышение содержания прямого билирубина в желчи на 28,79%, что оказалось статистически достоверным ($p < 0,05$) и обусловило рост степени конъюгации билирубина.

При экспериментальном диет-индуцированном ожирении выявлены также нарушения ферментного обмена, что проявляется выборочным повышением активности аминотрансфераз в крови и печени.

Следовательно, нарушение желчеобразовательной функции печени у крыс при диет-индуцированном ожирении проявляется изменением биохимических свойств желчи, прежде всего характеризуется повышением содержания холестерина, снижением суммы желчных кислот с увеличением показателей холато-холестеринового коэффициента, что сопровождается повышением проницаемости клеточных мембран и нарушением ферментного обмена.

Ключевые слова: диет-индуцированное ожирение, желчеобразовательная функция печени

UDC 612.357-02:616-056.52]-092.9

Liver Bile Formation Function in Case of Experimental Alimentary Obesity

Myalyuk O. P., Klishch I. M., Marushchak M. I.

Abstract. *Introduction.* Researches of the last years led to multivariable character of obesity. Considerable interest is caused by researches of functions of liver on condition of development and progress of obesity, which with incident to him brings in the own specific additional contribution a number of metabolic and hormonal violations to development of defeat of the hepatobiliary system. Single contradictory reports on this occasion do not allow to form a certain opinion of changes in the mechanisms of adjusting of level of choleresis and qualitative composition of bile in the background alimentary obesity.

The aim of the study was to examine the liver bile formation function in the dynamics of experimental alimentary obesity.

Materials and methods. Experiments were carried out on mature nonlinear white male rats. Experimental model of alimentary obesity reproduced by applying the inductor food drive – sodium salt of glutamic acid and high-calorie diet. It was measured the level of total bile acids, cholesterol and holato-cholesterol ratio, the content of total and direct bilirubin, and its degree of conjugation in the bile and the activity of ALT and AST – in blood serum.

The animals were divided into three groups: control group – intact animals; first experimental group – the time of observation 14 days after the start of experiment ($BMI > 25$); second experimental group – 28 days after the start of the experiment ($BMI > 30$).

Results and discussion. During our study found that in a diet-induced obesity (28 days of observation) was observed a statistically significant decrease the content of total bile acids in bile (by 20,72%, $p < 0,05$) and increased levels of (at 155,26%, $p < 0,05$). Deviations content in bile total bile acids and cholesterol resulted in a statistically significant reduction of holato-cholesterol ratio in 28 days after the start of the experiment (at 68,42%, $p < 0,05$). Established that in 14 days from the beginning of the observation does not change the content in bile total bile acids and cholesterol, were not observing the deviations of holato-cholesterol ratio.

The content of total and direct bilirubin, and its degree of conjugation in 14 days of observation were not significantly changed in relation to the control group ($p > 0,05$). At the same time, in the second experimental group (28 days of observation) was observed increase in the content of direct bilirubin in bile at 28,79%, which was statistically significant ($p < 0,05$) and caused a rise in the degree of conjugation of bilirubin (at 14,55%, $p < 0,05$).

Under the experimental diet-induced obesity also found violations of enzyme metabolism, particularly ALT during the observation statistically significantly decreased in liver homogenate, but increased in blood serum ($p < 0,05$). Also installing growth of the AST in liver homogenate at 25.00% in the first experimental group and 40,91% – in the second group according to control ($p < 0,05$), accompanied by a statistically significant decrease in the activity of the studied parameters to 43,14% after 28 days of the experiment.

Conclusions. Violation of bile producing function of liver in rats provided diets obesity-induced change appears biochemical properties of bile, which is primarily characterized by increased content of cholesterol, the reduction of amount bile acids and increase in holato-cholesterol ratio in bile.

Violation enzyme metabolism in experimental alimentary obesity is associated with liver involvement in the pathological process that is accompanied by increased permeability of cell membranes, accompanied by increased activity of AST in liver homogenate and promotes the release of ALT cell structures in the blood.

Keywords: diet-induced obesity, liver bile formation function.

Рецензент – проф. Костенко В. О.

Стаття надійшла 18. 08. 2014 р.