

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ

ГП «Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта МЗ
Украины»

На правах рукописи

ЛЕВЧЕНКО ЕЛЕНА МИХАЙЛОВНА

УДК 616.361-089:576.8-002.615.24

**АЛИМЕНТАРНО-ДИСБИОТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА И
ПРОФИЛАКТИКИ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА**

14.03.04 - патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки и техники

Украины

Гоженко Анатолий Иванович

Одесса – 2016

СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
РАЗДЕЛ 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. НЕАЛКОГОЛЬНАЯ ЖИРОВАЯ БОЛЕЗНЬ ПЕЧЕНИ (ПАТОГЕНЕЗ, ПРОФИЛАКТИКА, ЛЕЧЕНИЕ)	13
1.1 Эпидемиология и клиника неалкогольной жировой болезни печени	13
1.2 Патогенез неалкогольной жировой болезни печени	24
1.3 Профилактика и лечение неалкогольной жировой болезни печени .	33
1.4 Лечебно-профилактическое действие биофлавоноидов при неалкогольной жировой болезни печени	39
РАЗДЕЛ 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	43
2.1 Используемые в работе материалы, реактивы и препараты	43
2.2 Экспериментальные модели	44
2.3 Методы биохимических исследований	48
РАЗДЕЛ 3. ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЖИРОВЫХ РАЦИОНОВ С РАЗНЫМ СОСТАВОМ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ..	55
3.1 Влияние разных жиров на состояние печени	57
3.2 Жирнокислотный состав липидов печени крыс после жировой загрузки	62
РАЗДЕЛ 4. ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ РАЗНЫЕ ПИЩЕВЫЕ ЖИРЫ	67
РАЗДЕЛ 5. РОЛЬ ДИСБИОЗА В ПАТОГЕНЕЗЕ СТЕАТОГЕПАТИТА	87
5.1 Развитие стеатогепатита при сочетании высокожировых рационов с кишечным дисбиозом	87
5.2 Влияние кишечного эндотоксина (липополисахарида) на развитие стеатогепатита	93
5.3 Влияние разных жиров на развитие дисбиоза в организме крыс ...	98

	3
5.4 Влияние спленэктомии на развитие стеатогепатита	101
5.5 Состояние печени при экспериментальном метаболическом синдроме	105
5.6 Влияние преднизолона на развитие стеатогепатита	109
РАЗДЕЛ 6. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОФИЛАКТИКА И ТЕРАПИЯ ГЕПАТИТОВ	114
6.1 Гепатопротекторное действие лечебных минеральных вод	114
6.2 Сравнительная гепатопротекторная эффективность минеральной воды и синбиотика	120
6.3 Сравнительная гепатопротекторная эффективность биофлавоноида, пребиотика и их сочетания при токсическом гепатите	124
6.4 Гепатопротекторная эффективность «Квертулина» при системной эндотоксинемии	128
РАЗДЕЛ 7. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОФИЛАКТИКА СТЕАТОГЕПАТИТА	136
7.1 Влияние «Квертулина» на содержание липидов в печени и сыворотке крови крыс	136
7.2 Влияние «Квертулина» на содержание липидов в печени и сыворотке крови крыс с эндотоксинемией	139
7.3 Влияние лечебно-профилактических препаратов на содержание триглицеридов в печени и сыворотке крови крыс с метаболическим синдромом	143
7.4 Влияние высокоолеинового подсолнечного масла «Оливка» на состояние печени крыс	149
7.5 Влияние препарата незаменимых жирных кислот «Липосан» на состояние печени крыс	153
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	170
ВЫВОДЫ	176
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	179
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	181

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АПИ	– антиоксидантно-прооксидантный индекс
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
АТ	– ангиотензин
БЖР	– безжировой рацион
ВЖР	– высокожировой рацион
ГГТП	– γ -глутамилтранспептидаза
ГТ	– гепатит токсический
ЖГ	– жировой гепатоз
ЖД	– жировая дистрофия
ИЛ	– интерлейкин
ИМТ	– индекс массы тела
КТ	– компьютерная томография
ЛПОНП	– липопротеиды очень низкой плотности
ЛПС	– липополисахарид
МДА	– малоновый диальдегид
МС	– метаболический синдром
НАЖБП	– неалкогольная жировая болезнь печени
НАСГ	– неалкогольный стеатогепатит
НЖК	– насыщенные жирные кислоты
НТГ	– низкая толерантность к глюкозе
ОЛ	– общие липиды
ОХ	– общий холестерин
ПНЖК	– полиненасыщенные жирные кислоты
ПОЛ	– перекисное окисление липидов
СЖК	– свободные жирные кислоты
С-РБ	– С-реактивный белок
ССЗ	– сердечно-сосудистые заболевания

СД2	– сахарный диабет 2 типа
ТГ	– триглицериды
ФНО _α	– фактор некроза опухоли α
ЦК	– цитокин
ЩФ	– щелочная фосфатаза
ЭКМ	– экстрацеллюлярный коллагеновый матрикс

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является самым распространенным неинфекционным заболеванием печени [1-4].

Современное понятие НАЖБП охватывает спектр поражений печени, представленный тремя основными формами: жировой гепатоз (ЖГ), неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) и фиброз, переходящий в цирроз. Некоторая часть больных НАЖБП поражается гепатоцеллюлярной гепатомой [5-9].

Распространенность НАЖБП по данным различных исследований составляет 20-25 % от общего числа населения [7], причем 10-15 % из этого числа имеют признаки НАСГ [10].

Распространенность НАЖБП, особенно НАСГ, резко увеличивается у больных ожирением [11-14], сахарным диабетом 2 типа [15-18], метаболическим синдромом [19-22], кишечным дисбиозом [23, 24].

Имеются данные о важной роли в этиологии НАЖБП алиментарных факторов, таких, как высокожировые рационы [25], потребление жиров с высоким содержанием насыщенных жирных кислот [26-28], недостаточным поступлением с едой антиоксидантных витаминов (Е, С, Р) [29, 30].

Современные профилактика и лечение НАЖБП строятся на лечении тех болезней, которые обуславливают ее развитие: ожирение, сахарный диабет, метаболический синдром [31-33]. Перечень медикаментозных средств и врачебных процедур достаточно хорошо известен и широко описан в ряде фундаментальных руководств.

Переход НАЖБП в стадию НАСГ определяет использование гепатотропных препаратов [34, 35].

К сожалению, эффективность проводимого лечения недостаточна и очень часто начинается, когда НАСГ переходит в стадию фиброза [36-38].

Как нам кажется, низкая эффективность профилактики и лечения НАЖБП заключается в недооценке состояния важнейшей функции печени –

антимикробной, четко обозначенной в работах проф. А. П. Левицкого и его школы [29, 39-42]. Предложенные в этих работах антидисбиотические средства [41] оказались эффективными в профилактике осложнений сахарного диабета [41a], метаболического синдрома [43, 44], иммунодефицита [45, 46], чрезмерного потребления жиров [47].

Кроме того, в последние годы появились работы о связи жирового обмена с микробной системой организма [48, 49] и влиянии на обмен жиров препаратов про- и пребиотиков [50-52].

К сожалению, до сих пор в медицине вообще и в профилактике НАЖБП, в частности, недостаточно учитывают роль пищевых жиров, различающихся по своему жирнокислотному составу.

Все вышеизложенное свидетельствует об актуальности проблемы профилактики и лечения НАЖБП на основе новых патогенетических механизмов, учитывающих антимикробную функцию печени, особенности ее состояния от характера жирового питания и гепатотропного влияния на эти процессы антидисбиотических средств.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Диссертационная работа является фрагментом научно-исследовательских работ, которые выполнялись в ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины» «Разработать комплексную профилактику и лечение стоматологических заболеваний у лиц с нарушениями пищеварительной системы путем использования гепатопротекторов» (шифр АМН 077.09, No государственной регистрации 0109U000506), «Дисбиотические аспекты патогенеза и профилактики стоматологических осложнений при иммунодефиците»(шифр АМН 092.14, No государственной регистрации 0114U000379)," Исследовать влияние жирнокислотного состава пищевых жиров на состояние тканей ротовой полости, печени и желудочно-кишечного тракта и разработать рекомендации по жировому питанию» (Шифр АМН 096.15, No государственной регистрации 0115U000271). Работа выполнена по договору о творческом сотрудничестве между ГУ «Институт стоматологии НАМН

Украины» и ГП «Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта» МОЗ Украины.

Цель работы. Обоснование роли жирнокислотного состава пищевых жиров, выяснение дисбиотических механизмов в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени и разработка подходов к алиментарно-антидисбиотической профилактики этого патологического процесса.

Основные задачи:

1. Изучить влияние жиров с высоким уровнем пальмитиновой кислоты (пальмовое и сливочное масло) на уровень и состав триглицеридов в сыворотке крови экспериментальных животных.
2. Определить влияние на функционально биохимическое состояние печени пищевых жиров с разным жирнокислотным составом.
3. Изучить жирнокислотный состав липидов печени крыс, получавших разные пищевые рационы.
4. Изучить роль высокожирового рациона питания в развитии дисбиоза и воспаления в печени.
5. Исследовать роль кишечного экспериментального дисбиоза в патогенезе НАСГ.
6. Изучить влияние экспериментальных моделей нарушения иммунной системы на содержание липидов в крови и развитие НАСГ и генерализованного дисбиоза.
7. Установить профилактическое значение олеиновой кислоты (высокоолеиновое подсолнечное масло) в развитии экспериментального НАСГ.
8. Определить гепатопротекторное действие различных антидисбиотических средств (лечебные минеральные воды «Поляна Квасова» и «Вознесенская», про- и пребиотики, биофлавоноиды) при экспериментальном метаболическом синдроме, токсических и дисбиотических гепатитах.
9. Разработать рецептуры и оформить нормативно-техническую документацию на новые лечебно-профилактические и алиментарные средства,

обладающие гепатопротекторным, антидисбиотическим и липостабилизирующим действием («Квертулин», «Оливка», «Липосан»).

10. Определить роль в профилактике стеатогепатита новых алиментарных средств диетические добавки, комплексное антидисбиотическое средство «Квертулин»).

Объект исследования. механизмы нарушения липидного обмена в печени и плазме крови и способы их коррекции.

Предмет исследования. Патогенез НАЖБП с учетом характера жирового питания и состояния дисбиоза, алиментарно-антидисбиотическая профилактика НАЖБ.

Методы исследования. Биохимические, патофизиологические, морфологические, статистические.

Научная новизна полученных результатов. Впервые установлено, что высокожировые рационы с высоким содержанием пальмитиновой кислоты (пальмовое масло и сливочное масло) в экспериментальных моделях с использованием белых крыс линии Вистар увеличивают не только прирост живой массы животных, но и повышают в печени и в сыворотке крови содержание триглицеридов и общего холестерина, повышают уровень свободных жирных кислот (СЖК) в сыворотке крови, подкожном и висцеральной жире. Показано, что обычное подсолнечное масло (высоколинолевое) увеличивает в липидах печени содержание насыщенных жирных кислот (НЖК), олеиновой, линолевой и арахидоновой кислот, но снижает содержание ω -3 ПНЖК. Оливковое масло (высокоолеиновое) не снижает содержание ω -3 ПНЖК в липидах печени. Масла с высоким содержанием пальмитиновой кислоты (пальмовое масло и сливочное масло) увеличивают в липидах печени содержание НЖК, но существенно снижают содержание ω -3 ПНЖК. Установлено, что висцеральная и подкожная жировые ткани содержат следовые количества ПНЖК за исключением линолевой, причем высокожировые рационы (ВЖР) снижают ее уровень в 2 раза.

Кишечный дисбиоз, системная эндотоксинемия, различные формы экспериментального иммунодефицита у животных, получавших ВЖР, увеличивают проявления стеатоза печени, повышают гиперлипидемию и обуславливают развитие НАСГ.

Лечебные минеральные воды, особенно в сочетании с синбиотиками, осуществляют гепатопротекторное действие, устраняя дисбиотические явления в кишечнике и в печени. Композиция из биофлавоноида кверцетина, пребиотика инулина, цитрата кальция (диетическая добавка «Квертулин») имеет лечебно-профилактическое действие в условиях НАСГ.

Установлен антидисбиотический, гепатопротекторный и нормализующий уровень липидов крови эффект высокоолеинового подсолнечного масла «Оливка».

Разработанная рецептура диетической добавки «Липосан», которая содержит все 5 незаменимых ПНЖК, и показана ее способность существенно повышать в печени и в сыворотке крови уровень ω -3 ПНЖК, что дает возможность устранять дефицит этих физиологически важных нутриентов в условиях высокожирового питания.

Практическое значение полученных результатов. Разработана экспериментальная модель НАСГ путем воспроизведения у крыс кишечного дисбиоза на фоне ВЖР с использованием пальмового масла. Разработаны рецептуры антидисбиотической добавки «Квертулин» и препарата «Липосан (витамин F)». Обосновано применение в питании высокоолеинового подсолнечного масла «Оливка». На все разработанные средства разработана техническая документация (ТУ и ТИ) и получено разрешение Минздрава Украины на их применение.

Материалы диссертации внедрены в научно-педагогический процесс на кафедрах Буковинского государственного медицинского университета (г.Черновцы), Тернопольского государственного медицинского университета им. И. Я. Горбачевского (г. Тернополь), Одесского Национального медицинского университета (г. Одесса), материалы используются в научно-

практической деятельности ГП «Украинский НИИ медицины транспорта МЗ Украины», ГУ «Институт стоматологии НАМН», ГУ «Украинский НИИ медицинской реабилитации и курортологии МЗ Украина», КУ «Одесская областная клиническая больница», Одесском областном клиническом центре, НВА "Одесская биотехнология ».

Личный вклад соискателя. Автор совместно с научным консультантом выдвинул и обосновал идею работы, лично сформировал цели и задачи исследования, сформулировал выводы и предложения относительно дальнейших научных исследований и использования полученных результатов в клинической практике. Соискатель принимал непосредственное участие в проведении экспериментальных исследований. Вся работа с крысами и биохимические исследования выполнялись на базе лаборатории биохимии и вивария ГП «Институт стоматологии НАМН» под руководством проф. А. П. Левицкого. Хроматографическое исследование жирнокислотного состава пищевых жиров и тканевых липидов выполнялось на базе лаборатории биохимии Института стоматологии за сотрудничеством с н. с. И. В. Ходаков. Разработка препарата «Квертулин» проводилась совместно с учеными лаборатории биохимии Института стоматологии (зав. д.б.н. А. А. Макаренко). Автор диссертации самостоятельно провела обработку полученных результатов, подготовила к печати научные статьи и написала текст диссертации.

Апробация результатов диссертации. Основные результаты диссертации были представлены для обсуждения на III, IV и V научных симпозиумах «Растительные полифенолы и неспецифическая резистентность» (Одесса, 1-2 октября 2010; 13-14 сентября 2012 и 19 сентября 2014 г.г.), на VI национальном конгрессе патофизиологов Украины (Мисхор, 3-5 октября 2012), на XIII и XIV чтениях им. В. В. Подвысоцкого (Одесса, 19-20 июля 2014; 27-28 мая 2015 г.г.), XI Украинской биохимическом съезде (Киев, 6-10 октября 2014).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 34 научных работы: 25 статей, из которых 16 статей в научных специализированных

изданиях Украины и 5 статей в научных зарубежных изданиях медицинского направления, 1 монография, 2 патента, 1 Технические условия и 5 тезисов докладов в материалах научных конференций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 210 страницах печатного текста и состоит из введения, 7 глав, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, содержащая 307 источников, из которых 113 иностранных. Работа иллюстрирована 69 таблицами и 54 рисунками.

РАЗДЕЛ 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология и клиника неалкогольной жировой болезни печени

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) в настоящее время признана во всем мире распространенным хроническим заболеванием печени [53], которое также может являться компонентом других заболеваний, таких как метаболический синдром (МС), сахарный диабет, ожирение.

Впервые Ludwig и соавт. В 1980 г. опубликовали данные исследования биоптатов печени с типичной морфологической картиной алкогольного гепатита у больных, без указаний на прием алкоголя в гепатотоксических дозах, и сформулировали понятие «неалкогольный стеатогепатит» [54].

Современное понятие НАЖБП охватывает спектр поражений печени, включающий в себя три ее основные формы: жировой гепатоз (ЖГ), неалкогольный (метаболический) стеатогепатит (НАСГ) и цирроз (как исход прогрессирующего НАСГ). Редко исходом НАСГ может являться гепатоцеллюлярная карцинома [4-6].

ЖГ (в литературе также используются термины: стеатоз печени, жировая дистрофия печени, жировая печень) – заболевание или синдром, обусловленный жировой дистрофией печеночных клеток. Характеризуется патологическим – внутренним и (или) внеклеточным – отложением жировых капель. Морфологическим критерием ЖГ является содержание триглицеридов в печени свыше 5-10 % сухой массы.

НАСГ – заболевание, для которого характерны повышение активности ферментов печени в крови и морфологические изменения в биоптатах печени, подобные изменениям при алкогольном гепатите – жировая дистрофия (ЖД) с воспалительной реакцией и фиброзом; однако больные с НАСГ не употребляют алкоголь в количествах, способных вызывать повреждение печени.

В последние годы отмечается возрастание интереса к данной проблеме, что обусловлено, в частности, увеличением частоты патологического ожирения

среди населения промышленно развитых стран и последовавшим за этим ростом заболеваемости НАЖБП. Пациенты, страдающие МС, имеют максимальный риск развития НАЖБП. Установлен неуклонный рост заболеваемости [55, 56].

В связи с тем, что смертность от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) занимает 1 место в мире, НАЖБП приобретает еще большее значение, т. к. проведенные исследования дают убедительные доказательства повышенного риска ССЗ у таких пациентов. У значительного большинства из них ожидается развитие ССЗ в долгосрочной перспективе [57].

Истинная распространенность НАЖБП неизвестна, однако, по оценкам последних исследований, распространенность НАЖБП и НАСГ среди общего числа населения может достигать 20-24 и 3 % соответственно [58]. Проведенные исследования показали, что при заболеваниях, сочетающихся с инсулинорезистентностью (ИР), характерные изменения со стороны печени выявляются в 74 % случаев ИР [59].

Распространенность НАЖБП высока у лиц с инсулинорезистентностью при таких заболеваниях, как ожирение, СД 2 типа (СД2), дислипидемия и МС. МС и НАЖБП обычно сочетаются, и наличие МС часто предсказывает будущее развитие НАЖБП [60, 61]. Так, с помощью ультразвука выявляется жировой гепатоз при СД 2 типа в 50 % [61] и 75 % [62] случаев. В одном из исследований с помощью ультразвукового исследования было установлено наличие стеатоза печени (ЖГ) у 48 % пациентов с диагнозом «метаболический синдром» [63]. В этом же исследовании ЖГ был диагностирован в 39 % из тех пациентов, у кого индекс массы тела (ИМТ) был 25 кг/м² или более, у 41 % – из числа пациентов с диагностированным СД2, у 32 % – с дислипидемией [63].

Однако до сих пор не выяснены точные механизмы фиброгенеза печени. Фиброз выявляется у 20-37 % пациентов с НАЖБП. У 20 % из них в течение 20 лет формируется цирроз с развитием печеночно-клеточной недостаточности. Популяционные исследования позволяют предположить, что 60-80 % криптогенных циррозов печени являются исходами НАСГ [64-66].

Установлено, что сочетание СД 2 типа и НАСГ в 2-2,5 раза увеличивает риск развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы (Bugianesi E. и соавт., 2007). Кроме того, у больных с НАЖБП, в сочетании с СД и без установлена более высокая распространенность ССЗ, чем у пациентов без НАЖБП вне зависимости от тучности и традиционных факторов риска ССЗ [67, 68].

Главная особенность НАЖБП и НАСГ – это бессимптомность. Чаще всего болезнь выявляется случайно – на основании лабораторных или инструментальных тестов, проводимых пациентам с МС.

Симптомы НАСГ неспецифичны и отражают сам факт поражения печени, но не коррелируют со степенью его тяжести. Астено-вегетативный синдром является характерным признаком и обнаруживается у большей половины пациентов с НАСГ; реже отмечается не связанный с чем-либо дискомфорт в правом верхнем квадранте живота. Появление жалоб на кожный зуд, анорексию, диспептический синдром наряду с развитием желтухи и симптомокомплекса портальной гипертензии свидетельствует о далеко зашедшей стадии НАСГ [1].

Диагностический поиск проводится в связи с выявлением у больного следующих признаков [7, 69]:

- бессимптомное повышение уровня aminотрансфераз;
- необъяснимое существование постоянной гепатомегалии;
- гепатомегалия при радиологическом исследовании;
- исключение всех других причин, приводящих к гепатомегалии.

Нередко повышение активности aminотрансфераз или постоянная «бессимптомная» гепатомегалия выявляются у больных СД 2 типа или у пациентов с нарушением толерантности к глюкозе (30-50 %), при желчнокаменной болезни (10-15 %), у лиц, получающих гиполипидемическую терапию (5-13 %) [69]. Редко у пациентов с НАСГ отмечаются такие признаки хронического заболевания печени, как телеангиоэктазии и пальмарная эритема [69]. Признаки НАЖБП обнаруживаются у 10-15 % людей без клинических проявлений МС.

Постановка этого диагноза достаточно сложна ввиду необходимости исключения всех других причин, вызывающих цитолиз, макровезикулярный стеатоз и воспалительно-деструктивные изменения в печени. Следует исключить вторичный характер поражения печени (табл. 1.1).

Таблица 1.1

Причины, вызывающие вторичное поражение печени [7]

1	2
Лекарственные препараты	Амиодарон Глюкокортикоиды Синтетические эстрогены Блокаторы кальциевых каналов (Дилтиазем) Цитотоксические / цитостатические препараты (Метотрексат, Озацидин, Азауридин, L-аспарагиназа) Тамоксифен Кокаин Аспирин Тетрациклин Гидралазин Вальпроевая кислота Пергексила малеат Антивирусные препараты Антибиотики (тетрациклин, пурамицин, блеомицин) Нестероидные противовоспалительные препараты
Нутрициологические факторы	Полное парентеральное питание Голодание Быстрое снижение массы тела Низкобелковая диета
Хирургические вмешательства	Гастропластика Еюноилеальное шунтирование Обширная резекция тощей кишки Наложение билиарно-панкреатической стомы
Метаболические или генетические	Болезнь Вольмана Болезнь Вебера-Крисчена Липодистрофия региональная Тирозинемия Абетилипопротеинемия Отложение эфиров холестерина Острая «жирная печень» при беременности

Продолжение табл. 1.1

1	2
Экзогенные гепатотоксины	Органические растворители Масляные растворители Фосфор Ядовитые грибы Внешние гепатотоксины
Другие	Синдром избыточной бактериальной пролиферации в тонкой кишке Синдром нарушенного всасывания Воспалительные заболевания кишечника Малый дивертикул кишки с инфекцией СПИД

Исключить также необходимо алкогольное поражение печени. Критерием является количество употребляемого алкоголя в сутки [70, 71].

Ежедневный прием алкоголя: до 30 г – для мужчин и до 20 г – для женщин; 350 мл пива; 120 мл вина; 45 мл крепких напитков.

При осмотре у 30-100 % больных обнаруживается ожирение (ИМТ > 30 кг/м²) или избыток массы тела, коррелирующие со степенью стеатоза печени [1, 72]. Снижение мышечной массы имеет место у 15-30 % больных, однако оно трудно диагностируется из-за ожирения [1, 73].

Биохимические признаки НАЖБП включают в себя показатели синдромов цитолиза (повышение уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ) и холестаза (повышение уровня щелочной фосфатазы (ЩФ), γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП), прямого билирубина, общего холестерина).

Существуют предикторы, позволяющие предположить высокий риск прогрессирования НАЖБП с развитием стеатогепатита и фиброза, которые были установлены при проведении статистической обработки результатов большого количества наблюдений [7, 74].

К ним относятся: возраст старше 45 лет; женский пол; ИМТ более 28 кг/м²; увеличение активности АЛТ в два раза и более; уровень ТГ более 1,7

ммоль/л; наличие артериальной гипертензии; СД 2 типа; индекс ИР (НОМА-IR) более 5.

Выявление более двух критериев свидетельствует о высоком риске фиброза печени [5].

Исследуется роль наследственной предрасположенности. Известно, что генетические факторы (дефекты β -окисления, изменение структуры митохондриальной ДНК, наличие определенных локусов антигенов системы HLA) также могут предопределять прогрессирующее течение НАЖБП. По некоторым данным, среди пациентов с НАСГ чаще встречаются гетерозиготы по C282Y [8].

При лабораторном исследовании для НАЖБП характерны следующие изменения:

- повышение активности АЛТ и АСТ аминотрансфераз не более чем в 4-5 раз, индекс АСТ/АЛТ – не более 1, чаще повышена активность АЛТ;
- повышение активности ЩФ и ГГТП; обычно не более чем до 2 норм;
- гипертриглицеридемия, гиперхолестеринемия;
- гипергликемия (низкая толерантность к глюкозе (НТГ) или СД 2 типа);
- гипоальбуминемия, повышение уровня билирубина, тромбоцитопения, увеличение протромбинового времени у пациентов с далеко зашедшей стадией НАЖБП [31].

Печеночно-клеточная недостаточность развивается лишь при формировании цирроза печени, однако гипоальбуминемия при НАСГ встречается у больных с диабетической нефропатией. До развития гиперспленизма при циррозе печени гематологические нарушения для НАСГ не характерны. У 10-25 % больных выявляются гипергаммаглобулинемия и антинуклеарные антитела, значение которых неясно [2].

Необходимо отметить, что у больных НАЖБП с гистологически верифицированным ЖГ без воспаления и повреждения гепатоцитов практически отсутствуют какие-либо клинические и лабораторные признаки заболевания печени [4].

Основным дифференциальным отличием ЖГ от НАСГ, доступным в клинической практике, может быть выраженность биохимического синдрома цитолиза [5, 75, 76]. При анализе лабораторных данных, полученных в специализированных клиниках, цитолиз описывается у 50-90 % больных НАСГ. Чаще активность АЛТ выше, нежели АСТ, но иногда, особенно у больных с трансформацией в цирроз печени, активность АСТ преобладает. В отличие от поражений печени иной природы, цитолиз при НАСГ постоянный, хотя колебания уровня АЛТ возможны. Степень гипертрансаминаземии не коррелирует с выраженностью стеатоза и фиброза печени [76, 77].

По данным некоторых исследований, уровень АЛТ наряду с другими метаболическими факторами является показателем инсулинорезистентности, что предполагает возможность использования этого показателя в качестве дополнительного маркера у пациентов с инсулинорезистентностью. В то же время, по данным некоторых исследований, пониженный уровень АЛТ в сыворотке крови в сочетании с высоким ИМТ может свидетельствовать о вероятном наличии выраженного фиброза при НАСГ [78].

Таким образом, имеется ряд признаков, характерных для данного заболевания (табл. 1.2).

Таблица 1.2

Общая характеристика неалкогольной жировой болезни печени [7]

Содержание жира в печени более 5-10 % (по данным гистологического исследования)
Умеренное употребление алкоголя (до 30 г для мужчин и до 20 г для женщин)
Отсутствие данных о вторичном поражении печени
Распространенность в популяции 20-24 % (в основном как компонент МС)
Гистологические признаки НАСГ
Самая распространенная причина: повышение уровня в сыворотке крови печеночных трансаминаз

Следует отметить, однако, что отсутствие изменений лабораторных показателей, характеризующих функциональное состояние печени (АЛТ, АСТ,

ЩФ, ГГТП), не исключает наличия воспалительно-деструктивного процесса и фиброза [79].

НАСГ характеризуется апоптозом гепатоцитов, и на поздних стадиях заболевания активированные каспазы (в частности каспазы-3 и каспазы-7) расщепляют печеночный белок-филамент цитокератин-18 (ЦК-18). По данным одного из исследований, измерение количества фрагментов ЦК-18 позволяет дифференцировать НАСГ от стеатоза или нормальной печеночной ткани. Таким образом, уровень количества фрагментов ЦК-18 более 395 Ед/л может свидетельствовать о наличии НАСГ. Специфичность и чувствительность метода составляет 99,9 % и 85,7 % соответственно [80]. Определение повышения активности каспаз в крови является сильным и независимым предиктором НАСГ. Более того, степень апоптоза коррелирует с тяжестью стеатогепатита и стадией фиброза. Антитела к каспазообразованным осколкам ЦК-18 являются показателем раннего апоптоза клеток [80]. Данный неинвазивный метод дифференциальной диагностики может помочь практическим врачам в отборе пациентов для проведения биопсии печени, а также в определении гистологической тяжести заболевания у больных с НАЖБП, в оценке прогрессирования заболевания и ответа на лечение.

«Золотым стандартом» диагностики и определения стадии развития НАЖБП по-прежнему является пункционная биопсия печени [7].

Так как основные печеночные тесты, используемые в клинической практике, не специфичны и не всегда коррелируют с гистологическими изменениями (повреждение, воспаление, фиброз), биопсия печени, точнее, ее адекватная оценка, занимает центральное место в диагностике НАСГ и определении эффективности терапевтического воздействия [81].

Обязательными показаниями для биопсии являются [5]: возраст старше 45 лет и хронический цитоллиз неустановленной этиологии; сочетание хронического цитоллиза неустановленной этиологии, по крайней мере, с двумя проявлениями МС, независимо от возраста.

Биопсия печени не показана в тех случаях, когда уровень сывороточных аминотрансфераз в норме.

Морфологическое исследование позволяет определить степень активности НАСГ и стадию фиброза печени. Классификация E. Brunt (2002) позволяет верифицировать НАЖБП наиболее точно и проводить дифференциальный диагноз НАСГ с другими диффузными поражениями печени, в том числе с тяжелым алкогольным стеатогепатитом [7] (табл. 1.3).

Таблица 1.3

Морфологические критерии неалкогольной жировой болезни печени [7]

<p>«Необходимые признаки» (компоненты 1-го порядка)</p>	<p>Стеатоз (крупно- и мелкокапельный) с максимумом в 3 зоне ацинуса Смешанное, мягкое лобулярное воспаление Рассеянная инфильтрация нейтрофилами и мононуклеарами Баллонная дистрофия гепатоцитов, более выраженная в гепатоцитах 3 зоны с признаками жировой инфильтрации</p>
<p>«Обычно присутствующие, но не обязательные» признаки (компоненты 2-го порядка)</p>	<p>Перисинусоидальный фиброз в 3 зоне ацинуса Гликогеноз ядер 1 зоны Липогранулемы в дольках Ацидофильные тельца или PAS-позитивные глобулы в клетках Купфера Жировые кисты</p>
<p>«Могут присутствовать, но не обязательны для диагностики» (компоненты 3-го порядка)</p>	<p>Отложения железа в гепатоцитах 1 зоны или рассеянные вдоль синусов Мегамитохондрии в гепатоцитах Тельца Мэллори в гепатоцитах с баллонной дистрофией преимущественно в 3 зоне ацинуса (в 1 зоне ацинуса при СД2 или в результате приема Амiodарона)</p>

Классификация E. Brunt позволяет оценить степень стеатоза, активность воспаления и стадию фиброза печени на основании выраженности тех или иных морфологических признаков, что имеет большое значение для постановки диагноза практикующим врачом (табл. 1.4, 1.5) [2, 7].

Таблица 1.4

Активность неалкогольного стеатогепатита [7]

Степень	Стеатоз	Баллонная дистрофия	Воспаление
1 (мягкий НАСГ)	33-66%; крупнокапельный	минимальная, в 3-й зоне ацинуса	лобулярное – рассеянная или минимальная инфильтрация полиморфноядерными лейкоцитами (ПМЯЛ) и мононуклеарами портальное – отсутствует или минимальное
2 (умеренный НАСГ)	33-66%; крупно- и мелкокапельный	умеренная, в 3-й зоне ацинуса	лобулярное – умеренная инфильтрация ПМЯЛ и мононуклеарами* портальное – отсутствует или мягкое, умеренное
3 (тяжелый НАСГ)	>66% (3-я зона или панацинарно); крупно- и мелкокапельный	доминирует в 3-й зоне ацинуса, представлена панацинарно	лобулярное – выраженная рассеянная инфильтрация ПМЯЛ и мононуклеарами** портальное – мягкое, умеренное, не активнее лобулярного

Примечания: *может не быть ассоциировано с баллонной дистрофией гепатоцитов и / или перипортальным фиброзом; **максимально выражено в 3-й зоне ацинуса наряду с баллонной дистрофией и перисинусоидальным фиброзом.

Таблица 1.5

Стадии фиброза печени при неалкогольном стеатогепатите [7]

1-ая стадия	Перисинусоидальный / перипортальный фиброз в 3-й зоне ацинуса, очаговый или распространенный
2-ая стадия	1-я стадия + очаговый или распространенный перипортальный фиброз
3-я стадия	Мостовидный фиброз, очаговый или

	распространенный
4-ая стадия	Цирроз печени

На основе существующей классификации была разработана и предложена Шкала активности НАЖБП (NAFLD activity score – NAS), представляющая комплексную оценку морфологических изменений в баллах и объединяющая такие критерии, как стеатоз (0-3), лобулярное воспаление (0-2) и баллонную дистрофию гепатоцитов (0-2). Сумма баллов менее 3 позволяет исключить НАСГ, а более 5 свидетельствует о наличии у пациента стеатогепатита [82]. Такая шкала также незаменима для оценки динамики НАЖБП.

При отсутствии у пациента клинической симптоматики, выявлении отклонений функциональных печеночных тестов и при невозможности проведения гистологического исследования ткани печени УЗИ может служить недорогим и надежным методом для распознавания стеатоза печени, особенно при наличии у больного одного или более факторов риска развития НАСГ, а также позволяет следить за динамикой заболевания.

Выделяют четыре основных ультразвуковых признака стеатоза печени:

- дистальное затухание эхосигнала;
- диффузная гиперэхогенность паренхимы печени («яркая печень»);
- увеличение эхогенности печени по сравнению с почками;
- нечеткость сосудистого рисунка [7].

Однако иногда изменения на УЗИ бывает трудно отличить от фиброза и даже цирроза печени. В ряде случаев выявить жировую инфильтрацию печени позволяют компьютерная и магнитно-резонансная томография [7].

Оценивались возможности компьютерной томографии (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ) в установлении выраженности стеатоза печени. Результаты КТ сравнивали с результатами гистологического исследования печени. Согласно полученным данным, чувствительность и специфичность для КТ без контрастирования в выявлении стеатоза печени составили 33 и 100 % соответственно, для КТ с контрастированием – 50 и 83 % соответственно, для МРТ – 88 и 63 % соответственно [7].

1.2 Патогенез неалкогольной жировой болезни печени

Патогенез НАСГ до конца не изучен [7]. Основные компоненты гепатоцеллюлярных липидов представлены триглицеридами (ТГ), субстратами для синтеза которых являются жирные кислоты и глицерофосфат. Накопление жировых капель в печени может быть следствием избыточного поступления свободных жирных кислот в печень или усиленного их синтеза самой печенью из ацетилкоэнзима А, особенно при избытке последнего. Источниками глицерофосфата в гепатоците являются: а) глицерин, образующийся при гидролизе липидов; б) глюкоза, которая в ходе гликолиза превращается в глицерофосфат, запускающий реакции синтеза ТГ. Таким образом, продукция ТГ в гепатоците находится в прямой зависимости от содержания в нем жирных кислот, ацетилкоэнзима А и глюкозы. Если образование ТГ превалирует над синтезом липопротеидов и секрецией последних из гепатоцита в виде липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), происходит накопление жира в гепатоците [83], что ведет к усилению процессов свободнорадикального окисления липидов с накоплением продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и развитием некрозов печеночных клеток. В свою очередь, накопление продуктов ПОЛ участвует в метаболизме оксида азота, а именно – избыточном его потреблении на образование перекисных соединений, что усугубляет эндотелиальную дисфункцию, способствует прогрессированию артериальной гипертензии, развитию сердечно-сосудистых осложнений [84]. Длительная гипертриглицеридемия в условиях инсулинорезистентности нарушает эндотелий-зависимую вазодилатацию, вызывает оксидативный стресс и является важнейшим фактором риска раннего атеросклероза.

Высококалорийное питание, малоподвижный образ жизни у генетически предрасположенных лиц вызывает выраженную постпрандиальную гиперлипидемию, а также активацию липолиза и, как следствие, – избыточное образование свободных жирных кислот (СЖК), что оказывает прямое

липотоксическое действие на β -клетки поджелудочной железы; стимулирует гликогенолиз в печени. Избыточная концентрация СЖК и постпрандиальная гиперлипидемия являются дополнительными предикторами формирования инсулинорезистентности [85], гиперинсулинемии и атеросклероза.

Инсулин является стимулятором ацетил-КоА карбоксилазы и синтетазы жирных кислот – основных ферментов, инициирующих липогенез *de novo*, который приводит к стеатозу печени [7].

СЖК обладают прямой и опосредованной ПОЛ токсичностью. Их действие приводит к ингибированию К/NaАТФ-азы, угнетению гликолиза, разобщению окислительного фосфорилирования, активизации PPAR- α пути утилизации избытка СЖК. При снижении защитных свойств мембраны гепатоцитов от СЖК-токсичности происходит прямое или опосредованное окислительным стрессом повреждение митохондрий, апоптоз и некроз гепатоцитов [86]. Взаимодействие окислительного стресса и цитокинов влечет за собой нарушение функционирования звездчатых клеток печени – основных продуцентов экстрацеллюлярного коллагенового матрикса (ЭКМ), ведет к нарушению равновесия фиброгенез-фибролиза с активацией фиброгенеза. Продукты окислительного стресса способны индуцировать синтез ЭКМ даже при отсутствии значительных повреждений гепатоцитов и воспаления. Вследствие повторяющихся повреждений накопление фибриллярного экстрацеллюлярного матрикса отражает невозможность эффективного ремоделирования и регенерации. Непосредственное отношение к процессу имеет также нарушение эпителиально-мезенхимального взаимодействия, которое наблюдается при всех пролиферативных процессах, связанных с повреждением холангиоцитов. При этом пролиферация клеток, продуцирующих внеклеточный матрикс и прогрессирование фиброгенеза, происходит согласованно [7]. С клинической точки зрения эти процессы могут стать причиной формирования цирроза печени [7].

Распространенная модель патогенеза НАЖБП – теория «двух ударов». Первым ударом служит развитие ЖГ, вторым – стеатогепатит. При ожирении,

особенно висцеральном, увеличивается поступление в печень СЖК и развивается стеатоз печени, что рассматривается как «первый удар». В условиях инсулинорезистентности увеличивается липолиз в жировой ткани и избыток СЖК поступает в печень. В итоге, количество жирных кислот в цитоплазме гепатоцитов резко возрастает, формируется жировая дистрофия гепатоцитов. Одновременно или последовательно развивается окислительный стресс – «второй удар» с формированием воспалительной реакции и развитием стеатогепатита [7].

Висцеральная жировая ткань, в отличие от подкожной, богаче кровоснабжается и иннервируется. Адипоциты висцеральной жировой ткани, обладая высокой чувствительностью к липолитическому действию катехоламинов и низкой чувствительностью к антилиполитическому действию инсулина, секретируют СЖК непосредственно в воротную вену. Высокие концентрации СЖК, с одной стороны, становятся субстратом для формирования атерогенных липопротеинов, с другой – препятствуют связыванию инсулина с гепатоцитом, что приводит к гиперинсулинемии и потенцирует инсулинорезистентность [7]. Инсулинорезистентность способствует накоплению жирных кислот в печени. Таким образом, НАЖБП следует рассматривать как динамичный процесс, который происходит на перекрестке между периферическими и метаболическими изменениями печени, где стеатоз печени и инсулинорезистентность потенцируют действие друг друга [3].

Инсулин занимает ведущее место в регуляции липолиза и разделении в гепатоцитах митохондриального β -окисления и синтеза холестерина ЛПОНП. Инсулинорезистентность играет принципиальную роль в патогенезе НАЖБП. Это послужило предпосылкой к изучению взаимосвязи инсулинорезистентности с компенсаторной гиперинсулинемией и НАЖБП.

Разные медиаторы (СЖК, фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), адипонектин и др.) активно секретируются жировой тканью и регулируют

чувствительность рецепторов к инсулину, а также участвуют в атерогенезе, что повышает риск возникновения ССЗ.

Запасание энергии в печени происходит путем отложения ТГ при участии апопротеина В-100 (Апо-В100), который связывается с белком микросомальным переносчиком триглицеридов и приводит к формированию пула, содержащего ТГ, переходящие в ЛПОНП [7, 87-89].

Инсулин препятствует разрушению Апо-В100 и стимулирует специфический фактор адипоцитов SREBP-1С (фактор детерминации и дифференцировки адипоцитов (ADD-1)). При длительном положительном балансе энергии инсулин повышает его экспрессию, а за счет избытка жирных кислот активируется система PPAR- γ . Эти две системы увеличивают экспрессию ключевых ферментов, вовлеченных в запасание жира. Каждая жировая клетка увеличивается в размере и запасает больше жира. Активация этих систем является также стимулом для дифференцировки преадипоцитов в новые адипоциты. Таким образом, длительно существующий положительный баланс энергии может приводить как к увеличению размеров адипоцитов (гипертрофия), так и к увеличению их количества (гиперплазия) [90-92].

Обнаружено, что ожирение оказывает стимулирующее действие на эндоканабиноидную систему, вызывая гиперактивацию Сb1-рецепторов, в частности посредством гиперэкспрессии агониста канабиноидных рецепторов Анандамида, который активирует рецептор Сb1, что приводит к гиперэкспрессии SREBP- 1С и, следовательно, увеличению липогенеза *de novo* в печени и фиброгенеза [7]. Эндоканабиноидная система индуцирует периферический липолиз через активацию липопротеинлипазы и подавление продукции адипонектина [7].

Адипонектин – гормон жировой ткани, являющийся инсулин-сенситайзером и антиатерогенным фактором. Установлено, что у тучных людей его уровень снижен [90-92]. Адипонектин предотвращает явления апоптоза и некроза в гепатоцитах за счет снижения выработки ФНО- α и индукции PPAR- α -активности. Адипонектин ингибирует ферменты синтеза жирных кислот, но

активирует печеночную карнитин-пальмитоил трансферазу (КПП-I), участвующую в транспорте ЖК в митохондриях. КПП-I, расположенная на внутренней поверхности наружной мембраны митохондрий, является скоростью-лимитирующим ферментом на стадии транспорта ЖК. На активность этого фермента влияет также уровень малонил-КоА. При поступлении углеводов концентрация малонил-КоА внутри клетки повышается, и это подавляет активность КПП-I и переключает метаболизм на синтез ЖК и ТГ [92].

Антагонистом адипонектина является лептин, еще один цитокин жировой ткани. Он необходим для активации звездчатых клеток печени и развития фиброза [93-95].

SREBP-1C активируется также печеночным рецептором LXR- α , который функционирует в качестве холестерина сенсора, активируемого в ответ на повышение уровня внутриклеточного холестерина в гепатоцитах и других типах клеток. Последний индуцирует ферменты синтеза жирных кислот и SREBP-1C транскрипцию через ретиноидный рецептор X- α (RXR- α), а также транскрипцию печеночного гена SCD-1, отвечающего за биосинтез жирных кислот [96].

Установлено, что RXR- α опосредует транскрипционную активность PPAR- α , который является кислото-чувствительным ядерным рецептором печени. Его активация увеличивает доступность жирных кислот для окисления, что приводит к значительному уменьшению их содержания в печени. Применение экзогенных PPAR- α -агонистов предотвращает НАЖБП у мышей с ожирением и способствует ее регрессии в экспериментальных моделях НАЖБП [33].

Известно, что у пациентов с НАЖБП снижен уровень грелина, гормона, вырабатываемого в желудке и двенадцатиперстной кишке и являющегося центральным стимулятором аппетита. Грелин индуцирует ферменты синтеза жирных кислот. Высказывалось предположение, что уровень грелина может расцениваться как предвестник ЖГ у пациентов с дефицитом питания.

У лиц с ожирением повышена сывороточная концентрация ФНО- α .

ФНО- α активирует белок, стимулирующий защитные воспалительные реакции – ингибитор каппа-киназы-бета (IKK β) в адипоцитах и гепатоцитах, что ведет к нарушению связывания инсулина с рецептором. Воздействие ФНО- α на инсулиновый рецептор типа 1 (IRS-1) проявляется в его фосфорилировании, в результате чего уменьшается его сродство к инсулину, снижается количество специального транспортного белка ГЛЮТ4, обеспечивающего вход глюкозы в клетку, что выражается в виде снижения захвата и утилизации глюкозы клетками, нарастания гипергликемии, которая приводит к повреждению эндотелия сосудов и формированию СД 2 типа [96]. Гладкомышечные и эндотелиальные клетки стенки сосуда под воздействием ФНО- α усиливают продукцию моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1), играющего ведущую роль в патогенезе атеросклероза за счет развития воспаления.

Примечателен тот факт, что цитокины являются одним из основных стимуляторов регенерации печени. Известно, что ФНО- α способен инициировать некроз печени, но в нормальных гепатоцитах некроза не происходит, т.к. ФНО- α -целевые гены обычно экспрессируются на минимальном уровне [97]. Сывороточный уровень ФНО- α неодинаков у пациентов со стеатозом печени и НАСГ и, как правило, выше у больных с НАСГ, хотя разница не всегда статистически значима [98].

Интерлейкину-6 (ИЛ-6) отводится особая роль «гепатоцит-активирующего фактора». ИЛ-6 может индуцировать синтез многих острофазных белков, таких как фибриноген и С-реактивный белок (СРБ), повышение уровня которых является общеизвестным фактором риска ССЗ [99, 100].

Свободнорадикальные соединения, возникающие в процессе окислительного стресса (O_2^- и $ONOO^-$), активируют образование ядерного транскрипционного фактора NF- κ B в жировой ткани. Последний путем увеличения экспрессии цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β) опосредует механизмы, способствующие тромбогенной трансформации сосудистой стенки. Интересно,

что адипоциты, кроме провоспалительных протеинов, экспрессируют и рецепторы к ним, следовательно, адипоциты являются как источником, так и мишенью этого воспалительного сигнала [101].

Хроническое воспаление печени сопровождается усилением продукции трансформирующего фактора роста бета-1 (ТФР-β1) купферовскими и воспалительными клетками. ТФР-β1 представляет собой многофункциональный цитокин и при хронических заболеваниях печени он является причинным фактором ее фиброза посредством активизации звездчатых клеток.

Определенную роль в прогрессировании НАСГ играет ангиотензин II (АТII). Установлено, что он, способствуя пролиферации миофибробластов, клеточной миграции, синтезу коллагена и провоспалительных цитокинов, активизирует процессы фиброгенеза в печени, усугубляет инсулинорезистентность, окислительный стресс и перегрузку печени железом. В одном из исследований показано, что экспрессия рецепторов АТII первого типа при НАСГ наблюдалась не только в гладкомышечных клетках, но и в активизированных звездчатых клетках и паренхимальных клетках печени, хотя их общая экспрессия была снижена. Количество рецепторов АТII первого типа коррелировало с тяжестью портальной гипертензии. При циррозе в печени усиливалась экспрессия ангиотензин-превращающего фермента и химазы [102].

В условиях гипергликемии, гиперинсулинемии и гипертриглицеридемии повышается экспрессия гена ингибитора активатора плазминогена-1 (РАI-1) в культуре гладкомышечных, жировых и печеночных клеток человека. РАI-1 ингибирует тканевой и урокиназный активаторы плазминогена, играет важную роль в предопределении расположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям. Повышение содержания РАI-1 в крови наблюдается при СД, ожирении и НАЖБП, для которых характерны инсулинорезистентность и гиперинсулинемия, а также при артериальной гипертензии (рис. 1.1).

Инсулинорезистентность

Избыточный бактериальный



Рисунок 1.1 Схема патогенеза неалкогольной жировой болезни печени [5]

Примечательно, что НАЖБП может ассоциироваться с инсулинорезистентностью без ожирения у людей без СД, а значит – при развитии у лиц с нормальным весом может являться предиктором ранних метаболических расстройств и заболеваний.

У пациентов с НАЖБП установлено снижение эндотелий-зависимой вазодилатации плечевой артерии и увеличение толщины комплекса интимы-медиа (ТКИМ) сонной артерии – маркеров раннего атеросклероза [103]. Доказано, что величина ТКИМ менее 0,86 мм связана с низким риском ССЗ, а более 1,1 – с высоким. У пациентов с НАЖБП ее значение составляет в среднем 1,14 мм [104]. При этом уменьшение эндотелий-зависимой вазодилатации плечевой артерии коррелирует со степенью морфологических изменений в печени независимо от пола, возраста, инсулинорезистентности и других компонентов МС [5]. Кроме того, пациенты с НАЖБП при отсутствии ожирения, гипертензии и диабета имеют эхокардиографические признаки ранней дисфункции левого желудочка [105].

На основании ряда исследований установлено, что повышение уровня печеночных ферментов в сыворотке крови, характерное для НАЖБП, предвещает повышение риска ССЗ [106] независимо от традиционных факторов риска и компонентов МС. Таким образом, саму НАЖБП можно считать независимым фактором риска ССЗ, помимо других общеизвестных (табл. 1.6). Установленными факторами риска развития ССЗ являются практически все

составляющие МС, а их сочетание многократно ускоряет их развитие (табл. 1.7).

Таблица 1.6

Сердечно-сосудистые заболевания [7]

Кардиометаболические риски	Основные симптомы и проявления
Висцеральное ожирение	Снижение эндотелий-зависимой вазодилатации плечевой артерии
Инсулинорезистентность	Увеличение толщины комплекса интимы-медиа сонной артерии
Атерогенная дислипидемия (↑ТГ, ↓ЛВП, ↑ЛНП, ↑ОХ)	Тромбогенная трансформация сосудистой стенки
Нарушение углеводного обмена (НТГ, СД)	Нарушение гемостаза

Продолжение таблицы 1.6

Нарушение фибринолиза (↑РАІ-1, ↑фибриноген)	Атеросклероз / ИБС
Воспаление (↑СРБ)	Артериальная гипертензия
Провоспалительные цитокины (↑ФНО-α, ↑МСР-1)	Ранняя дисфункция левого желудочка
СПКЯ (↓ГСПГ, ↑своб. тестостерон)	Дислипидемия
НАЖБП	Гиперандрогения

Таблица 1.7

Метаболический синдром [7]

Фактор риска	Основные симптомы и проявления
Окружность живота: – мужчины (>102 см) – женщины(>88 см)	Абдоминально-висцеральное ожирение Инсулинорезистентность и гиперинсулинемия
Триглицериды: >= 1,7 ммоль/л	Дислипидемия Артериальная гипертензия
Липопротеиды высокой плотности: – мужчины (<1,2 ммоль/л) – женщины(<1,0 ммоль/л)	Нарушение толерантности к глюкозе / СД2 Ранний атеросклероз / ИБС
Артериальное давление: >=130/85 мм рт.ст.	Нарушения гемостаза Гиперурикемия и подагра
Глюкоза натощак: >=5,5 ммоль/л	Микроальбуминурия Гиперандрогения

Как сказано выше, НАЖБП может существовать как отдельная нозологическая единица, так и как компонент других заболеваний, ассоциированных с инсулинорезистентностью (МС, ожирение, СД2). Эти заболевания имеют общие патогенетические факторы, определяющие их развитие и прогрессирование, следовательно, могут сочетаться и потенцировать развитие друг друга (рис. 1.2).

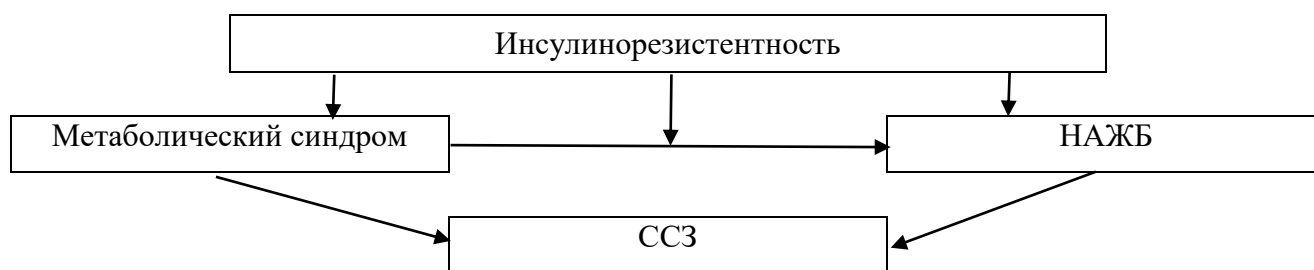


Рисунок. 1.2 Взаимосвязь неалкогольной жировой болезни печени с другими заболеваниями [107]

1.3 Профилактика и лечение неалкогольной жировой болезни печени

Совершенно очевидно, что у большей части пациентов НАЖБП характеризуется длительным, стабильным бессимптомным течением. Поэтому, по современным представлениям, специальная фармакотерапия показана только больным с прогрессирующим течением этого заболевания или высоким риском его прогрессии. Ожирение, СД 2 типа, гиперлипидемия – основные состояния, ассоциируемые с развитием НАЖБП. Следовательно, лечение и / или профилактика этих состояний должны приводить к улучшению состояния печени (табл. 1.8).

Необходимыми условиями для устранения главного патогенетического фактора НАЖБП – инсулинорезистентности также являются действия,

направленные на снижение веса: изменение образа жизни, гипокалорийное питание, увеличение двигательной активности.

Таблица 1.8

Фармакотерапия неалкогольной жировой болезни печени [7]

Гиполипидемические препараты	Аторвастатин Клофибрат Безафибрат Гемфиброзил Липофарм, Липостабил Пробукол Орлистат
------------------------------	---

Продолжение таблицы 1.8

Желчегонные	Хофитол
Гепатопротекторы	Урсодезоксихолевая кислота Метадоксин Силимарин, Силибинин
Инсулин-сенситайзеры	Бигуаниды Глитазоны
Ферменты	Бетаин
Антиоксиданты	Н-ацетилцистеин α -токоферол (витамин Е) α -липоевая (тиоктовая) кислота β -каротин Лецитин Селен S-аденозилметионин
Вазодилататоры	Пентоксифиллин
Антагонисты рецепторов АТII	Лозартран
Антимикробные препараты	Метронидазол Нифуроксазид Рифаксимин Полимиксин В
Пребиотики, пробиотики, эубиотики	Лактулоза (Дюфалак) Эубикор
Гормоны	Грелин

Для лиц с избыточной массой тела и ожирением реально достижимая цель – снижение массы тела примерно на 7-10 % за 6-12 месяцев. Снижение

массы тела должно сочетаться с физической активностью умеренной интенсивности минимум 30 минут в день. Регулярная мышечная активность приводит к метаболическим изменениям, снижающим инсулинорезистентность. Многочисленные данные о влиянии снижения массы тела на состояние печени весьма противоречивы. Показано, что быстрая потеря массы тела закономерно приводит к нарастанию активности воспаления и прогрессии фиброза. В то же время ее снижение на 11-20 кг/год положительно влияет на выраженность стеатоза и воспаления и степень фиброза печени [108]. Безопасной считается потеря веса до 1600 г в неделю для взрослых и до 500 г в неделю для детей, достигаемая при суточном калораже 25 ккал/кг и активных физических упражнениях [109] или применении ингибитора пищеварительной липазы орлистата. При этом на фоне нормализации биохимических показателей печени отмечается достоверное уменьшение стеатоза, воспаления, повреждения и фиброза печени [110].

Необходимо отметить, что активность трансаминаз на фоне голода и быстрой потери веса нередко снижается или даже становится нормальной, но гистологически при этом отмечается резкое ухудшение (центральные некрозы, портальное воспаление, перипортальный фиброз) состояния печени, за исключением, может быть, степени ЖГ. Ранее используемая для снижения массы тела операция наложения еюно-илеального анастомоза, приводившая к быстрому ее падению, в настоящее время не проводится из-за высокого риска развития НАСГ. Достаточно широко применяемая сейчас операция наложения желудочного бандажа позволяет пациентам медленно (2,7-4,5 кг/мес.) терять массу тела, предупреждая развитие НАСГ [108].

Особого внимания заслуживает рассмотрение подходов к лечению НАЖБП, ассоциированной с СД2. Очевидно, что применение лекарственных препаратов, влияющих на инсулинорезистентность, может привести к улучшению течения НАЖБП.

Эффекты бигуанидов обусловлены уменьшением глюконеогенеза и синтеза липидов в печени, реализуемого через активацию цАМФ-зависимой

протеинкиназы печени, что приводит к снижению синтеза ТГ из жирных кислот и к снижению митохондриального β -окисления ЖК. Кроме того, бигуаниды подавляют экспрессию ФНО- α в печени и индуцированные этим цитокином механизмы, приводящие к стеатозу, а также экспрессию SREBP-1 в гепатоцитах.

Основным механизмом действия метформина на повышение фибринолиза является снижение уровня PAI-1, что имеет место у больных СД2 вне зависимости от его дозы. Помимо снижения PAI-1, метформин уменьшает также и пролиферацию гладкомышечных клеток в сосудистой стенке *in vitro* и скорость атерогенеза у животных.

Проведены исследования, сравнивающие эффективность применения метформина и диетотерапии [111]. В исследование было включено 20 пациентов (без СД2 и ожирения). Проводилась оценка функции печени и уровня инсулина и инсулинорезистентности (в эугликемии и гиперинсулинемии при проведении клэмп-теста). Биопсия печени была проведена 14 больным, которые получали метформин (500 мг x 2 р/д), и шести пациентам, находившимся на диетотерапии в течение четырех месяцев. Гистологическая оценка улучшения не проводилась. Единственное существенное различие между двумя группами было в уровне АЛТ. Группы пациентов не отличались значимо по показателям снижения веса. Хотя проводимое активное лечение вызвало повышение уровня молочной кислоты (до 30 % активно леченых пациентов), только у одного пациента показатель лактата выходил за рамки нормального диапазона более 2 ммоль/л (2,2 ммоль/л) [111].

Угун с соавт. [112] проводили исследования, включавшие 36 пациентов с НАСГ, разделенных на две группы. Одна группа получала метформин (в дозе 850 мг) вместе с диетой, контрольная группа была ограничена в питании (1600-1800 калорий в день). По сравнению с группой контроля в первой группе были выявлены улучшения по следующим показателям: снижение уровня АЛТ (с $83,5 \pm 24,6$ до $46,4 \pm 23,3$ Ед/л соответственно, $p=0,0001$) и АСТ ($57,9 \pm 17,3$ против

35,8±10,5 Ед/л, $p=0,0001$). В контрольной же группе: АЛТ (с 72,8±31,2 до 55,4±16,3 Ед/л, $p=0,001$) и АСТ (с 48,1±26,3 до 41,3±13,5 Ед/л, $p=0,06$). Изменений в печени при биопсии субъектов после лечения не наблюдалось.

В других исследованиях по оценке эффективности метформина [113-115] было показано улучшение показателей индекса инсулинорезистентности (по оценке QUICKI, НОМА или КИТТ-методов). В трех исследованиях [113] сообщалось о снижении показателей функции печени, и одно исследование показало незначительное увеличение этих показателей [114].

С гистологической точки зрения статистические различия при воспалении, стеатозе, фиброзе после лечения НАСГ показаны только в одном сообщении.

Изучение эффективности метформина (1500 мг/сут или 20 мг/кг/сут) в терапии (4-6 мес.) больных НАСГ показало, что на фоне снижения массы тела (около 1,5 кг/мес.) происходит нормализация трансаминаз, уменьшаются гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия и гепатомегалия. Верифицирована аналогичная экспериментальным данным положительная гистологическая динамика [116].

Тиазолидиндионы (глитазоны) селективно улучшают чувствительность к инсулину, активируя PPAR- γ , стимулируя активность клеточного транспортера глюкозы GLUT4, вследствие чего улучшается усвоение глюкозы периферическими тканями, снижаются концентрации глюкозы, инсулина, ТГ, неэстерифицированных жирных кислот и ФНО- α в крови.

Эффективность использования тиазолидиндионов (пиоглитазона, росиглитазона) была оценена в трех исследованиях [117-119]. Средний возраст пациентов в каждом исследовании был 40-46 лет. В двух исследованиях использовался пиоглитазон, а в одном – росиглитазон в разных дозах (пиоглитазон – 15-30 мг/сут и росиглитазон – 4 мг/сут). Исследования продолжались от 12 [119] до 48 недель. В двух исследованиях оценивали инсулинорезистентность по индексу НОМА-IR [117, 118], в другом проводилось сравнение уровней инсулина сыворотки [119]. О биопсиях печени

после лечения сообщали в двух исследованиях [117, 118]. Во всех работах доказано уменьшение инсулинорезистентности, существенное уменьшение уровней АЛТ, АСТ. Биопсии после испытаний показали статистически существенные улучшения [117, 118]. Сообщалось также о побочных эффектах: увеличении веса, повышении уровня лактата сыворотки, кошмарных сновидениях, отеках. Процент выведенных из исследования был высок: 11 из 60 обследуемых. О случаях печеночной недостаточности не сообщалось.

В настоящее время продолжают исследования эффективности инсулинсенситайзеров в лечении НАЖБП (табл. 1.9).

Таблица 1.9

Исследования эффективности инсулин-сенситайзеров в лечении неалкогольной жировой болезни печени [7]

С использованием метформина	С использованием глитазонов
Nair S. и соавт., 2004	Azuma T. и соавт., 2002
Blaszyk H. и соавт., 2005	Neuschwander-Teri B.A. и соавт., 2003
Bugianesi E. и соавт., 2005	Promrat K. и соавт., 2004
Duseja A. и соавт., 2006	

В связи с отмечающимся неуклонным ростом распространенности среди населения ожирения, МС и СД проблема диагностики и лечения НАЖБП будет приобретать еще большую актуальность. Слабое освещение в медицинской литературе приводит к малой информированности врачей о возможных исходах этого состояния и представляет огромную проблему. Сложность верификации диагноза, поиск достоверных и высокоинформативных маркеров заболевания и новых неинвазивных методов диагностики делает необходимым проведение дальнейших исследований. Это и является целью многоцентровых исследований, которые планируются в настоящее время [52].

1.4 Лечебно-профилактическое действие биофлавоноидов при неалкогольной жировой болезни печени

Биофлавоноиды представляют собой производные флавана (рис. 1.3) и разделяются на 8 групп (табл. 1.10). Они синтезируются и накапливаются исключительно в растениях и в настоящее время известно более 5 тыс. их соединений [122].

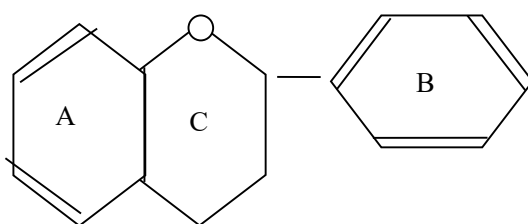
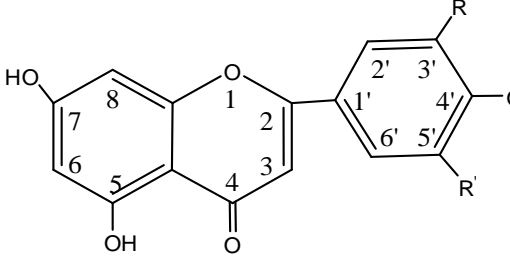


Рис. 1.3 Химическое строение флавана

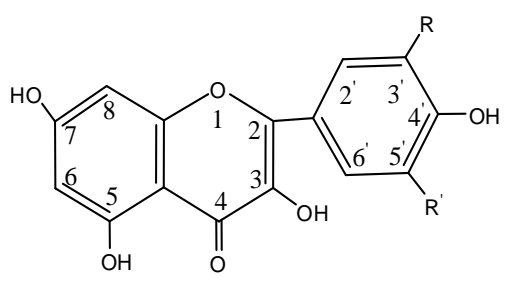
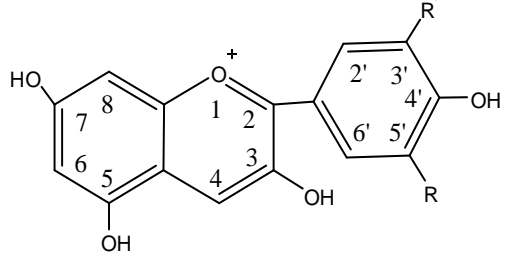
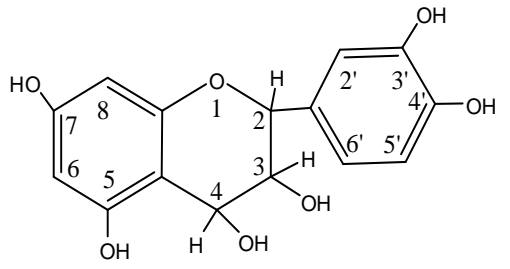
Таблица 1.10

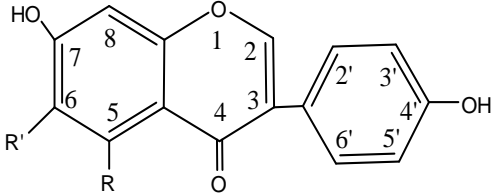
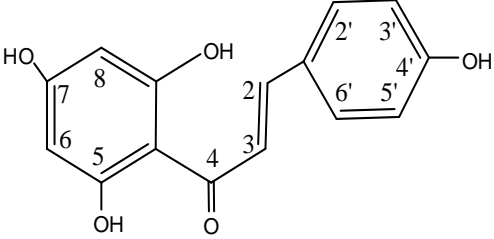
Характеристика основных классов БФ

Номер кл.	Название класса	Формула	Важнейшие представители
1	2	3	4
1	Флаванолы		катехин (5,7,3',4'-тетраоксифлаван-3-ол)
2	Флаваноны		гесперитин (5,7,3'-триокси, 4'-methoxy флаванон; нарингенин (5,7,4'-триоксифлаванон)

3	Флавоны		апигенин (5,7,4'-триоксифлавоны), лютеолин (5,7,3',4'-тетраоксифлавоны)
---	---------	--	---

Продолжение табл.1.10

1	2	3	4
4	Флавоны-3-олы		кверцетин (5,7,3',4'-тетраоксифлавоны-3-ол), кемпферол (5,7,4'-триоксифлавоны-3-ол)
5	Антоцианидины		цианидин (5,7,3',4'-тетраоксиантоцианидин)
6	Лейкоантоцианидины (флавандиолы 3,4)		лейкоцианидин (3,4,5,7,3',4'-гексаоксифлавоны-3,4-диол)

7	Изофлавоны		генистеин (5,7,5'-триокси изофлавоны), дайдзеин (7,4'-диоксиизофлавоны)
8	Халконы		флоретин (1,5,7,4'-тетраоксихалкон)

Характерным свойством биофлавоноидов является их ангиопротекторная активность, состоящая в укреплении сосудистой стенки и снижении ее проницаемости, что позволило А. Сцент-Дьерди назвать их витамином Р [123].

Исследование биохимических свойств биофлавоноидов выявило их очень высокие антиоксидантные свойства, превосходящие аналогичные свойства аскорбиновой кислоты в сотни раз [124]. Именно с этим свойством многие исследователи связывают их способность укреплять сосудистую стенку и мембраны клеток, т. к. они предотвращают окисление мембранных фосфолипидов и эфиров холестерина [125, 126].

Однако биофлавоноиды не только отличные антиоксиданты, но и мощные ингибиторы таких ферментов, как гиалуронидаза (фактор проницаемости), фосфолипаза А₂ (гемолитический фактор), циклооксигеназа (образующая простагландины), протеазы (разрушающие белки) [124].

Это обусловило их широкое применение в гепатологии и кардиологии в качестве лечебно-профилактических средств [121].

Показана в ряде работ способность биофлавоноидов оказывать гиполипидемическое и антистеатозное действие при НАЖБП [127-134].

В качестве источника биофлавоноидов использовались экстракты ряда растений (цитрусы, облепиха, морковь, виноград, фасоль, кофейные зерна и др.) [135, 136].

При НАЖБП высокую эффективность проявил биофлавоноид рутин (он снижал накопление жира в печени, снижал интенсивность воспаления, снижал инсулинорезистентность, нормализовал функции печени) [137]. Еще более эффективной оказалась агликонная форма рутина – кверцетин [138], особенно в составе липосом [139, 140]. Другой биофлавоноид таксифолин ингибировал синтез холестерина, триглицеридов и фосфолипидов в клетках печени [141].

Катехины чая, при содержании их в корме мышей 0,1-0,5 %, снижали массу тела, накопление висцерального жира, степень стеатоза печени, предотвращали развитие гиперинсулинемии и гиперлептинемии [142, 143].

Соевый изофлавоноид генистеин предотвращал развитие у крыс НАЖБП, снижал массу жировой ткани, устранял гипергликемию, снижал уровень в крови цитокинов: ФНО α и ИЛ-6, снижал инсулинорезистентность [144, 145].

Не только биофлавоноиды, но и другие фенольные соединения растений оказывают гепатопротекторное действие при НАЖБП [146-149].

Однако, есть работа, в которой показано гепатотоксическое действие экстрактов таких растений как валериана, дубровник, мята, окопник, чистотел, карликовый дуб и др. [150, 151].

В работе [152] не удалось обнаружить гиполипидемическое и антистеатозное действие кверцетина и рутина, напротив, была показана их способность снижать скорость окисления жирных кислот. Возможно, это связано с высокой дозой вводимых препаратов биофлавоноидов.

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Используемые в работе материалы, реактивы и препараты

Для воспроизведения высокожировых рационов (ВЖР) использовали следующие жировые продукты:

- подсолнечное масло: олія соняшникова «Щедрий дар», рафинированная, дезодорированная, вымороженная марки П. Производитель – ЧАО «Полтавский масло-экстракционный завод Кернел-Групп» (Украина);
- оливковое масло: «Mataluni» класс pure. Производитель – Industria Olearia «Biagio Mataluni S. R. L.» (Италия);
- пальмовое масло: Баттер (Малайзия);
- сливочное масло: масло солодко-вершкове селянське «Попілянське», 72,7% жира. Производитель – ООО «Андрушевский маслозавод» (г. Андрушевка Житомирской обл., Украина);
- кокосовое масло: «Bess» (Малайзия).

В качестве базового корма для лабораторных животных (белых крыс линии Вистар) использовали комбикорм полнорационный гранулированный К-120-4 (для лабораторных крыс и мышей) производства НПА «Одесская биотехнология».

Для воспроизведения токсического гепатита использовали тетрахлорметан (четырёххлористый углерод) CCl_4 , ч.д.а., Украина.

Для воспроизведения эндотоксинемии использовали препараты кишечного эндотоксина (липополисахарида, ЛПС) из *E. coli*, штамм 0111.В₄, поставщик «Sigma-Aldrich» (США) или *Salmonella typhi* (препарат «Пирогенал»), производитель – «Медгамал», РФ.

Для воспроизведения дисбиоза использовали антибиотик линкомицин (производитель ЧАО «Фармацевтическая фирма «Дарница», Украина).

Для моделирования иммунодефицита использовали препарат цитостатика циклофосфан (производитель ЧАО «Фармацевтическая фирма «Дарница», Украина) или кортикостероид преднизолон (производитель ЧАО «Фармацевтическая фирма «Дарница», Украина).

В качестве антидисбиотических средств использовали следующие препараты:

– инулин из корней цикория «Fibruline» (производитель Consucra Groupe Warcoine S. A., Бельгия);

– кверцетин, ч. д. а. (производитель «Merck», ФРГ);

– синбиотик «Біфі-Форм комплекс» (производитель «Ферросан А/С», Дания);

– лизоцим в желатине (10 % препарата лизоцима «Clerizima» (Италия) в 10%-ном растворе желатина) (производитель НПА «Одесская биотехнология»);

– квертулин (ТУ У 10.8-13903778-040:2011, производитель НПА «Одесская биотехнология»);

– квертгиал (ТУ У 20.4-13903778-032:2012, производитель НПА «Одесская биотехнология»);

– мукозо-адгезивные фитогели, содержащие ЛПС, кверцетин, квертулин или инулин по ТУ У 20.4-13903778-032:2012, производитель НПА «Одесская биотехнология».

Все остальные реактивы и препараты отечественного или импортного производства использовались для проведения биохимических и гистологических исследований, о чем сказано в соответствующих разделах диссертации.

2.2 Экспериментальные модели

Высокожировой рацион (ВЖР) получали путем смешивания стандартного комбикорма, предварительно измельченного в мельнице, с 15 % соответствующего жира (масла). Корм и воду животные получали *ad libitum*.

Экспериментальный кишечный дисбиоз воспроизводили путем дачи с питьевой водой антибиотика линкомицина в дозе 60 мг/кг в течение 5 дней. Максимальная степень дисбиоза наблюдалась спустя 10-15 дней [153].

Выбор линкомицина был обусловлен тем, что он подавляет рост пробиотических бактерий (бифидумбактерий и лактобацилл) [154].

Системную эндотоксинемию воспроизводили путем в/брюшинного введения ЛПС в дозах 50-200 мкг/кг в течение 1-7 дней. При аппликационном способе введения ЛПС использовали его гель в виде аппликаций на слизистую полости рта (0,5 мл на крысу) [155, 156].

Экспериментальные нарушения иммунной системы воспроизводили общепринятым методом у крыс путем введения циклофосфана в дозе 25 мг/кг через день в течение 2 недель или преднизолона в дозе 10 мг/кг (первые 2 дня), а затем ежедневно по 5 мг/кг на протяжении 12 дней [157].

Токсический гепатит воспроизводили у крыс путем однократного в/брюшинного введения 50 %-ного раствора тетрахлорметана на подсолнечном масле в дозе 3,5 мл/кг (в пересчете на чистый CCl_4 – 1,75 мг/кг тела) [158].

Экспериментальный метаболический синдром [159] воспроизводили у крыс, которые получали ВЖР (с использованием подсолнечного масла), первые 5 дней аппликации с питьевой водой в дозе 60 мг/кг и цитостатик циклофосфан в дозе 25 мг/кг, начиная с первого дня через день. Продолжительность опыта составляла 21 день.

Перечень проведенных нами экспериментальных серий представлен в таблице 2.1, из которой видно, что всего было выполнено 14 серий опытов на 357 белых крысах линии Вистар обоего пола и разного возраста.

Для объективизации полученных результатов в каждой серии опытов была контрольная группа (группа сравнения) и число крыс в каждой группе было не менее 6 голов (чаще всего 8-10).

При работе с животными руководствовались Законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» (№ 1759-VI от 15.12.2009 г.) с учетом правил Европейской конвенции о защите позвоночных животных,

которые используются в экспериментальных и других научных целях [160].

Во всех случаях эвтаназию животных осуществляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

Таблица 2.1

Экспериментальные серии

№№ п/п	Название серии	Число крыс	Пол, возраст	Объекты исследования	Показатели
1	2	3	4	5	6
1	Влияние ВЖР с разным составом ЖК на организм	40	м., 8 мес.	Печень, сыворотка, жировая ткань	ОЛ, ОХ, ТГ, СЖК, ЖК- состав, маркеры воспаления, дисбиоза
2	Жировая нагрузка	12	ж, 15 мес.	Печень, сыворотка	ОЛ, ОХ, ТГ, СЖК, ЖК- состав
3	Влияние ВЖР и дисбиоза на состояние печени	18	м., 6 мес.	Печень, сыворотка, кишка	ТГ, ОХ, дисбиоз, печеночные маркеры, маркеры воспаления
4	Влияние ЛПС (в/бр.) на состояние печени	12	ж, 3 мес.	Печень, сыворотка	ТГ, ОХ, маркеры воспаления, печеночные маркеры

Продолжение табл.2.1

5	Влияние ЛПС (гель) на состояние печени	16	м., 8 мес.	Печень, сыворотка	ТГ, ОХ, маркеры воспаления, печеночные маркеры
6	Влияние спленэктомии на состояние печени	18	ж., 10 мес.	Печень, сыворотка	ТГ, ОХ, маркеры воспаления, дисбиоз
7	Влияние метаболического синдрома на состояние печени	14	м., 4 мес.	Кровь, печень, сыворотка	Лейкоциты, ТГ, ОХ, сахар, маркеры воспаления,

					печеночные маркеры, дисбиоз
8	Влияние преднизолона на состояние печени	16	ж., 3 мес.	Кровь, печень, сыворотка	Лейкоциты, ТГ, ОХ, сахар, маркеры воспаления, печеночные маркеры, дисбиоз
9	Влияние минеральных вод на состояние печени (токсический гепатит)	50	м., 9 мес.	Печень, сыворотка	Маркеры воспаления, печеночные маркеры, дисбиоз
10	Влияние минеральных вод и синбиотики на состояние печени (токсический гепатит)	50	м., 5 мес.	Печень, сыворотка	Маркеры воспаления, печеночные маркеры, дисбиоз
11	Влияние кверцетина, инулина, «Квертулина» на состояние печени крыс (токсический гепатит)	40	ж., 5 мес.	Печень, сыворотка	Маркеры воспаления, печеночные маркеры, дисбиоз
12	Влияние «Квертулина» на состояние печени (ВЖР+дисбиоз)	18	м., 6 мес.	Печень, сыворотка	ТГ, ОХ, печеночные маркеры
13	Влияние «Квертулина» на состояние печени (ЛПС в/бр.)	18	ж., 3 мес.	Печень, сыворотка	ТГ, ОХ, печеночные маркеры, МДА

Продолжение табл.2.1

14	Влияние «Квертулина», лизоцима, Квертгиала на состояние печени (метаболический синдром)	35	м., 4 мес.	Кровь, печень, сыворотка	ТГ, ОХ, печеночные маркеры, лейкоциты
15	Влияние высокоолеинового подсолнечного масла «Оливка» на состояние печени	18	м., 5 мес.	Печень, сыворотка	ТГ, ОХ, печеночные маркеры, маркеры воспаления, дисбиоз

16	Влияние диетической добавки «Липосан» на состояние печени крыс, которые получали безжировой рацион	16	м., 4 мес	Печень, сыворотка	ТГ, ОХ, маркеры воспаления, дисбиоз, ЖК-состав липидов
----	--	----	--------------	----------------------	--

Объектами исследования были:

- живая масса (взвешивание);
- кровь (содержание лейкоцитов, лейкоцитарная формула) [161];
- сыворотка крови (содержание общих липидов (ОЛ) [162], триглицеридов (ТГ) [163], общего холестерина (ОХ) [164], свободных жирных кислот (СЖК) [165], глюкозы [166], печеночных маркеров (АЛТ, билирубин, щелочная фосфатаза) [166], показатель микробной обсемененности (уреаза) [167], показатель неспецифического иммунитета (лизоцим) [168], маркеры воспаления (эластаза [169], МДА [170]);
- ткань печени, в гомогенате которой определяли ТГ, ОЛ, ОХ, СЖК, МДА, эластазу, уреазу, лизоцим, щелочную фосфатазу, каталазу [171];
- висцеральная и подкожная жировая ткань (ОЛ, СЖК) [172].

У всех пищевых жиров и в жиросодержащих биообъектах (сыворотка, печень, жировая ткань) исследовали жирнокислотный состав с использованием хромато-масс-спектрометра [172].

Для гистологического исследования использовали ткань печени, кусочки которой помещали в 10 %-ный нейтральный формалин и после соответствующей обработки окрашивали гистологические срезы гематоксилином и эозином в соответствии с рекомендациями [173].

2.3 Биохимические методы исследований

2.3.1 Определение общего содержания липидов [172]

Жиросодержащий объект (сыворотка, ткань печени, жировая ткань, пищевой (кормовой) продукт) настаивают с экстракционной смесью, составленной из гексана и изопропанола в соотношении 3:2. Количество

исследуемого объекта, в зависимости от содержания жира, должно быть менее 1/20 объема экстракционной смеси. После настаивания в течение 12-24 часов добавляют изопропанол и дистиллированную воду до конечного соотношения гексана, изопропанола и воды 1:1:0,75. После этого смесь в течение нескольких минут расслаивается на верхнюю гексановую и нижнюю водно-спиртовую фракцию. Гексановую фракцию промывают 2-3 раза половинным объемом 5 %-ного водного раствора NaCl для удаления изопропанола и других нелипидных веществ. В гексановой фракции содержатся триглицериды (ТГ) и эфиры холестерина, отсутствуют фосфо- и гликолипиды, а также свободные жирные кислоты (СЖК). После упаривания аликвоты гексановой фракции взвешивают остаток, который обозначают ОЛ (общие липиды).

2.3.2 Определение свободных жирных кислот [172]

В основу метода определения СЖК положена разная растворимость в органических растворителях свободных кислот и их солей (мыл). СЖК очень хорошо растворяются в гептане и очень плохо в водно-спиртовых растворах. Мыла, наоборот, очень хорошо растворяются в водно-спиртовых растворах и практически нерастворимы в гептане.

Для экстракции СЖК из биообъектов используют подкисленную экстракционную смесь такого состава: гептан–изопропанол–1 н H_2SO_4 в соотношении 7,8:2:0,2 (по объему). После отделения слоя гептана к нему прибавляют водный раствор изопропанола, содержащий NaOH. После встряхивания и расслоения фаз СЖК переходят в водно-спиртовый раствор в виде мыл. В дальнейшем к водно-спиртовому раствору прибавляют гексан и раствор H_2SO_4 , встряхивают и образовавшиеся из мыл СЖК переходят в гексан. После отгонки гексана остающийся материал представляет собой чистые СЖК, количество которых определяют взвешиванием.

2.3.3 Определение жирнокислотного состава липидов [172]

Вначале жирные кислоты, входящие в состав ТГ, эфиров холестерина и СЖК, переводят в метиловые эфиры с помощью реакции метанолиза. Разделение метиловых эфиров жирных кислот осуществляют с помощью хроматографии на газовом хроматографе GC-17A и масс-спектрометре GCMS-CIP5050A (Shimadzu, Япония) и использованием капиллярной колонки TR-Fame (Thermo Fisher Scientific) (длина 10 м, диаметр 0,1 мм, толщина 0,2 мкм).

Идентификацию жирных кислот осуществляли путем сравнения времени удерживания и масс-спектров исследуемых образцов и стандартов метиловых эфиров жирных кислот. В качестве стандартов использовали смесь F. A. M. E. Mix C₁₄-C₂₂ (Supelco, США).

Типичные хроматограммы метиловых эфиров жирных кислот из подсолнечного и оливкового масел представлены на рис. 2.1 и 2.2.

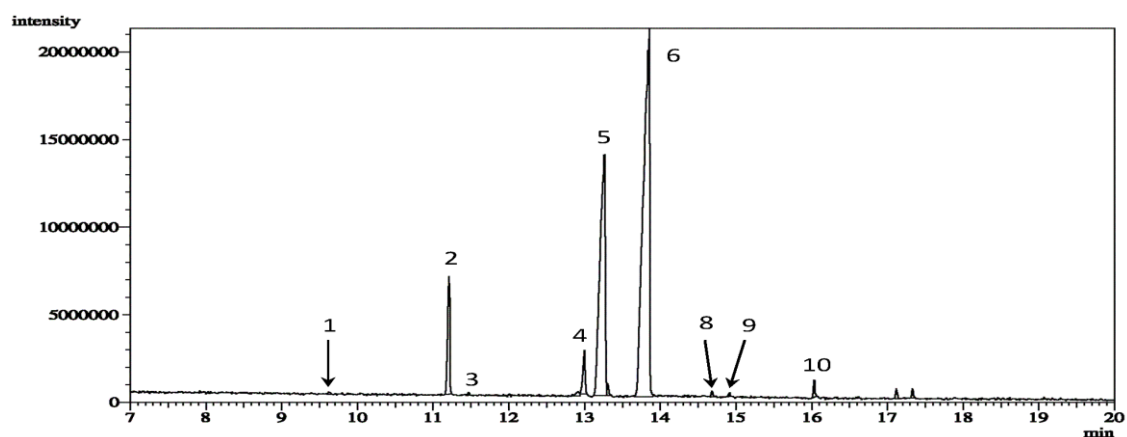


Рис. 2.1 Хроматограмма гексанового раствора подсолнечного масла (жирные кислоты: 1 – миристиновая, 2 – пальмитиновая, 3 – пальмитолеиновая, 4 – стеариновая, 5 – олеиновая, 6 – линолевая, 7 – линоленовая, 8 – арахидовая, 9 – эйкозеновая, 10 – бегеновая)

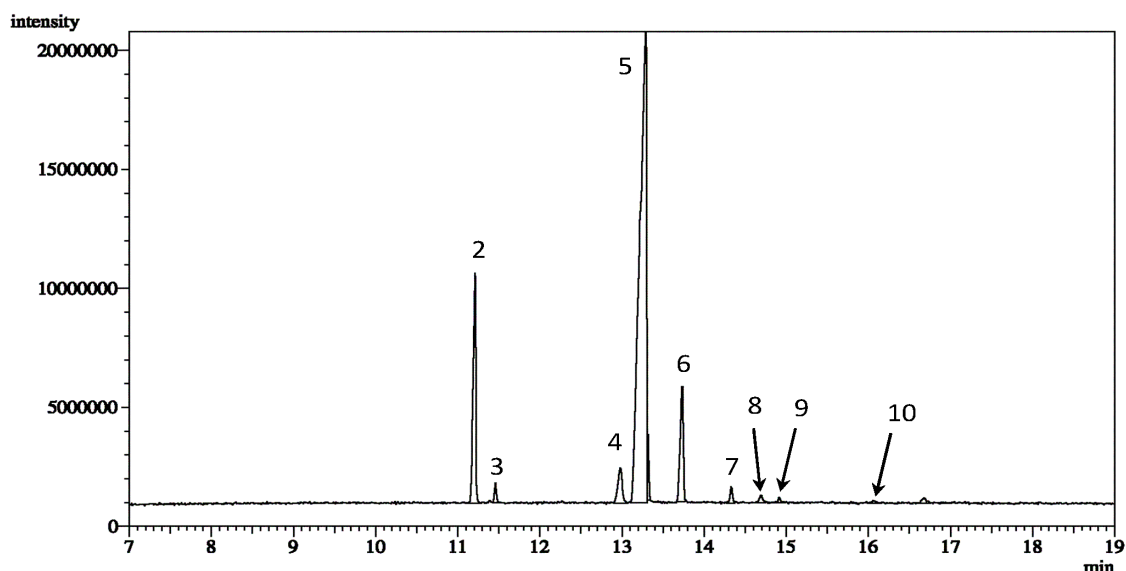


Рис. 2.2. Хроматограмма гексанового раствора оливкового масла.
(обозначения – см. рис. 2.1)

2.3.4 Ферментативный метод определения содержания триглицеридов [163]

В основе метода лежит использование 4 ферментативных реакций, позволяющих в высшей степени специфично определить содержание исключительно ТГ:

- 1) Гидролиз ТГ под действием липазы до глицерина и жирных кислот;
- 2) Фосфорилирование глицерина до глицерофосфата в присутствии АТФ под действием глицеролкиназы;
- 3) Окисление глицерофосфата под действием глицерофосфатоксидазы до диоксиацетонфосфата и H_2O_2 ;
- 4) Образование окрашенного продукта из 4-аминофеназона и 4-хлорфенола в присутствии перекиси водорода под действием пероксидазы. Образующийся хинонимин имеет розово-красную окраску с максимальным поглощением при 505 нм.

Определение ТГ ферментативным методом мы осуществляли, используя соответствующий набор ООО НПП «Филисит-Диагностика» (г. Днепропетровск, Украина), и выражали в ммоль/л или кг [163].

2.3.5 Ферментативный метод определения общего холестерина [164]

В основу метода положены 3 ферментативных реакции, позволяющие специфично определять содержание общего холестерина (как свободного, так и этерифицированного):

1) Гидролиз эфиров холестерина холестеринэстеразой с образованием свободного холестерина;

2) Окисление холестерина холестериноксидазой с образованием холестен-3-ола и H_2O_2 ;

3) образование окрашенного продукта (хинонимина) из 4-аминофеназона и 4-хлорфенола в присутствии перекиси водорода под действием пероксидазы. Интенсивность окраски при 505 нм пропорциональна количеству холестерина в пробе.

Определение ОХ ферментативным методом мы осуществляли, используя соответствующий набор ООО НПП «Филисит-Диагностика» (г. Днепропетровск, Украина), и выражали в ммольях/л или кг [164].

2.3.6 Методы определения биохимических маркеров воспаления [174]

В качестве одного из биохимических маркеров воспаления мы выбрали определение содержания малонового диальдегида (МДА), который образуется из ненасыщенных жирных кислот в результате перекисного окисления липидов (ПОЛ). Активизация ПОЛ всегда имеет место при любом воспалительном процессе, причем наиболее интенсивно в лейкоцитах («окислительный взрыв»).

В основу определения МДА положена его реакция с 2-тиобарбитуровой кислотой, при которой образуется окрашенный триметиновый комплекс с максимумом поглощения при 532 нм.

Содержание МДА выражали в мкмольях на л или кг [170].

Вторым биохимическим маркером воспаления была активность протеолитического фермента эластазы, который продуцируется нейтрофилами

и при их возбуждении секретирруется в окружающую среду, осуществляя деструктивные процессы на белковые структуры тканей [169].

В основу определения активности эластазы положена ее способность избирательно гидролизовать синтетический субстрат N-tret-BOC-l-аланин-n-нитрофенил эфир [169]. При действии эластазы из этого субстрата отщепляется n-нитрофенол, окрашивающий среду в желтый цвет.

Условия определения активности эластазы описаны в методических рекомендациях [169] и выражали ее в мк-кат/л(кг).

2.3.7 Ферментативный метод определения степени дисбиоза по Левицкому [175]

Существующие методы определения дисбиоза биообъектов основаны на использовании посевных методов с полуколичественной оценкой степени дисбиоза. Недостатки этих методов состоят в том, что посевные способы позволяют определить не более 5 % наличных бактерий, они громоздки, длительны и дорогостоящие.

Метод, предложенный проф. А. П. Левицким, состоит в том, что интенсивность микробной обсемененности биообъекта оценивается по уровню активности фермента уреазы, который образуется большим числом видов условно патогенных бактерий и не образуется соматическими клетками человека и животных [167]. Состояние неспецифического иммунитета, играющего решающую роль в формировании дисбиоза, предложено оценивать по уровню фермента лизоцима [168]. Соотношение относительных активностей уреазы и лизоцима представляет собой степень дисбиоза.

Ферментативный метод позволяет определять степень дисбиоза быстро (за 1,5-2 часа), количественно и более объективно, что дало основание Фармкомитету Украины рекомендовать его для практического применения [176].

Активность уреазы определяют по скорости гидролиза мочевины, которую оценивают по количеству выделившегося аммиака, измеряемого с помощью реактива Несслера [167].

Активность лизоцима определяют бактериолитическим методом, используя в качестве субстрата суспензию *Micrococcus lysodeikticus* [168].

Степень дисбиоза в биотопах здоровых животных и человека равна 1. Значения более 1, но менее 3 оценивают как умеренный дисбиоз, более 3, но менее 5 – как средний дисбиоз. Степень дисбиоза более 5 свидетельствует о сильном дисбиозе [176].

2.3.8 Определение антиоксидантной активности и антиоксидантно-прооксидантного индекса [174]

Наиболее простым показателем антиоксидантной активности является активность каталазы, фермента, расщепляющего перекись водорода на воду и кислород [171]. В основу метода определения активности каталазы положена колориметрическая реакция перекиси водорода с молибдатом аммония [171]. Активность каталазы выражают в мкат/л (кг).

Индекс АПИ представляет собой отношение активности каталазы к содержанию МДА, определяемое по формуле: $АПИ = (A_{кат}/C_{МДА}) \times 10$.

2.3.9 Определение печеночных маркеров в сыворотке крови

В качестве печеночных маркеров использовали такие показатели как содержание билирубина, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и активность щелочной фосфатазы (ЩФ) [166].

Содержание билирубина в сыворотке крови определяли по методу Ендрасика, в основу которого положено взаимодействие билирубина с диазотированной сульфаниловой кислотой в присутствии кофеина с образованием окрашенного в розово-фиолетовый цвет азобилирубина [166].

Определение билирубина осуществляли с использованием набора реактивов ООО НПП «Филисит-Диагностика» (г. Днепропетровск, Украина) и выражали в мкмольх/л [166].

Определение активности АЛТ в сыворотке крови проводили по методу Райтмана-Френкеля, используя набор реактивов ООО НПП «Филисит-Диагностика» (г. Днепропетровск, Украина) и выражали в мк-кат/л [166].

Активность ЩФ определяли, используя в качестве субстрата р-нитрофенил фосфат при рН 10,5 и выражали в мк-кат/л [177].

2.4.10 Методы статистического анализа

Статистическая обработка результатов исследования проводилась на компьютере Asus M50VMseries с помощью системного пакета прикладных программ «STATISTICA 10 Enterprise 10.0.1011.6». Все результаты представлены в виде арифметического среднего \pm SD. В ходе статистического анализа выборочных данных применялись методы и средства, которые принадлежат к следующим основным разделам математической статистики:

предварительная обработка данных, описательная статистика (графический анализ данных, исследования законов распределения данных, расчет основных статистических характеристик);

статистическая проверка гипотез (t-критерий Стьюдента и F - критерий Фишера для проверки гипотез о равенстве выборочных числовых характеристик распределений данных);

анализ таблиц сопряженности (критерий χ^2 -квadrat) для оценки существенности различий в группах применяли многопараметрическую методику ANOVA.

Значение $p < 0,05$ считалось статистически достоверным.

РАЗДЕЛ 3

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЖИРОВЫХ РАЦИОНОВ С РАЗНЫМ СОСТАВОМ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС

Важнейшей характеристикой жиров (триглицеридов) является их жирнокислотный состав [178-180]. Как известно, все жирные кислоты делят на насыщенные (в радикале все химические связи одинарные) и ненасыщенные (когда в радикале имеется одна или несколько двойных связей). Однако с биологической точки зрения жирные кислоты существенно различаются не только по химическому строению радикала, но и по их эссенциальности (незаменимости), обусловленной их способностью формировать клеточные структуры (мембраны), а также превращаться в биологически активные соединения, обладающие свойствами регуляторов физиологических процессов [179]. Исходя из этой точки зрения все жирные кислоты, входящие в состав пищевых жиров, распределяются в 5 классов [180]:

1. Энергетические;
2. Эссенциальные структурные;
3. Эссенциальные структурно-регуляторные;
4. Антипитательные;
5. Токсические.

Природные триглицериды, содержащие токсические жирные кислоты, полностью исключаются из питания, а содержащие антипитательные ограничиваются в существенной степени (менее 4 %). Существенное ограничение имеют и эссенциальные жирные кислоты: линолевая ($C_{18:2}$) – 6-8 %; линоленовая ($C_{18:3}$) – 1,5-2 %; ПНЖК ($C_{20:4}$; $C_{20:5}$; $C_{22:6}$) – около 1 %.

К сожалению, ни один из пищевых жиров не удовлетворяет полностью пищевым потребностям человека и по своему жирнокислотному составу далек от идеальной формулы жирового питания [178].

Так, в наиболее часто потребляемом в Украине подсолнечном масле избыток линолевой кислоты (почти 60 %), однако отсутствуют все остальные

эссенциальные жирные кислоты. Молочный жир содержит большое количество пальмитиновой кислоты ($C_{16:0}$) – 26-29 %, тогда как рекомендуемое содержание этой кислоты не должно превышать 15 % [180]. Аналогичная ситуация и с другими жирами животного происхождения (свиным, говяжьим, бараньим).

Из растительных масел особое место занимает пальмовое масло, потребление которого с каждым годом растет, хотя оно содержит до 50% пальмитиновой кислоты.

Исходя из этого, можно предположить, что моножировое питание (когда в составе пищи преобладает один вид жира) не удовлетворяет физиологической потребности человека и может стать причиной патологических процессов.

3.1 Влияние разных жиров на состояние печени

Целью настоящего раздела работы стало изучение влияния обогащения рациона крыс пищевыми жирами, различающимися по своему жирнокислотному составу, а именно: подсолнечным, оливковым, пальмовым, сливочным. Жирнокислотный состав этих масел, определенный нами, представлен в таблице 3.1, из которой видно, что главной кислотой подсолнечного масла является линолевая (46,45 %), оливкового – олеиновая (68,32 %), пальмового – пальмитиновая (41,43 %) и сливочного – также пальмитиновая (25,12 %).

Все эксперименты были проведены на 40 белых крысах линии Вистар, которые распределили в 5 равных групп: 1-ая (норма), получавшая стандартный рацион вивария (комбикорм); 2-ая – комбикорм + 15 % подсолнечного масла; 3-я – комбикорм + 15 % оливкового масла, 4-ая – комбикорм + 15 % пальмового масла и, наконец, 5-ая – комбикорм + 15 % сливочного масла. Продолжительность эксперимента составила 41 день. Корм давали *ad libitum*. Животных взвешивали каждые 7 дней. Соответствующие результаты представлены на рисунке 3.1.

Таблица 3.1

Жирнокислотный состав изучаемых масел (% от суммы жирных кислот)

Жирная кислота	Комбикорм	Подсолнечное масло	Оливковое масло	Пальмовое масло	Сливочное масло
Лауриновая	0	0	0	0,28	2,27*
Миристиновая	0,15	0,12	0	1,12	8,29
Пальмитиновая	10,59	6,53	10,78	41,43	25,12
Пальмитоолеиновая	0,13	0,12	0,81	1,31	1,36
Стеариновая	4,82	2,86	2,89	4,84	14,33
Олеиновая	29,05	30,29	68,32	39,91	28,07
Линолевая	46,45	57,12	15,05	10,33	3,51
Линоленовая	4,52	0,08	0,57	0,15	0,99
Арахидиновая	0,46	0,26	0,53	0,51	0,31
Эйкозеновая	0,26	0,21	0,35	0,17	0,11
Бегеновая	0,65	0,81	0,27	0	0,20
Содержание жира, %	7,16	99,0	99,0	99,0	82,0

Примечание: * - кислоты C₄-C₁₀ составляют 5-6 %

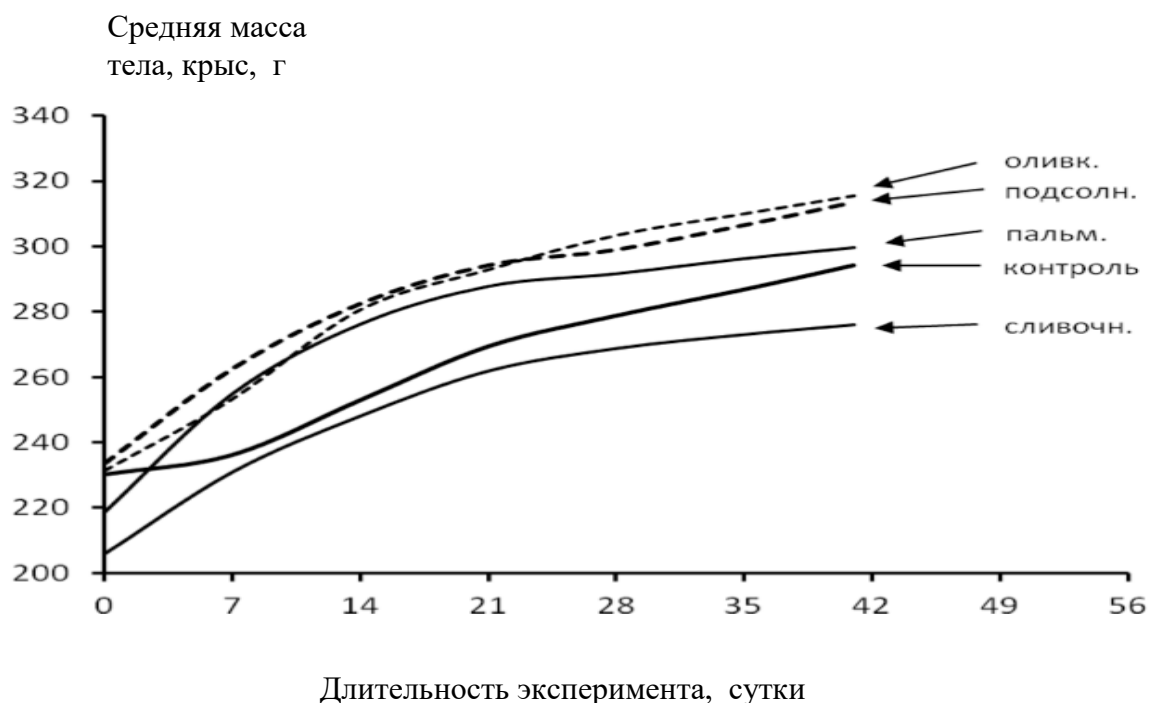


Рисунок. 3.1 Динамика изменения средней массы тела белых крыс в ходе эксперимента

Относительный прирост живой массы за 41 день кормления показан в таблице 3.2 и на рис. 3.2.

Таблица 3.2

Относительный прирост массы тела крыс по периодам от начала эксперимента (в %) ($M \pm m$, $n=8$)

Группа	Длительность от начала эксперимента, сутки.					
	7	14	21	28	35	41
Контроль	2,5 ± 0,54	9,7 ± 1,32	16,8 ± 1,11	20,9 ± 1,24	24,3 ± 1,44	27,4 ± 1,90
Подсолнечное масло	12,2 ± 2,20 ^{ккк}	20,8 ± 1,37 ^{ккк}	26,0 ± 1,52 ^{ккк}	27,9 ± 1,18 ^{ккк}	31,1 ± 1,18 ^{кк}	34,1 ± 1,37 ^к
Оливковое масло	9,2 ± 1,53 ^{ккк пп}	21,1 ± 1,36 ^{ккк}	26,4 ± 1,32 ^{ккк}	30,9 ± 1,61 ^{ккк}	33,8 ± 1,77 ^{ккк}	36,1 ± 2,04 ^{кк}
Пальмовое масло	16,8 ± 1,99 ^{ккк}	26,8 ± 2,76 ^{ккк}	32,2 ± 2,56 ^{ккк}	33,8 ± 2,61 ^{ккк}	35,7 ± 2,58 ^{кк}	37,2 ± 2,48 ^{кк}
Сливочное масло	12,2 ± 1,48 ^{ккк}	20,4 ± 1,79 ^{ккк}	27,0 ± 1,84 ^{ккк}	34,5 ± 2,14 ^{кк}	32,5 ± 2,38 ^к	34,0 ± 2,39 ^к

Примечания: к, кк, ккк – достоверное отличие от значения группы «Контроль» ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$) (t – критерий Стьюдента); пп – достоверное отличие от значения группы «Пальмовое масло» ($p < 0,01$)

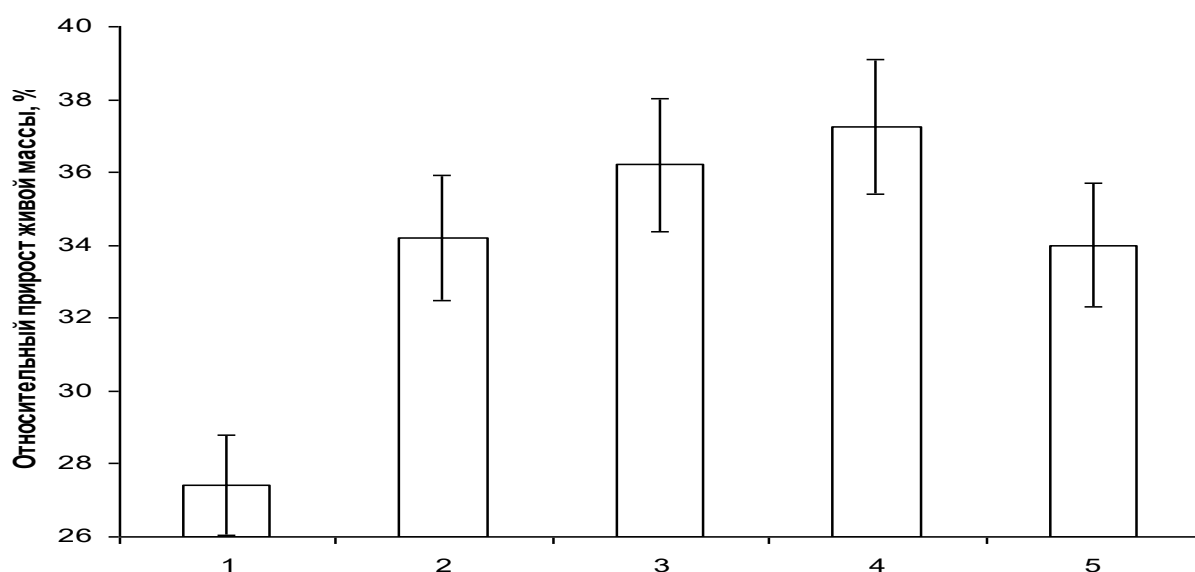


Рисунок. 3.2 Относительный прирост ($M \pm m$, $n=8$) за 41 день живой массы крыс, получавших высокожировую рацион (1-контроль, 2-подсолнечное масло, 3-оливковое, 4-пальмовое, 5-сливочное)

Из этих данных видно, что все использованные жиры достоверно увеличивают прирост живой массы (на 6,6–9,8 %), однако существенно между собой не различаются.

После эвтаназии животных на 42-й день опыта в печени определяли содержание триглицеридов и холестерина (табл. 3.3), которое свидетельствует об увеличении содержания жира в печени. Аналогично изменяется и содержание холестерина, однако в наибольшей степени содержание жира возрастает при использовании пальмового масла.

Таблица 3.3

Влияние различных пищевых жиров на содержание липидов в печени крыс ($M \pm m$, $n=8$)

№№ пп	Группа (масло)	Триглицериды, ммоль/кг	Холестерин, ммоль/кг
1	Контроль	8,82±0,28	6,60±0,25
2	Подсолнечное	11,55±0,24 p<0,01	9,50±0,20 p<0,01
3	Оливковое	10,92±0,40 p<0,05	7,48±0,32 p<0,05
4	Пальмовое	12,47±0,37 p<0,001	7,01±0,58 p>0,3
5	Сливочное	9,72±0,16 p<0,05	6,18±0,29 p>0,2

Содержание жира возрастает также и в сыворотке крови, причем в наибольшей степени после кормления пальмовым и сливочным маслом, у которых высокое содержание пальмитиновой кислоты (табл. 3.4). Содержание холестерина также возрастает, однако существенной разницы в действии разных жиров не выявлено.

В таблице 3.5 представлены результаты определения в печени уровня маркеров воспаления (МДА [170] и эластазы [169]). Как видно из этих данных, наблюдается лишь тенденция к повышению уровня МДА, больше выраженная у крыс, получавших пальмовое и сливочное масла.

Таблица 3.4

Влияние различных пищевых жиров на содержание липидов в сыворотке крови крыс ($M \pm m$, $n=8$)

№№ пп	Группа (масло)	Триглицериды, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л
1	Контроль	0,19±0,02	1,62±0,24
2	Подсолнечное	0,37±0,05 p<0,01	2,56±0,17 p<0,05
3	Оливковое	0,46±0,04 p<0,01	2,79±0,19 p<0,05
4	Пальмовое	0,51±0,03 p<0,001	2,85±0,21 p<0,05
5	Сливочное	0,70±0,05 p<0,001	2,44±0,18 p<0,05

Второй маркер воспаления – эластаза, достоверно повышает свою активность в печени крыс, получавших пальмовое и сливочное масла, отличающиеся от подсолнечного и оливкового масел более высоким (в 4-6 раз) содержанием пальмитиновой кислоты.

Таблица 3.5

Влияние различных пищевых жиров на уровень маркеров воспаления в печени крыс ($M \pm m$, $n=8$)

№№ пп	Группа (масло)	МДА, ммоль/кг	Эластаза, мк- кат/кг
1	Контроль	76,8±4,5	0,35±0,01
2	Подсолнечное	79,7±3,1 p>0,3	0,37±0,02 p>0,3
3	Оливковое	82,3±3,5 p>0,3	0,35±0,02 p=1,00
4	Пальмовое	83,0±3,4 p>0,3	0,42±0,02 p<0,05
5	Сливочное	83,6±6,3 p>0,3	0,42±0,01 p<0,05

3.2 Жирнокислотный состав липидов печени крыс после жировой загрузки

В этой серии опытов на 12 крысах линии Вистар (самки, 15 месяцев) исследовали содержание общих липидов (ОЛ), триглицеридов (ТГ), общего холестерина (ОХ) и свободных жирных кислот (СЖК) в печени и сыворотке крови в первые часы после потребления комбикорма, содержащего дополнительно 15% рафинированного подсолнечного масла. Предварительно крысы голодали 24 часа, но имели доступ к воде. После эвтаназии животных через 0, 1, 2 и 4 часа после жировой нагрузки извлекали печень и получали сыворотку крови. В гомогенатах печени и в сыворотке крови определяли содержание ТГ и ОХ ферментативными методами [164]; ОЛ и СЖК определяли после экстракции смесью Доула (гептан:изопропанол:серная кислота) по оригинальной методике [172]. Жирнокислотный состав ОЛ и СЖК определяли методом газовой хроматографии [172].

В таблице 3.6 показаны изменения содержания ОЛ, ТГ, ОХ и СЖК в печени крыс после жировой нагрузки. Из этих данных видно, что в печени содержание ОЛ увеличивается уже через 1 час после нагрузки, достигая максимума через 2 часа, при этом содержание ТГ и ОХ снижается. Возможно, это обусловлено более быстрым биосинтезом фосфолипидов и других классов липидов после жировой нагрузки.

Таблица 3.6

Содержание общих липидов, триглицеридов, общего холестерина и свободных жирных кислот в печени крыс после жировой нагрузки

Время, часы	ОЛ, г/л	ТГ, г/л	ОХ, г/л	СЖК, г/л
0	11,58	6,51	1,49	1,88
1	13,72	4,71	1,10	1,57
2	14,38	5,42	0,82	1,85
4	12,89	6,21	1,03	2,15

В таблице 3.7 представлены результаты определения липидов в сыворотке крови крыс, получавших жировую нагрузку. Как видно из этих данных, содержание ОЛ увеличивается (максимум через 2 часа) возможно за счет ТГ и СЖК.

Таблица 3.7

Содержание общих липидов, триглицеридов, общего холестерина и свободных жирных кислот в сыворотке крови крыс после жировой нагрузки

Время, часы	ОЛ, г/л	ТГ, г/л	ОХ, г/л	СЖК, г/л
0	2,39	0,50	0,68	0,41
1	2,67	0,95	0,72	0,42
2	3,34	0,83	0,71	0,51
4	1,77	0,43	0,58	0,67

На рис. 3.3 показан жирнокислотный состав ОЛ печени после жировой нагрузки. Видно, что главной жирной кислотой в липидах печени является линолевая, затем следуют пальмитиновая и олеиновая, но их в 1,5-2 раза меньше.

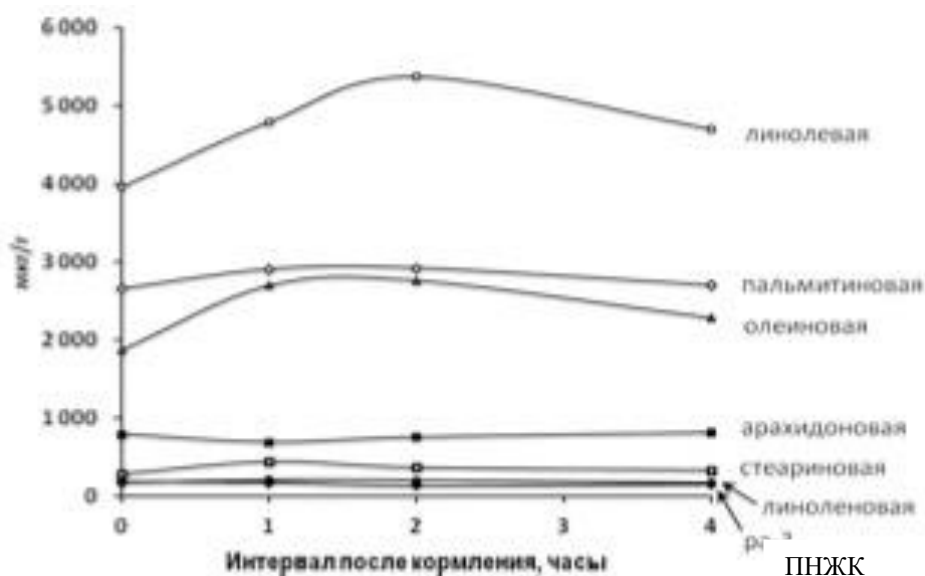


Рисунок. 3.3 Динамика содержания жирных кислот общих липидов в печени крыс

Пик содержания этих кислот наступает через 2 часа. Содержание следующей за ними арахидоновой кислоты мало изменяется, хотя к 4 часу наблюдается тенденция к увеличению её уровня.

На рис. 3.4 показан жирнокислотный состав СЖК печени крыс после жирового рациона. В этом случае через 1 час после нагрузки снижается уровень линолевой, арахидоновой и ПНЖК, который затем к 4 часам повышается. Как и для ОЛ, главной жирной кислотой СЖК является линолевая. Возможно, это связано с тем, что в липидах базового комбикорма превалирует линолевая кислота (46,45 %).

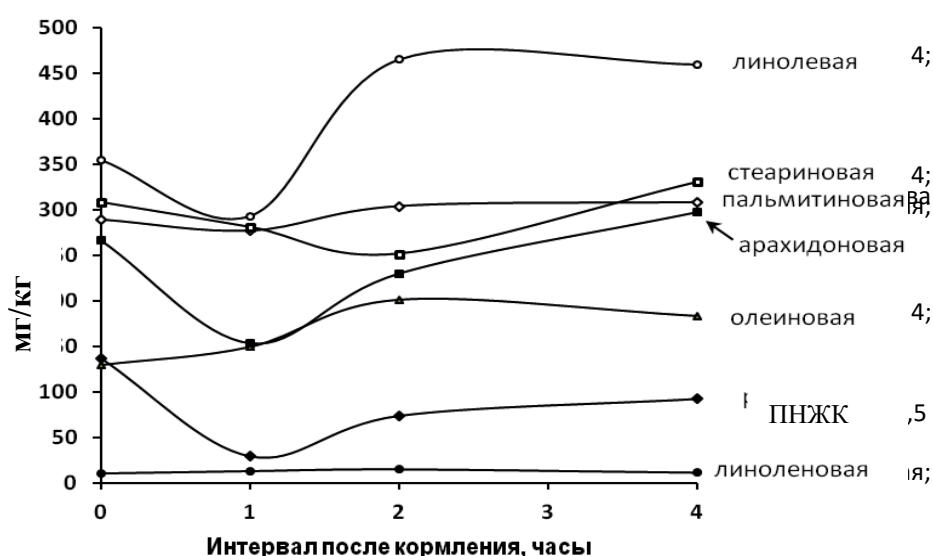


Рисунок. 3.4 Динамика содержания жирных кислот в свободных жирных кислотах печени крыс

Оценивая полученные результаты и принимая во внимание то, что сразу после жировой нагрузки содержание ТГ в печени снижается, а в сыворотке крови увеличивается, можно предполагать, что существует своеобразный физиологический механизм мобилизации ТГ из печени с использованием транспортных форм других липидов (например, фосфолипидов).

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что дополнительное введение в рацион жира (+15 %) приводит к достоверному

увеличению живой массы животных, росту уровня жира в печени и в сыворотке крови.

Важно отметить, что гиперлипидемическое действие в несравненно большей степени выражено у жиров с повышенным содержанием пальмитиновой кислоты – у пальмового и сливочного масла. Потребление этих высокопальмитиновых масел оказывает не только гиперлипидемическое действие, но и вызывает достоверное повышение в тканях печени крыс уровня одного из биохимических маркеров воспаления - эластазы, что может свидетельствовать о начинающемся стеатогепатите.

Результаты опытов с жировой нагрузкой дают веские основания считать присутствие в организме системы экстренной мобилизации жира из печени после поступления пищевого жира в желудок.

Выводы

1. Однократная жировая нагрузка (потребление комбикорма +15 % подсолнечного масла) через 1 час после кормления снижает в печени содержание ТГ на 27,6 % и увеличивает в сыворотке крови на 90 %, что может свидетельствовать об экстренной мобилизации жира из печени (по-видимому, в составе ЛПОНП) после пищевой нагрузки.

2. Высокожировые рационы (ВЖР), содержащие дополнительно 15 % пищевого жира в течение 41 дня увеличивают на 24-36 % прирост живой массы (в большей степени пальмовое), повышают содержание жира в печени (на 10,2-41 %, в большей степени пальмовое) и в сыворотке крови (на 94,7-268,4 %, в большей степени сливочное и пальмовое). Содержание общего холестерина возрастает в сыворотке на 50,6-75,9 % (в большей степени после ввода пальмового масла).

3. ВЖР, содержащие пальмовое или сливочное масло повышают в печени активность эластазы, свидетельствующее о развитии воспаления (стеатогепатита), обусловленное высоким содержанием пальмитиновой кислоты в этих жирах.

Материалы этого раздела опубликованы в следующих работах:

1. Левицкий А. П., Ходаков И. В., Левченко Е. М. Влияние высокожировых рационов с различным жирнокислотным составом на содержание незаменимых жирных кислот в липидах печени / *Journal of Education, Health and Sport*. – 2015. – т. 5, № 12. – С. 598-607.
2. Левицкий А. П. Макаренко О. А., Левченко Е. М., Демьяненко С. А. Биофлавоноидные гепатопротекторы. – Одесса: КП ОГТ, 2014. – 86 с.

РАЗДЕЛ 4

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ РАЗНЫЕ ПИЩЕВЫЕ ЖИРЫ

В предыдущем разделе (раздел 3) представлены результаты наших исследований влияния на печень разных пищевых жиров, различающихся по составу жирных кислот с преобладанием одной из них: линолевой (подсолнечное масло), олеиновой (оливковое масло), пальмитиновой (пальмовое масло) либо сразу двух – пальмитиновой и олеиновой (сливочное масло). Эти исследования показали, что избыток жиров в рационе (ВЖР) вызывает развитие стеатоза печени, гипертриглицеридемии и даже начального гепатита, причем в наибольшей степени вызывают эти явления те жиры, в которых преобладает пальмитиновая кислота, т. е. пальмовое и сливочное масла.

В этом разделе представлены результаты исследования жирнокислотного состава липидов в печени, сыворотке крови и в жировой ткани крыс, получавших с кормом дополнительно 15 % подсолнечного, оливкового, пальмового и сливочного масел в течение 41 дня. После умерщвления животных из печени, сыворотки, висцеральной и подкожной жировой ткани извлекали общие липиды (ОЛ) с помощью экстракционной смеси по Доулу, выделяли свободные жирные кислоты (СЖК) [172] и затем определяли жирнокислотный состав общих липидов и фракции СЖК.

Соответствующие результаты представлены в таблицах 4.1–4.12 и на рисунках 4.1–4.6.

Как видно из данных таблицы 4.1, ВЖР, содержащий подсолнечное, оливковое и пальмовое масла повышает в 1,5-2 раза уровень ОЛ в печени за счет увеличения содержания ТГ и холестерина, но главным образом за счет других липидов (возможно фосфолипидов). При этом содержание в печени СЖК снижается в 1,5-2,5 раза. Если у крыс контрольной группы СЖК в печени

составляют 40,5% от ОЛ, то у крыс, получавших ВЖР, СЖК составляют лишь 13,9-17,7% от ОЛ.

Таблица 4.1

Содержание общих липидов, триглицеридов, холестерина и свободных жирных кислот в печени крыс, получавших высокожировой рацион

№№ пп	Группа (масло)	ОЛ, г/кг	ТГ,		ОХ, г/кг	СЖК,	
			г/кг	(%)		г/кг	(%)
1	Контроль	10,04	6,35	63,2	2,55	4,07	40,5
2	Подсолнечное	20,16	8,32	41,3	3,67	2,80	13,9
3	Оливковое	16,60	7,86	47,3	2,89	2,50	17,4
4	Пальмовое	15,27	8,98	58,8	2,71	1,75	17,7
5	Сливочное	9,92	7,00	70,6	2,39	1,53	15,4

В таблице 4.2 представлены результаты определения липидов в сыворотке крови крыс. Как видно из этих данных, уровень ОЛ снижается (особенно при потреблении оливкового масла), однако содержание ТГ и ОХ существенно возрастает как в абсолютном, так и в относительном измерении. Так, если у контрольных крыс ТГ сыворотки составляли 6,86 % от ОЛ, то у крыс, получавших ВЖР, доля ТГ составляла 15,88-30,84 %.

Таблица 4.2

Содержание общих липидов, триглицеридов, общего холестерина и свободных жирных кислот в сыворотке крови крыс, получавших высокожировой рацион

№№ пп	Группа (масло)	ОЛ, г/л	ТГ,		ОХ, г/л	СЖК,	
			г/л	(%)		г/л	(%)
1	Контроль	2,04	0,14	6,86	0,63	0,35	17,16
2	Подсолнечное	1,70	0,27	15,88	0,99	0,63	37,06
3	Оливковое	1,07	0,33	30,84	1,08	0,31	28,97
4	Пальмовое	1,69	0,37	21,89	1,10	0,77	45,56
5	Сливочное	1,72	0,50	29,07	0,94	0,14	8,14

Существенно возрастало в сыворотке и содержание холестерина. Что касается СЖК, то их абсолютное количество (в г/л) почти в 2 раза возрастало у крыс, получавших подсолнечное и пальмовое масло, не отличаясь от контроля у крыс, получавших оливковое, и снижалось более чем в 2 раза у крыс, получавших сливочное масло.

В таблице 4.3 представлены результаты определения ОЛ и СЖК в висцеральной жировой ткани крыс, получавших ВЖР. Как и ожидалось, эта ткань содержит очень большое количество липидов (более 80 %), причем уровень ОЛ мало зависит от характера жирового питания. Висцеральная жировая ткань содержит незначительное количество СЖК (0,61 %), что можно объяснить низкой активностью липазы висцеральной жировой ткани. У крыс, получавших ВЖР, содержание СЖК возрастало, особенно у тех, которые получали пальмовое и, особенно, сливочное масло (в 2 и 3 раза соответственно).

Таблица 4.3

Содержание общих липидов и свободных жирных кислот в висцеральной жировой ткани крыс, получавших высокожировую рацион

№№ пп	Группа (масло)	ОЛ, г/кг	СЖК	
			г/кг	(%)
1	Контроль	862,6	5,28	0,61
2	Подсолнечное	907,8	9,76	1,08
3	Оливковое	900,3	9,52	1,06
4	Пальмовое	903,3	11,90	1,32
5	Сливочное	835,9	17,43	2,09

В таблице 4.4 представлены аналогичные показатели для подкожной жировой ткани. Уровень ОЛ в ней существенно ниже, чем в висцеральной жировой ткани (менее 65 %) и даже у крыс, получавших ВЖР, он оказался менее 80%. Содержание в этой ткани СЖК было невысоким в контроле (0,41 % от ОЛ), однако потребление ВЖР не только увеличило уровень ОЛ, но и

значительно повысило долю СЖК (в 4-7 раз), что может быть следствием активации гормонально зависимой липазы жировой ткани.

Таблица 4.4

Содержание общих липидов и свободных жирных кислот в подкожной жировой ткани крыс, высокожировой рацион

№№ пп	Группа (масло)	ОЛ, г/кг	СЖК	
			г/кг	(%)
1	Контроль	648,1	2,65	0,41
2	Подсолнечное	790,7	15,33	1,94
3	Оливковое	799,1	11,27	1,41
4	Пальмовое	795,0	14,24	1,79
5	Сливочное	708,7	19,76	2,78

В таблице 4.5 представлены результаты определения жирнокислотного состава ОЛ печени крыс, получавших ВЖР. Как видно из этих данных, главной жирной кислотой в ОЛ печени контрольных крыс является линолевая (почти 35 % от суммы жирных кислот). На долю олеиновой и пальмитиновой кислот приходится 18-19 % и на долю арахидоновой – несколько больше, 7 %.

Потребление подсолнечного масла в 2 раза увеличивает уровень ОЛ в печени, причем увеличение идет за счет линолевой (рост в 2,5 раза), олеиновой, арахидоновой и стеариновой (рост, в среднем, в 2 раза); в 1,5 раза возрастает и содержание пальмитиновой кислоты. В то же время существенно снижается содержание в ОЛ печени незаменимых жирных кислот: линоленовой в 1,7 раза, эйкозапентаеновой в 2,3 раза и докозагексаеновой в 1,2 раза.

Потребление оливкового масла увеличивает уровень ОЛ печени в 1,65 раза в основном за счет олеиновой кислоты (увеличение в 3,7 раза), в меньшей степени возрастает содержание пальмитиновой, стеариновой, арахидоновой кислот. И снова, как и в случае с подсолнечным маслом, существенно

снижается содержание таких незаменимых жирных кислот как линоленовая (в 1,65 раза) и эйкозапентаеновой (в 1,75 раза).

Таблица 4.5

Содержание жирных кислот в общих липидах печени крыс, получавших высокожировую рацион (мг/кг)

Кислота	Группа				
	Контроль	Подсолнечное масло	Оливковое масло	Пальмовое масло	Сливочное масло
миристиновая	24,1	46,4	36,5	38,2	96,3
пальмитиновая	1750,3	2542,4	2367,2	3543,1	2159,3
стеариновая	386,4	774,2	479,7	389,4	416,8
олеиновая	1840,6	3939,7	6766,2	4800,0	2546,2
линолевая	3479,5	8611,2	3628,8	3902,0	2962,0
линоленовая	136,5	80,7	83,0	73,3	117,1
арахидоновая	728,6	1413,4	853,2	836,9	409,8
эйкозапентаеновая	55,2	24,2	31,5	29,0	32,8
докозапентаеновая	109,4	82,7	99,6	122,2	83,4
докозагексаеновая	303,1	260,1	356,9	230,6	172,7

Потребление пальмового масла увеличивает уровень ОЛ в печени в 1,5 раза за счет роста содержания олеиновой кислоты (в 2,6 раза) и пальмитиновой (в 2 раза). Содержание незаменимых жирных кислот в ОЛ печени при этом снижается: линоленовой и эйкозапентаеновой в 1,9 раза, докозагексаеновой в 1,3 раза.

Потребление сливочного масла не изменило уровень ОЛ печени, хотя содержание олеиновой, пальмитиновой, стеариновой и миристиновой кислот существенно возросло. В то же время, содержание всех незаменимых жирных кислот снизилось в 1,2-1,8 раза.

В таблице 4.6 представлены результаты определения жирнокислотного состава фракции СЖК печени крыс, получавших ВЖР. Главной жирной кислотой этой фракции оказалась линолевая (почти 25 %), несколько меньше было пальмитиновой (18 %), стеариновой (16 %), арахидоновой (14 %) и олеиновой (12 %).

Потребление подсолнечного масла привело к снижению уровня СЖК в печени в 1,5 раза, главным образом за счет пальмитиновой, стеариновой и арахидоновой кислот. Потребление подсолнечного масла значительно снизило долю незаменимых жирных кислот во фракции СЖК печени: линоленовой в 7,4 раза, арахидоновой в 2,2 раза, эйкозапентаеновой в 4 раза, докозагексаеновой в 4,5 раза.

Таблица 4.6

Содержание свободных жирных кислот в печени крыс, получавших высокожировую рацион (мг/кг)

Кислота	Группа				
	Контроль	Подсолнечное масло	Оливковое масло	Пальмовое масло	Сливочное масло
миристиновая	8,5	5,0	4,5	5,1	13,0
пальмитиновая	731,7	439,3	362,7	316,0	298,1
стеариновая	645,1	474,2	380,0	228,8	291,1
олеиновая	488,2	455,8	596,1	266,2	211,8
линолевая	975,2	817,6	420,2	325,8	333,5
линоленовая	26,8	3,6	6,8	5,9	3,4
арахидоновая	550,4	247,7	364,2	263,6	127,0
эйкозапентаеновая	15,9	3,9	4,0	4,4	0,0
докозапентаеновая	30,1	5,9	11,6	17,3	5,0
докозагексаеновая	87,8	19,6	73,3	74,5	16,6

Потребление оливкового масла также почти в 1,5 раза снизило уровень СЖК, главным образом за счет линолевой (в 2,3 раза), пальмитиновой (в 2

раза), стеариновой (в 1,7 раза) и арахидоновой (в 1,5 раза). И снова мы наблюдаем существенное снижение доли незаменимых жирных кислот: линоленовой в 3,3 раза, эйкозапентаеновой в 4 раза, докозагексаеновой в 1,2 раза.

Потребление пальмового масла ещё больше снизило уровень СЖК в печени (более чем в 2 раза) за счет линолевой, стеариновой (в 2,8-3,0 раза), пальмитиновой (в 2,3 раза), арахидоновой (в 2,1 раза).

Уровень незаменимых жирных кислот снизился следующим образом: линоленовой – в 4,5 раза, эйкозапентаеновой в 3,6 раза, докозагексаеновой в 1,2 раза.

Потребление сливочного масла ещё больше снизило уровень СЖК в печени (в 2,7 раза) за счет арахидоновой (в 4,3 раза), линолевой (в 2,3 раза), пальмитиновой, стеариновой и олеиновой (в 2,45, 2,8 и 2,3 раза соответственно). Опять мы наблюдаем значительное снижение содержания незаменимых жирных кислот: кроме значительного снижения уровня арахидоновой (в 4,3 раза) и линолевой (в 2,9 раза), снижалось содержание линоленовой (в 7,9 раза), докозагексаеновой (в 5,3 раза), а эйкозапентаеновая кислота вообще не обнаружена.

В таблице 4.7 представлены результаты определения жирнокислотного состава ОЛ сыворотки крови крыс, получавших ВЖР. Как видно из этих данных, у контрольных животных главными жирными кислотами являются линолевая и арахидоновая кислота (18 и 17 % соответственно), затем пальмитиновая (12 %) и лишь 7 % олеиновая.

Потребление подсолнечного масла снижает на 15% уровень ОЛ сыворотки крови крыс за счет снижения содержания арахидоновой и пальмитиновой кислоты (в 1,4 раза). При этом содержание незаменимых жирных кислот снижалось следующим образом: линолевой в 2 раза, докозагексаеновой в 2,6 раза, эйкозапентаеновая кислота вообще не обнаружена.

Таблица 4.7

**Содержание жирных кислот в общих липидах сыворотки крови крыс,
получавших высокожировую рацион (мг/л)**

Кислота	Группа				
	Контроль	Подсолнечное масло	Оливковое масло	Пальмовое масло	Сливочное масло
миристиновая	42,6	17,5	20,3	7,4	17,1
пальмитиновая	229,4	162,8	55,8	176,0	225,3
стеариновая	35,9	28,9	12,7	31,2	66,2
олеиновая	145,0	165,8	132,5	192,5	261,5
линолевая	358,3	409,6	83,9	182,9	390,3
линоленовая	8,6	4,4	2,1	3,4	21,9
арахидоновая	338,5	245,5	79,3	151,2	71,7
эйкозапентаеновая	5,3	0,0	2,1	0,0	6,7
докозапентаеновая	0,0	0,0	3,5	0,0	5,4
докозагексаеновая	8,8	3,4	3,1	2,5	7,6

Потребление оливкового масла снизило уровень ОЛ в сыворотке в 2 раза за счет резкого снижения содержания пальмитиновой (в 4,1 раза), линолевой и арахидоновой (в 4,3 раза).

Существенно снижается и содержание незаменимых жирных кислот: кроме линолевой и арахидоновой снижается уровень линоленовой в 4 раза, эйкозапентаеновой в 2,5 раза и докозагексаеновой в 2,8 раза.

Потребление пальмового масла снижает уровень ОЛ сыворотки на 15% за счет линолевой и арахидоновой кислот (в 2,0 и 2,2 раза соответственно). При этом содержание линоленовой кислоты снижается в 2,5 раза, докозагексаеновой в 3,5 раза, а эйкозапентаеновая кислота вообще не обнаружена.

Потребление сливочного масла снижает уровень общих липидов сыворотки на 15% за счет, в основном, арахидоновой кислоты (в 4,7 раза). Самое удивительное, что при значительном снижении содержания арахидоновой кислоты, содержание других незаменимых жирных кислот не

снижается (эйкозапентаеновая, докозагексаеновая, линолевая), а содержание линоленовой даже увеличивается (в 2,5 раза). Однако следует отметить, что абсолютное содержание незаменимых жирных кислот в ОЛ сыворотки значительно ниже их содержания в ОЛ печени: линолевой и эйкозапентаеновой в 10 раз, линоленовой в 16 раз, арахидоновой в 2 раза, а докозагексаеновой в 34 раза!

В таблице 4.8 представлены результаты определения жирнокислотного состава фракции СЖК сыворотки крови крыс, получавших ВЖР. Главной жирной кислотой этой фракции является пальмитиновая (почти 25%), затем следует линолевая и стеариновая (14-15 %) и лишь 8 % составляет арахидоновая. Надо отметить, что уровень незаменимых жирных кислот во фракции СЖК сыворотки крови на порядок ниже соответствующих показателей печени.

Таблица 4.8

**Содержание свободных жирных кислот в сыворотке крови крыс,
получавших высокожировую рацион (мг/л)**

Кислота	Группа				
	Контроль	Подсолнечное масло	Оливковое масло	Пальмовое масло	Сливочное масло
миристиновая	4,4	6,6	1,6	5,6	3,1
пальмитиновая	83,9	95,9	35,0	149,1	9,3
стеариновая	46,2	76,3	23,1	59,8	9,3
олеиновая	39,9	90,7	55,9	119,4	8,0
линолевая	51,2	148,8	27,2	83,3	5,6
линоленовая	2,3	3,7	1,1	2,9	0,4
арахидоновая	28,7	50,3	16,5	36,0	1,7
эйкозапентаеновая	0,0	0,0	0,9	1,9	0,0
докозапентаеновая	1,2	0,6	0,0	0,8	0,0
докозагексаеновая	3,9	5,3	2,3	4,9	0,3

Потребление подсолнечного масла почти в 2 раза увеличивает содержание СЖК (главным образом за счет линолевой, арахидоновой, олеиновой и стеариновой кислот). Содержание незаменимых жирных кислот во

фракции СЖК сыворотки крови крыс увеличивается: линолевой в 1,5 раза, арахидоновой в 1,75 раза, докозагексаеновой в 1,4 раза. Эйкозапентаеновая кислота не обнаружена в опыте так же, как и в контроле.

Потребление оливкового масла мало изменяет содержание СЖК, и некоторое повышение уровня олеиновой компенсируется снижением уровня пальмитиновой, стеариновой и линолевой кислот. Содержание незаменимых кислот снижается: линолевой в 1,9 раза, линоленовой в 2,2 раза, арахидоновой в 1,25 раза, докозагексаеновой в 1,7 раза. Обнаружено небольшое количество эйкозапентаеновой кислоты.

Потребление пальмового масла в 2,2 раза увеличивает содержание СЖК в сыворотке крови за счет увеличения уровня олеиновой, пальмитиновой и линолевой кислот. Содержание незаменимых жирных кислот существенно повышено.

Потребление сливочного масла резко снижает уровень СЖК в сыворотке крови за счет значительного уменьшения почти всех жирных кислот, особенно пальмитиновой, линолевой, олеиновой, арахидоновой. Незаменимые жирные кислоты практически отсутствуют во фракции СЖК сыворотки крови крыс, получавших ВЖР (сливочное масло).

В таблице 4.9 представлены результаты определения жирнокислотного состава ОЛ висцеральной жировой ткани крыс, получавших ВЖР, содержащий различные пищевые жиры.

Как было показано в таблице 4.5, ВЖР мало влияет на содержание ОЛ, уровень которых в висцеральной жировой ткани превышает 85%. Под влиянием ВЖР существенно (в 2-3,5 раза) повышалось лишь содержание СЖК.

Что же касается жирнокислотного состава ОЛ, то надо отметить, что главной жирной кислотой ОЛ висцеральной жировой ткани является линолевая (35 %), затем олеиновая (27 %) и пальмитиновая (20 %). Из незаменимых жирных кислот обнаружены все, кроме эйкозапентаеновой.

Таблица 4.9

**Содержание жирных кислот в общих липидах висцеральной жировой
ткани крыс, получавших высокожировой рацион (г/кг)**

Кислота	Группа				
	Контроль	Подсолнечное масло	Оливковое масло	Пальмовое масло	Сливочное масло
миристиновая	8,5	5,9	4,0	8,0	24,1
пальмитиновая	174,9	120,9	128,0	231,8	160,4
стеариновая	56,0	42,0	34,8	40,4	69,1
олеиновая	231,7	243,0	487,8	356,3	281,0
линолевая	300,3	441,6	188,3	211,6	212,3
линоленовая	19,5	7,1	8,5	9,9	10,5
арахидоновая	6,6	3,5	1,9	3,3	1,4
эйкозапентаеновая	0	0	0	0	0
докозапентаеновая	1,3	0	0	0,5	0,5
докозагексаеновая	2,5	0,5	0	0,6	0

Потребление подсолнечного масла увеличивает содержание в ОЛ линолевой кислоты (в 1,5 раза), однако снижает содержание других кислот: пальмитиновой (в 1,45 раза), стеариновой (в 1,33 раза), линоленовой (в 2,75 раза), арахидиновой (в 1,9 раза) и докозагексаеновой (в 5 раз).

Потребление оливкового масла, как и ожидалось, увеличивало содержание олеиновой кислоты в ОЛ висцеральной жировой ткани более чем в 2 раза, однако снижало содержание всех остальных жирных кислот: пальмитиновой (в 1,4 раза), стеариновой и линолевой (в 1,6 раза), линоленовой (в 2,3 раза), арахидиновой (в 3,5 раза). Эйкозапентаеновая и докозагексаеновая не обнаружены.

Потребление пальмового масла увеличивало в ОЛ висцеральной жировой ткани содержание олеиновой (в 1,5 раза) и пальмитиновой (в 1,3 раза) кислот,

однако снижало содержание линолевой (в 1,4 раза), линоленовой и арахидоновой (в 2 раза), докозагексаеновой (в 4 раза).

Потребление сливочного масла увеличивало содержание миристиновой (в 2,8 раза), стеариновой и олеиновой (в 1,2 раза) кислот, однако снижало содержание линолевой (в 1,4 раза), линоленовой (в 1,9 раза), арахидоновой (в 4 раза). Эйкозапентаеновая и докозагексаеновая кислота не обнаружены.

В таблице 4.10 представлены результаты определения жирнокислотного состава СЖК висцеральной жировой ткани крыс, получавших ВЖР с разными жирами. Общее количество СЖК в этой ткани контрольных крыс составляет всего 0,61% от ОЛ, и главной кислотой является линолевая (31 %), затем олеиновая (26 %) и пальмитиновая (20 %). На долю всех остальных незаменимых жирных кислот приходится менее 4 %: линоленовой 2,23 %, арахидоновой 1,34 %, докозагексаеновой 0,31 % и менее 0,2 % эйкозапентаеновой.

Таблица 4.10

Содержание свободных жирных кислот висцеральной жировой ткани крыс, получавших высокожировой рацион (г/кг)

Кислота	Группа				
	Контроль	Подсолнечное масло	Оливковое масло	Пальмовое масло	Сливочное масло
миристиновая	0,06	0,05	0,05	0,11	0,44
пальмитиновая	1,06	1,33	1,34	3,08	3,45
стеариновая	0,37	0,54	0,45	0,64	1,29
олеиновая	1,37	2,56	4,81	4,51	5,63
линолевая	1,63	4,27	1,81	2,49	3,81
линоленовая	0,12	0,08	0,09	0,09	0,18
арахидоновая	0,07	0,12	0,09	0,09	0,07
эйкозапентаеновая	0,01	0	0	0	0
докозапентаеновая	0,01	0,01	0	0,01	0,02
докозагексаеновая	0,02	0,01	0	0,01	0,01

Потребление подсолнечного масла увеличило долю СЖК почти в 2 раза за счет линолевой (в 2,6 раза), олеиновой (в 2 раза), стеариновой (в 1,5 раза) и пальмитиновой (в 1,3 раза). При этом существенно снизилось содержание всех остальных незаменимых жирных кислот.

Потребление оливкового масла увеличивает во фракции СЖК висцеральной жировой ткани содержание олеиновой в 3,5 раза, однако снижает содержание всех незаменимых жирных кислот, кроме линолевой, при этом эйкозапентаеновая и докозагексаеновая не обнаружены.

Потребление пальмового масла увеличивает содержание пальмитиновой (в 2,9 раза), олеиновой (в 3,3 раза), линолевой (в 1,5 раза), однако существенно снижает содержание всех остальных незаменимых жирных кислот.

Потребление оливкового масла увеличивает содержание СЖК в висцеральной жировой ткани крыс в 3,3 раза за счет олеиновой (в 4 раза, пальмитиновой (в 3,5 раза), миристиновой (в 7,3 раза) и линолевой (в 2,3 раза) при существенном снижении доли остальных незаменимых жирных кислот.

В таблице 4.11 представлены результаты определения жирнокислотного состава ОЛ подкожной жировой ткани крыс, получавших ВЖР с разными пищевыми жирами. Следует отметить, что подкожная жировая ткань содержит меньше ОЛ, чем висцеральная (табл. 4.8). У контрольных крыс ОЛ составляют менее 65 %, а у крыс на ВЖР они равны 79-80 % за исключением крыс, получавших сливочное масло (у них ОЛ составляют 71 %).

Жирнокислотный состав ОЛ подкожной жировой ткани представлен линолевой (36 %), олеиновой (28 %), пальмитиновой (18 %) кислотами при очень низком содержании линолевой, арахидоновой, докозагексаеновой кислот. Эйкозапентаеновая кислота не обнаружена вовсе.

Потребление подсолнечного масла увеличивает содержание ОЛ за счет линолевой кислоты (в 1,35 раза) при существенном снижении пальмитиновой (в 1,5 раза), стеариновой (в 1,3 раза), миристиновой (в 2 раза) и всех незаменимых жирных кислот (кроме линолевой). При этом содержание арахидоновой

кислоты снижается в 7 раз, а эйкозапентаеновая и докозагексаеновая кислоты не обнаружены.

Таблица 4.11

Содержание жирных кислот в общих липидах подкожной жировой ткани крыс, получавших высокожировую рацион (г/кг)

Кислота	Группа				
	Контроль	Подсолнечное масло	Оливковое масло	Пальмовое масло	Сливочное масло
миристиновая	6,81	4,03	2,72	5,80	18,50
пальмитиновая	118,28	98,76	102,69	188,56	131,83
стеариновая	40,57	38,43	32,37	41,58	55,64
олеиновая	180,82	222,42	432,41	322,67	244,80
линолевая	230,91	379,37	179,33	193,65	185,62
линоленовая	14,45	5,93	6,71	5,72	7,09
арахидоновая	4,41	0,79	2,16	2,70	1,63
эйкозапентаеновая	0	0	0	0	0
докозапентаеновая	0,65	0	0	0	0,43
докозагексаеновая	1,75	0	0	0	0

Потребление оливкового масла увеличивает содержание ОЛ в 1,23 раза за счет олеиновой кислоты (в 2 раза), тогда как все остальные жирные кислоты снижают свой уровень в 1,5 раза, а незаменимые и того больше. Эйкозапентаеновая и докозагексаеновая кислоты не обнаружены.

Потребление пальмового масла также увеличивает содержание ОЛ за счет олеиновой (в 1,45 раза) и пальмитиновой (в 1,3 раза) кислот. Содержание всех незаменимых жирных кислот, включая и линолевую, значительно снижается при полном отсутствии эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот.

Потребление сливочного масла в меньшей степени увеличивает содержание ОЛ (в основном за счет олеиновой, пальмитиновой и миристиновой кислот) при резком снижении содержания незаменимых жирных кислот.

В таблице 4.12 представлены результаты определения жирнокислотного состава фракции СЖК подкожной жировой ткани крыс, получавших ВЖР с разными пищевыми жирами.

Таблица 4.12

Содержание свободных жирных кислот в подкожной жировой ткани крыс, получавших высокожировую рацион (г/кг)

Кислота	Группа				
	Контроль	Подсолнечное масло	Оливковое масло	Пальмовое масло	Сливочное масло
миристиновая	0,02	0,09	0,04	0,1	0,43
пальмитиновая	0,44	1,86	1,42	3,01	3,54
стеариновая	0,21	0,82	0,58	0,82	1,68
олеиновая	0,68	3,95	5,46	5,48	6,23
линолевая	0,84	6,84	2,28	3,05	4,38
линоленовая	0,05	0,12	0,07	0,11	0,18
арахидоновая	0,06	0,18	0,17	0,18	0,24
эйкозапентаеновая	0	0	0	0	0
докозапентаеновая	0,01	0	0	0	0,03
докозагексаеновая	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02

У контрольной группы крыс СЖК составляют всего 0,41% от ОЛ и главными жирными кислотами являются: линолевая (32 %), олеиновая (26 %), пальмитиновая (17 %). Содержание остальных незаменимых жирных кислот невелико, эйкозапентаеновая не обнаружена.

Потребление подсолнечного масла увеличивает содержание СЖК в 5 раз за счет линолевой (в 1,6 раза) и олеиновой (в 1,2 раза) при значительном снижении содержания других незаменимых жирных кислот.

Потребление оливкового масла увеличивает содержание СЖК в 4 раза за счет олеиновой кислоты (в 2,4 раза). Резко снижается уровень миристиновой (в 3 раза), линоленовой и арахидоновой (в 2,5 раза), докозагексаеновой (в 4 раза) кислот при том, что эйкозапентаеновая кислота вовсе не обнаруживается.

Потребление пальмового масла также увеличивает содержание СЖК (в 4,5 раза) за счет олеиновой (в 1,5 раза) и пальмитиновой (в 1,3 раза). Уровень всех остальных жирных кислот (особенно ПНЖК) значительно снижается.

Потребление сливочного масла увеличивает содержание СЖК в 7 раз за счет олеиновой, пальмитиновой, стеариновой и миристиновой кислот. Содержание незаменимых жирных кислот снижается, эйкозапентаеновая не обнаруживается.

На рисунках 4.1-4.6 представлены результаты определения содержания в липидах печени незаменимых жирных кислот (линолевой, линоленовой, арахидоновой, эйкозапентаеновой и докозагексаеновой) в сравнении с энергетически наиболее важной олеиновой кислотой. Обращаем внимание на то, что в контроле общее содержание липидов составляет 7,6 %, тогда как в опытных группах с ВЖР оно равно 22,6 % за счет добавки разных жиров.

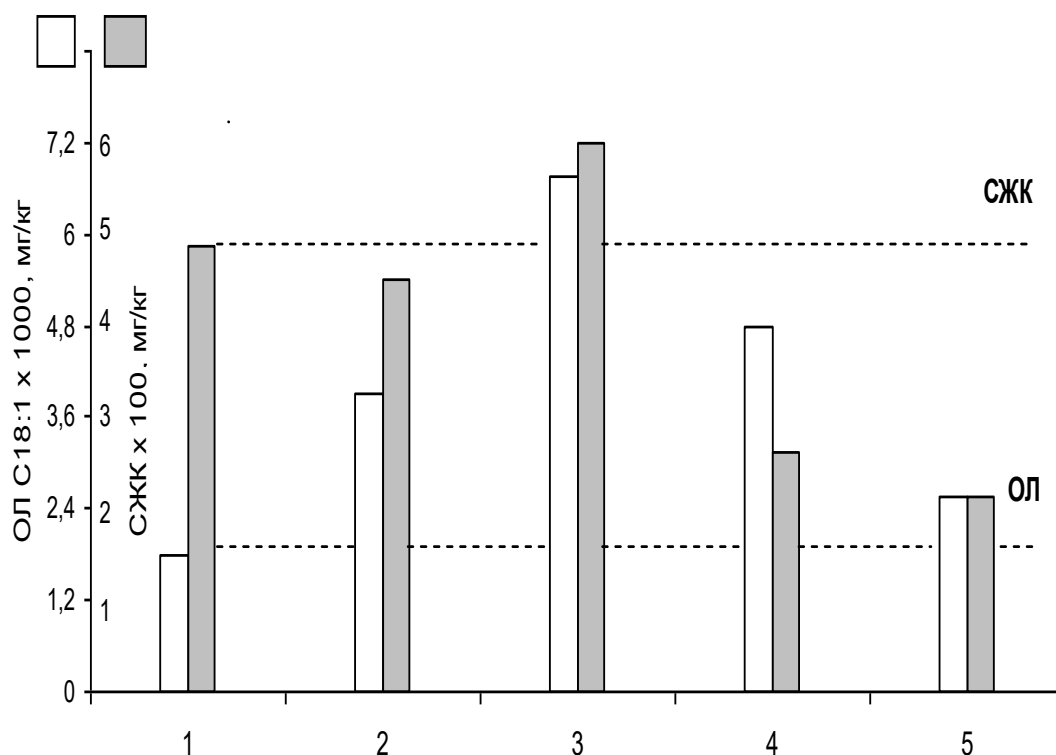


Рисунок 4.1 Содержание олеиновой кислоты в липидах печени крыс, получавших высокожировой рацион

(1 – комбикорм, 7,6 % жира; 2 – +15% подсолнечного масла; 3 – +15% оливкового масла; 4 – +15% пальмового масла; 5 – +15% сливочного масла)

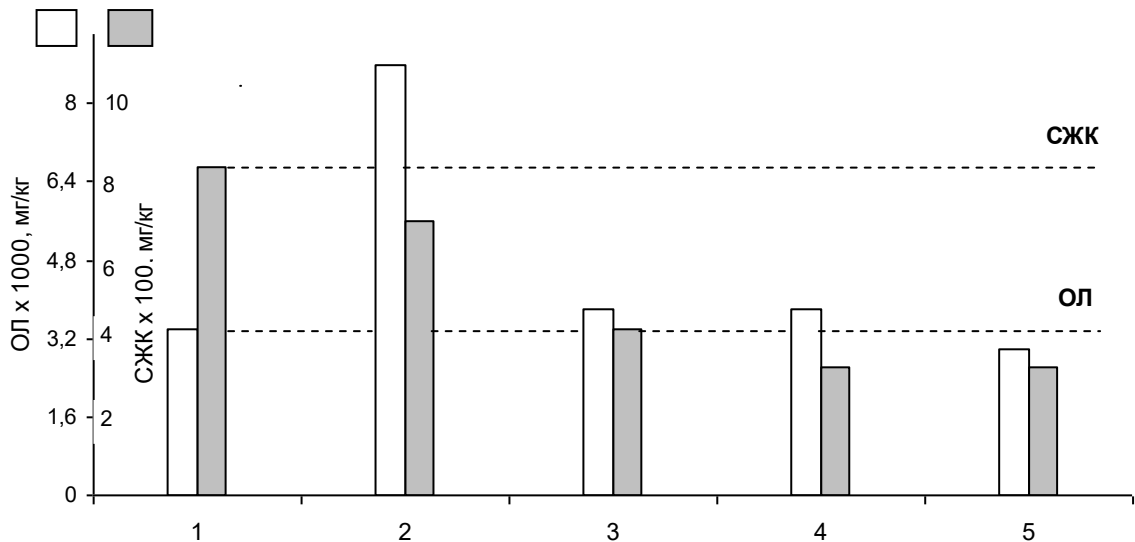


Рисунок 4.2 Содержание линолевой кислоты в липидах печени крыс, получавших высокожировой рацион

(1 – комбикорм, 7,6 % жира; 2 – +15% подсолнечного масла; 3 – +15% оливкового масла; 4 – +15% пальмового масла; 5 – +15% сливочного масла)

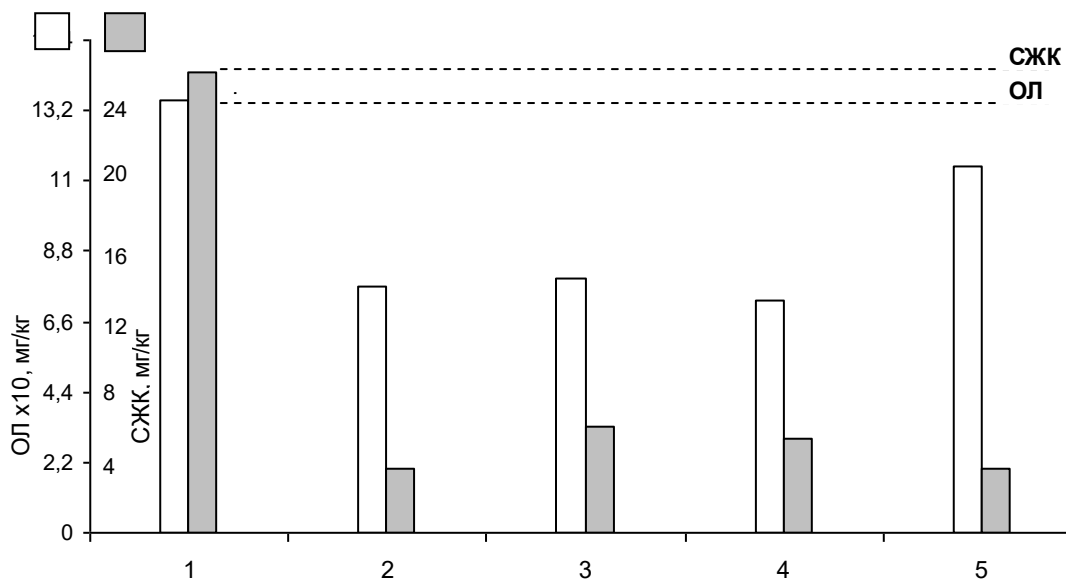


Рисунок 4.3 Содержание линоленовой кислоты в липидах печени крыс, получавших высокожировой рацион

(1 – комбикорм, 7,6 % жира; 2 – +15% подсолнечного масла; 3 – +15% оливкового масла; 4 – +15% пальмового масла; 5 – +15% сливочного масла)

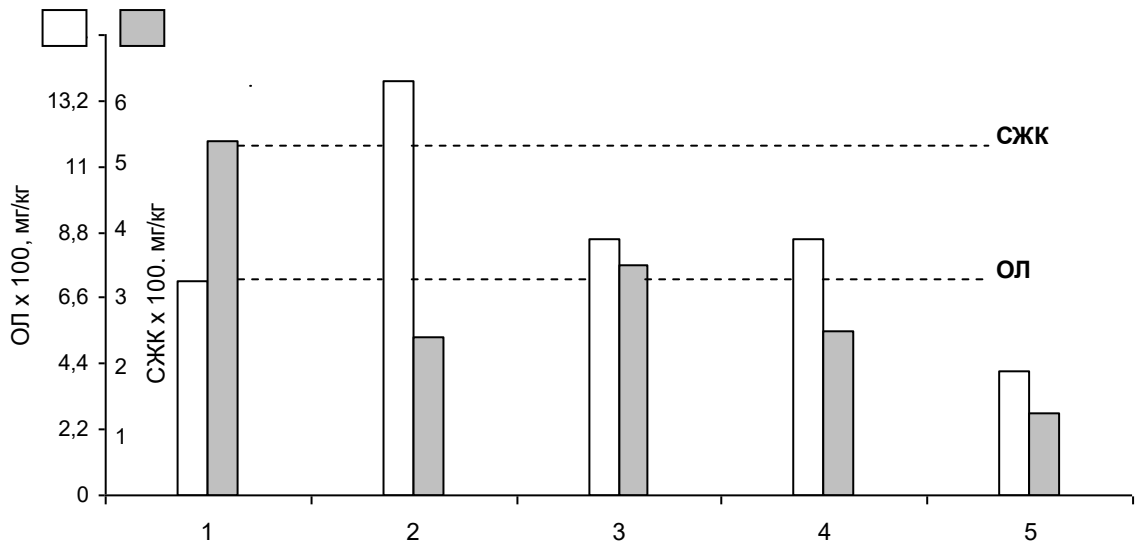


Рисунок 4.4 Содержание арахидоновой кислоты в липидах печени крыс, получавших высокожировой рацион

(1 – комбикорм, 7,6 % жира; 2 – +15% подсолнечного масла; 3 – +15% оливкового масла; 4 – +15% пальмового масла; 5 – +15% сливочного масла)

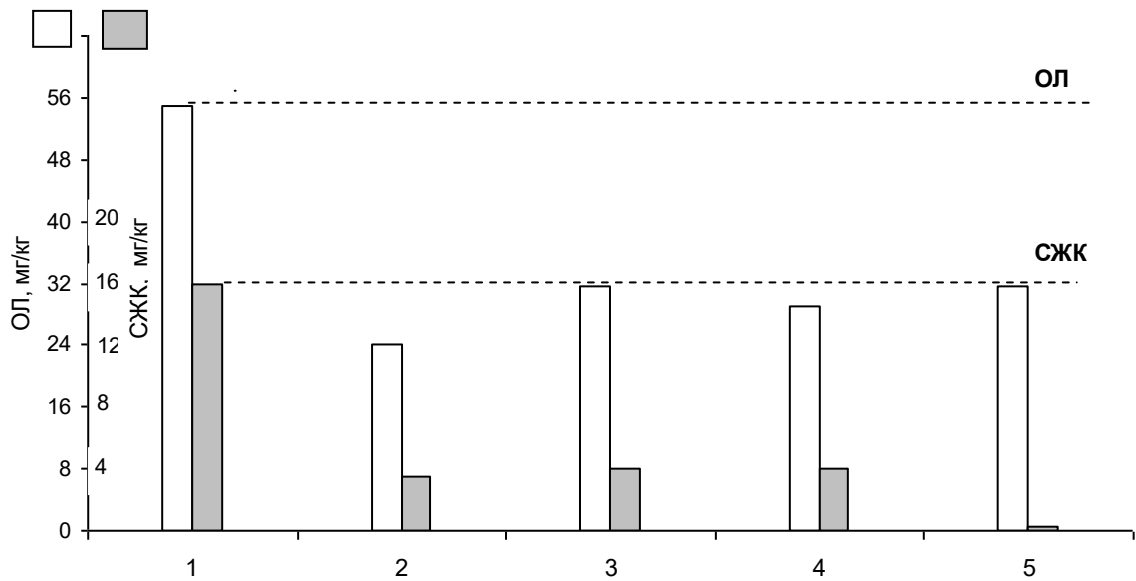


Рисунок 4.5 Содержание эйкозапентаеновой кислоты в липидах печени крыс, получавших высокожировой рацион (1 – комбикорм, 7,6 % жира; 2 – +15% подсолнечного масла; 3 – +15% оливкового масла; 4 – +15% пальмового масла; 5 – +15% сливочного масла)

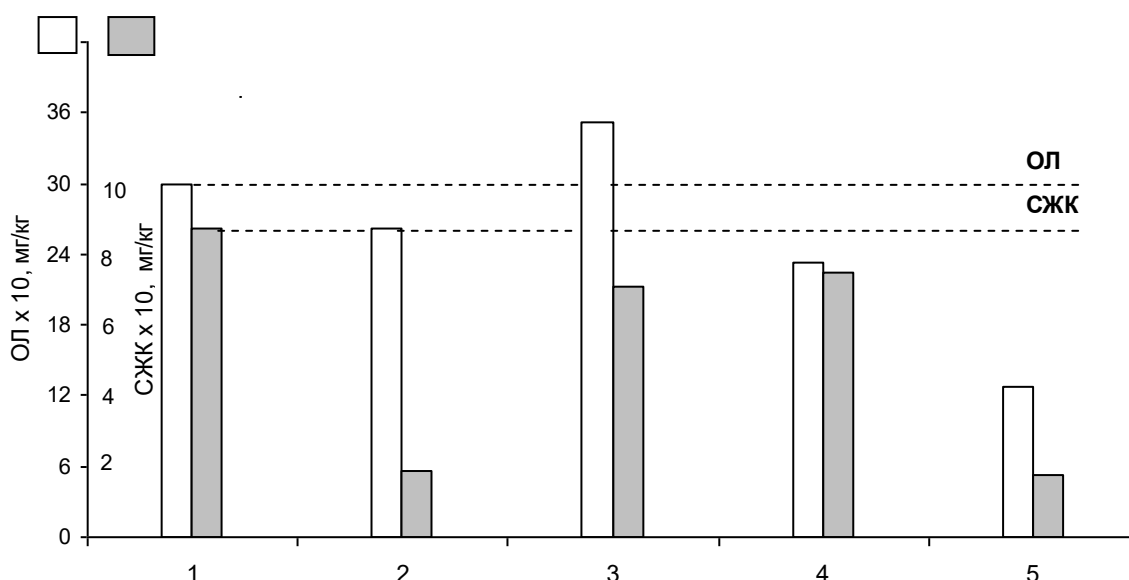


Рисунок 4.6 Содержание докозагексаеновой кислоты в липидах печени крыс, получавших высокожировую рацион (1 – комбикорм, 7,6 % жира; 2 – +15% подсолнечного масла; 3 – +15% оливкового масла; 4 – +15% пальмового масла; 5 – +15% сливочного масла)

Как видно из этих данных, ВЖР значительно снижает содержание незаменимых жирных кислот, особенно во фракции СЖК. На этом основании можно сделать вывод, что в механизме патогенного действия ВЖР одним из важных факторов может быть угнетение биосинтеза ПНЖК из линолевой кислоты и развитие авитаминоза F.

Выводы

1. Кормление крыс в течение 41 дня ВЖР увеличивает в печени и в сыворотке крови содержание ТГ И ОХ, причем в наибольшей степени пальмовое масло (в печени) и сливочное масло (в сыворотке). У этих крыс снижается уровень СЖК в печени и возрастает в жировой ткани, что может свидетельствовать об активации липазы жировой ткани, причем в наибольшей степени под влиянием пальмового и сливочного масла.

2. ВЖР с подсолнечным маслом увеличивает в 2 раза в липидах печени содержание НЖК, олеиновой, линолевой и арахидоновой кислот и снижает в 1,5-2 раза содержание ω -3 ПНЖК. В сыворотке крови в липидах снижается

содержание НЖК (в 1,5-2 раза) и ω -3 ПНЖК (в 1,5-3 раза). Во фракции СЖК печени ВЖР с подсолнечным маслом снижает содержание ω -6 арахидоновой кислоты в 2,5 раза и ω -3 ПНЖК в 4-7 раз.

3. ВЖР с оливковым маслом увеличивает в липидах печени содержание олеиновой кислоты в 3,7 раза и не снижает содержание ПНЖК.

4. ВЖР с пальмовым маслом увеличивает в липидах печени содержание НЖК, линолевой и арахидоновой кислот, но снижает содержание ω -3 ПНЖК. В сыворотке крови в ОЛ и в СЖК содержание ω -3 ПНЖК снижается в 1,5-3 раза (причем, эйкозапентаеновая до 0).

5. ВЖР со сливочным маслом повышает в липидах печени содержание НЖК и олеиновой, но снижает содержание ПНЖК. В сыворотке крови сливочное масло увеличивает в липидах содержание ω -3 ПНЖК, однако во фракции СЖК содержание ω -3 ПНЖК снижается.

6. Висцеральная и подкожная жировая ткань содержат следовые количества ω -3 ПНЖК за исключением линолевой кислоты, содержание которой в ОЛ составляет 14-19,5 %. Под влиянием ВЖР ее содержание снижается в 2 раза независимо от вида использованного жира.

Материалы этого раздела опубликованы в следующих работах:

1. Левицкий А. П., Ходаков И. В., Левченко Е. М. Влияние высокожировых рационов с различным жирнокислотным составом на содержание незаменимых жирных кислот в липидах печени / *Journal of Education, Health and Sport*. – 2015. – т. 5, № 12. – С. 598-607.

2. Левицкий А. П., Макаренко О. А., Левченко Е. М., Демьяненко С. А. Биофлавоноидные гепатопротекторы. – Одесса: КП ОГТ, 2014. – 86 с.

РАЗДЕЛ 5

РОЛЬ ДИСБИОЗА В ПАТОГЕНЕЗЕ СТЕАТОГЕПАТИТА

5.1 Развитие стеатогепатита при сочетании высокожировым рационом с кишечным дисбиозом

Наличие стеатогепатита мы определяли по совокупности следующих признаков:

1. Повышение содержания в печени липидов (ТГ и ОХ);
2. Повышенный уровень в печени биохимических маркеров воспаления (МДА и эластаза);
3. Повышенный уровень в сыворотке крови «печеночных» маркеров гепатита (билирубин, АЛТ и ЩФ);
4. Гистологические изменения в ткани печени.

ВЖР воспроизводили у крыс путем дополнительного ввода в состав стандартного комбикорма (содержание жира 7,6 %) 15 % рафинированного подсолнечного масла. О наличии высокожирового питания судили по уровню липидов в сыворотке крови.

Кишечный дисбиоз вызывали у крыс путем дачи с питьевой водой линкомицина в дозе 60 мг/кг в течение 5 дней. О развитии дисбиоза судили по степени дисбиоза в слизистой тонкой кишки, который определяли ферментативным методом Левицкого по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима [175].

В этом эксперименте было использовано 18 белых крыс линии Вистар (самцы, 6 месяцев, живая масса 350 ± 15 г), распределенных в 3 равные группы: 1-ая (контроль) получали стандартный низкожировой рацион (7,6 % жира), 2-ая и 3-я группы получали ВЖР (+ 15 % подсолнечного масла). 3-я группа первые 5 дней опыта получала с питьевой водой линкомицин в дозе 60 мг/кг. Умерщвление животных осуществляли на 22-й день опыта, получали

сыворотку крови, иссекали часть печени и отделяли слизистую оболочку тонкой кишки (дистальный отдел).

В сыворотке крови и в гомогенате печени определяли содержание триглицеридов (ТГ) ферментативным методом [165] и содержание общего холестерина (ОХ) ферментативным методом [165]. В гомогенате слизистой тонкой кишки и печени определяли активность уреазы и лизоцима, по соотношению относительных активностей которых рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [175]. В сыворотке крови определяли уровень «печеночных» маркеров: билирубина, АЛТ и ЩФ.

Результаты этих исследований представлены на рисунках 5.1-5.5 и в таблицах 5.1-5.3.

На рис. 5.1 показано развитие гипертриглицеридемии и гиперхолестеринемии у крыс, получавших ВЖР, особенно, при сочетании последнего с кишечным дисбиозом.

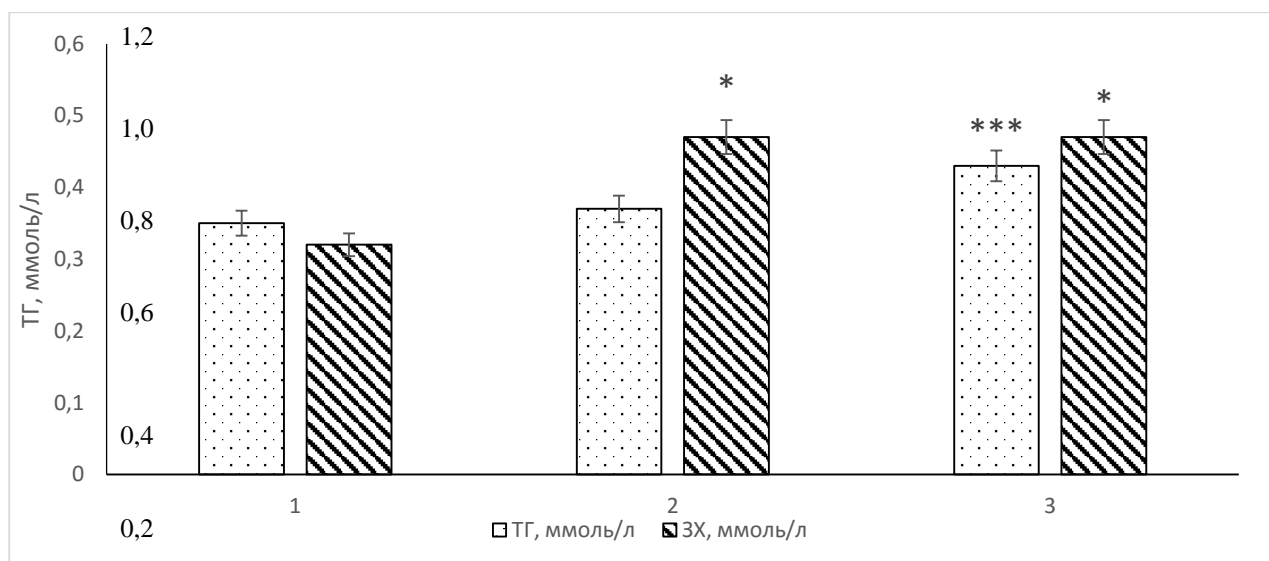


Рисунок 5.1 Содержание ($M \pm m$, $n=6$) триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ) в сыворотке крови крыс, получавших высокожировую рацион (ВЖР) на фоне дисбиоза (1 – контроль, 2 – ВЖР, 3 – ВЖР + дисбиоз), * - $p < 0,05$ в сравнении с группой 1, ** - $p < 0,05$ в сравнении с группой 2

О развитии дисбиоза можно судить по рис. 5.2, на котором показано увеличение активности уреазы (маркер микробного обсеменения) и

существенное снижение активности лизоцима (показатель неспецифического иммунитета). В результате мы видим резкое возрастание степени дисбиоза (более чем в 15 раз) при сочетании ВЖР с введением линкомицина.

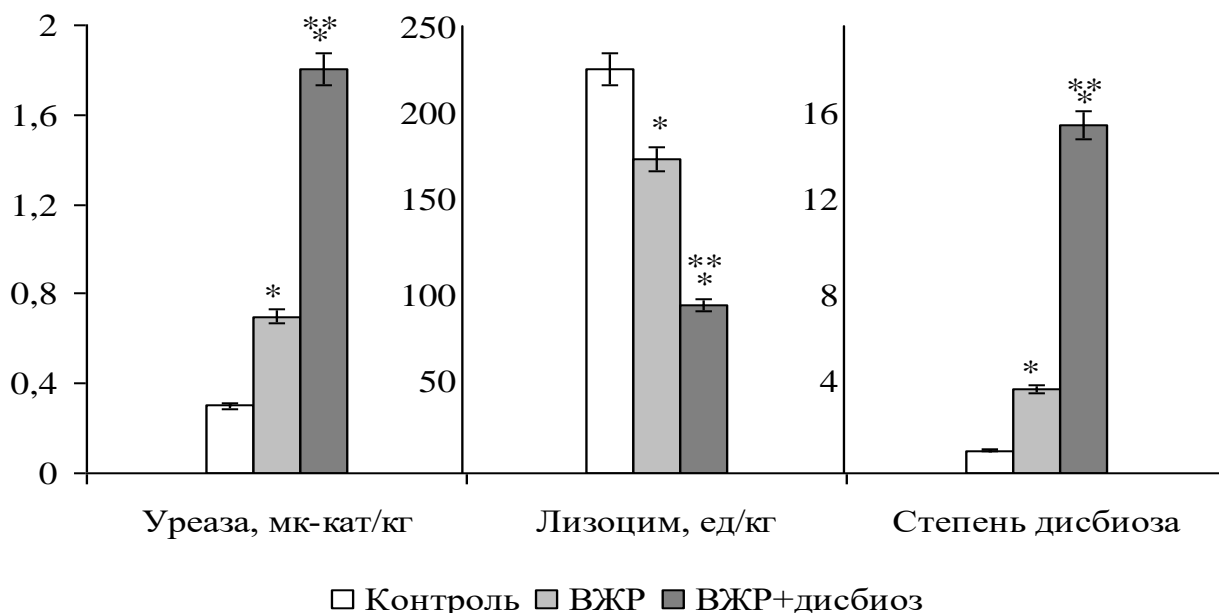


Рисунок 5.2 Активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза ($M \pm m$, $n=6$) в слизистой тонкой кишки крыс, получавших высокожировую рацион на фоне дисбиоза, * - $p < 0,05$ в сравнении с группой 1, ** - $p < 0,05$ в сравнении с группой 2

В таблице 5.1 представлены результаты определения в печени уровня биохимических маркеров воспаления (МДА и эластазы).

Таблица 5.1

Влияние высокожирового рациона и дисбиоза на уровень маркеров воспаления в печени крыс ($M \pm m$, $n=6$)

№№ п/п	Группы	МДА, ммоль/кг	Эластаза, мк-кат/кг
1	Контроль	32,1±1,8	0,38±0,02
2	ВЖР	38,6±2,9 $p < 0,05$	0,44±0,03 $p > 0,05$
3	ВЖР + дисбиоз	56,2±6,6 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	0,57±0,03 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$

Примечание. p – в сравнении с группой 1; p_1 – в сравнении с группой 2.

ВЖР увеличивает содержание МДА на 20,2 % ($p < 0,05$) и активность эластазы на 15,8 % (однако $p > 0,05$). Сочетание ВЖР и кишечного дисбиоза увеличивает уровень МДА и эластазы на 75,1 и 50,0 % соответственно, что может свидетельствовать о развитии воспалительно-дистрофического процесса в печени крыс, получавших ВЖР на фоне кишечного дисбиоза.

В таблице 5.2 показано состояние антиоксидантно-прооксидантной систем печени крыс, получавших ВЖР на фоне дисбиоза. Как видно, ВЖР повышает активность каталазы на 7,0 % ($p < 0,05$), однако индекс АПИ снижается незначительно ($p > 0,05$). Лишь сочетание ВЖР с дисбиозом существенно снижает индекс АПИ (на 41,4 %, $p < 0,05$), что свидетельствует о нарушении в печени баланса антиоксидантной и прооксидантной систем в пользу последней.

Таблица 5.2

Влияние высокожирового рациона и дисбиоза на активность каталазы и антиоксидантно-прооксидантный индекс в печени крыс ($M \pm m$, $n=6$)

№№ п/п	Группы	Каталаза, мкат/кг	АПИ, ед.
1	Контроль	5,97±0,11	1,86±0,11
2	ВЖР	6,39±0,15 $p < 0,05$	1,65±0,09 $p > 0,05$
3	ВЖР + дисбиоз	6,15±0,15 $p > 0,3$ $p_1 > 0,3$	1,09±0,10 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примечание. См. табл. 5.1.

В таблице 5.3 представлены результаты определения в печени активности уреазы и лизоцима, из которых видно, что ВЖР достоверно повышает активность уреазы (в 2 раза) и достоверно снижает активность лизоцима (на 40 %). Сочетание ВЖР с дисбиозом увеличивает активность уреазы в 6 раз и снижает активность лизоцима на 60,4 %. В результате степень дисбиоза в печени увеличивается в 16,5 раз (рис. 5.3).

Таблица 5.3

Влияние высокожирового рациона и дисбиоза на активности уреазы и лизоцима в печени крыс ($M \pm m$, $n=6$)

№№ п/п	Группы	Уреаза, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг
1	Контроль	$0,030 \pm 0,010$	110 ± 11
2	ВЖР	$0,060 \pm 0,010$ $p > 0,05$	66 ± 9 $p < 0,05$
3	ВЖР + дисбиоз	$0,173 \pm 0,024$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	37 ± 7 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$

Примечание. См. табл. 5.1.

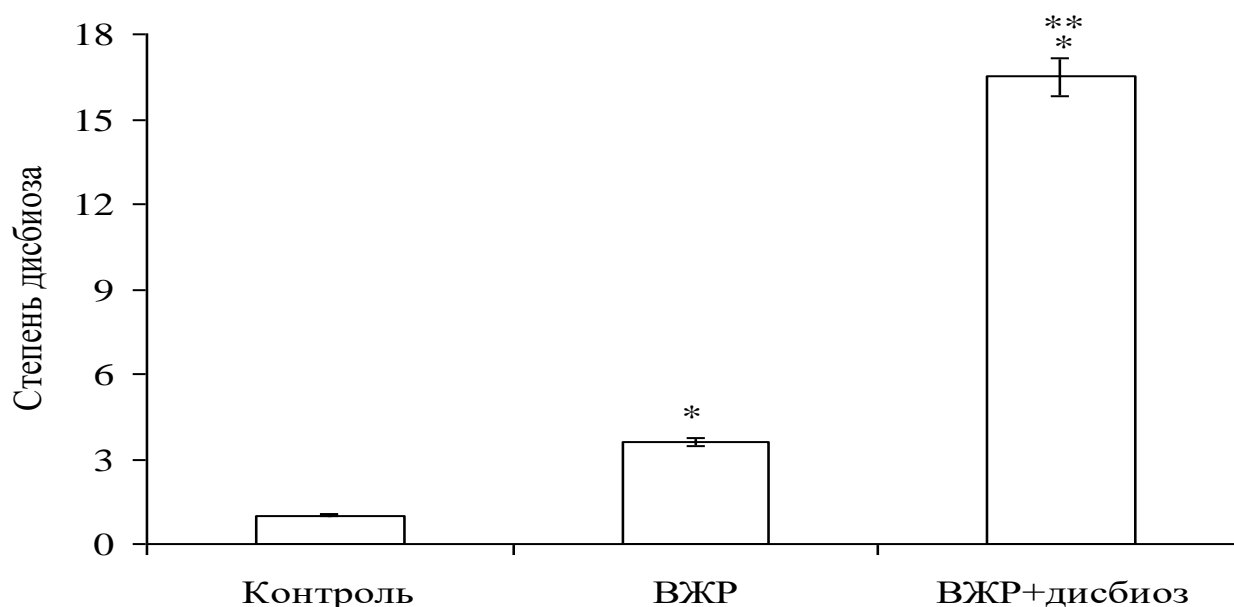


Рисунок 5.3 Степень дисбиоза ($M \pm m$, $n=6$) в печени крыс, получавших высокожировой рацион на фоне дисбиоза (* – $p < 0,001$ в сравнении с гр. «ВЖР»; ** – $p < 0,001$ в сравнении с гр. «ВЖР+дисбиоз»)

На рис. 5.4 показано, что ВЖР и его сочетание с дисбиозом достоверно увеличивают в печени содержание липидов, что свидетельствует о развитии стеатоза печени, который при сочетании ВЖР и кишечного дисбиоза приводит к развитию стеатогепатита (рис. 5.5). На этом рисунке видно, что из трех «печеночных» маркеров при сочетании ВЖР с дисбиозом в сыворотке крови достоверно возрастает активность АЛТ (на 51,7 %) и ЩФ (на 155,9 %).

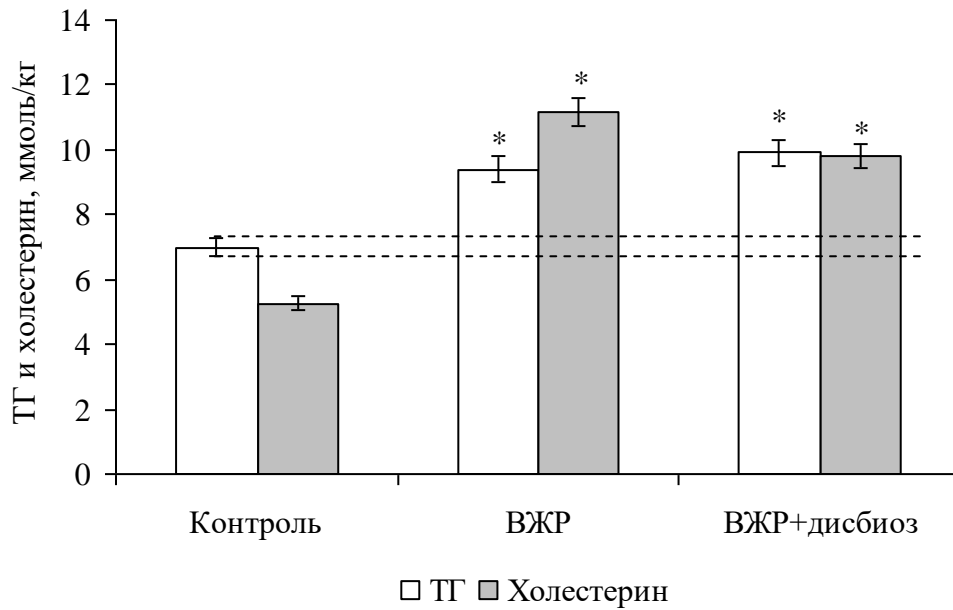


Рисунок 5.4 Содержание триглицеридов и холестерина ($M \pm m$, $n=6$) в печени крыс, получавших высокожировую рацион на фоне дисбиоза, * - $p < 0,05$ в сравнении с группой «Контроль».

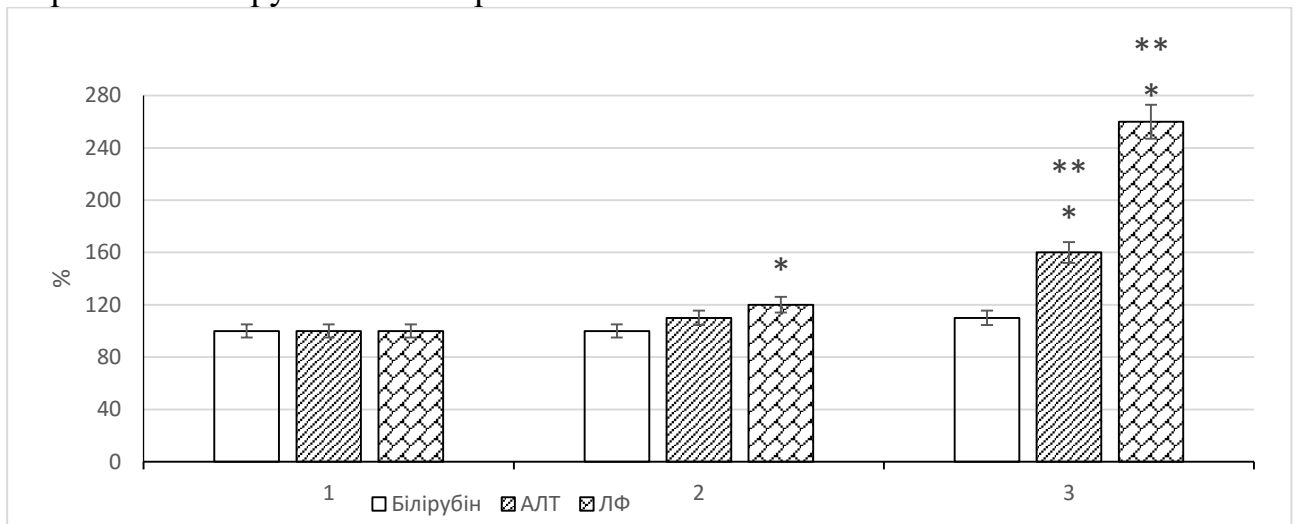


Рисунок 5.5 Уровень «печеночных» маркеров в сыворотке крови крыс ($M \pm m$, $n=6$), получавших высокожировую рацион на фоне дисбиоза, (1 – контроль, 2 – ВЖР, 3 – ВЖР + дисбиоз), * - $p < 0,05$ в сравнении с группой 1, ** - $p < 0,05$ в сравнении с группой 2.

Учитывая характер питания современного человека в индустриальных странах (избыточное жировое питание) и высокую частоту дисбиоза (до 70 %

взрослого населения [93]), можно полагать, что стеатогепатит является одним из весьма распространенных заболеваний в настоящее время.

5.2 Влияние кишечного эндотоксина (липополисахарида) на развитие стеатогепатита

Ведущим патогенетическим фактором дисбиоза является кишечный эндотоксин (липополисахарид, ЛПС), который индуцирует активизацию провоспалительных систем организма, вызывает развитие системного воспаления, которое является благоприятным фактором для метаболических нарушений и воспалительно-дистрофических заболеваний отдельных органов, в том числе и печени.

Целью настоящего фрагмента работы явилось исследование состояния печени при воздействии на организм препарата ЛПС при двух путях его введения: в/брюшинном и при аппликации на слизистую полости рта.

В первой серии опытов (03/13) эксперименты были проведены на 12 крысах линии Вистар (самки, 3 месяца, живая масса 250 ± 11 г), из которых 6 служили контролем (получали в/брюшинно по 0,5 мл 0,9 % NaCl) по схеме (4 дня подряд, 2 дня перерыва и снова 4 дня подряд). Другие 6 крыс с первого дня опыта получали в/брюшинно по 0,5 мл раствора ЛПС («Sigma», США) в дозе 50 мкг/кг ежедневно по схеме, как указано для контроля.

Эвтаназию животных осуществляли на 11-й день опыта. В гомогенате печени и в сыворотке крови определяли содержание ТГ и ОХ ферментативными методами [165], уровень биохимических маркеров воспаления: концентрацию МДА и активность эластазы, активность антиоксидантного ферменты каталазы, а также антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ. В сыворотке крови определяли уровень «печеночных» маркеров: содержание билирубина, активность трансаминаз, активность ЩФ.

На рис. 5.6 представлены результаты определения содержания липидов в печени и в сыворотке крови крыс после курса инъекций ЛПС в дозе 50 мкг/кг.

Из этих данных видно, что в печени существенных изменений липидов не происходит, тогда как в сыворотке крови достоверно возрастает (почти на 50 %) уровень ТГ, а содержание холестерина достоверно снижается (на 14 %, $p < 0,05$).

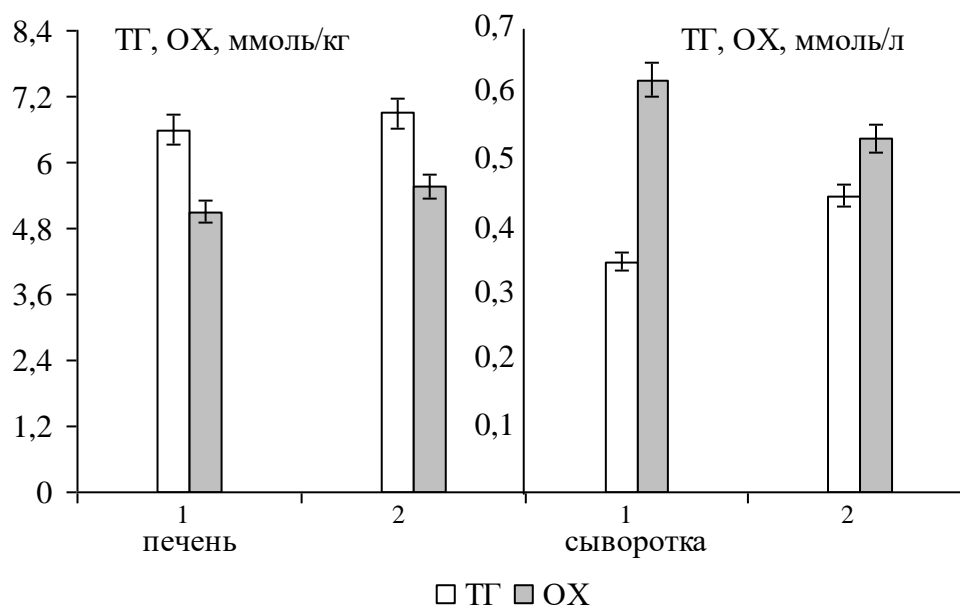


Рис. 5.6 Содержание триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ) ($M \pm m$, $n=6$) в печени и сыворотке крови крыс, получавших липополисахариды (1 – контроль, 2 – опыт)

В таблице 5.4 представлены результаты определения ряда биохимических показателей в печени крыс после многократного введения ЛПС (в/брюшинно, в дозе 50 мкг/кг). Из этих данных видно, что в печени существенно возрастает содержание МДА, являющегося биохимическим маркером воспаления. Однако второй биохимический маркер воспаления – активность эластазы, лишь проявляет тенденцию к повышению. Наиболее значительные изменения происходят с активностью лизоцима – она снижается почти в 2,9 раза, что может указывать на существенное снижение уровня неспецифического иммунитета. Активность ЩФ и каталазы не реагируют на введение ЛПС.

В таблице 5.5 представлены результаты определения в сыворотке крови «печеночных» маркеров: содержание билирубина, активность трансаминаз и

ЩФ. Как видно из этих данных, достоверно увеличивается лишь активность ЩФ, другие показатели проявляют лишь тенденцию к увеличению, причем, весьма заметную для АЛТ – увеличение активности на 31 %.

Таблица 5.4

**Влияние липополисахаридов на биохимические показатели печени крыс
($M \pm m$, $n=6$)**

Показатели	Контроль	ЛПС
МДА, ммоль/кг	41,6±1,0	54,2±3,2 p<0,01
Эластаза, мк-кат/кг	0,40±0,01	0,46±0,05 p>0,05
Лизоцим, ед/кг	106±12	37±8 p<0,05
ЩФ, мк-кат/кг	5,40±0,43	5,61±0,50 p>0,3
Каталаза, мкат/кг	5,68±0,09	5,89±0,06 p>0,3

Таблица 5.5

**Влияние липополисахаридов на уровень печеночных маркеров в
сыворотке крови крыс ($M \pm m$, $n=6$)**

Показатели	Контроль	ЛПС
Билирубин, мкмоль/л	4,03±0,59	4,77±0,51 p>0,1
ЩФ, мк-кат/л	2,13±0,09	2,88±0,28 p<0,05
АЛТ, мк-кат/л	0,29±0,04	0,38±0,03 p>0,05
АСТ, мк-кат/л	0,50±0,02	0,54±0,03 p>0,05

Анализируя полученные данные, можно сказать, что недостаточная выраженность патологических изменений в печени и в сыворотке крови после введения ЛПС, по-видимому, связана с низкой дозировкой этого препарата, а также, возможно, из-за его инактивации в печени.

Вторая серия экспериментов с воздействием ЛПС была проведена на 16 белых крысах линии Вистар (самцы, 8 месяцев, живая масса 200 ± 10 г), из которых 8 служили контролем, а вторые 8 – опытом.

Контрольная группа крыс получала ежедневные аппликации на слизистую оболочку полости рта (СОПР) «пустого» геля (4 %-ный КМЦ) по 0,3 мл на крысу ежедневно в течение 10 дней. Опытная группа получала аналогичные аппликации, но только гелем, содержащим ЛПС в дозе 40 мкг/кг. После умерщвления животных на 11-й день в гомогенате печени и в сыворотке крови определяли содержание ТГ и ОХ ферментативными методами. Кроме того, в сыворотке крови определяли активность АЛТ и эластазы.

На рис. 5.7 представлены результаты определения содержания ТГ и ОХ в печени и в сыворотке крови крыс, получавших многократные аппликации на СОПР геля с ЛПС. Из этих данных видно, что в печени и в сыворотке достоверно возрастает содержание ТГ, тогда как уровень холестерина остается неизменным.

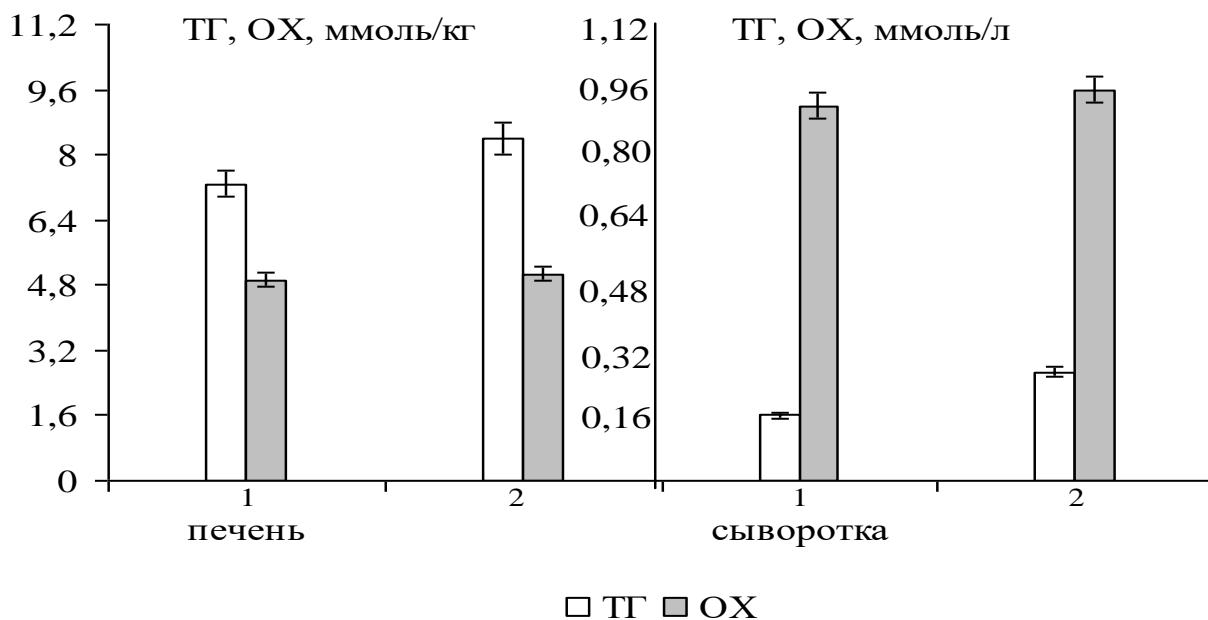


Рисунок 5.7 Содержание триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ) ($M \pm m$, $n=6$) в печени и сыворотке крови крыс, получавших аппликации липополисахаридов (1 – контроль, 2 – опыт)

На рис. 5.8 представлены результаты определения в сыворотке крови крыс, получавших аппликации геля с ЛПС, активности АЛТ и эластазы, из которых видно, что активность АЛТ («печеночный» маркер) существенно не отличается от контроля, что может указывать на «мягкое» действие ЛПС на гепатоциты. В то же время активность эластазы (маркер воспаления) достоверно возрастает, свидетельствуя о системном воспалительном ответе на поступающий ЛПС. Обращаем внимание на то, что доза ЛПС, вводимого в виде аппликаций, ниже, чем при внутрибрюшинном введении, однако она оказывает более сильное действие. Возможно, за счет того, что ЛПС легко всасывается через СОПР и минует печень, которая его поглощает.

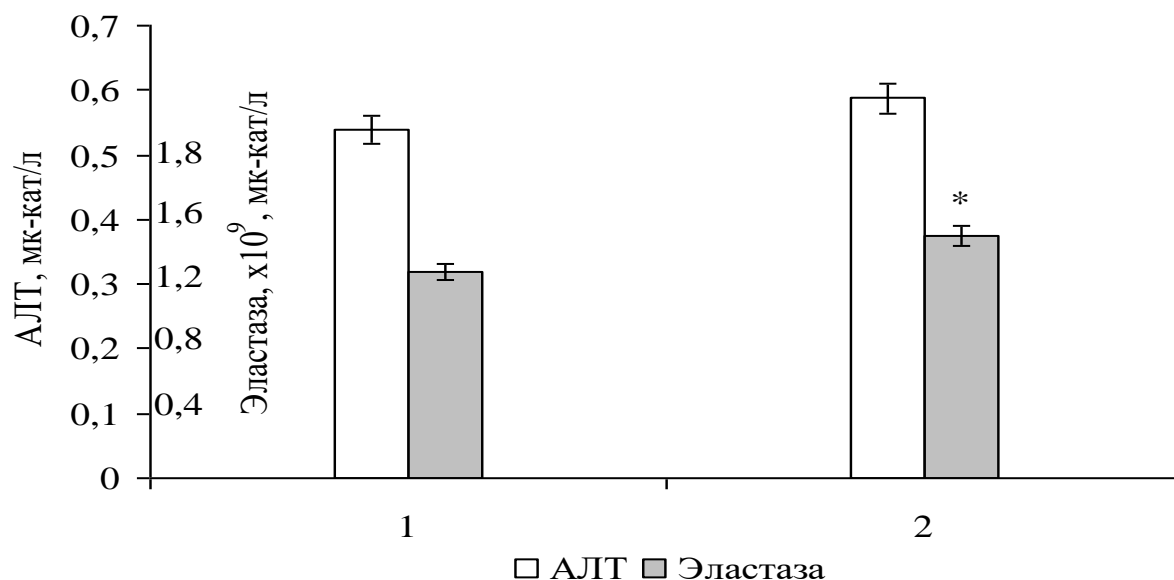


Рисунок 5.8 Активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и эластазы ($M \pm m$, $n=6$) в сыворотке крови крыс, получавших аппликации липополисахаридов (1 – контроль, 2 – опыт), *, * - $p < 0,05$ в сравнении с группой 1

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что гиперлипидемическое (точнее, гипертриглицеридемическое) действие дисбиоза может определяться ЛПС, образуемым Грам-отрицательными бактериями.

5.3 Влияние разных жиров на развитие дисбиоза в организме крыс

Предложенный проф. А. П. Левицким способ оценки степени дисбиоза в органах, тканях и жидкостях организма [176], основан на использовании двух ферментативных показателей: уреазы и лизоцима.

Уреаза – это фермент, расщепляющий мочевины (карбамид) на CO_2 и NH_3 . Образуется уреазы растительными и очень многими микробными клетками, являясь микробным токсином [167]. Ни одна соматическая клетка человека и животных уреазу не образует. Поэтому, определяя активность уреазы в биологических средах организма, можно судить о степени микробного обсеменения со значительно большей достоверностью, чем при использовании посевных методов, которые позволяют определить не более 5 % наличных бактерий [176].

Лизоцим – это фермент, способный лизировать бактериальные оболочки, оказывающий антимикробное действие и отражающий уровень неспецифического иммунитета [168]. Учитывая, что дисбиоз – это интегральный показатель взаимодействия эндогенной микробиоты и макроорганизма, соотношение активностей уреазы и лизоцима может быть удобным, быстрым и количественным показателем степени дисбиоза и рекомендовано Фармкомитетом в качестве экспресс-метода для оценки пребиотического действия [176].

На рис. 5.9 представлены результаты определения в слизистой оболочке тонкой кишки крыс активности уреазы, лизоцима и степени дисбиоза. Как видно из этих данных, подсолнечное масло в 3 раза увеличивает активность уреазы, оливковое масло – в 5 раз, пальмовое и сливочное – в 6-7 раз. Активность лизоцима, напротив, снижается после употребления подсолнечного масла на 12,6 %, после сливочного – на 26,0 %, после пальмового – на 37,7 % и лишь оливковое масло его не снижает. Рассчитанная степень дисбиоза слизистой тонкой кишки после употребления подсолнечного масла

увеличивается в 3,6 раза, после употребления оливкового – в 5,3 раза, а после употребления сливочного и пальмового – в 9-10 раз.

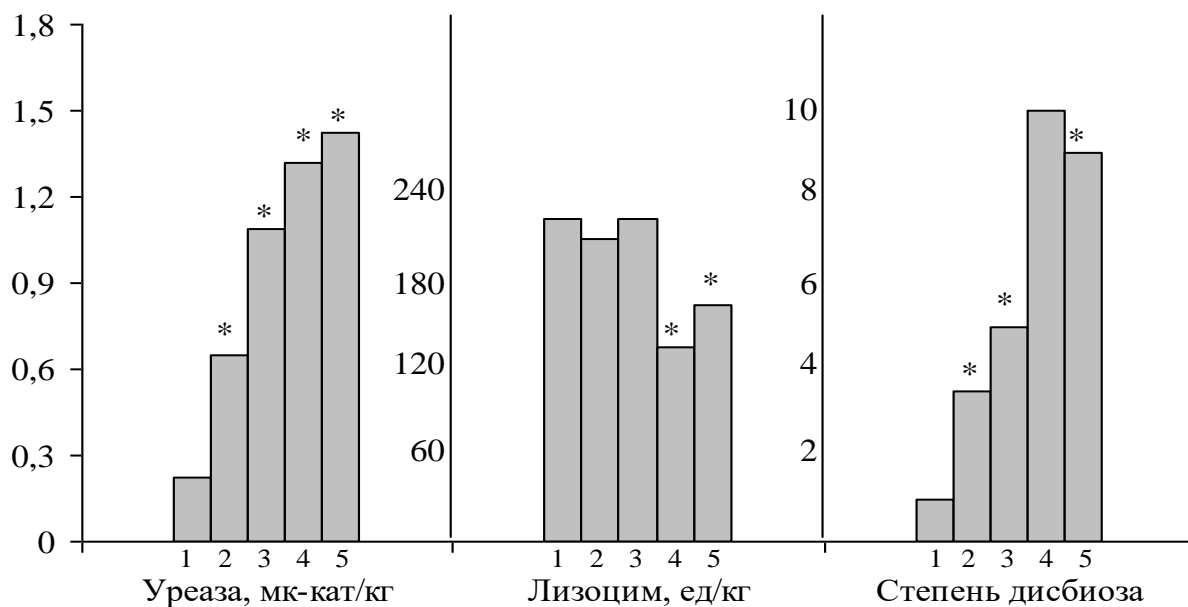


Рисунок 5.9 Активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза (M+m, n=8) в слизистой тонкой кишки крыс (1 – контроль, 2 – подсолнечное масло, 3 – оливковое масло, 4 – пальмовое масло, 5 – сливочное масло), * - $p < 0,05$ в сравнении с группой 1

На рис. 5.10 представлены аналогичные результаты для ткани печени. Из этих данных видно, что подсолнечное и оливковое масло не увеличивают активность уреазы, тогда как сливочное и пальмовое увеличивают ее на 38-43 %. Активность лизоцима в печени после употребления подсолнечного и оливкового масел снижается на 34-41 %, а после употребления сливочного и пальмового масел – на 58,8-70,6 %.

В результате подсолнечное и оливковое масло не повышают достоверно степень дисбиоза в печени, тогда как пальмовое и сливочное масла увеличивают ее в 3,5-4,8 раза.

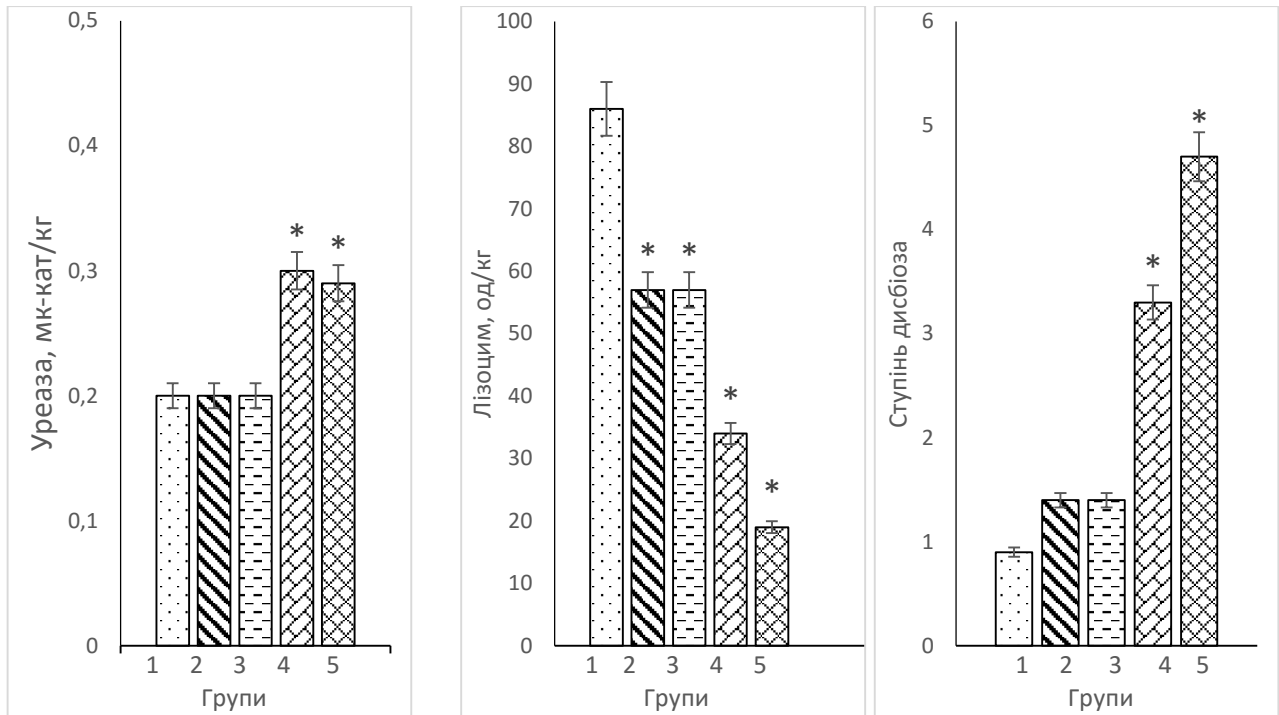


Рисунок 5.10 Активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза ($M \pm m$, $n=8$) в печени крыс, (1 – контроль, 2 – подсолнечное масло, 3 – оливковое, 4 – пальмовое, 5 – сливочное масло), * - $p < 0,05$ в сравнении с группой 1 (1-5 – см. рис. 5.9)

Давая оценку полученным нами результатам исследований по взаимосвязи жирового обмена, эндогенного микробиоза и печени, мы должны отметить их необычайно тесную связь и взаимозависимость. Нами показано, что нарушение липидного обмена, определяемое как стеатоз печени и гипертриглицеридемия, в значительной степени зависят от наличия системной эндотоксинемии, представленной ЛПС. В свою очередь, развитие дисбиоза зависит от состояния антимикробной функции печени и от количества и качества потребляемых жиров. Нами показано, что жиры, содержащие повышенные количества пальмитиновой кислоты (пальмовое масло, животные жиры), оказывают неблагоприятное действие на микробиоценоз и на липидный обмен, вызывая, в конечном итоге, развитие стеатогепатита.

5.4 Влияние спленэктомии на развитие стеатогепатита

Связь печени с селезенкой известна как гепато-лиенальный синдром, при котором патология печени проявляется спленомегалией, морфологическими и функциональными изменениями в селезенке [42]. В то же время еще А. Р. Билибин [35] показал, что удаление селезенки вызывает развитие дисбактериоза.

Целью нашей работы стало определение влияния спленэктомии на состояние жирового обмена и возможное развитие стеатогепатита.

Эксперимент был проведен на 18 белых крысах линии Вистар (самки, 10 месяцев, средняя живая масса 250 ± 10 г), которых распределили в 3 равные группы: 1-ая – норма (интактные); 2-ая – ложноперирированные (разрез и ушивание брюшинной стенки) и 3-я – с удаленной селезенкой (спленэктомия). Через 7 дней животных умерщвляли и в гомогенате печени определяли содержание триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ) ферментативными методами [165], уровень биохимических маркеров воспаления (МДА и эластазы) [174], показатель микробного обсеменения (уреаза), показатель неспецифического иммунитета (лизоцим), антиоксидантный фермент (каталаза). По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [176], а по соотношению активности каталазы и содержания МДА – антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [174].

Показано, что у крыс, которые перенесли спленэктомию (из числа прооперированных погибло 50 %), были налицо явления сепсиса: 33×10^9 /л лейкоцитов при норме $7,0 \times 10^9$ /л, наличие экссудата в брюшной полости, адинамия и отказ от пищи. У ложноперирированных крыс лейкоцитоз был менее выражен ($14,2 \times 10^9$ /л), в брюшной полости отсутствовал экссудат, и состояние не было тяжелым.

В таблице 5.6 представлены результаты определения липидов в печени крыс со спленэктомией. Из этих данных видно, что при удалении селезенки

уровень ТГ увеличивается в 2 раза, а уровень ОХ – на 87 %, что свидетельствует о развитии стеатоза печени, поскольку общее содержание липидов (даже без фосфолипидов) превышает 16 %.

Таблица 5.6

Содержание триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ) в печени крыс после спленэктомии, (М+m, n=6)

№№ п/п	Группы	ТГ, ммоль/кг	ОХ, ммоль/кг
1	Норма	6,83±0,34	5,20±0,39
2	Ложнооперированные	8,20±0,34 p<0,05	6,90±0,72 p<0,05
3	Спленэктомия	13,73±1,27 p<0,001 p ₁ <0,01	9,74±0,56 p<0,01 p ₁ <0,05

В таблице 5.7 представлены данные об уровне в печени биохимических маркеров воспаления. Видно, что он достоверно возрастает при спленэктомии, что может свидетельствовать о наличии не только стеатоза, но и стеатогепатита.

Таблица 5.7

Уровень маркеров воспаления в печени крыс после спленэктомии, (М+m, n=6)

№№ п/п	Группы	МДА, ммоль/кг	Эластаза, мк- кат/кг
1	Норма	41,7±2,0	0,39±0,03
2	Ложнооперированные	45,6±1,9 p>0,05	0,35±0,02 p>0,1
3	Спленэктомия	78,0±3,6 p<0,001 p ₁ <0,01	0,45±0,03 p>0,05 p ₁ <0,05

Что же касается механизма развития стеатогепатита, то данные,

представленные в таблице 5.8, свидетельствуют о резком увеличении микробной обсемененности ткани печени (у крыс со спленэктомией активность уреазы увеличивается в 5 раз) и достоверном (почти двукратном) снижении активности лизоцима.

Рассчитанная по этим показателям степень дисбиоза (рис. 5.11) показала увеличение ее почти в 10 раз у крыс со спленэктомией. Надо отметить, что даже простая лапаротомия значительно ухудшает состояние микробиоценоза в печени, о чем свидетельствует увеличение степени дисбиоза.

Таблица 5.8

**Активность уреазы и лизоцима в печени крыс после спленэктомии,
(M+m, n=6)**

№№ п/п	Группы	Уреазы, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг
1	Норма	0,074±0,008	111±19
2	Ложнооперированные	0,262±0,050 p<0,01	58±4 p<0,05
3	Спленэктомия	0,369±0,007 p<0,001 p ₁ <0,05	57±10 p<0,05 p ₁ >0,9

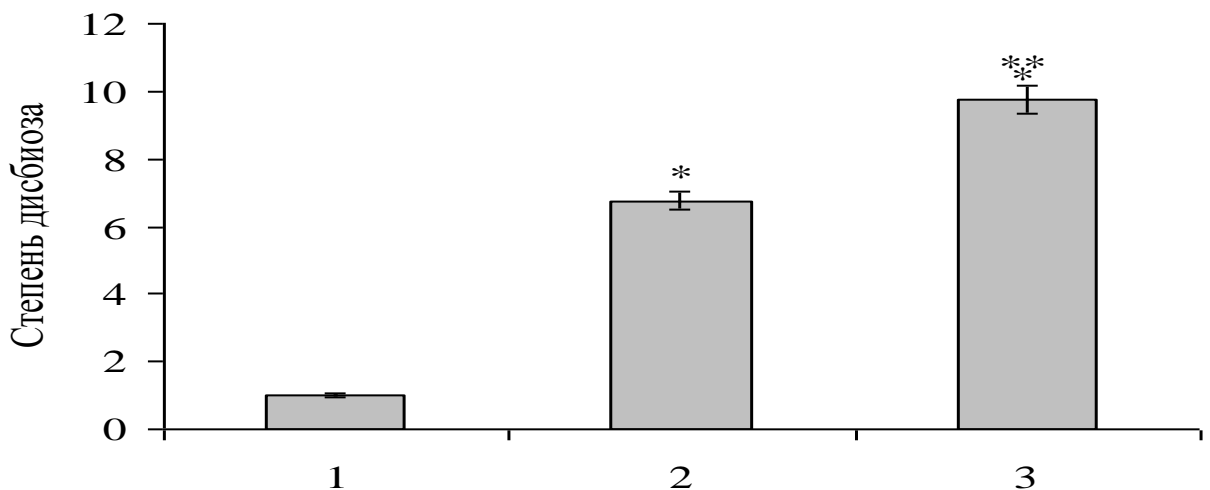


Рисунок 5.11 Степень дисбиоза (M+m, n=6) в печени крыс после спленэктомии (1 – норма, 2 – ложнооперированные, 3 – спленэктомия), *– p<0,05 в сравнении с гр. № 1, **– p<0,05 в сравнении с гр. № 2

На фоне дисбиоза достоверно снижается в печени активность каталазы и в еще большей степени – индекс АПИ (табл. 5.9).

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что спленэктомия способствует развитию дисбиоза в печени, что согласуется с ранее полученными А. Р. Билибиным данными о развитии кишечного дисбактериоза после удаления селезенки [35].

Таблица 5.9

Активность каталазы и антиоксидантно-прооксидантного индекса в печени крыс после спленэктомии, (M+m, n=6)

№№ п/п	Группы	Каталаза, мкат/кг	АПИ
1	Норма	6,27±0,10	1,51±0,10
2	Ложнооперированные	5,04±0,14 p<0,001	1,11±0,06 p<0,05
3	Спленэктомия	4,43±0,38 p<0,01 p ₁ >0,05	0,57±0,03 p<0,01 p ₁ <0,01

Дисбиоз, в свою очередь, приводит к эндотоксикозу (главным образом за счет действия липополисахарида (ЛПС), который способствует угнетению процессов инкреции из печени ЛПОНИ (липопротеидов очень низкой плотности), вызывает развитие воспаления и ослабление антиоксидантной защиты [202].

На основании всего вышеизложенного становится очевидной целесообразность применения при спленэктомии комплекса антидисбиотических и даже антимикробных препаратов, включающих антибиотики, не подавляющих пробиотические микроорганизмы, препараты про-, пре- и синбиотиков, а также разные типы гепатопротекторов.

5.5 Состояние печени при экспериментальном метаболическом синдроме

Метаболический синдром (МС) является комбинированным патологическим состоянием организма, в основе которого лежит, прежде всего, нарушение липидного обмена (гиперлипидемия, ожирение, стеатоз печени, атеросклероз) [21], и, как следствие, инсулинорезистентность (сахарный диабет 2 типа) [19] и гипертензия [22].

Печень занимает важное место среди причин развития МС, поскольку играет решающую роль в патогенезе нарушений липидного обмена. Как показано нами в предыдущих разделах диссертации, значительную роль в патогенезе липидных нарушений может играть микробный фактор, а точнее, дисбиоз, сопровождаемый эндотоксинемией.

Целью настоящего раздела работы стало определение состояния печени при воспроизведении метаболического синдрома у крыс.

Опыты были проведены на 14 белых крысах линии Вистар (самцы, 4 месяцев, средняя живая масса 250 ± 11 г), из которых 7 служили контролем (норма), а у 7 воспроизводили метаболический синдром [43]. Для этого крысы с первого дня опыта получали дополнительно к стандартному комбикорму (содержание жира 7,6 %) 15 % нерафинированного подсолнечного масла. Для воспроизведения у этих крыс дисбиоза они 5 дней подряд получали с питьевой водой антибиотик линкомицин в дозе 60 мг/кг, а для создания иммунодефицитного состояния им внутрибрюшинно вводили цитостатик циклофосфан в дозе 25 мг/кг через день. Эвтаназию животных осуществляли на 22-й день опыта под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

В цельной крови определяли содержание лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов [161]. В сыворотке крови определяли содержание глюкозы [166], триглицеридов (ТГ) [163], общего холестерина (ОХ) [164], общего билирубина [166], активность аланинтрансаминазы (АЛТ) [166], щелочной фосфатазы (ЩФ) [174], эластазы [174] и лизоцима [168].

В гомогенате печени (50 мг/мл 0,05 М трис-НСI буфера рН 7,5) определяли содержание триглицеридов (ТГ) ферментативным методом, малонового диальдегида (МДА), активность эластазы, каталазы, уреазы, лизоцима и ЩФ.

По соотношению активности каталазы и содержания МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [174], а по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [175].

Использованная нами экспериментальная модель метаболического синдрома основана на данных большого числа исследований, свидетельствующих о том, что причинными факторами МС являются ВЖР, иммунодефицит и развивающийся на этой основе генерализованный дисбиоз. В таком случае сочетание ВЖР и системной эндотоксинемии (за счет ЛПС) обуславливают развитие инсулинорезистентности и дислипидемии, являющихся основными патогенетическими звеньями метаболического синдрома.

В таблице 5.10 представлены результаты определения в крови крыс с метаболическим синдромом содержания клеток белой крови. Из этих данных видно, что при МС почти в 3 раза снижается содержание лимфоцитов, а содержание нейтрофилов, напротив, увеличивается в 3 раза. Вследствие этого соотношение лимфоциты/нейтрофилы (лимфоцитарный индекс) (показатель иммунитета) снижается почти в 9 раз.

Таблица 5.10

Содержание лейкоцитов в крови и лейкоцитарная формула у крыс с метаболическим синдромом (M±m, n=7)

Показатели	Норма	Метаболический синдром
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	12,78±1,53	9,88±1,25 p>0,05
Нейтрофилы, %	23,16±2,10	68,8±2,90 p<0,001
Лимфоциты, %	62,4±2,97	21,8±3,27 p<0,001
Лимфоцитарный индекс	2,69±0,11	0,32±0,18 p<0,001

Примечание. В таблицах 5.10-5.12: p – показатель достоверности различий с нормой.

Подтверждением этому может быть и достоверное снижение в сыворотке крови (табл. 5.11) активности лизоцима, являющегося показателем неспецифического иммунитета. Из данных таблицы 5.11 следует, что у крыс с МС в 1,4 раза повышен уровень глюкозы и ОХ, в 1,35 раза – содержание ТГ, в 1,9 раза повышена в сыворотке крови активность эластазы (маркер воспаления) и достоверно увеличен уровень биохимических печеночных маркеров: билирубина, АЛТ и ЩФ, что может свидетельствовать о развитии гепатита.

Таблица 5.11

**Биохимические показатели сыворотки крови крыс
с метаболическим синдромом ($M \pm m, n=7$)**

Показатели	Норма	Метаболический синдром
Глюкоза, ммоль/л	5,16±0,22	7,12±0,22 $p < 0,01$
ТГ, ммоль/л	0,31±0,02	0,42±0,03 $p < 0,05$
ОХ, ммоль/л	1,12±0,08	1,55±0,07 $p < 0,05$
Билирубин, мк-моль/л	3,46±0,16	5,04±0,36 $p < 0,05$
АЛТ, мк-кат/л	0,336±0,022	0,510±0,036 $p < 0,05$
ЩФ, мк-кат/л	1,58±0,13	2,03±0,20 $p < 0,05$
Эластаза, мк-кат/л	241,3±8,9	412,6±30,7 $p < 0,01$
Лизоцим, ед/л	111±10	70±3 $p < 0,05$

В таблице 5.12 представлены результаты определения ряда биохимических показателей печени. Из этих данных видно, что у крыс с МС достоверно увеличивается содержание ТГ в печени, уровень биохимических маркеров воспаления: МДА и эластазы, почти в 5 раз возрастает активность уреазы (показатель микробного обсеменения) и в 2,7 раза снижается активность

лизоцима, что в итоге дает увеличение степени дисбиоза в печени в 12,3 раза.

Увеличивается также и активность ЩФ, свидетельствующая о печеночном холестазае.

Таблица 5.12

Состояние печени крыс с метаболическим синдромом ($M \pm m$, $n=7$)

Показатели	Норма	Метаболический синдром
ТГ, ммоль/кг	7,65±0,46	11,52±0,68 p<0,01
МДА, ммоль/кг	37,6±1,8	50,7±2,2 p<0,001
Эластаза, мк-кат/кг	0,382±0,008	0,486±0,012 p<0,001
Уреаза, мк-кат/кг	0,20±0,05	0,97±0,11 p<0,01
Лизоцим, ед/кг	167±15	62±20 p<0,01
ЩФ, мк-кат/кг	4,84±0,25	6,44±0,48 p<0,05
Каталаза, мкат/кг	5,93±0,20	5,78±0,09 p>0,3
Степень дисбиоза	1,0±0,15	12,3±1,5 p<0,001
АПИ	1,58±0,12	1,14±0,10 p<0,05

Таким образом, представленные нами результаты показывают, что при метаболическом синдроме наблюдается поражение печени (гепатит) на почве развивающегося генерализованного дисбиоза. Следствием гепатита может быть и развитие инсулинорезистентности (сахарного диабета 2 типа) и развитие дислипидемий (ожирение, гепатостеатоз, гиперлипидемия).

Результаты этих исследований ставят на повестку дня проведение гепатопротекторной и антидисбиотической терапии для профилактики тех тяжелых осложнений, которые развиваются у пациентов с метаболическим синдромом, т. е. атеросклероза и сахарного диабета 2 типа.

5.6 Влияние преднизолона на развитие стеатогепатита

Кортикостероиды, как противовоспалительные средства, широко используются в медицине [231]. Показана их способность инактивировать микробные токсины [232] и воздействовать на внутриклеточные механизмы воспалительного ответа [233]. В то же время, длительное введение кортикостероидов вызывает развитие остеопороза [234, 235], гепатита [236], сахарного диабета [237], ожирения [238].

В механизме патогенного действия кортикостероидов рассматривают их способность усиливать липидную пероксидацию [239], оказывать иммунодепрессивный эффект [236] и увеличивать инсулинорезистентность [238].

Целью настоящего раздела работы стало изучение на 16 белых крысах линии Вистар (самки, 3 месяца, живая масса 140 ± 8 г) влияния на состояние печени преднизолона. Преднизолон вводили 8 крысам per os в дозе 10 мг/кг первые 2 дня, а затем по 5 мг/кг последующие 12 дней. Остальные 8 крыс служили контролем.

После умерщвления животных в цельной крови определяли содержание лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов и рассчитывали лимфоцитарный индекс (ЛИ) по соотношению лимфоциты/нейтрофилы [161]. В сыворотке кров определяли содержание триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ) ферментативными методами [165], уровень печеночных маркеров: билирубина [166], АЛТ, АСТ [161] и ЩФ [166]. В гомогенате печени определяли содержание ТГ, ОХ, МДА, активность эластазы, лизоцима, уреазы, а по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [175].

Соответствующие результаты представлены в таблицах 5.13-5.15 и на рисунке 5.12.

В таблице 5.13 показано, что введение преднизолона увеличивает в крови в 3 раза содержание нейтрофилов и в 3 раза снижает содержание лимфоцитов, что в 9 раз снижает лимфоцитарный индекс.

Таблица 5.13

Влияние преднизолона на содержание в крови крыс лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов и лимфоцитарный индекс (M±m, n=8)

Показатели	Контроль	Преднизолон
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	12,2±0,7	10,1±1,4 p>0,05
Нейтрофилы, %	21,6±1,2	69,8±5,2 p<0,01
Лимфоциты, %	69,0±2,3	23,6±5,5 p<0,01
Лимфоцитарный индекс (ЛИ)	3,19±0,16	0,34±0,09 p<0,001

Как видно из результатов, представленных на рис. 5.12, у крыс, получавших преднизолон, достоверно возрастает содержание ТГ и ОХ как в печени, так и в сыворотке крови, что свидетельствует о развитии стеатоза печени и гиперлипемии.

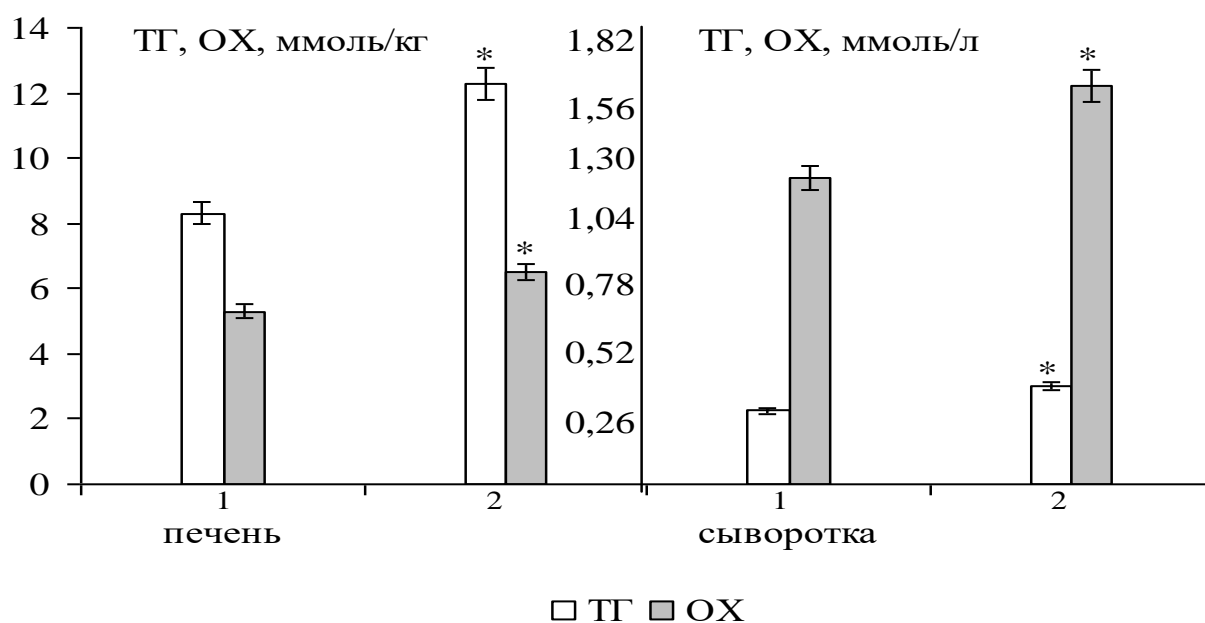


Рисунок 5.12 Влияние преднизолона на уровень триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ) (M±m, n=8) в печени и в сыворотке крови крыс (1 – контроль, 2 – преднизолон), * - p<0,05 в сравнении с группой 1

В таблице 5.14 показано изменение в сыворотке крови печеночных маркеров: содержание билирубина и активность трансаминаз (АЛТ и АСТ). Из этих данных видно, что введение преднизолона достоверно повышает в сыворотке крови уровень печеночных маркеров, что свидетельствует о развитии стеатогепатита. Причиной этого может быть дисбиоз, развивающийся в печени вследствие иммунодефицита, о чем свидетельствуют резкое снижение индекса ЛИ и почти двукратное снижение активности лизоцима (табл. 5.15). Это приводит к увеличению микробного обсеменения печени (увеличение активности уреазы в 1,6 раза) и почти 3-кратному увеличению степени дисбиоза.

Таблица 5.14

Влияние преднизолона на уровень печеночных маркеров в сыворотке крови крыс ($M \pm m$, $n=8$)

Показатели	Контроль	Преднизолон
Билирубин, мкмоль/л	2,69±0,22	3,71±0,30 p<0,05
АЛТ, мк-кат/л	0,64±0,02	0,74±0,04 p<0,05
АСТ, мк-кат/л	0,61±0,03	0,68±0,02 p<0,05

Таблица 5.15

Влияние преднизолона на активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в печени крыс ($M \pm m$, $n=8$)

№№ пп	Группы	Уреазы, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг	Степень дисбиоза
1	Норма	0,14±0,01	150±17	1,00±0,15
2	Преднизолон	0,22±0,02 p<0,05	82±10 p<0,01	2,91±0,37 p<0,01

Полученные данные дают основание утверждать, что побочным действием кортикостероидной терапии может быть стеатогепатит, что требует проведения соответствующих профилактических мероприятий.

Выводы

1. Высокожировой рацион вызывает развитие генерализованного дисбиоза, причем в наибольшей степени пальмовое и сливочное масло, содержащие 50 и 29 % пальмитиновой кислоты соответственно.

2. Сочетание ВЖР с кишечным дисбиозом усиливает стеатоз печени, гиперлипидемию и обуславливает развитие стеатогепатита.

3. Экспериментальный иммунодефицит, вызываемый спленэктомией, цитостатиком или преднизолоном, усиливает развитие стеатогепатита у крыс, получавших ВЖР.

4. Системная эндотоксинемия, вызываемая введением липополисахарида (в/брюшинно или стоматотропно), вызывает развитие стеатогепатита и гиперлипидемии.

Материалы этого раздела опубликованы в следующих работах:

1. Левицкий А. П., Ходаков И. В., Левченко Е. М. Влияние высокожировых рационов с различным жирнокислотным составом на содержание незаменимых жирных кислот в липидах печени / *Journal of Education, Health and Sport*. – 2015. – т. 5, № 12. – С. 598-607.

2. Ткачук В. В., Величко В. І., Левченко О. М., Левицький А. П. Вплив дисбіозу на стан печінки та ліпідного обміну щурів, які отримували високожировий раціон / *Одеський медичний журнал*. – 2014. – № 2 (142). – С. 27-31.

3. Ткачук В. В., Левченко Е. М., Ткачук И. В., Левицкий А. П. Дисбиотические аспекты патогенеза стеатоза печени при экспериментальной спленэктомии / *Вісник морської медицини*. – 2014. – № 1-2 (62-63). – С. 75-79.

4. Левченко Е. М. Гиполипидемическое действие квертулина у крыс с преднизолоновым гепатитом / *Вісник стоматології*. – 2014. – Спец. випуск. – № 8. – С. 16-20.

5. Левицкий А. П., Гоженко А. И., Левченко Е. М. Влияние квертулина на содержание липидов в печени и в сыворотке крови крыс с эндотоксинемией /

Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2013. – № 1 (31). – С. 139-143.

6. Левицкий А. П., Макаренко О. А., Левченко Е. М., Демьяненко С. А. Биофлавоноидные гепатопротекторы. – Одесса: КП ОГТ, 2014. – 86 с.

7. Левицкий А. П., Левченко Е. М., Конкин С. И. Гиперлипидемическое и продисбиотическое действие сливочного масла / Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2014. – № 4, т. 2 (38-II). – С. 127-131.

РАЗДЕЛ 6

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОФИЛАКТИКА И ТЕРАПИЯ ГЕПАТИТОВ

6.1 Гепатопротекторное действие лечебных минеральных вод

Лечебные минеральные воды обладают широким спектром биологического действия, оказывая терапевтический и профилактический эффекты при многих заболеваниях, в том числе и при гепато-билиарной патологии [181-185]. К сожалению, в литературе отсутствуют сведения о возможности проведения реабилитации после перенесенного токсического гепатита, а также нет данных о гепатопротекторной эффективности различных минеральных вод.

Целью настоящего исследования явилось определение способности ряда лечебных минеральных вод осуществлять реабилитацию после перенесенного токсического гепатита.

В работе было использовано три лечебных минеральных воды ДСТУ 878-93. Вода "Моршинская" производства ПрАТ "Моршинський завод мінеральних вод "Оскар". Состав: $\text{Na}^+ + \text{K}^+ < 70$ мг/л; $\text{Ca}^{2+} = 5-80$ мг/л; $\text{Mg}^{2+} < 50$ мг/л; $\text{HCO}_3^- = 30-200$ мг/л; $\text{SO}_4^{2-} < 100$ мг/л; $\text{Cl}^- < 60$ мг/л; общая минерализация 0,1-0,4 г/л. Вода "Вознесенская" производства КП "Вознесенська харчосмакова фабрика". Состав: $\text{Ca}^{2+} < 50$ мг/л; $\text{Mg}^{2+} < 50$ мг/л; $\text{Na}^+ + \text{K}^+ = 350-700$ мг/л; $\text{HCO}_3^- = 250-600$ мг/л; $\text{SO}_4^{2-} = 200-550$ мг/л; общая минерализация 1-2,5 г/л. Вода "Поляна квасова" производства ВАТ "Свалявські мінеральні води". Состав: $\text{Na}^+ + \text{K}^+ < 1500-3000$ мг/л; $\text{Ca}^{2+} = 70-150$ мг/л; $\text{Mg}^{2+} < 50$ мг/л; $\text{HCO}_3^- = 4500-8000$ мг/л; $\text{SO}_4^{2-} < 25$ мг/л; $\text{Cl}^- < 300-600$ мг/л; $\text{H}_3\text{BO}_3 = 100-250$ мг/л; общая минерализация 8-10 г/л.

Крысы получали минеральную воду, начиная с 8-го дня после воспроизведения токсического гепатита.

В работе было использовано 50 крыс линии Вистар (самцы в возрасте 9 месяцев, начальная масса 370 ± 15 г, конечная – 430 ± 13 г). Все крысы были разделены на 5 групп: 1-ая – интактные (контроль), 2-ая – гепатит без лечения, 3-я – гепатит + вода "Моршинская", 4-ая – гепатит + вода "Вознесенская" и 5-ая – гепатит + вода "Поляна квасова".

Токсический гепатит воспроизводили путем однократного внутрибрюшинного введения 50%-ного раствора CCl_4 в подсолнечном масле в дозе 3,5 мл/кг (в пересчете на чистый CCl_4 – 1,75 мг/кг).

Минеральные воды крысы получали с питьевой водой в среднем 10 мл на голову в сутки.

Умерщвление животных осуществляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) спустя 2 месяца с начала опыта. Извлекали печень и получали сыворотку крови.

В гомогенатах печени (50 мг/мл 0,9%-ного NaCl) определяли активность эластазы [169], щелочной фосфатазы (ЩФ) [171], каталазы [171], уреазы [167] и лизоцима [168]. В сыворотке крови определяли содержание билирубина [166], активности аланинтрансаминазы (АЛТ) [166], эластазы, ЩФ [171], уреазы и каталазы.

На рис. 6.1 представлены результаты определения активности эластазы и уреазы в гомогенате печени крыс с гепатитом, получавших минеральные воды. Первый из этих ферментов является маркером воспаления [169], а второй – индикатором микробного обсеменения, поскольку уреазы не синтезируется в соматических клетках животного организма. Как видно из этих данных, даже спустя 2 месяца после воспроизведения гепатита в ткани печени остается воспалительный процесс, о чем свидетельствует достоверное увеличение активности эластазы. Питье минеральных вод достоверно снижает активность эластазы в печени, однако не возвращает этот показатель до уровня нормы.

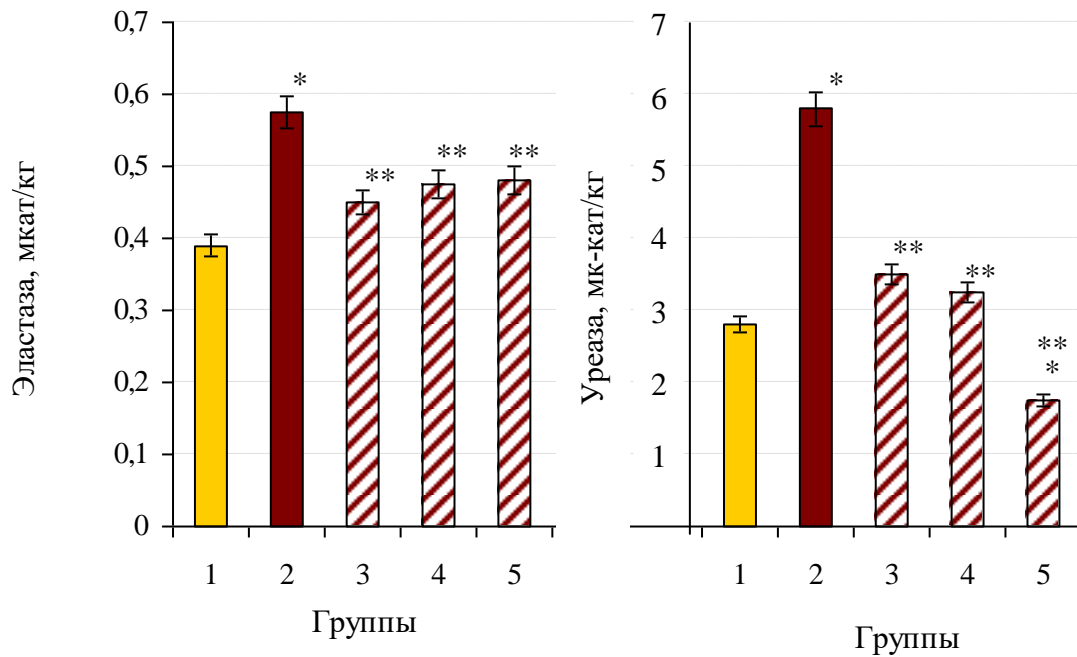


Рисунок 6.1 Влияние лечебных минеральных вод на активность эластазы и уреазы (M+m, n=10) в печени крыс после перенесенного токсического гепатита (*– $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 1; **– $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 2)

Увеличение активности уреазы в ткани печени свидетельствует о росте микробной обсемененности этого органа после перенесенного гепатита. Употребление минеральных вод (особенно "Поляны квасовой") достоверно снижает микробную обсемененность до уровня контроля ("Поляна квасова" – даже ниже контроля).

Уровень печеночных маркеров в сыворотке крови крыс показан на рис. 6.2. Из представленных данных видно, что при гепатите даже спустя 2 месяца остаются достоверно высокие уровни "печеночных" маркеров, что свидетельствует об имеющем место цитолизе гепатоцитов. Употребление минеральных вод существенно снижает уровень исследуемых показателей состояния печени, причем существенной разницы между различными минеральными водами не отмечено.

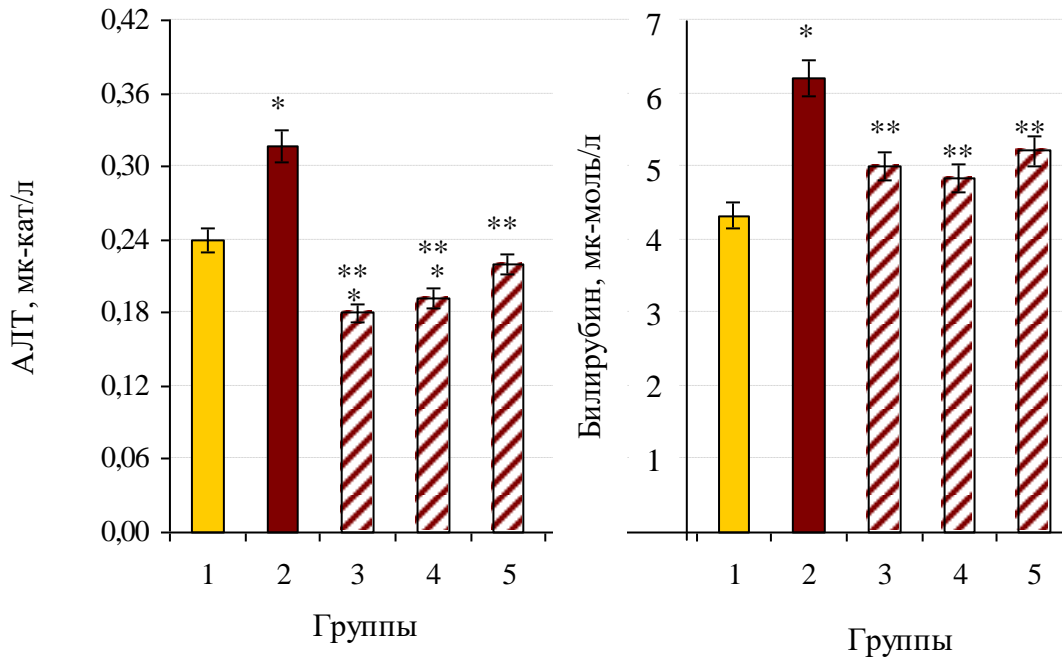


Рисунок 6.2 Влияние лечебных минеральных вод на уровень печеночных маркеров (M+m, n=10) в сыворотке крови крыс после перенесенного токсического гепатита (* и ** – см. рис. 6.1)

В таблице 6.1 представлены результаты определения ЩФ, каталазы и лизоцима в печени крыс с гепатитом, получавшими минеральную воду. Как видно из представленных данных, активность ЩФ лишь проявляет тенденцию к повышению после перенесенного гепатита. Употребление минеральных вод проявляет тенденцию к снижению ЩФ. Напротив, активность антиоксидантного фермента каталазы при гепатите снижена. Употребление минеральных вод повышает активность каталазы, причем больший эффект оказали воды "Вознесенская" и "Поляна квасова". Что же касается лизоцима, то сниженный в результате перенесенного гепатита его уровень в ткани печени проявляет лишь тенденцию к повышению после приема минеральных вод.

В табл. 6.2 представлены результаты определения ряда ферментов в сыворотке крови крыс с гепатитом и получавшими минеральные воды.

Таблица 6.1

Влияние минеральных вод на активность щелочной фосфатазы, каталазы и лизоцима в печени крыс после перенесенного токсического гепатита, (M+m, n=10)

№№ пп	Группы	ЩФ, мкат/кг	Каталаза, мкат/кг	Лизоцим, ед/кг
1	Контроль (интактные)	3,91±0,60	4,26±0,18	107±18
2	Гепатит	4,83±0,82 p>0,2	3,99±0,46 p>0,3	85±16 p>0,1
3	Гепатит + "Моршинская"	4,59±0,68 p>0,3 p ₁ >0,5	4,65±0,18 p>0,05 p ₁ >0,05	92±20 p>0,5 p ₁ >0,5
4	Гепатит + "Вознесенская"	4,36±0,38 p>0,4 p ₁ >0,5	5,19±0,12 p<0,01 p ₁ <0,05	99±14 p>0,5 p ₁ >0,1
5	Гепатит + "Поляна квасова"	4,52±0,55 p>0,3 p ₁ >0,5	4,92±0,13 p<0,01 p ₁ >0,05	88±22 p>0,4 p ₁ >0,7

Примечания: p – достоверность отличий в сравнении с гр. №1; p₁ – достоверность отличий в сравнении с гр. №2

Из представленных данных видно, что в сыворотке крови крыс, перенесших гепатит, даже спустя 2 месяца достоверно увеличена активность маркера воспаления – эластазы и активность индикатора микробной обсемененности – уреазы. Минеральные воды снижают уровень эластазы (правда, p>0,05 из-за больших разбросов данных) и активность уреазы, что свидетельствует о снижении уровня бактериемии. Активности ЩФ и каталазы в сыворотке крови крыс с перенесенным гепатитом проявляют лишь тенденцию к изменению (p>0,1 и >0,05 соответственно).

Минеральные воды не оказали существенного влияния на эти показатели.

Таблица 6.2

Влияние минеральных вод на биохимические показатели сыворотки крови крыс, перенесших токсический гепатит (M+m, n=10)

№№ пп	Группы	Эластаза, мк-кат/л	Уреаза, мк-кат/л	ЩФ, мк-кат/л	Каталаза, мкат/л
1	Контроль (интактные)	226,7±9,9	0,16±0,02	1,56±0,16	0,30±0,03
2	Гепатит	287,4±16,5 p<0,05	0,26±0,02 p<0,01	1,83±0,15 p>0,1	0,24±0,01 p>0,05
3	Гепатит + "Моршинская"	249,7±13,2 p>0,05 p ₁ >0,05	0,19±0,01 p>0,05 p ₁ <0,05	1,79±0,22 p>0,1 p ₁ >0,5	0,26±0,01 p>0,05 p ₁ >0,05
4	Гепатит + "Вознесенская"	256,8±9,1 p<0,05 p ₁ >0,05	0,19±0,03 p>0,05 p ₁ >0,05	1,87±0,15 p>0,1 p ₁ >0,6	0,26±0,02 p>0,05 p ₁ >0,05
5	Гепатит + "Поляна квасова"	262,6±21,5 p>0,05 p ₁ >0,1	0,20±0,02 p>0,05 p ₁ <0,05	1,87±0,21 p>0,1 p ₁ >0,6	0,26±0,02 p>0,05 p ₁ >0,05

Примечания: p – достоверность отличий в сравнении с гр. №1; p₁ – достоверность отличий в сравнении с гр. №2

Таким образом, перенесенный токсический гепатит оставляет свой патологический след на довольно продолжительное время. Об этом свидетельствуют биохимические показатели воспаления и микробной обсемененности в ткани печени и в сыворотке крови.

Употребление минеральных вод в значительной степени снижает степень воспаления в ткани печени и в целом в организме, почти устраняет явление цитолиза гепатоцитов. Минеральные воды благотворно влияют на микробиоценоз и снижают степень микробной обсемененности ткани печени и крови.

Представленные данные могут быть обоснованием для применения минеральных вод (особенно "Вознесенской") для реабилитации больных после перенесенного гепатита.

6.2 Сравнительная гепатопротекторная эффективность минеральной воды и синбиотика

В предыдущем разделе (6.1) нами было показано лечебно-профилактическое действие на печень при ее токсическом поражении потребление лечебных минеральных вод, из которых наиболее эффективной оказалась вода «Вознесенская» (среднеминерализованная, с повышенным содержанием сульфатов).

В разделе 5 была показана роль дисбиотических явлений в патогенезе стеатогепатита. Как известно, для профилактики и лечения дисбиоза используют антидисбиотические средства, в частности, синбиотики, сочетающие в себе про- и пребиотики [39].

Целью настоящего раздела работы стало изучение влияния на состояние печени после перенесенного токсического гепатита минеральной питьевой воды «Вознесенская» и синбиотика «Бифи-форм», содержащего пробиотические бактерии и пребиотик инулин.

В этом эксперименте было использовано 50 белых крыс линии Вистар (самцы, 5 месяцев, живая масса 370 ± 16 г), распределенных в 5 равных групп: 1 – норма, 2 – токсический гепатит (ГТ); 3 – ГТ+вода «Вознесенская»; 4 – ГТ+синбиотик; 5 – ГТ+ вода «Вознесенская»+синбиотик.

Гепатит воспроизводили с помощью масляного раствора CCl_4 [158]. Минеральную воду крысы получали с водопроводной питьевой водой в соотношении 1:2 (суточное потребление такой воды 42 мл/кг массы тела). Синбиотик «Бифи-форм-Комплекс» производства фирмы «Ферросан» (Дания), в состав которого входят бифидобактерии (BB-12) 1×10^9 КОЕ/таблетку, лактобактерии *L. ramosus*, 1×10^9 КОЕ/таблетку, и *L. acidophilus*, 1×10^8

КОЕ/таблетку, а также пребиотик инулин из корня цикория 450 мг/таблетку. Крысы получали «Бифи-форм» из расчета 0,3 таблетки/кг в день. Лечение с использованием минеральной воды и синбиотика начинали с 10-го дня после введения CCl_4 и продолжали до 59 дня опыта. Эвтаназию крыс осуществляли на 60-й день опыта. В гомогенате печени определяли уровень маркеров воспаления: активность эластазы и содержание малонового диальдегида (МДА). В сыворотке крови крыс определяли уровень эластазы, МДА и билирубина. Соответствующие данные представлены на рисунках 6.3-6.7. Как видно из рис. 6.3, у крыс с гепатитом достоверно выше активность эластазы, которая достоверно снижается (почти до нормы) под влиянием минеральной воды и синбиотика, причем в большей степени при их сочетании.

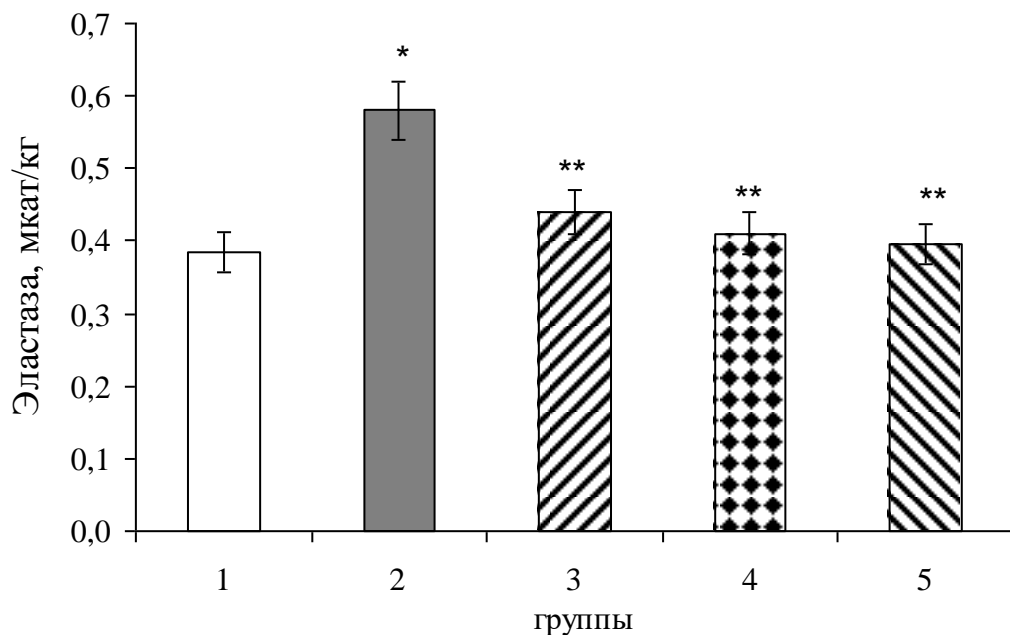


Рисунок 6.3 Активность эластазы ($M+m$, $n=10$) в печени крыс после перенесенного токсичного гепатита: * – $p<0,05$ в сравнении с группой 1; ** – $p<0,05$ в сравнении с группой 2

На рис. 6.4 представлены результаты определения в печени содержания МДА, являющегося биохимическим маркером воспаления. Видно, что при гепатите достоверно повышается уровень МДА, а прием воды и синбиотика его снижают, причем в большей степени после употребления минеральной воды.

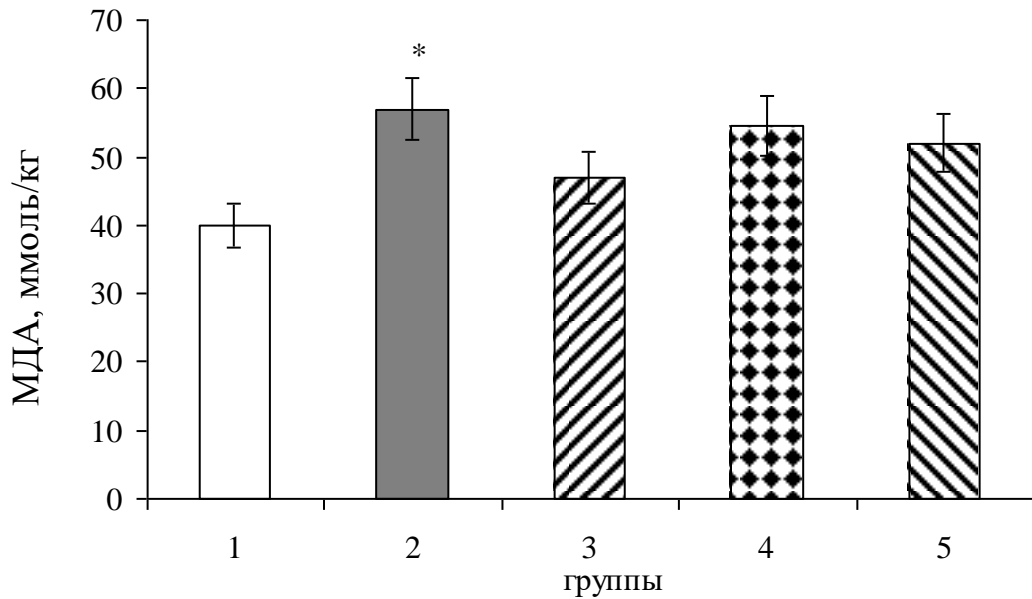


Рисунок 6.4 Концентрация малонового диальдегида (M+m, n=10) в печени крыс после перенесенного токсического гепатита: *– см. рис. 6.3

На рис. 6.5 представлены результаты определения в сыворотке крови активности эластазы, свидетельствующие о развитие системного воспаления в организме крыс, перенесших токсический гепатит. И минеральная вода и синбиотик проявляют тенденцию к снижению этого показателя, однако достоверно снижает (почти до нормы) лишь сочетание минеральной воды и синбиотика.

На рис. 6.6 показано, что и второй биохимический маркер воспаления, МДА, также повышен в сыворотке крыс, у которых вызывали токсический гепатит. Употребление минеральной воды и введение симбиотика нормализуют этот показатель, причем симбиотик и его сочетание с минеральной водой – достоверно.

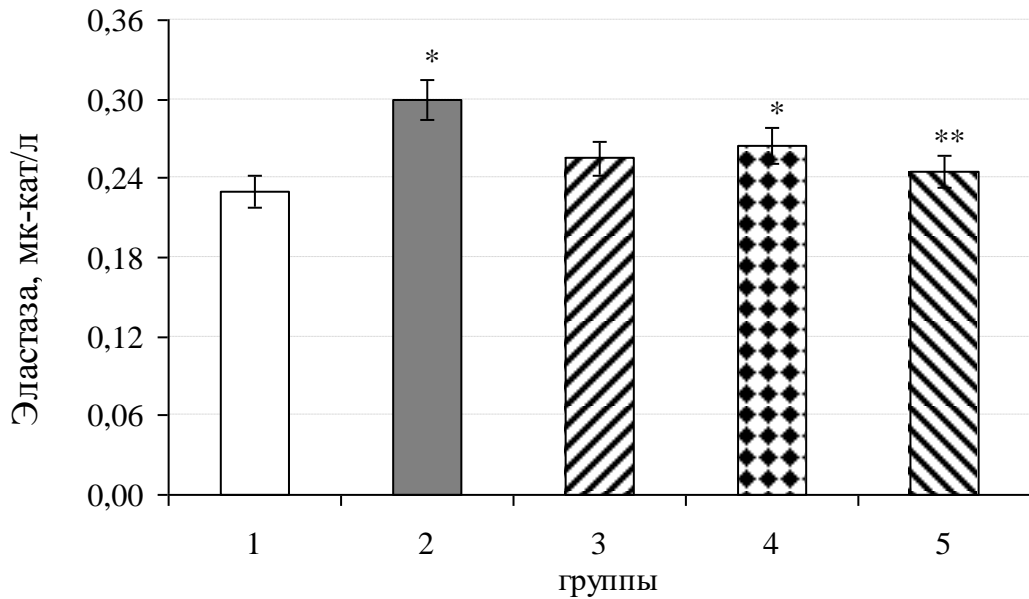


Рисунок 6.5 Активность эластазы (M+m, n=10) в сыворотке крови крыс после перенесенного токсического гепатита: * – см. рис. 6.3

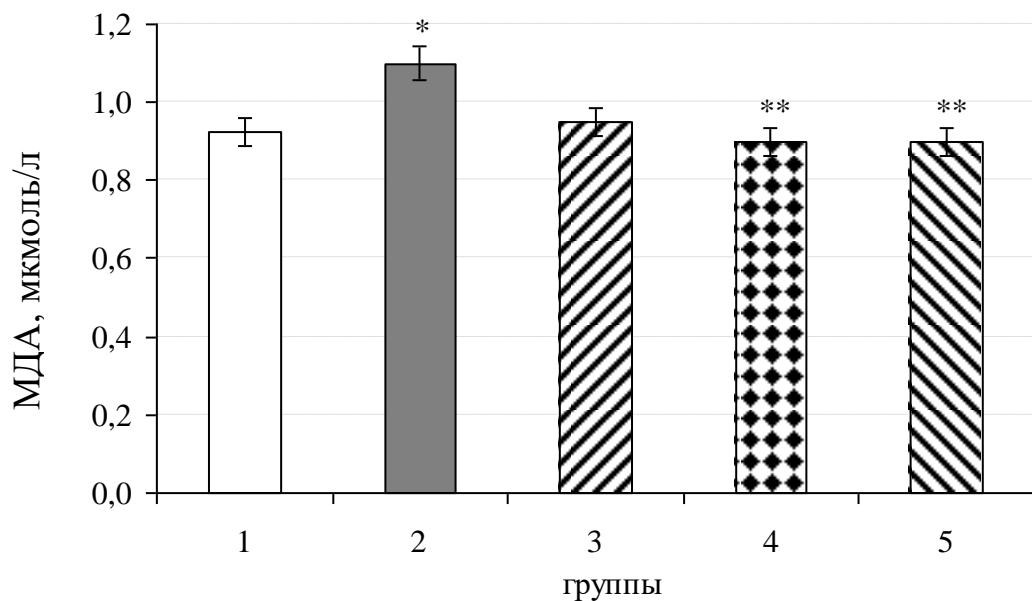


Рисунок 6.6 Концентрация малонового диальдегида (M+m, n=10) в сыворотке крови крыс после перенесенного токсического гепатита: ** – см. рис. 6.3

На рис 6.7 представлены результаты определения в сыворотке крови уровня билирубина, которые свидетельствуют о холестазах. И вода, и синбиотики, и их сочетание достоверно (почти до нормы) снижают уровень билирубина в сыворотке крови, что свидетельствует об антихолестатическом действии использованных средств.

Подводя итог представленных в этом разделе данных, можно констатировать, что сочетание минеральной лечебной воды «Вознесенская» с синбиотиком «Бифи-форм» оказывает более выраженный лечебно-профилактический эффект при токсическом гепатите, свидетельствуя о важной роли дисбиотического фактора в патогенезе этого заболевания.

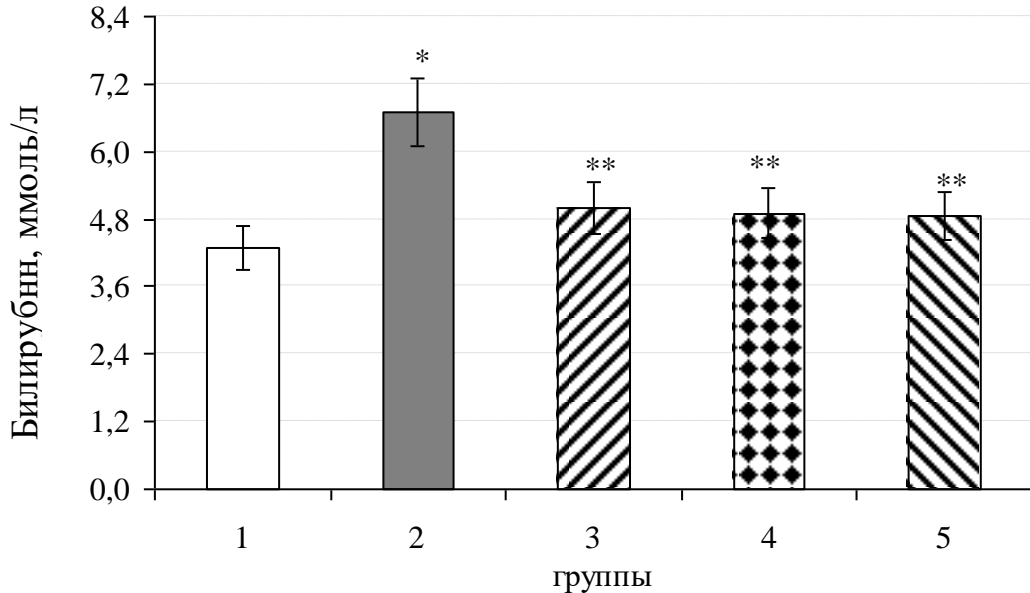


Рисунок 6.7 Концентрация билирубина (M+m, n=10) в сыворотке крови крыс после перенесенного токсического гепатита: *, ** – см. рис. 6.3

6.3 Сравнительная гепатопротекторная эффективность биофлавоноида, пребиотика и их сочетания при токсическом гепатите

Гепатопротекторные свойства биофлавоноида показаны в ряде работ [186-190]. Установленные в последние годы дисбиотические аспекты патогенеза гепато-билиарной патологии [191-193] явились основой для использования антидисбиотических средств, в том числе пребиотиков, для профилактики этих заболеваний.

Нами был предложен комплексный антидисбиотический препарат «Квертулин», в состав которого вошли самый активный биофлавоноид кверцетин [194], пребиотик инулин из корня цикория [195] и цитрат кальция

[196]. Препарат получил разрешение Минздрава на применение в качестве профилактического средства при дисбактериозах и гепато-билиарной патологии [197].

Целью настоящего исследования стало проведение сравнительного изучения гепатопротекторных свойств кверцетина, инулина и «Квертулина» у крыс, перенесших токсический гепатит.

С этой целью на 40 белых крысах линии Вистар (самки, 5 месяцев, средний вес 280 г) провели оценку противовоспалительного и антидисбиотического действия вышеуказанных препаратов. Крысы были распределены в 5 равных групп: 1-ая – норма, 2-я, 3-я, 4-я и 5-ая - токсический гепатит, который вызывали с помощью масляного раствора CCl_4 [158]. Крысы 3-й группы получали с кормом препарат кверцетина (4 мг/крысу); крысы 4-й группы получали препарат инулина (150 мг/крысу) и крысы 5-й группы – препарат «Квертулина» (150 мг/крысу).

Введение препаратов начинали с 8-го дня после введения CCl_4 и заканчивали на 56-день. Эвтаназию животных осуществляли на 57-й день и в гомогенате печени определяли уровень маркеров воспаления (МДА и эластазу), показатель микробного обсеменения (уреазу) и показатель неспецифического иммунитета (лизоцим). По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [175].

В сыворотке крови определяли уровень печеночных маркеров: содержание билирубина, активность АЛТ и ЩФ.

Результаты этих исследований представлены в таблицах 6.3-6.5 и на рисунке 6.8.

Как видно из данных таблицы 6.3, у крыс, перенесших токсический гепатит, достоверно повышен уровень обоих маркеров воспаления. Все три препарата достоверно снижают уровень маркеров воспаления (почти до нормы), что свидетельствует об их противовоспалительном действии на ткань печени, причем существенной разницы в действии 3 препаратов не отмечено.

Таблица 6.3

Влияние кверцетина, инулина и «Квертулина» на уровень маркеров воспаления в печени крыс с токсическим гепатитом ($M \pm m$, $n=8$)

№№ пп	Группы	МДА, ммоль/кг	Эластаза, мкат/кг
1	Норма	24,7±1,4	0,25±0,01
2	Токсический гепатит (ГТ)	34,4±1,6 $p < 0,001$	0,31±0,01 $p < 0,04$
3	ГТ+кверцетин	27,2±1,5 $p > 0,1$ $p_1 < 0,01$	0,28±0,02 $p > 0,1$ $p_1 > 0,1$
4	ГТ+инулин	28,4±1,5 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,26±0,01 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$
5	ГТ+«Квертулин»	28,0±1,6 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,26±0,01 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$

Примечания: p – достоверность отличий в сравнении с гр. № 1;
 p_1 - достоверность отличий в сравнении с гр. № 2

В таблице 6.4 показаны результаты определения активности уреазы и лизоцима в печени крыс, перенесших токсический гепатит. Видно, что у крыс с гепатитом почти в 2 раза увеличивается активность уреазы, свидетельствующая о существенном росте микробной обсемененности ткани печени при более чем в 5-кратном снижении активности лизоцима, указывающее на значительное падение уровня неспецифического иммунитета. Все три препарата проявляют тенденцию к снижению активности уреазы и повышению активности лизоцима, за исключением «Квертулина», который повышает уровень лизоцима в 2,5 раза ($p < 0,05$).

Как видно из таблицы 6.5, при токсическом гепатите достоверно возрастает в сыворотке крови уровень печеночных маркеров, свидетельствующих о развитии гепатита. Используемые средства достоверно снижают активность АЛТ и в малой степени – уровень билирубина и ЩФ.

Таблица 6.4

Влияние кверцетина, инулина и «Квертулина» на активность уреазы и лизоцима в печени крыс с токсическим гепатитом (M±m, n=8)

№№ пп	Группы	Уреаза, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг
1	Норма	1,49±0,15	68±6
2	Токсический гепатит (ГТ)	2,76±0,37 p<0,01	12±3 p<0,001
3	ГТ+кверцетин	2,37±0,37 p<0,05 p ₁ >0,3	25±7 p<0,001 p ₁ >0,05
4	ГТ+инулин	2,19±0,24 p<0,05 p ₁ >0,1	19±6 p<0,001 p ₁ >0,1
5	ГТ+ «Квертулин»	2,28±0,31 p<0,05 p ₁ >0,3	29±8 p<0,01 p ₁ <0,05

Примечания: p – достоверность отличий в сравнении с гр. № 1; p₁ – достоверность отличий в сравнении с гр. № 2

Таблица 6.5

Влияние кверцетина, инулина и «Квертулина» на уровень в сыворотке крови маркеров поражения печени у крыс с токсическим гепатитом

(M±m, n=8)

№№ пп	Группы	Билирубин, мкмоль/л	АЛТ, мк-кат/л	ЩФ, мк-кат/л
1	Норма	3,33±0,25	0,21±0,02	0,68±0,07
2	Токсический гепатит (ГТ)	4,17±0,49 p<0,05	0,35±0,03 p<0,01	1,89±0,08 p<0,001
3	ГТ+кверцетин	3,87±0,22 p>0,05 p ₁ >0,3	0,26±0,02 p>0,05 p ₁ <0,05	1,68±0,08 p<0,001 p ₁ >0,05
4	ГТ+инулин	3,71±0,27 p>0,3 p ₁ >0,3	0,25±0,03 p>0,3 p ₁ <0,05	1,79±0,23 p<0,001 p ₁ >0,05
5	ГТ+«Квертулин»	3,72±0,38 p>0,3 p ₁ >0,3	0,24±0,02 p>0,3 p ₁ <0,01	1,71±0,19 p<0,001 p ₁ >0,3

Примечания: p – достоверность отличий в сравнении с гр. № 1; p₁ – достоверность отличий в сравнении с гр. № 2

Представленные на рисунке 6.8 данные об изменении степени дисбиоза в печени крыс свидетельствуют об его более чем 10-кратном увеличении у крыс, перенесших гепатит, и 2-3-кратном снижении у крыс, получавших лечебные препараты, причем наибольшее антидисбиотическое действие оказал квертулин.

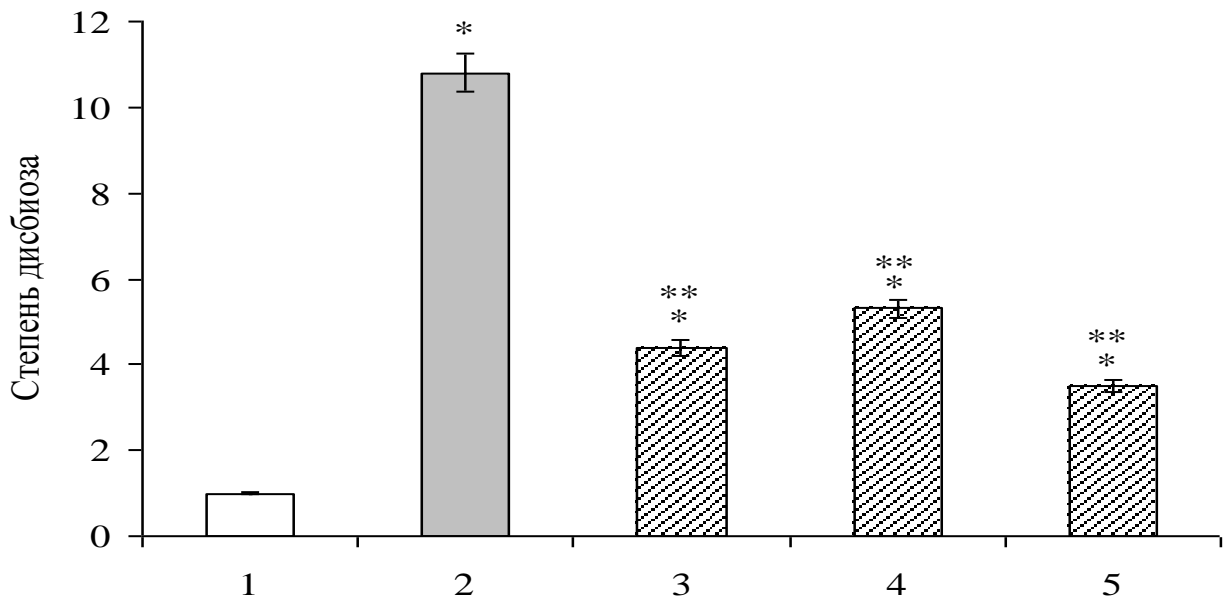


Рисунок 6.8 Влияние кверцетина (3), инулина (4) и «Квертулина» (5) на степень дисбиоза (M+m, n=8) в печени крыс с токсическим гепатитом (1 – норма, 2-5 – токсический гепатит) *– $p < 0,05$ в сравнении с гр. 1, **– $p < 0,05$ в сравнении с гр. 2

6.4 Гепатопротекторная эффективность «Квертулина» при системной эндотоксинемии

Системная эндотоксинемия – это повышенное содержание в крови кишечного эндотоксина (ЛПС), вызывающее развитие системного воспалительного ответа [198, 199]. Как известно, источником ЛПС являются грамм-отрицательные бактерии, обитающие в кишечнике (энтерогенная эндотоксинемия) или в полости рта (стоматогенная эндотоксинемия) [200].

В этом разделе работы мы исследовали влияние квертулина на состояние печени крыс при воспроизведении системной эндотоксинемии.

6.4.1 Стоматогенная эндотоксинемия

Липополисахарид (ЛПС), или кишечный эндотоксин, находится в оболочке клеток грамотрицательных бактерий и высвобождается из них после отмирания микробов [201]. Патогенное действие ЛПС осуществляется через влияние на лейкоциты, особенно на макрофаги, которые в ответ продуцируют провоспалительные факторы, такие как цитокины (ФНО α , ИЛ-1 α) [202, 203].

Хотя основным источником ЛПС в организме является толстая кишка, существенное количество этого эндотоксина образуется и в ротовой полости при наличии орального дисбиоза, который имеет место при многих стоматологических заболеваниях, в частности при генерализованном пародонтите [204-206].

В условиях нормального функционирования печени почти весь (95%) кишечный эндотоксин обезвреживается печенью [207]. В то же время, оральный эндотоксин, минуя печеночный барьер, может без препятствий поступать в системное кровообращение и оказывать влияние на ткани и органы [208]. В этой связи представляется актуальным поиск эффективных средств, предупреждающих негативное действие эндотоксина орального происхождения. Перспективными препаратами являются биофлавоноиды, обладающие широким спектром действия, и пребиотики, устраняющие явление дисбиоза. К наиболее активным биофлавоноидам относится кверцетин из плодов софоры, а к пребиотикам – инулин из корней цикория. «Квертулин» – комплексный препарат, содержащий кверцетин, инулин и цитрат кальция.

Целью данного раздела работы стало экспериментальное исследование влияния кверцетина, инулина и «Квертулина» на состояние печени после аппликаций липополисахарида на слизистые оболочки полости рта.

Эксперимент был проведен на 35 белых крысах линии Вистар (самцы, 340-360 г, возраст 12 месяцев), распределенных в 5 групп: 1-ая – интактная, 2-ая, 3-я, 4-ая и 5-ая – получали аппликации на десну 0,5 мл геля на основе КМЦ, содержащего ЛПС 50 мкг/мл. Крысы 3-ей группы с первого дня опыта получали аппликации на десну 0,5 мл геля с кверцетином (2 мг/мл); крысы 4-ой

группы получали аппликации 0,5 мл геля с инулином (5 мг/мл); крысы 5-ой группы получали аппликации 0,5 мл геля с «Квертулином» (20 мг/кг).

В работе использован препарат ЛПС из *Salmonella typhi* «Пирогенал» («Медгамал», Россия), кверцетин («Merck», Германия), инулин из корней цикория «Fibruline» (Consucra Groupe Warcoing S. A., Бельгия), цитрат кальция и «Квертулин» (НПА «Одесская биотехнология», Украина).

На 2-й день опыта крыс умерщвляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг), собирали кровь для отделения сыворотки и выделяли печень. Гомогенаты печени готовили из расчета 50 мг/мл 0,05 М трис-HCl pH 7,5. В сыворотке крови и гомогенатах печени определяли содержание малонового диальдегида (МДА) и активность ферментов эластазы, уреазы, лизоцима и каталазы. В сыворотке крови дополнительно проводили определение уровня глюкозы [166].

Результаты биохимического исследования сыворотки крови экспериментальных животных представлены в таблице 6.6. Как видно из данных этой таблицы, локальное нанесение ЛПС вызывает достоверное повышение уровня глюкозы и МДА, активности эластазы и уреазы на фоне достоверного снижения активности лизоцима и каталазы в крови крыс.

Применение кверцетина или инулина привело к позитивным изменениям всех исследованных показателей в сыворотке крови крыс, в подавляющем большинстве случаев достоверным ($p_1 < 0,05$). Необходимо подчеркнуть, что кверцетин и в большей степени инулин проявили антиоксидантное действие, повысив активность каталазы и снизив уровень МДА, а инулин – антигликемическое, антимикробное и противовоспалительное, уменьшив уровень глюкозы, активность уреазы и эластазы (табл. 6.6).

Сочетанное назначение кверцетина и инулина в составе препарата «Квертулин» крысам 5 группы способствовало более выраженному уменьшению уровня глюкозы, снизившемуся до нормальных значений ($p > 0,3$ и $p_1 < 0,05$). Активность эластазы, уреазы и лизоцима в сыворотке крови крыс, которым наносили аппликации с «Квертулином», также были на уровне

соответствующих значений в интактной группе животных ($p > 0,1-0,05$ и $p_1 < 0,01-0,05$). Содержание МДА и активность каталазы, несмотря на достоверные изменения по сравнению с показателями во 2 группе (аппликации ЛПС), в сыворотке крови животных, получавших локально квертулин, не достигли нормального уровня (табл. 6.6).

Таблица 6.6

Влияние кверцетина, инулина и «Квертулина» на биохимические показатели сыворотки крови крыс после оральных аппликаций ЛПС (M+m, n=7)

Показатели	1 группа интактная	2 группа апл. ЛПС	3 группа апл. ЛПС + кверцетин	4 группа апл. ЛПС + инулин	5 группа апл. ЛПС + «Квертулин»
Содержание глюкозы, ммоль/л	6,15±0,28	7,15±0,31 $p < 0,05$	6,62±0,17 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	6,53±0,29 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	6,30±0,25 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$
Содержание МДА, ммоль/л	0,42±0,02	0,62±0,02 $p < 0,01$	0,53±0,02 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,50±0,01 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,49±0,01 $p < 0,05$ $p_1 < 0,01$
Активность эластазы, МК-кат/л	195,0±16,5	293,3±24,2 $p < 0,01$	263,1±18,2 $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$	202,4±13,1 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$	217,6±21,3 $p > 0,1$ $p_1 < 0,05$
Активность уреазы, МК-кат/л	0,17±0,01	0,26±0,01 $p < 0,001$	0,22±0,01 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,21±0,02 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,18±0,02 $p > 0,3$ $p_1 < 0,01$
Активность лизоцима, ед/л	96±7	73±3 $p < 0,05$	85±3 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	84±4 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	86±2 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Активность каталазы, мкат/л	0,22±0,01	0,11±0,01 $p < 0,001$	0,20±0,01 $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$	0,13±0,01 $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$	0,18±0,01 $p < 0,05$ $p_1 < 0,01$

Примечания: p – достоверность отличий в сравнении с гр. №1; p_1 – достоверность отличий в сравнении с гр. №2

Результаты, обобщенные в таблице 6.7, свидетельствуют о негативном влиянии ЛПС при локальном нанесении на десну на активность эластазы, уреазы и лизоцима в гомогенатах печени экспериментальных животных. Повышение активности эластазы рассматривается нами как воспалительная реакция, связанная с увеличением числа активных нейтрофилов, а подъем

активности уреазы – как результат размножения условно-патогенной микрофлоры, выделяющей этот фермент. Падение активности лизоцима на этом фоне говорит о снижении неспецифической антимикробной защиты ткани печени. Содержание МДА и активность каталазы в гомогенатах печени существенно не изменялись ни после аппликаций ЛПС, ни вследствие применения препаратов (табл. 6.7).

Таблица 6.7

Влияние кверцетина, инулина и квертулина на биохимические показатели печени крыс после оральных аппликаций ЛПС (n=7)

Показатели	1 группа интактная	2 группа апл. ЛПС	3 группа апл. ЛПС + кверцетин	4 группа апл. ЛПС + инулин	5 группа апл. ЛПС + квертулин
Содержание МДА, ммоль/кг	28,1±1,1	29,3±2,1 p>0,3	28,5±2,4 p>0,5 p ₁ >0,5	25,3±2,3 p>0,1 p ₁ >0,1	26,8±0,5 p>0,3 p ₁ <0,1
Активность эластазы, мк-кат/кг	371±15	439±15 p<0,01	391±14 p>0,3 p ₁ <0,05	388±22 p>0,3 p ₁ <0,05	380±25 p>0,5 p ₁ <0,05
Активность уреазы, мк-кат/кг	2,74±0,21	3,56±0,24 p<0,05	3,01±0,20 p>0,3 p ₁ >0,05	2,83±0,14 p>0,5 p ₁ <0,05	2,51±0,17 p>0,3 p ₁ <0,05
Активность лизоцима, ед/кг	191±16	87±12 p<0,001	118±14 p<0,01 p ₁ >0,05	130±15 p>0,05 p ₁ <0,05	137±12 p<0,05 p ₁ <0,05
Активность каталазы, мкат/л	5,50±0,14	5,52±0,14 p>0,6	5,48±0,13 p>0,6 p ₁ >0,5	5,45±0,13 p>0,5 p ₁ >0,5	5,14±0,10 p>0,05 p ₁ <0,05

Примечания: p – достоверность отличий в сравнении с гр. №1; p₁ – достоверность отличий в сравнении с гр. №2

Нанесение аппликаций гелей со всеми исследуемыми препаратами способствовали достоверному снижению активности эластазы в печени крыс (p₁<0,05). При этом самые низкие значения активности этого фермента, характеризующего уровень воспаления, зарегистрированы в печени животных 5 группы, которым назначали комплексный препарат «Квертулин». Несмотря на положительные сдвиги в активности уреазы и лизоцима под влиянием

кверцетина, уровень этих показателей достоверно не изменился ($p_1 > 0,05$). А вот применение инулина у крыс 4 группы привело к достоверному снижению активности уреазы ($p_1 < 0,05$) и повышению активности лизоцима ($p_1 < 0,05$) в печени животных. Но наиболее выраженные изменения этих показателей отмечены в печени крыс 5 группы, которым наносили аппликации геля с «Квертулином» (табл. 6.7)

На рисунке 6.9 показано влияние «Квертулина» и его компонентов на степень дисбиоза в сыворотке крови и в печени крыс после введения ЛПС. Из этих данных видно, что локально введенный ЛПС в 2-3 раза увеличивает степень дисбиоза, которая достоверно снижается после введения кверцетина, инулина и «Квертулина», причем наиболее эффективным оказался «Квертулин».

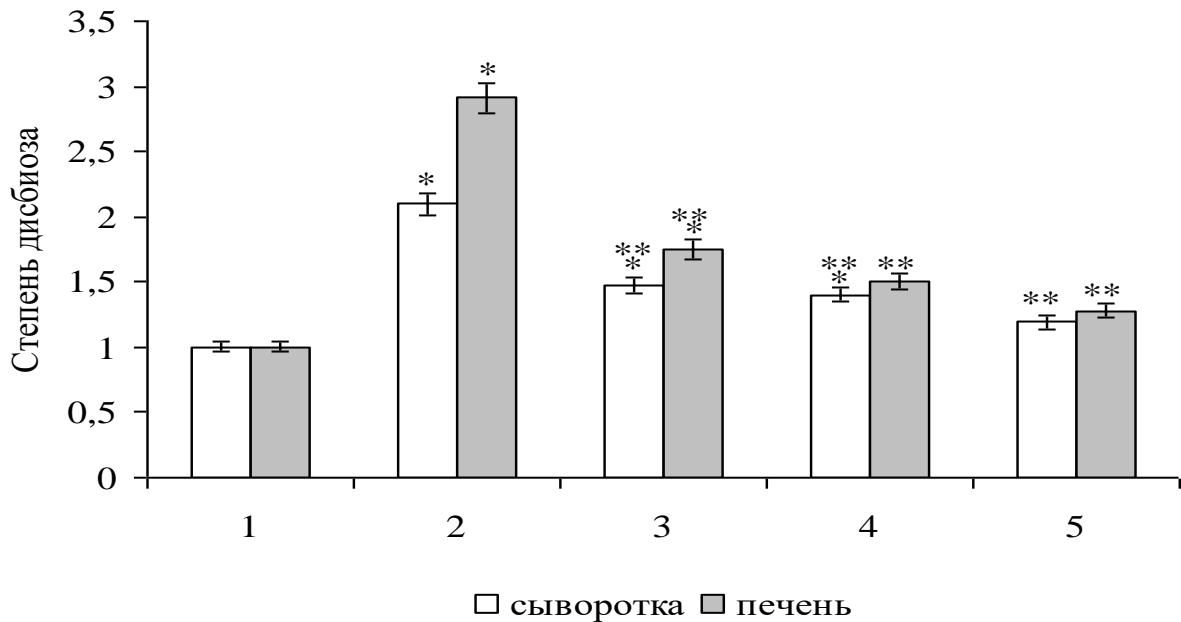


Рисунок 6.9 Влияние кверцетина (3), инулина (4) и «Квертулина» (5) на степень дисбиоза ($M+m$, $n=7$) в сыворотке и в печени крыс при стоматогенной эндотоксинемии (1 – норма, 2-5 – стоматогенная эндотоксинемия)* – $p < 0,05$ в сравнении с гр. 1, ** – $p < 0,05$ в сравнении с гр. 2

Таким образом, липополисахарид орального происхождения приводит к негативным системным последствиям: повышению уровня глюкозы, интенсификации перекисного окисления липидов, развитию воспаления, размножению условно-патогенной микрофлоры на фоне снижения

неспецифической антимикробной и антиоксидантной защиты. Локальное нанесение липополисахарида на слизистые оболочки полости рта индуцирует в ткани печени процессы воспаления и рост условно-патогенной микрофлоры при снижении антимикробной защиты. Оральные аппликации «Квертулина» оказывают выраженное позитивное действие на подавляющее большинство биохимических показателей в сыворотке крови и ткани печени крыс. Использование «Квертулина» обеспечивает суммацию эффектов каждого из компонентов препарата.

Выводы

1. Лечебные минеральные воды («Моршинская», «Вознесенская» и «Поляна квасова») оказывают гепатопротекторное и антидисбиотическое действие при экспериментальном токсическом гепатите (в большей степени «Вознесенская»).

2. Гепатопротекторный и антидисбиотический эффект минеральной воды «Вознесенская» усиливается при сочетании с синбиотиком «Бифи-фарм-комплекс».

3. Разработана рецептура комплексного гепатопротектора «Квертулин», содержащего биофлавоноид кверцетин, пребиотик инулин и цитрат кальция, и показало его высокое антидисбиотическое и гепатопротекторное действие при экспериментальном токсическом гепатите.

Материалы этого раздела опубликованы в следующих работах:

1. Левицкий А. П., Левченко О. М. Порівняльна гепатопротекторна дія синбіотика «Біфіформ» і мінеральної води «Вознесенська» / Одеський медичний журнал. – 2011. – № 6. – С. 16-18.

2. Левицкий А. П., Макаренко О. А., Селиванская И. А., Хромагина Л. Н., Ходаков И. В., Кнава О. Э., Почтарь В. Н., Левченко Е. М., Скидан К. В., Хлыстун Н. Л. Патологические механизмы лечебно-профилактического

действия биофлавоноидов / Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – т. 15, № 3. – Ч. 2. – С. 350.

3. Левченко Е. М., Демьяненко С. А., Пустовойт П. И., Левицкий А. П. Сравнительная гепатопротекторная эффективность кверцетина и инулина при экспериментальном токсическом гепатите / Вісник стоматології. – 2010. – № 5 (73). – С. 21-25.

4. Левченко Е. М. Реабилитация после перенесенного токсического гепатита с помощью кверцетина / Вісник морської медицини. – 2012. – № 2. – С. 70-74.

5. Патент на корисну модель 71429 Україна. МПК А61Р 1/16. Гепатопротектор («Квертулин») / А. П. Левицкий, О. М. Левченко, М. І. Скидан, О. А. Макаренко, І. О. Селіванська, С. О. Дем'яненко, П. І. Пустовойт. – Заявка № u201200359 від 12.01.2012, опубл. 10.07.2012. Бюл. № 13.

6. Левицкий А. П., Левченко О. М. Лікувально-профілактична дія інуліну на запальні та дисбіотичні процеси в слизовій оболонці кишечника щурів, які перенесли токсичний гепатит / Одеський медичний журнал. – 2011. – № 1 (123). – С. 15-16.

7. Левченко О. М., Левицкий А. П. Реабілітація після перекисного токсичного гепатиту за допомогою інуліну. – Одеський медичний журнал. – 2010. – № 6 (122). – С. 15-17.

8. Левицкий А. П., Селиванская И. А., Воронкова А. В., Гончарук С. В., Левченко Е. М. Сравнительная лечебная эффективность оральных аппликаций мукозальных гелей с про- и пребиотиками у крыс с экспериментальным дисбиозом / Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2013. – № 4 (34). – С. 118-123.

9. Левицкий А. П., Цисельский Ю. В., Цисельская О. Ю., Левченко Е. М., Ступак Е. П. Влияние оральных фитогелей на состояние печени крыс с экспериментальным диабетом 2 типа / Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2013. – № 2 (32). – С. 113-118.

РАЗДЕЛ 7

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОФИЛАКТИКА СТЕАТОГЕПАТИТА

7.1 Влияние квертулина на содержание липидов в печени и сыворотке крови крыс с экспериментальным стеатогепатитом

Почти у 70 % лиц с ожирением наблюдается повышенное отложение жира (триглицеридов) в паренхиме печени, получившее название стеатоза печени. Последний, в силу различных причин, приводит к развитию воспалительно-дистрофических процессов (стеатогепатит), заканчивающихся очень часто фиброзом и затем циррозом печени.

Стеатогепатит может развиваться на фоне дисбиотических нарушений кишечника, при которых ведущую роль играет кишечный эндотоксин (липополисахарид, ЛПС).

Гепатопротекторное действие при различных гепатитах оказывают биофлавоноиды и, прежде всего, кверцетин.

Целью настоящего раздела исследования стало изучение влияния «Квертулина» на содержание липидов в печени и сыворотке крови крыс, у которых вызывали экспериментальный стеатогепатит (кишечный дисбиоз на фоне высокожирового рациона (ВЖР)).

Эксперименты были проведены на 18 белых крысах линии Вистар (самцы, 6 месяцев, средняя масса 354 ± 11 г), которые были распределены в 3 равные группы: 1-ая – норма, 2-ая – стеатогепатит (дополнительно к корму 15 % подсолнечного масла (высокожировой рацион, ВЖР) + антибиотик линкомицин в течение 5 дней с питьевой водой в дозе 60 мг/кг [153] и 3-я – аналогична 2-й – стеатогепатит, получавшие с первого дня опыта с кормом препарат «Квертулин» (производства НПА «Одесская биотехнология») в дозе 300 мг/кг.

Эвтаназию животных осуществляли на 22-й день опыта под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

В сыворотке крови и в гомогенате печени определяли содержание ТГ ферментативным методом [163], содержание холестерина ферментативным методом [164]; в сыворотке крови определяли также содержание билирубина [166], активность аланинтрансаминазы (АЛТ) [166] и щелочной фосфатазы (ЩФ) [171].

На рис. 7.1 представлены результаты определения содержания липидов в печени крыс, которые свидетельствуют о том, что стеатогепатит значительно увеличивает содержание липидов в печени (на 30-70 %). «Квертулин» снижает содержание липидов в печени, однако, из-за непродолжительности эксперимента в обоих случаях $p > 0,05$.

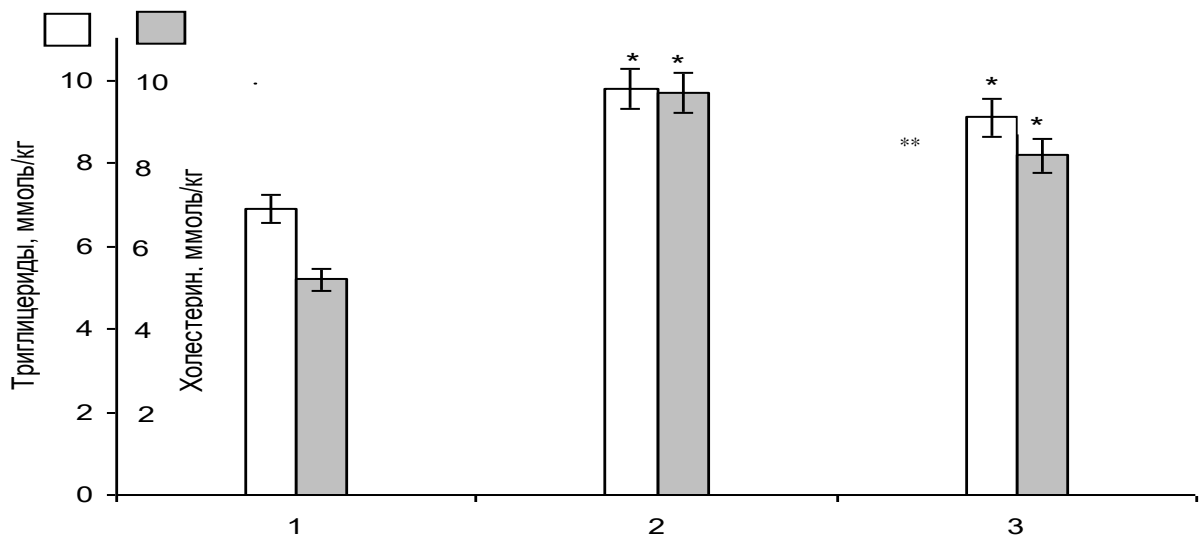


Рисунок 7.1 Влияние «Квертулина» на уровень липидов ($M \pm m$, $n=6$) в печени крыс с экспериментальным стеатогепатитом (ЭСГ): 1 – норма, 2 – ЭСГ, 3 – ЭСГ+«Квертулин» (* – $p < 0,05$ к гр. 1, ** – $p < 0,05$ к гр. 2)

Дисбиоз на фоне ВЖР также увеличивает содержание липидов в сыворотке крови (на 30-50 %), а «Квертулин» снижает достоверно лишь содержание ТГ (рис. 7.2).

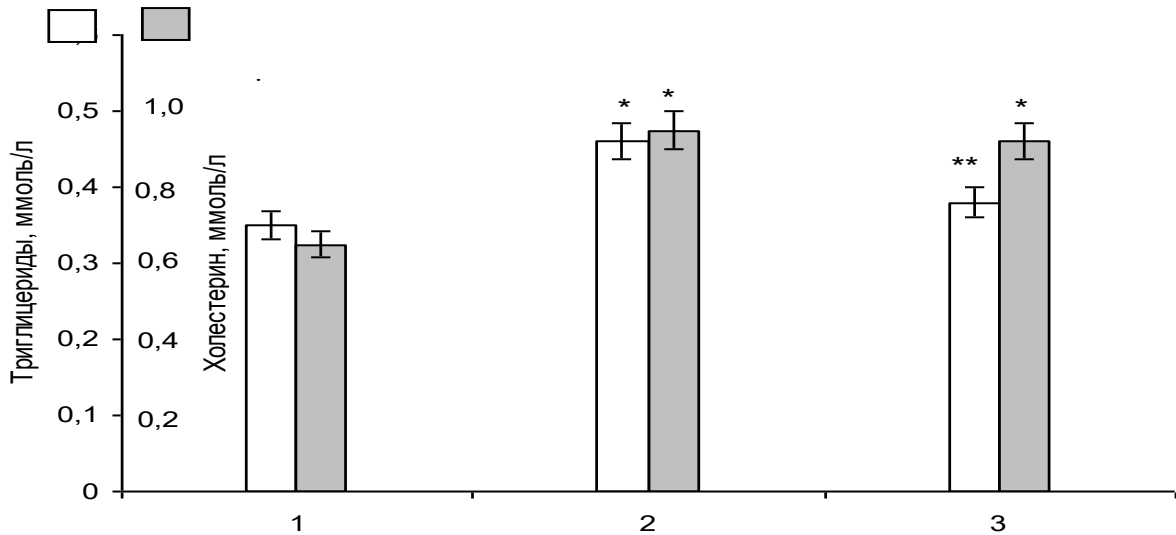


Рисунок 7.2 Влияние «Квертулина» на уровень липидов ($M \pm m$, $n=6$) в сыворотке крыс с экспериментальным стеатогепатитом (ЭСГ): 1 – норма, 2 – ЭСГ, 3 – ЭСГ+«Квертулин» (*– $p < 0,05$ к группе № 1; **– $p < 0,05$ к гр. № 2)

Сочетание ВЖР с дисбиозом достоверно увеличивает в сыворотке крови активность АЛТ и ЩФ (рис. 7.3), что может свидетельствовать о развитии гепатита. «Квертулин» снижает уровень печеночных маркеров, что указывает на его гепатопротекторное действие, описанное нами ранее (раздел 6).

Таким образом, ЭСГ увеличивает содержание липидов в печени (стеатоз) и в сыворотке (гиперлипемия).

«Квертулин» достоверно снижает содержание ТГ в сыворотке, проявляет тенденцию к снижению уровня ТГ в печени, снижает уровень в сыворотке крови печеночных маркеров, т. е. «Квертулин» оказывает гепатопротекторное действие.

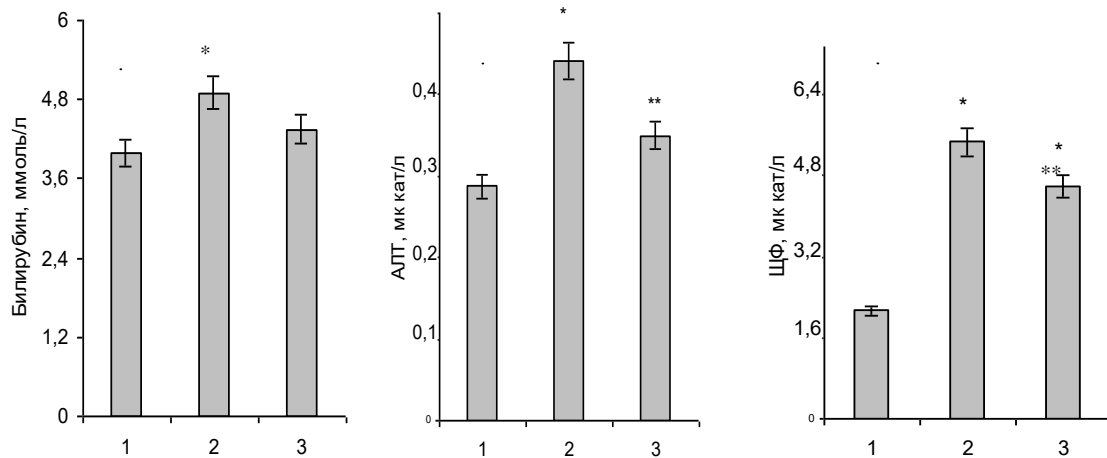


Рисунок 7.3 Влияние «Квертулина» (3) на уровень печеночных маркеров ($M \pm m$, $n=6$) в сыворотке крови крыс с экспериментальным стеатогепатитом (ЭСГ): 1 – норма, 2 – ЭСГ, 3 – ЭСГ+«Квертулин» (*– $p < 0,05$ к гр. 1; **– $p < 0,05$ к гр. 2)

7.2 Влияние «Квертулина» на содержание липидов в печени и в сыворотке крови крыс с эндотоксинемией

Эндотоксинемия, или повышенное содержание в крови кишечного эндотоксина (липополисахарида), постоянно встречается при кишечном дисбиозе [200, 201].

Липополисахарид (ЛПС) обладает очень широким спектром биологического действия, активируя клетки макрофагально-лимфоцитарной системы и нейтрофилы. В результате активации последних усиливается антимикробный потенциал тканей и запускается процесс воспаления.

Имеются данные и о других биологических эффектах ЛПС, в частности, о его влиянии на липидный обмен, приводящий к развитию гипертриглицеридемии, липоидоза артериальной стенки и атеросклероза.

Учитывая центральную роль печени в липидном обмене [22] и принимая во внимание гепатотоксическое действие на печень ЛПС [209, 210], резонно было предположить, что системная эндотоксинемия может быть причиной стеатоза печени, состояния, которое чревато переходом в стеатогепатит и затем в фиброз и цирроз [37, 38].

Рост численности больных с кишечным дисбиозом может, в определенной степени, объяснить и неуклонный рост случаев гепатоза печени.

Целью настоящего исследования стало изучение содержания триглицеридов и холестерина в печени и сыворотке крови животных с системной эндотоксинемией и влияния на эти показатели нового препарата «Квертулин», содержащего биофлавоноид кверцетин, обладающий ангиопротекторным и гепатопротекторным действием, пребиотик инулин, устраняющий дисбиотические явления в кишечнике, и цитрат кальция, обладающий широким спектром функционального действия [197].

Эксперименты были проведены на 18 крысах линии Вистар (самки, 3 месяца, живая масса 250 ± 11 г).

Системную эндотоксинемию вызывали путем внутрибрюшинного введения 0,5 мл раствора ЛПС на 0,9 % NaCl в дозе 50 мкг/кг один раз в день по схеме 5 дней подряд, 2 дня перерыв и снова 5 дней подряд.

Эвтаназию животных осуществляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) на 13-й день опыта.

Все животные были разделены на 3 группы: 1-ая – контроль (норма), получала внутрибрюшинно по 0,5 мл 0,9 % NaCl по схеме введения ЛПС; 2-ая – эндотоксинемию и 3-ья – эндотоксинемию и с первого дня опыта крысы в течение 10 дней получали с кормом 200 мг/кг «Квертулина» per os.

В гомогенате печени и в сыворотке крови определяли содержание триглицеридов (ТГ) ферментативным колориметрическим методом [163], холестерина ферментативно-фотометрическим методом с холестериноксидазой [164] и содержание малонового диальдегида (МДА) по реакции с тиобарбитуровой кислотой [170].

На рис. 7.4 представлены результаты определения содержания ТГ в печени и в сыворотке крови крыс с системной эндотоксинемией. Достоверное увеличение содержания ТГ отмечено в сыворотке, в печени лишь тенденция к увеличению. Введение «Квертулина» достоверно снизило содержание ТГ и в

печени, и в сыворотке, что свидетельствует о его гиполипидемическом действии.

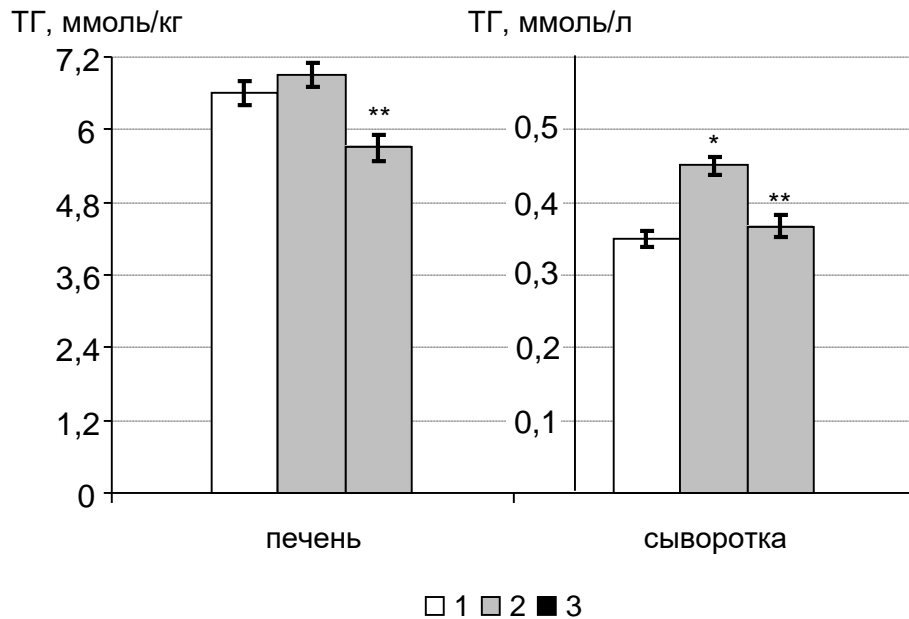


Рисунок 7.4 Влияние «Квертулина» (3) на содержание триглицеридов ($M \pm m$, $n=6$) в печени и сыворотке крови крыс с системной эндотоксинемией (2) (1 – норма) (* – $p < 0,05$ к гр. № 1; ** – $p < 0,05$ к гр. № 2)

На рис. 7.5 представлены результаты определения холестерина в печени и в сыворотке крыс с эндотоксинемией. В печени крыс с эндотоксинемией наблюдается лишь тенденция к увеличению содержания холестерина, тогда как в сыворотке снижение уровня холестерина статистически значимо ($p < 0,05$). Введение «Квертулина» нормализует содержание холестерина в печени и не влияет на сниженный под действием ЛПС уровень холестерина в сыворотке крови.

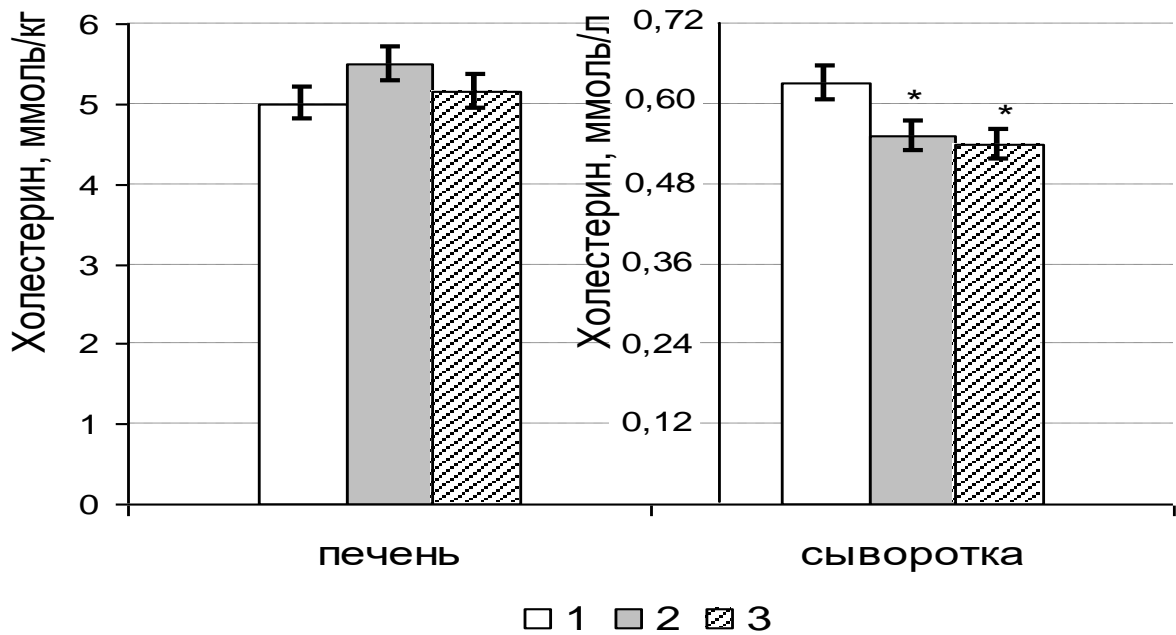


Рисунок 7.5 Влияние «Квертулина» (3) на содержание холестерина (M+m, n=6) в печени и сыворотке крови крыс с системной эндотоксинемией (2) (1 – норма) (*– p<0,05 к гр. № 1)

На рис. 7.6 показано изменение содержания МДА в ткани печени и в сыворотке крови крыс с системной эндотоксинемией. Из этих данных видно, что в печени существенно возрастает содержание МДА, свидетельствующее об усилении перекисного окисления липидов в печени крыс с эндотоксинемией. Введение «Квертулина» достоверно снижает содержание МДА, что может указывать на антиоксидантное действие, лежащее в основе его гепатопротекторных свойств. В сыворотке крови уровень МДА практически не изменяется ни при действии ЛПС, ни при действии «Квертулина».

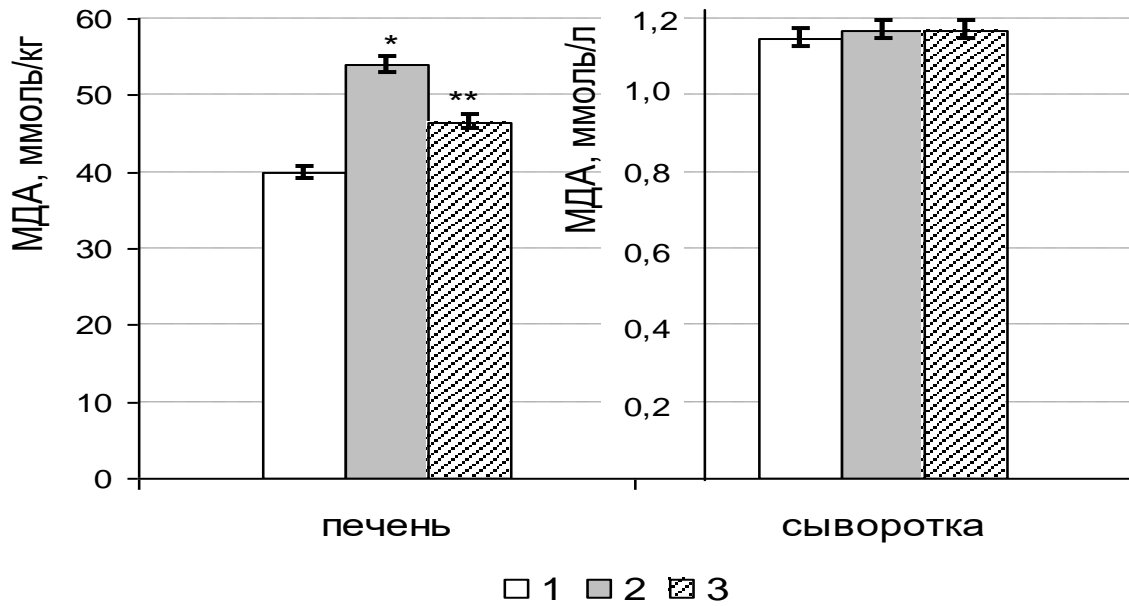


Рисунок 7.6 Влияние «Квертулина» (3) на содержание малонового диальдегида ($M \pm m$, $n=6$) в печени и сыворотке крови крыс с системной эндотоксинемией (2) (1 – норма) (* – $p < 0,05$ к гр. № 1; ** – $p < 0,05$ к гр. № 2)

Таким образом, проведенные исследования показали, что ЛПС может быть одним из факторов, вызывающих гипертриглицеридемию и, возможно, стеатоз печени, а Квертулин, снижающий содержание ТГ и в печени, и в сыворотке, может явиться новым эффективным средством для профилактики и лечения стеатоза печени.

7.3 Влияние лечебно-профилактических препаратов на содержание триглицеридов в печени и сыворотке крови крыс с метаболическим синдромом

В последнее время появились данные, свидетельствующие о тесной патогенетической связи ожирения с дисбиотическими явлениями в организме. Как известно, развитие дисбиоза в значительной степени обусловлено наличием в организме иммунодефицита. Совокупность этих нарушений определяется как метаболический синдром (МС).

Поэтому были сделаны попытки регулировать накопление жиров в организме при МС с помощью препаратов антидисбиотического и иммуностимулирующего действия.

Целью нашего исследования стало изучение действия на содержание триглицеридов в печени и в сыворотке крови крыс с МС ряда новых лечебно-профилактических препаратов, обладающих антидисбиотическим действием. К таким препаратам относятся «Квертулин» (кверцетин + инулин + цитрат кальция), «Лизоцим в желатине» и «Квертгиал» («Квертулин» + гиалуроновая кислота).

В работе были использованы следующие материалы: кверцетин (производства «Merck», США, содержание основного вещества 99,6 %); инулин из корней цикория (производства «Consucra Groupe Wahoing S.A.», Бельгия); цитрат кальция (производства Китай); гиалуроновая кислота (препарат «Генгиал» производства «Ricerpharma», Италия); лизоцим (препарат «Clerizuma», производства «Caglificio Clerici S.p.A», Италия).

Из этих материалов готовили следующие препараты: «Квертулин» (ТУ У 10.8-13903778-040:2011); «Квертгиал» (ТУ У 20.4-13903778-032:2012); «Лизоцим в желатине» (10 % Clerizuma в 10 % растворе желатина).

В экспериментах было использовано 35 белых крыс линии Вистар (самцы, 4 месяца, средняя живая масса 250 г), распределенных в 5 равных групп:

1-ая – норма (интактные животные);

2-ая – дисбиоз + иммунодефицит + высокожировой рацион (ВЖР) - далее «МС»;

3-я – МС + препарат «Квертулин»;

4-ая – МС + препарат «Лизоцим в желатине»;

5-ая – МС + препарат «Квертгиал». Дозы препаратов указаны в таблице 7.1.

Дисбиоз вызывали с помощью антибиотика линкомицина, который давали с питьевой водой в дозе 60 мг/кг ежедневно в течение 5 дней [153].

Иммунодефицит создавали путем в/брюшинного введения цитостатика циклофосфана в дозе 25 мг/кг через день [211]. ВЖР получали путем добавки к комбикорму 15 % нерафинированного подсолнечного масла.

Таблица 7.1

Экспериментальные группы и дозы препаратов (все группы по 7 крыс)

№№ пп	Группы	Лечебный препарат	Дозы лечебных средств, мг/кг
1	Норма	–	–
2	МС	–	–
3	МС + «Квертулин»	«Квертулин порошок» 300 мг/кг per os	Кверцетин – 5 Инулин – 180 Цитрат кальция – 115
4	МС + «Лизоцим»	«Лизоцим в желатине» 1000 мг/кг	В пересчете на чистый лизоцим – 20
5	МС + «Квертгиал»	«Квертгиал» гель 0,5 мл/крысу аппликации на СОПР	Кверцетин – 0,68 Инулин – 24,0 Цитрат кальция – 15,32 Гиалуроновая кислота – 0,80

Продолжительность эксперимента составила 21 день. Лечебные препараты начинали вводить с первого дня опыта. Умерщвление животных осуществляли на 22-й день под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

Получали сыворотку крови и иссекали часть печени, которые хранили до исследования при –30 °С.

В гомогенате печени определяли содержание триглицеридов (ТГ) ферментативным методом, а в сыворотке крови, кроме ТГ, определяли содержание холестерина и уровень печеночных маркеров: содержание билирубина, активность АЛТ и щелочной фосфатазы (ЩФ).

На рис. 7.7 представлены результаты определения содержания ТГ в печени крыс с МС. Из этих данных видно, что в патологической печени достоверно возрастает содержание жира, которое существенно снижается под

влиянием испытанных нами антидисбиотических препаратов, однако в наибольшей степени (вплоть до нормы) – под влиянием «Квертулина».

В сыворотке крови крыс с МС достоверно возрастает содержание и ТГ, и холестерина (рис. 7.8 и рис. 7.9). Под влиянием антидисбиотических препаратов содержание ТГ несколько снижается (однако, во всех случаях $p > 0,05$), тогда как содержание холестерина достоверно снижается практически до нормы.

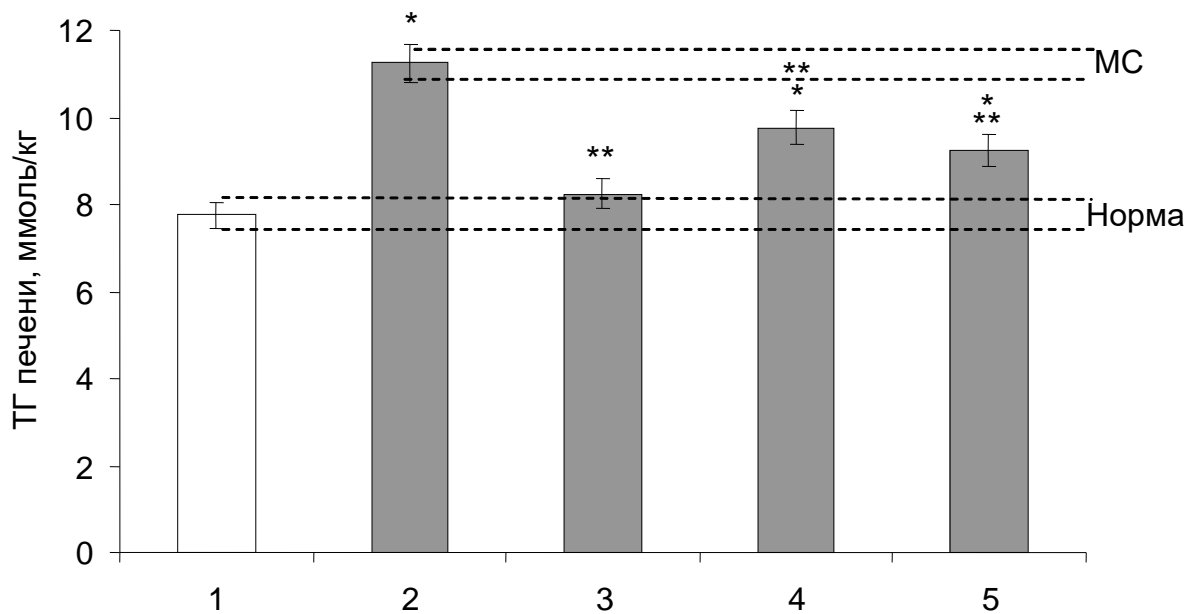


Рисунок 7.7 Влияние «Квертулина», «Квертгиала» и «Лизоцима» на содержание триглицеридов (ТГ) ($M \pm m$, $n=7$) в печени крыс с метаболическим синдромом (МС) (1 – норма, 2 – МС, 3 – МС + «Квертулин», 4 – МС + «Лизоцим», 5 – МС + «Квертгиал») *– $p < 0,05$ в сравнении с гр. №1, **– $p < 0,05$ в сравнении с гр. №2

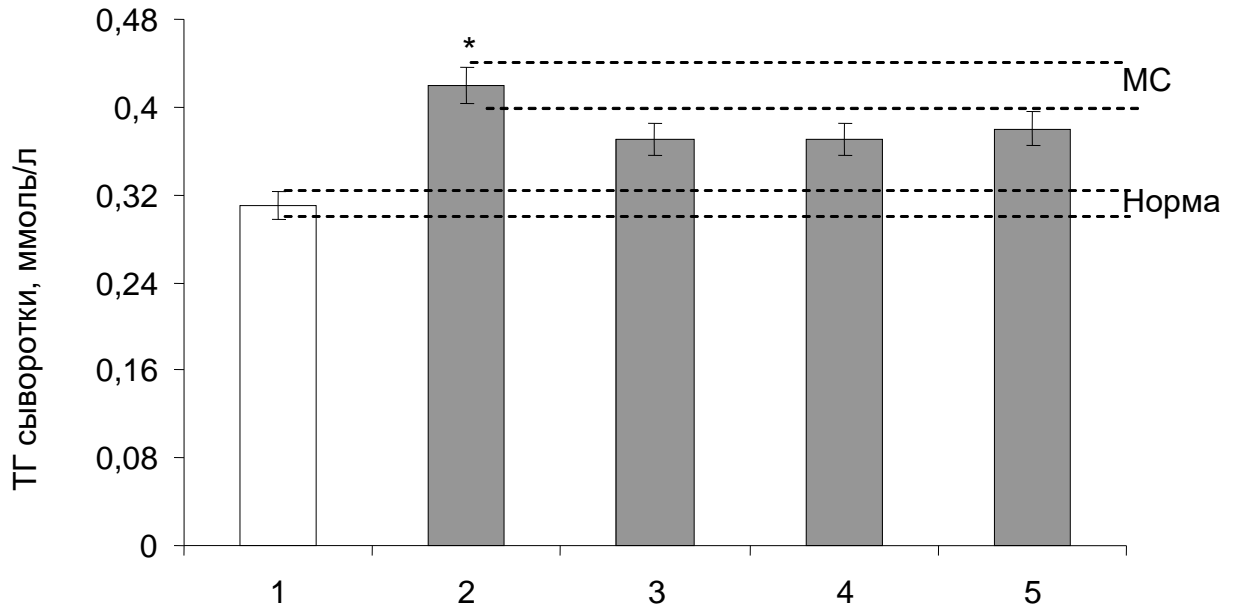


Рисунок 7.8 Влияние «Квертулина», «Квертгиала» и «Лизоцима» на содержание триглицеридов (ТГ) ($M \pm m$, $n=7$) в сыворотке крови крыс с метаболическим синдромом (МС) (1-5 – см. рис. 7.7) * – $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 1

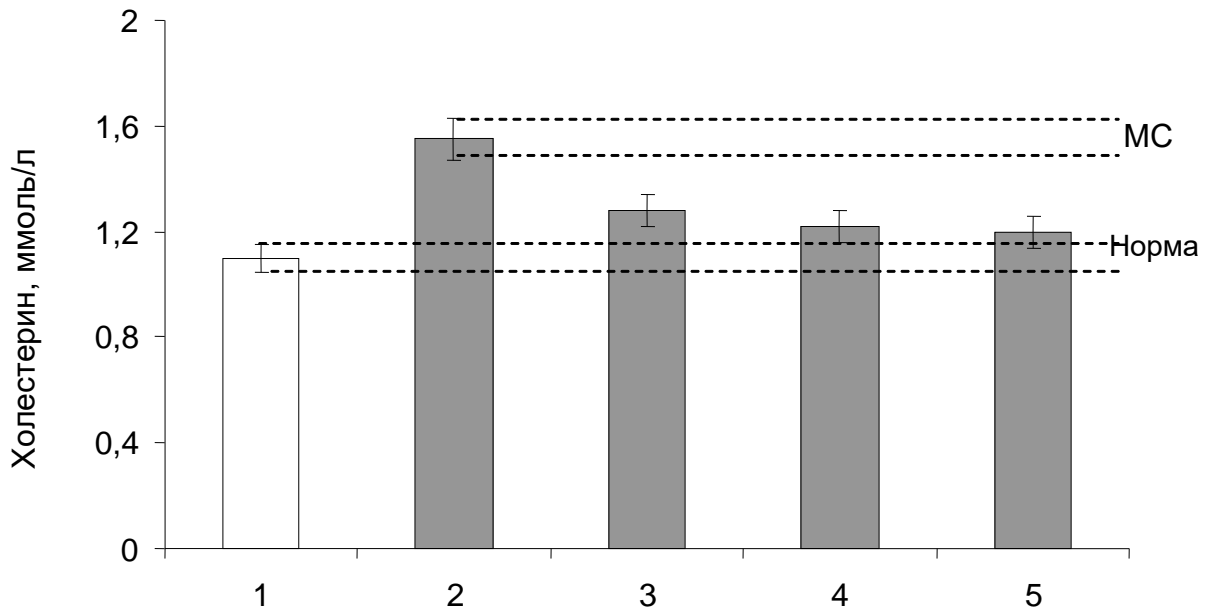


Рисунок 7.9 Влияние «Квертулина», «Квертгиала» и «Лизоцима» на содержание холестерина ($M \pm m$, $n=7$) в сыворотке крови крыс с метаболическим синдромом (МС) (1-5 – см. рис. 7.7)

Определение в сыворотке крови печеночных маркеров (билирубина, аланинтрансаминазы и ЩФ) (рис. 7.10) показало существенное возрастание их

уровня, что свидетельствует о развитии гепатита (стеатогепатита). Под влиянием антидисбиотических препаратов, таких как «Квертулин» и «Лизоцим в желатине», уровень билирубина и АЛТ достоверно снижается (почти до нормы), а активность ЩФ лишь проявляет тенденцию к снижению. Третий антидисбиотический препарат, который содержит гиалуроновую кислоту и который использовался в виде оральных аппликаций, снизил до нормы лишь активность АЛТ и совершенно не повлиял на повышенный уровень билирубина и ЩФ.

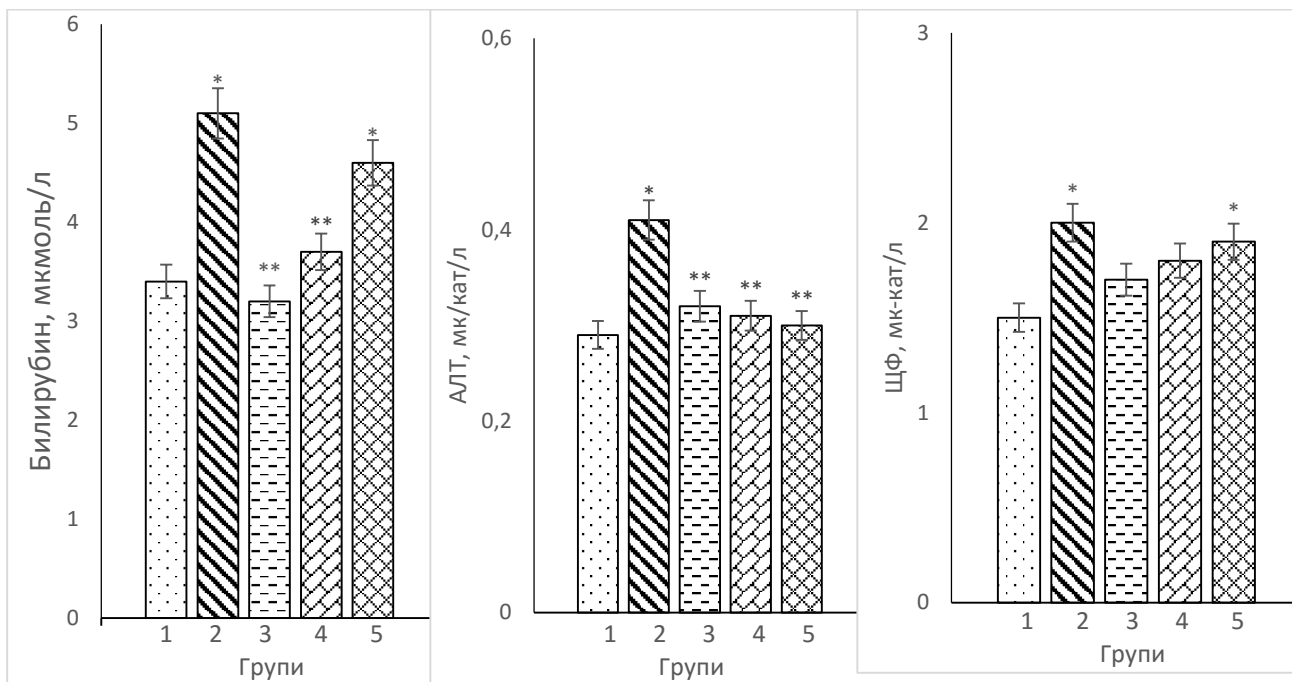


Рисунок 7.10 Влияние «Квертулина», «Квертгиала» и «Лизоцима» на уровень печеночных маркеров ($M \pm m$, $n=7$) в сыворотке крови крыс с метаболическим синдромом (МС) (1-5 – см. рис. 7.7) * – $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 1, ** – $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 2

Таким образом, МС (ВЖР на фоне дисбиоза и иммунодефицита) вызывает развитие гепатостеатоза и стеатогепатита, который сопровождается гипертриглицеридемией и гиперхолестеринемией. Антидисбиотические препараты, особенно «Квертулин», содержащий гепатопротектор кверцетин, пребиотик инулин и цитрат кальция, оказывают четко выраженное лечебно-профилактическое действие, устраняя не только явления стеатоза печени, но и устраняя явления стеатогепатита.

Можно полагать, что «Квертулин» займет достойное место в арсенале средств, применяемых для профилактики и лечения стетогепатита.

7.4 Влияние высокоолеинового подсолнечного масла «Оливка» на состояние печени крыс

Впервые в мире высокоолеиновый сорт подсолнечника, получивший название «Первенец», был получен более 40 лет тому назад в СССР (г. Краснодар, Всесоюзный институт масличных культур). После этого сорта и гибриды высокоолеинового подсолнечника были получены в СССР (г. Одесса, ВСГИ; г. Харьков, Институт растениеводства им. Юрьева) и во многих зарубежных странах (США, Франция, Австралия и др.).

Преимущества высокоолеинового подсолнечного масла, содержащего более 70 % олеиновой кислоты ($C_{18:1}$) вместо 60 % линолевой ($C_{18:2}$), состоит в том, что потребность в линолевой кислоте весьма ограничена (не более 6-8 г в сутки [180]), а ее избыток, легко подвергаясь перекисному окислению, превращается в ω -6-эйкозаноиды, обладающие провоспалительными и иммуносупрессивными свойствами [212]. В отличие от линолевой кислоты, олеиновая кислота почти целиком окисляется в митохондриях, давая биологически полезную энергию в виде АТФ [213].

Кроме того, олеиновая кислота образует триглицериды и эфиры холестерина, которые имеют жидкую консистенцию при температуре тела человека, устойчива к перекисному окислению и даже обладает свойствами антиоксиданта [214]. В Украине изучением и использованием с пищевой целью высокоолеинового подсолнечного масла уже более 15 лет занимается профессор А. П. Левицкий [198]. Им была разработана нормативно-техническая документация на высокоолеиновое подсолнечное масло «Оливка», получено разрешение на применение от Минздрава Украины (ТУ У 15.4-13903778-36-2002; гигиеническое заключение МЗУ № 5.10/27499 от 26.7.2002 г.) [215]. Производство масла «Оливка» осуществляет НПА «Одесская биотехнология»

(Украина).

Установлено, что патогенное действие на организм оказывает не только избыток линолевой кислоты, но и большое (более 10 %) содержание насыщенных жирных кислот, между уровнем которых в рационе и риском возникновения ишемической болезни сердца существует прямая зависимость [216].

Как показали наши исследования, почти все пищевые жиры, особенно, животные и пальмовое масло, содержат более 10 % насыщенных жирных кислот, кроме «Оливки», в которой насыщенных жирных кислот всего 7 % (табл. 7.2).

Таблица 7.2

Содержание насыщенных жирных кислот в маслах и жирах, %

Масло, жир	НЖК	В том числе	
		C _{16:0}	C _{18:0}
1. Оливковое масло	15,75	12,90	2,50
2. Соевое масло	13,90	10,30	3,50
3. Кукурузное масло	13,30	11,10	2,20
4. Подсолнечное масло	11,30	6,20	4,10
5. Пальмовое масло	50,00	46,30	3,30
6. Молочный жир	50,25	24,61	7,52
7. Говяжий жир	50,90	24,70	20,00
8. Бараний жир	51,20	24,80	21,00
9. Свиной жир	39,64	24,30	12,50
10. Рыбий жир	16,35	9,88	0,54
11. Высокоолеиновое подсолнечное масло «Оливка»	7,00	4,15	2,75

На рис. 7.11 представлена хроматограмма жирных кислот «Оливки», которая свидетельствует о содержании почти 85 % олеиновой кислоты, 6 %

линолевой и около 7 % насыщенных жирных кислот (табл. 7.3).

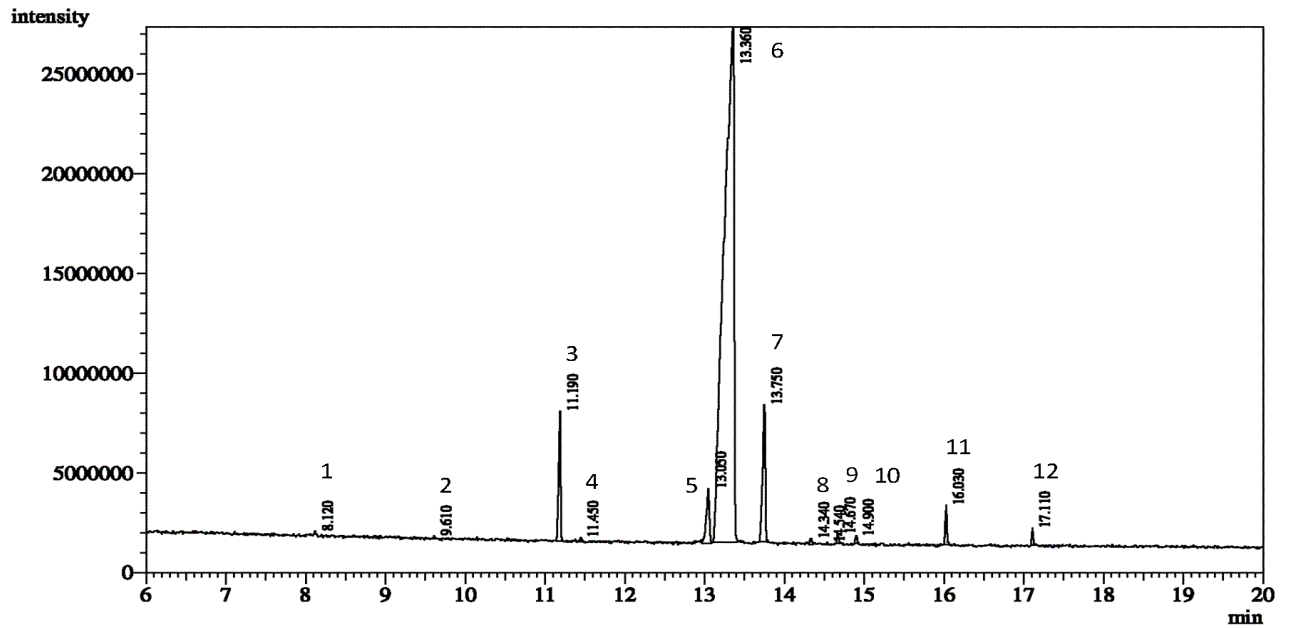


Рисунок 7.11 Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот высокоолеинового подсолнечного масла

Таблица 7.3

Жирнокислотный состав высокоолеинового подсолнечного масла

Номер пика	Кислота	Содержание, %
1	Лаурновая	0,04
2	Миристиновая	0,06
3	Пальмитиновая	4,15
4	Пальмитоолеиновая	0,13
5	Стеариновая	2,75
6	Олеиновая	84,57
7	Линолевая	6,16
8	Линоленовая	0,21
9	Арахиновая	0,26
10	Гадолеиновая	0,23
11	Бегеновая	1,06
12	Лигноцериновая	0,40

Нами проведены исследования влияния «Оливки» на состояние

микробиоценоза в печени крыс, которые получали безжировой рацион (БЖР) (табл. 7.4). В качестве продукта сравнения было использовано рафинированное оливковое масло («Mataluni», класс pure, производитель Industria Olearia «Biagio Mataluni S. R. L.», Италия).

Таблица 7.4

Состав безжирового рациона

№№ пп	Компоненты	Содержание, г/кг
1	Крахмал	610
2	Соевый шрот	150
3	Овальбумин	50
4	Сахар	90
5	Минеральная смесь	40
6	Витаминная смесь	10

К БЖР добавляли 7, 12, 18 или 25 % масла «Оливка» либо оливкового масла. Продолжительность опыта составила 41 день. После умерщвления животных в гомогенате печени определяли активность уреазы, лизоцима, степень дисбиоза и содержание маркера воспаления малонового диальдегида (МДА). Соответствующие данные представлены на рис. 7.12 и в таблице 7.5.

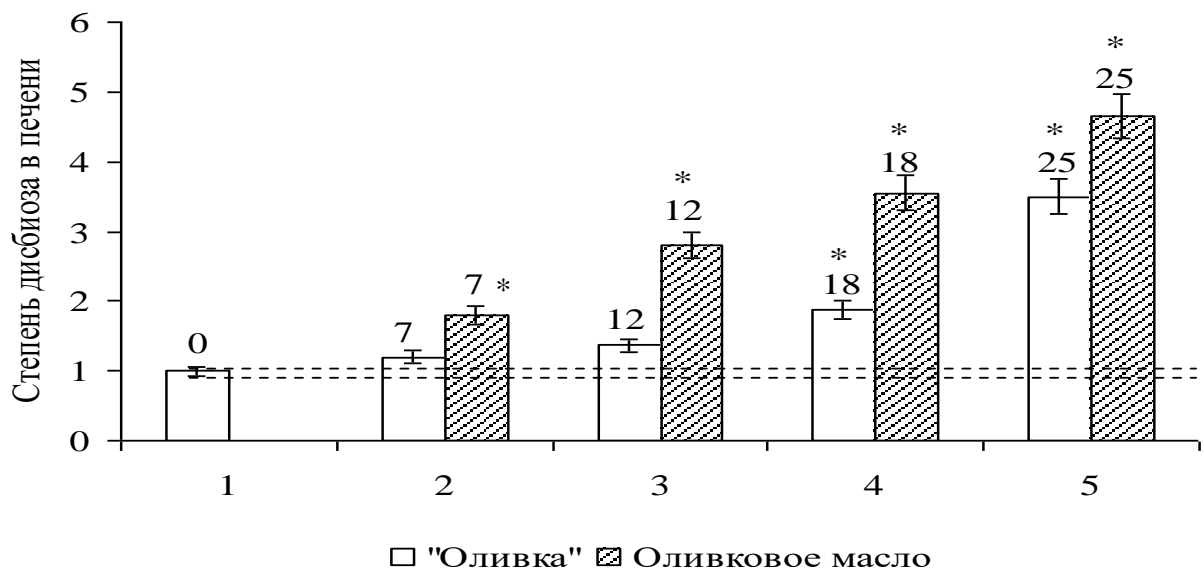


Рисунок 7.12 Влияние высокоолеинового подсолнечного масла «Оливка» и оливкового масла на степень дисбиоза (M+m, n=6) в печени крыс, получавших безжировой рацион (БЖР): 1 – БЖР, 2 – БЖР+7 % масла; 3 – БЖР + 12 % масла; 4 – БЖР + 18 % масла; 5 – БЖР + 25 % масла, * - p<0,05 в сравнении с группой 1

Таблица 7.5

Влияние высокоолеинового подсолнечного масла (ВПО) «Оливка» и оливкового масла на уровень маркеров воспаления в печени крыс, получавших безжировую рацион, (M+m, n=6)

№№ пп	Количество масла, %	Содержание МДА, ммоль/кг	
		ВПО «Оливка»	Оливковое масло
1	0	18,5±1,1	18,5±1,1
2	7	19,7±1,8 p>0,3	23,6±1,9 p<0,05
3	12	20,6±1,7 p>0,2	28,3±2,4 p<0,01
4	18	27,4±1,9 p<0,05	32,8±3,1 p<0,001
5	25	38,6±2,7 p<0,01	45,9±4,8 p<0,001

Из этих данных видно, что оливковое масло уже с 7 %-ного содержания в корме вызывает увеличение в печени степени дисбиоза и содержание МДА, что может указывать на развитие стеатогепатита. Масло «Оливка» начинает оказывать свое нежелательное действие лишь после 12 %-ного ввода в состав рациона.

Таким образом, проведенные нами исследования показали положительное действие на печень масла «Оливка», о чем свидетельствует более низкая степень дисбиоза и воспаления.

7.5 Влияние препарата незаменимых жирных кислот «Липосан» на состояние печени крыс

Все животные способны синтезировать жиры (триглицериды) из углеводов и белков. Однако, практически все они не способны синтезировать ряд полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), которые необходимы для образования мембранных фосфолипидов и гормоноподобных веществ эйкозаноидов (простагландинов, лейкотриенов и др.) [217-220]. К таким

ПНЖК, называемым незаменимыми или эссенциальными, относятся линолевая, линоленовая, арахидоновая, эйкозапентаеновая и докозагексаеновая (табл. 7.6).

Таблица 7.6

Незаменимые жирные кислоты (ПНЖК)

№№ пп	ПНЖК	Формула	Краткая формула	Число двойных связей
1	Линолевая	$C_{17}H_{31}COOH$	$C_{18:2}$	2, ω-6
2	Линоленовая	$C_{17}H_{29}COOH$	$C_{18:3}$	3, ω-3
3	Арахидоновая	$C_{19}H_{31}COOH$	$C_{20:4}$	4, ω-6
4	Эйкозапентаеновая	$C_{19}H_{29}COOH$	$C_{20:5}$	5, ω-3
5	Докозагексаеновая	$C_{21}H_{31}COOH$	$C_{22:6}$	6, ω-3

Для ряда животных незаменимой является лишь одна или две ПНЖК, чаще всего линолевая и линоленовая, тогда как для человека все 5 ПНЖК считаются эссенциальными, так как их биосинтез в организме из линолевой или линоленовой кислот весьма ограничен [221].

Из эссенциальных жирных кислот, которые потребляет население Украины, господствующее положение занимает линолевая кислота ($C_{18:2}$), содержание которой в большинстве растительных масел превышает 50 %, и при существующем уровне их потребления (в среднем 50-60 г в сутки) значительно (в 5-6 раз) превышает норму, которая рекомендована для линолевой кислоты (5-6 г/сутки) [198].

Главными источниками других незаменимых жирных кислот (арахидоновой, эйкозапентаеновой и докозагексаеновой) являются рыбные продукты, в частности рыба северных широт: сельдь, треска, скумбрия и др. К сожалению, потребление рыбных продуктов, по причине их высокой стоимости, в последнее время существенно сократилось [222].

Недостаточное поступление в организм человека эссенциальных жирных кислот рассматривается многими как одна из ведущих причин резкого увеличения сердечно-сосудистой заболеваемости, являющейся главной причиной смертности населения Украины [223-225].

С целью профилактики заболеваний путем увеличения содержания в пище эссенциальных жирных кислот используют разнообразные продукты и препараты с повышенным содержанием этих кислот: рыбий жир [226], капсулированные препараты концентратов эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот [227].

Недостатком рыбьего жира является его нестойкость к окислению, приводящая к быстрому накоплению токсичных и неприятных по запаху и вкусу веществ. Капсулированные препараты эссенциальных жирных кислот, как правило, не содержат полного набора этих кислот и, кроме того, очень дорого стоят. Этим же недостатком страдает и рыбий жир. Как видно из таблиц 7.7 и 7.8, в которых представлены абсолютные и относительные показатели содержания незаменимых жирных кислот рыбьего жира (табл. 7.7) и липидов сыворотки крови (табл. 7.8), в рыбьем жире наблюдается полный дисбаланс жирнокислотного состава с жирнокислотным составом липидов сыворотки крови.

Таблица 7.7

**Содержание незаменимых жирных кислот в рыбьем жире
(производитель «Лубнифарм», Украина)**

Кислота	Содержание, %	Относительное содержание
Линолевая C _{18:2}	2,70	100
Линоленовая C _{18:3}	1,43	53
Арахидоновая C _{20:4}	0,62	23
Эйкозапентаеновая C _{20:5}	16,29	603
Докозагексаеновая C _{22:6}	12,67	469

Так, сравнивая относительное содержание линоленовой кислоты в рыбьем жире и аналогичным показателем сыворотки крови, видно, что в рыбьем жире ее в 8 раз больше, чем в сыворотке, а относительное содержание эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот больше в 120 и в 34 раза соответственно.

Таблица 7.8

Содержание незаменимых жирных кислот в липидах сыворотки крови крыс

Кислота	Содержание, %	Относительное содержание
Линолевая C _{18:2}	20,95	100
Линоленовая C _{18:3}	1,40	6,4
Арахидоновая C _{20:4}	2,59	11,8
Эйкозапентаеновая C _{20:5}	1,19	5,4
Докозагексаеновая C _{22:6}	3,06	13,9

Исходя из того, что дисбаланс жирных кислот нежелателен для организма [228], нами был предложен препарат эссенциальных жирных кислот, более близкий по относительному составу к составу липидов сыворотки крови. Рецептuru такого препарата такова (%):

соевое масло	– 65-70
рыбий жир	– 20-25
свиной жир	– 4-5
Катомас	– 5-6

Препарат запатентован под названием «Липосан (витамин F)». Относительный состав его эссенциальных жирных кислот (табл. 7.9) значительно ближе к аналогичному составу липидов сыворотки крови (табл. 7.8).

Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот препарата «Липосан» представлена на рис. 7.13.

Таблица 7.9

Содержание незаменимых жирных кислот в препарате «Липосан»

Кислота	Содержание, %	Относительное содержание
Линолевая C _{18:2}	34,12	100
Линоленовая C _{18:3}	5,40	16
Арахидоновая C _{20:4}	2,83	6,5
Эйкозапентаеновая C _{20:5}	2,33	6,8
Докозагексаеновая C _{22:6}	2,25	6,6

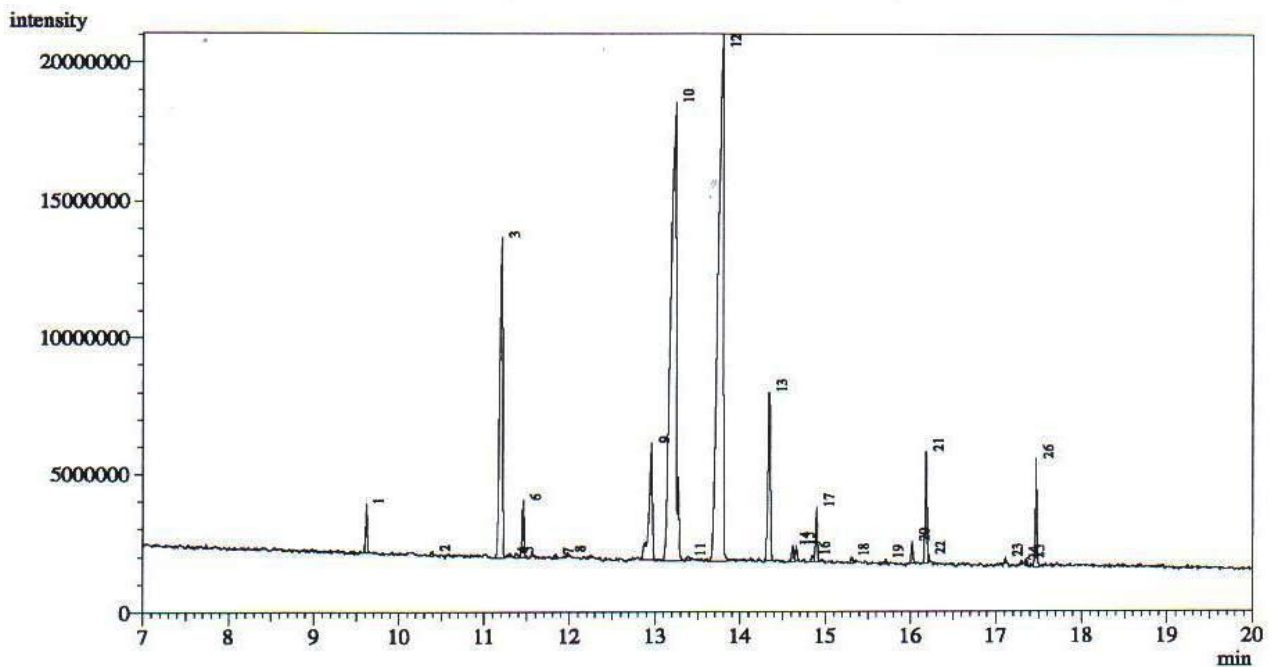


Рисунок 7.13 Хроматограмма метиловых эфиров жирных кислот препарата «Липосан»

Рассчитанный по этим данным жирнокислотный состав масла «Липосан» представлен в таблице 7.10.

В эксперименте на белых крысах, которые содержались на безжировом рационе (БЖР) или на БЖР с вводом 2,5 % Липосана (табл. 7.11), исследовали содержание эссенциальных жирных кислот в липидах сыворотки крови, в печени и в висцеральном жире. Крысы ежедневно получали по 30 г корма на одну голову в течение 31 дня. Определение жирнокислотного состава и

содержание СЖК осуществляли в соответствии с методическими рекомендациями [172].

Таблица 7.10

Жирнокислотный состав триглицеридов препарата «Липосан» (%)

Номер пика	Кислота	Содержание
1	Миристиновая	0,97
2	Пентадекановая	0,12
3	Пальмитиновая	11,32
6	Пальмитоолеиновая	1,43
9	Стеариновая	4,91
10	Олеиновая	32,51
12	Линолевая	34,12
13	Линоленовая	5,409
14	Арахидиновая	0,27
15	Октадекатетраеновая	0,37
17	Гондоиновая + гадолеиновая	1,17
18	Эйкозодиеновая	0,16
19	Арахидиновая	0,06
20	Бегеновая + эйкозатетраеновая	0,47
21а	Эйкозопентаеновая	2,33
21б	Эруковая	1,13
23	Лигноцериновая	0,11
25	Докозопентаеновая	0,10
26	Докозагексаеновая	2,25

Таблица 7.11

Состав рационов для крыс (г на 1 кг)

Компоненты	БЖР	БЖР + «Липосан»
Крахмал	660	640
Соевый шрот	150	150
Овальбумин	50	50
Сахар	90	90
«Липосан»	–	25
Минеральная смесь [7]	40	40
Витаминная смесь [7]	10	10
Содержание жира, %	0,60	2,57

На рис. 7.14 показано содержание общих липидов (триглицериды + эфиры холестерина) и СЖК в сыворотке крови крыс, получавших БЖР или БЖР + «Липосан». Видно, что содержание общих липидов существенно не изменяется после приема добавки «Липосан», тогда как содержание СЖК в сыворотке крови крыс, получавших «Липосан», снижается в 3 раза.

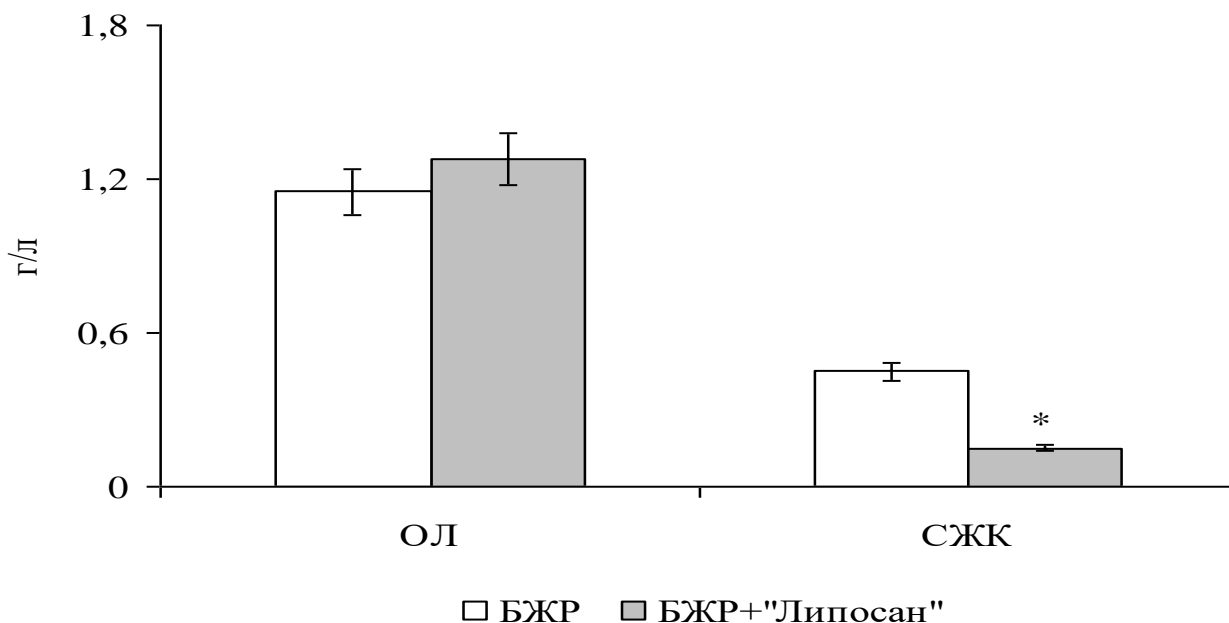


Рисунок 7.14 Влияние препарата полиненасыщенных жирных кислот «Липосан» на уровень общих липидов и свободных жирных кислот (M+m, n=8) в сыворотке крови крыс, получавших безжировой рацион (*-p<0,05 по сравнению с БЖР)

На рис. 7.15 показано содержание общих липидов и СЖК в печени крыс. Видно, что добавка «Липосана» не повлияла существенно на оба показателя.

В таблице 7.12 представлены результаты определения содержания незаменимых жирных кислот в общих липидах сыворотки крови. Из этих данных видно, что у крыс, находящихся на БЖР, в сыворотке крови содержатся все незаменимые жирные кислоты. Это обстоятельство может указывать на то, что крысы способны синтезировать все незаменимые жирные кислоты, в том числе и линолевую.

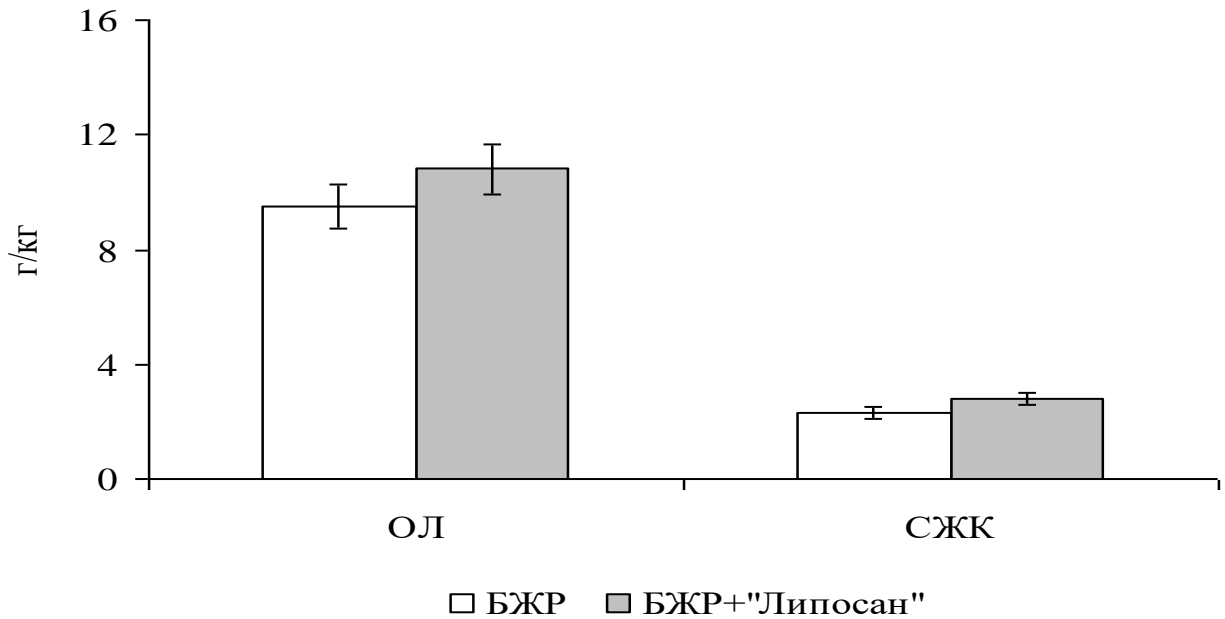


Рисунок 7.15 Влияние препарата полиненасыщенных жирных кислот «Липосан» на уровень общих липидов и свободных жирных кислот (M+m, n=8) в печени крыс, получавших безжировую рацион

Таблица 7.12

Влияние препарата полиненасыщенных жирных кислот «Липосан» на содержание эссенциальных жирных кислот в липидах сыворотки крови крыс, получавших безжировую рацион (% от суммы жирных кислот), (M+m, n=8)

Жирная кислота	БЖР	БЖР+«Липосан»
Линолевая (C _{18:2})	11,89±1,05	20,95±1,64*
Линоленовая (C _{18:3})	0,34±0,05	1,40±0,12*
Арахидоновая (C _{20:4})	2,53±0,21	2,59±0,27
Эйкозапентаеновая (C _{20:5})	0,14±0,06	1,19±0,13*
Докозапентаеновая (C _{22:5})	0,16±0,05	1,56±0,10*
Докозагексаеновая (C _{22:6})	0,30±0,07	3,06±0,28*

Примечание: * – p<0,05

Добавка в корм «Липосана» увеличивает содержание всех незаменимых жирных кислот: линолевой в 2 раза, линоленовой в 4 раза, эйкозапентаеновой в 8 раз, докозапентаеновой и докозагексаеновой в 10 раз. Неизменным лишь

остается содержание арахидоновой кислоты (возможно, из-за ее невысокого содержания в «Липосане»).

В таблице 7.13 представлены результаты определения содержания незаменимых жирных кислот в липидах печени. Из этих данных видно, что у крыс, получавших БЖР, присутствуют все незаменимые жирные кислоты, причем в наибольшем количестве линолевая и арахидоновая. Добавка «Липосана» увеличивает содержание линолевой кислоты в 1,5 раза, линоленовой в 5 раз, эйкозапентаеновой в 8 раз, докозапентаеновой в 15 раз и докозагексаеновой в 8,5 раза. И опять уровень арахидоновой кислоты почти не изменяется.

Таблица 7.13

Влияние препарата полиненасыщенных жирных кислот «Липосан» на содержание эссенциальных жирных кислот ($M \pm m$, $n=8$) в липидах печени крыс, получавших безжировой рацион (%)

Жирная кислота	БЖР	БЖР+«Липосан»
Линолевая ($C_{18:2}$)	12,08±1,44	17,94±1,31*
Линоленовая ($C_{18:3}$)	0,29±0,03	1,38±0,15*
Арахидоновая ($C_{20:4}$)	2,10±0,15	2,31±0,26
Эйкозапентаеновая ($C_{20:5}$)	0,11±0,02	0,89±0,02*
Докозапентаеновая ($C_{22:5}$)	0,10±0,02	1,58±0,25*
Докозагексаеновая ($C_{22:6}$)	0,34±0,21	2,83±0,31*

Примечание: * – $p < 0,05$

В таблице 7.14 представлены результаты определения незаменимых жирных кислот в общих липидах висцеральной жировой ткани. Как видно, у крыс, получавших БЖР, содержание этих кислот в висцеральном жире очень низкое (за исключением линолевой кислоты), а эйкозапентаеновая и докозапентаеновая кислоты вообще отсутствуют. Добавка «Липосана» увеличивает содержание линолевой кислоты в 1,7 раза, линоленовой в 3,3 раза, арахидоновой в 1,5 раза, докозагексаеновой в 8 раз. После ввода «Липосана» в

составе висцерального жира появляются эйкозапентаеновая и докозапентаеновая кислоты.

Таблица 7.14

Влияние препарата полиненасыщенных жирных кислот «Липосан» на содержание эссенциальных жирных кислот в висцеральном жире крыс, получавших безжировую рацион (%), (M+m, n=8)

Жирная кислота	БЖР	БЖР+«Липосан»
Линолевая (C _{18:2})	9,39±1,01	16,13±1,37*
Линоленовая (C _{18:3})	0,42±0,03	1,41±0,21*
Арахидоновая (C _{20:4})	0,15±0,02	0,25±0,03*
Эйкозапентаеновая (C _{20:5})	0	0,12±0,02
Докозапентаеновая (C _{22:5})	0	0,20±0,03
Докозагексаеновая (C _{22:6})	0,04±0,01	0,32±0,03*

Примечание: * – p<0,05

Таким образом, на основании проведенных исследований можно утверждать, что крысы способны синтезировать все жирные кислоты, по-видимому, из углеводов и аминокислот, причем в наибольшей степени линолевую и арахидоновую. Добавка «Липосана» увеличивает содержание всех незаменимых жирных кислот в липидах сыворотки крови, печени и в висцеральном жире. Эти данные могут быть основанием для рекомендаций по лечебному применению «Липосана», поскольку он не только увеличивает содержание незаменимых жирных кислот, но и снижает содержание СЖК, вызывающих инсулинорезистентность [229].

У этих же крыс было определено состояние жирового обмена, микробиоценоза и степень воспаления в печени и в сыворотке крови.

В сыворотке крови и в гомогенате печени определяли ферментативными методами содержание триглицеридов, холестерина, активность уреазы, лизоцима и эластазы. По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому. Для этого

дополнительно у 6 интактных крыс линии Вистар (самцы, 4 мес.) определяли в печени и в сыворотке крови активность уреазы и лизоцима.

Динамика массы тела крыс, получавших БЖР или БЖР с добавкой «Липосана» представлена на рис. 7.16, из которого видно, что крысы, получавшие БЖР, хорошо растут, не уступая по абсолютному приросту крысам, получавшим дополнительно «Липосан» (табл. 7.15). Это свидетельствует о том, что крысы в отсутствие пищевого жира легко синтезируют его из углеводов и белков. В пользу этого свидетельствуют данные о содержании триглицеридов (ТГ), общего холестерина (ОХ) в печени и в сыворотке крови (табл. 7.16). Из этих данных видно, что в сыворотке крови содержание ТГ существенно не изменяется, хотя в печени крыс, получавших БЖР достоверно возрастает и остается таким же у крыс, получавших дополнительно «Липосан». В то же время БЖР снижает в сыворотке крови уровень ОХ. Таким же сниженным он остается и после добавки «Липосана».

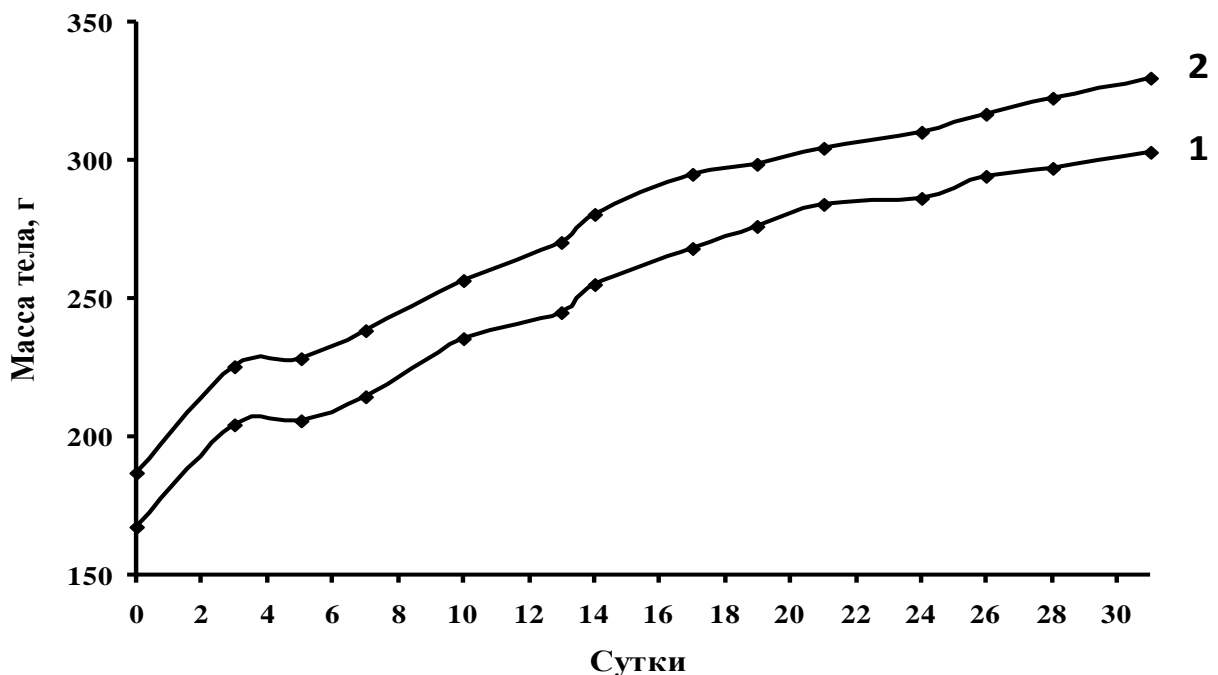


Рисунок 7.16 Динамика роста средней массы крыс ($M+m$, $n=8$) в ходе эксперимента (1 – безжировой рацион, 2 – безжировой рацион + «Липосан»)

Таблица 7.15

Влияние препарата «Липосан» на прирост живой массы крыс, получавших безжировую рацион в течение 31 дня, (M+m, n=8)

Показатели	БЖР	БЖР + «Липосан»
1. Абсолютный прирост, г/сутки	135,6±5,2	143,2±8,0 p>0,3
2. Относительный прирост, %	80,9±1,4	76,6±3,0 p>0,2
3. Среднесуточный прирост, г/сутки	4,40±0,17	4,60±0,26 p>0,3
4. Относительный среднесуточный прирост, %	2,60±0,04	2,50±0,10 p>0,2

Таблица 7.16

Влияние препарата «Липосан» на содержание липидов в печени и в сыворотке крови крыс, получавших безжировую рацион в течение 31 дня, (M+m)

Группы	Триглицериды, ммоль/кг(л)	Холестерин ммоль/кг(л)
Печень		
1. Норма (n=6)	8,5±0,3	5,11±0,25
2. БЖР (n=5)	11,4±0,6 p<0,05	5,47±0,48 p>0,3
3. БЖР + Липосан (n=5)	11,5±0,6 p<0,05; p ₁ >0,7	6,41±0,45 p<0,05; p ₁ >0,05
Сыворотка крови		
1. Норма (n=6)	1,16±0,11	1,31±0,05
2. БЖР (n=5)	1,03±0,17 p>0,5	1,08±0,03 p<0,05
3. БЖР + Липосан (n=5)	1,06±0,12 p>0,5; p ₁ >0,6	1,10±0,05 p<0,05; p ₁ >0,3

В печени крыс, получавших БЖР или БЖР с «Липосаном», уровень ТГ достоверно повышен на 34-35 %. Возможно, это связано с тем, что превращение углеводов в жиры приводит к образованию, главным образом, пальмитиновой кислоты [230], глицериды которой медленнее расщепляются липазой и труднее покидают печень в составе ЛПОНП (липопротеидов очень низкой плотности) [231]. Подтверждением этому является снижение уровня ТГ

и, особенно, ОХ в сыворотке крови. Непонятным остается достоверное повышение уровня ОХ в печени крыс, получавших БЖР с препаратом «Липосан» (возможно, это связано с задержкой ЛПОИП в паренхиме печени).

В таблице 7.17 представлены результаты определения в печени и в сыворотке крови активности уреазы (маркер микробного обсеменения), лизоцима (показатель уровня неспецифического иммунитета) и эластазы (маркер воспаления). Как видно из этих данных, БЖР несколько увеличивает активность уреазы в печени и достоверно снижает ее в сыворотке крови. Добавка к БЖР «Липосана» достоверно (в 5 раз!) снижает в печени активность уреазы, что свидетельствует об уменьшении микробной обсемененности этого органа. БЖР и БЖР + «Липосан» достоверно снижают активность лизоцима в печени и, в меньшей степени, в сыворотке крови, свидетельствуя о снижении уровня неспецифического иммунитета.

Рассчитанная по этим показателям степень дисбиоза представлена на рис. 7.17, из которого видно, что в печени крыс с БЖР в 3,8 раза увеличивается степень дисбиоза, которая полностью нормализуется после введения «Липосана».

Таблица 7.17

Влияние препарата «Липосан» на активность уреазы, лизоцима и эластазы в печени и в сыворотке крови крыс, получавших безжировую рацион, (М±m)

№№ пп	Группы	Уреазы, нкат/кг(л)	Лизоцим, ед/кг(л)	Эластаза, нкат/кг(л)
Печень				
1	Норма (n=6)	288±95	32±4	306±26
2	БЖР (n=5)	404±127 p>0,05	12±2 p<0,01	308±17 p>0,8
3	БЖР + Липосан (n=5)	79±10 p<0,01; p ₁ <0,01	10±2 p<0,01; p ₁ >0,3	362±21 p>0,05; p ₁ >0,05
Сыворотка крови				
1	Норма (n=6)	1,40±0,25	107±9	134±7
2	БЖР (n=5)	0,66±0,19 p<0,05	88±4 p<0,05	122±5 p>0,05

3	БЖР + Липосан (n=5)	$0,69 \pm 0,17$ $p < 0,05; p_1 > 0,7$	80 ± 4 $p < 0,05;$ $p_1 > 0,05$	141 ± 9 $p > 0,3; p_1 > 0,05$
---	---------------------	--	---	--------------------------------------

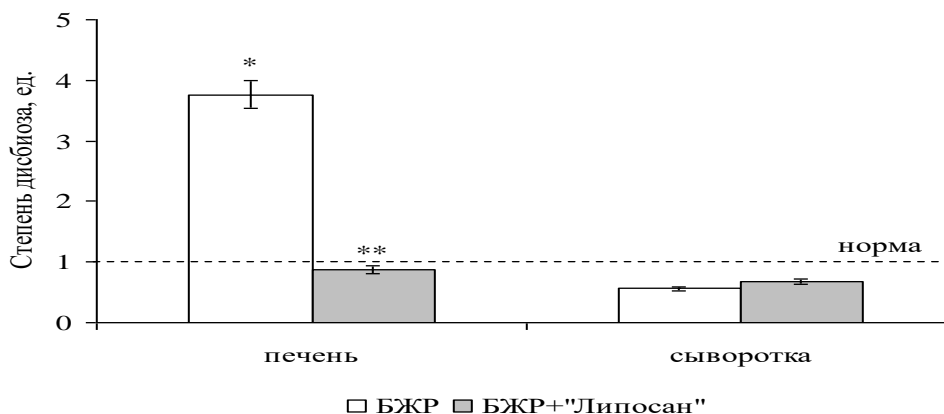


Рисунок 7.17 Влияние препарата «Липосан» на степень дисбиоза (M+m, n=8) в печени и в сыворотке крови крыс (* – в сравнении с нормой; ** – в сравнении с безжировым рационом)

Как видно из таблицы 7.17, БЖР и препарат «Липосан» не оказывают существенного влияния на активность эластазы в печени и в сыворотке крови, тем самым свидетельствуя об отсутствии воспаления у подопытных животных.

Таким образом, проведенные исследования показали, что добавки препарата ПНЖК «Липосан» к БЖР не изменяют показатели прироста живой массы, однако снижают уровень маркера микробного обсеменения уреазы и нормализуют степень дисбиоза в печени. БЖР повышает содержание в печени ТГ, вызывает развитие дисбиоза в этом органе за счет резкого снижения активности лизоцима. Положительное действие БЖР состоит в достоверном снижении уровня ОХ в сыворотке крови.

Учитывая, что в составе «Липосана» низкое содержание жирных кислот, которые депонируются в жировой ткани (олеиновая, стеариновая, пальмитиновая), можно полагать, что прирост живой массы у крыс, получавших «Липосан», происходит не за счет ожирения. Это дает основание рекомендовать его применения для профилактики ожирения и атеросклероза.

Выводы

1. «Квертулин» при экспериментальном стеатогепатите и при системной эндотоксинемии снижает уровень гиперлипидемии, снижает содержание ТГ в печени, оказывает антидисбиотическое и гепатопротекторное действие.

2. «Лизоцим в желатине», оральный гель «Квертгиал» («Квертулин» + гиалуроновая кислота), также как и квертулин, снижают уровень гиперлипидемии и содержание ТГ в печени и оказывают антидисбиотическое и гепатопротекторное действие при экспериментальном метаболическом синдроме.

3. Предложено использовать для профилактики стеатогепатита пищевой продукт высокоолеиновое подсолнечное масло «Оливка», содержащее 85 % олеиновой кислоты и менее 7 % НЖК. Потребление этого масла, помимо технологических преимуществ (стойкость к окислению и термодеструкции) приводит к снижению степени дисбиоза и оказывает гепатопротекторный эффект.

4. Разработана рецептура функциональной диетической добавки, содержащей 5 незаменимых жирных кислот ω -6 ряда ($C_{18:2}$, $C_{20:4}$) и ω -3 ряда ($C_{18:3}$, $C_{20:5}$ и $C_{22:6}$), получившей название «Липосан (витамин F)», на которую оформлены технические условия и получено разрешение МЗУ.

5. Установлено, что ввод «Липосана» в БЖР крыс в количестве 2,5 % от массы корма увеличивает содержание ПНЖК в печени крыс: линолевой в 1,5 раза, линоленовой в 4,5 раза, арахидоновой в 1,2 раза, эйкозапентаеновой и докозагексаеновой в 8 раз, а также снижает степень дисбиоза в 4 раза.

6. Ввод «Липосана» в БЖР крыс в количестве 2,5 % от массы корма увеличивает содержание ПНЖК в липидах сыворотки крови крыс: линолевой в 1,8 раза, линоленовой в 4 раза, эйкозапентаеновой в 8 раз и докозагексаеновой в 10 раз.

7. Соотношение ω -6 ПНЖК к ω -3 ПНЖК в липидах печени и сыворотке крови крыс, получавших БЖР, равно 15,1 и 15,3 соответственно, что

значительно превосходит оптимальный уровень 3-4. Потребление «Липосана» снизило этот показатель для печени и сыворотки до 3,0 и 3,3 соответственно.

Материалы этого раздела опубликованы в следующих работах:

1. Левицкий А. П., Макаренко О. А., Селиванская И. А., Цисельский Ю. В., Демьяненко С. А., Левченко Е. М. Пребиотические свойства полифенолов / Український біохімічний журнал. – 2010. – т. 82, № 4 (додаток 2). – С. 116.
2. Левицкий А. П. Левченко Е. М., Васюк В. Л. Гепатопротекторное действие антидисбиотических препаратов при экспериментальном метаболическом синдроме / Журнал НАМН Украины. – 2014. – т. 20, № 4. – С. 478-482.
3. Гоженко А. И., Левицкий А. П., Левченко Е. М., Ткачук В. В. Влияние лечебно-профилактических препаратов на содержание триглицеридов в печени и сыворотке крови крыс, получавших высокожировую рацион на фоне дисбиоза и иммунодефицита / Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2014. – № 1 (35). – С. 69-74.
4. Левченко Е. М. Влияние незаменимых жирных кислот на жировой обмен и микробиоценоз у животных на безжировом рационе. *Journal of Education, Health and Sport*. – 2015. – т. 5, № 12. – С. 73-83.
5. Gozhenko A. I., Levchenko Ye. M., Levitsky A. P., Гоженко А. И., Левченко Е. М., Левицкий А. П. The hepatoprotective effect of quertulin in rats with disbiosis after high-fat diet / *Journal of Health Sciences*. – 2013. – v. 3, № 9. – P. 339-346.
6. Левицкий А. П., Левченко Е. М., Макаренко О. А. Сравнительное действие кверцетина, инулина и квертулина на состояние печени крыс после оральной аппликации липополисахарида / Вісник морської медицини. – 2013. – № 2 (59). – С. 34-38.

7. Левицкий А. П., Левченко Е. М. Биохимические маркеры воспаления и дисбиоза в печени крыс при экспериментальной эндотоксинемии и воздействии квертулина / Вісник морської медицини. – 2013. – № 1 (58). – С. 64-69.

8. Добавка дієтична «Ліпосан» (вітамін F) / Технічні умови ТУ У 10.8-37420386-002:2015.

9. Патент «Аліментарний засіб профілактики та лікування дисбіотичних захворювань» / А. П. Левицький, І. В. Ходаков, О. М. Левченко, В. В. Ткачук, Ю. А. Левицький, О. А. Макаренко, І. О. Селіванська. – 2015.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) как воспалительно-дистрофическая форма неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), является в настоящее время одной из самых серьезных проблем медицины [1-6, 231]. Число больных НАЖБП в цивилизованных странах составляет от 20 до 30 % населения, из которых почти у половины определяется НАСГ [231, 232]. Завершением развития НАСГ является фиброз печени, переходящий в цирроз либо в гепатоцеллюлярный рак, заканчивающиеся, как правило, летальным исходом [233].

Существующие в настоящее время представления о патогенезе НАСГ (рис.) строятся на его рассмотрении как одного из проявлений таких массовых заболеваний как ожирение [234, 235], сахарный диабет 2 типа [236, 237], атеросклероз [238, 239]. Действительно, у подавляющего числа больных этими болезнями, определяется НАСГ [240, 241].

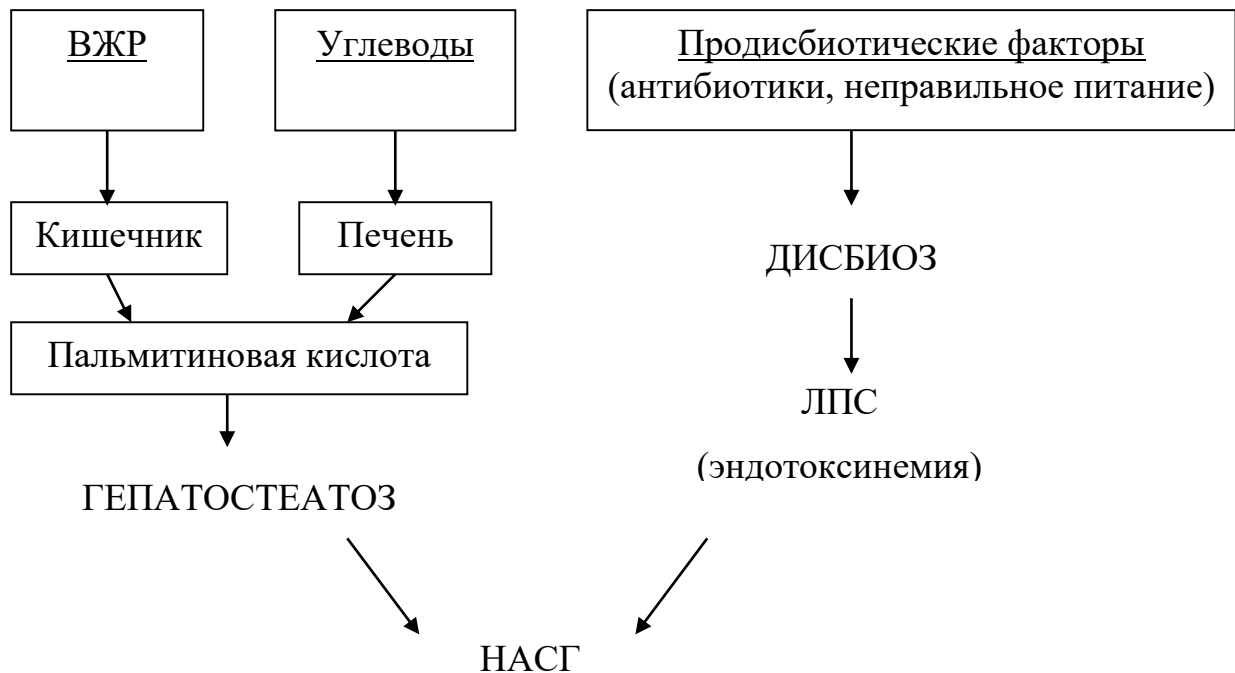


Рисунок Схема патогенеза неалкогольного стеатогепатита

Вместе с тем, есть убедительные доказательства того, что НАСГ является самостоятельным заболеванием, характеризующимся своими особенностями патогенеза и клиники [242, 244].

Полагают, что причиной развития НАЖБП являются геномные, протеомные и метаболомные предикторы при условии повышенного потребления калорий, прежде всего, за счет жиров [285-289]. Считается, что в развитых странах почти 50 % населения имеет повышенную массу тела (индекс ИМТ > 25), а у 15 % определяется ожирение (индекс ИМТ > 30) [290]. Причем за последние 10 лет число больных с ожирением увеличилось в 2 раза [291, 292]. По данным Митченко и др. [290], при массовом обследовании жителей г. Днепропетровска (Украина) более 70 % лиц имели повышенную массу тела, почти у половины из них индекс ИМТ превышал 30, и почти у 70 % было достоверно повышено в сыворотке содержание общего холестерина.

Высокий уровень жирового питания определяет развитие дислипидемии, проявляющейся повышенным содержанием в сыворотке крови триглицеридов и холестерина во фракции ЛПНП, что запускает кардиометаболический синдром, приводящий к атеросклерозу и ишемической болезни сердца [293-296].

Кроме того, высокожировой рацион вызывает апоптическую гибель макрофагов печени (клеток Купфера), играющих, как известно [40], решающую роль в антимикробной функции печени [297, 298].

В связи с ростом данных о роли обитающей в каждом животном организме эндогенной микробиоты в развитии неинфекционных заболеваний, что было гениально предсказано И. И. Мечниковым более 100 лет тому назад [245], на повестку дня ставит рассмотрение явлений дисбиоза как главного звена патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний [246, 247], сахарного диабета 2 типа [248], атеросклероза [249], метаболического синдрома [250] и ожирения [251]. Есть данные о роли кишечного дисбиоза и в развитии НАСГ [252].

По данным многочисленных исследований почти 75-80 % населения Украины имеет все признаки кишечного дисбиоза, на фоне которого и развиваются все, так называемые, «болезни цивилизации», рассматриваемые как неинфекционные, но с обязательным участием эндогенной микробиоты [253, 254].

К сожалению, эти сведения о роли микробного фактора в патогенезе неинфекционных болезней до сих пор не стали аксиомой для врачей и даже ученых-исследователей, что подтверждается низкой эффективностью лечения и непрекращаемым ростом заболеваемости населения Украины [255, 256].

Совсем недавно [299] показано, что у детей с ожирением снижается уровень неспецифического иммунитета и существенно увеличивается степень орального дисбиоза. У крыс, получавших высокожировую рацион, степень дисбиоза возрастает не только в полости рта, но и в слизистой кишечника, и в ткани печени [300]. Высокожировые рационы не только увеличивают уровень триглицеридов в сыворотке крови, но и повышают содержание в крови кишечного эндотоксина (липополисахарида) [301].

Нами показано, что продисбиотическим действием обладают в особой степени жиры, содержащие повышенные количества пальмитиновой кислоты [302].

Использование пробиотических бактерий оказывает положительное действие на липидный профиль сыворотки крови при ожирении, метаболическом синдроме и сердечно-сосудистых заболеваниях [303-305]. В. Я. Шварц рассматривает инфекцию как важнейший фактор патогенеза ожирения [306, 307].

Еще один глобальный аспект патогенеза неинфекционных заболеваний, в том числе и НАСГ, лежит в области питания современного человека. За последнее столетие коренным образом изменился не только образ жизни (снижение физической нагрузки, злоупотребление вредными привычками, экологические и профессиональные вредности, ятрогенные вредности), но и характер питания. Последний состоит в несоответствии калорийности пищи реальным физическим затратам энергии, чрезмерное потребление не только сахаров, но и жиров [257-264]. Современная кулинария все больше становится жировой и люди стали потреблять значительно больше жиров и масел, причем, как правило, не считаясь с их жирнокислотным составом и физиологической функцией отдельных жирных кислот [265, 266].

Появились единичные работы, свидетельствующие о патогенном действии насыщенных жирных кислот, особенно пальмитиновой ($C_{16:0}$), и чрезмерном избытке в пище линолевой кислоты ($C_{18:2}$), составляющей основу подавляющего большинства растительных масел (подсолнечного, кукурузного, соевого) [267].

Все вышеизложенное стало основанием для определения роли высокожирового питания и кишечного дисбиоза в развитии НАСГ, тем более что в последнее время проф. А. П. Левицким обращено внимание на еще одну чрезвычайно важную функцию печени – антимикробную [40, 268]. Печень первая из всех органов человека страдает от кишечного дисбиоза, поскольку весь поток микробов, их токсинов и продуктов микробного метаболизма поступает в этот орган, призванный природой защитить весь организм от патогенного воздействия условно патогенных бактерий, численность которых в кишечнике при дисбиозе возрастает в тысячи и даже миллионы раз [269, 270].

Проведенные нами экспериментальные исследования показали, что высокожировые рационы увеличивают содержание липидов в печени (гепатостеатоз) и в сыворотке крови (гиперлипидемия), причем в наибольшей степени жиры, содержащие большие количества пальмитиновой кислоты, т. е. пальмовое и сливочное масло [271]. Это увеличение содержания жира в печени и в крови значительно усиливается при наличии кишечного дисбиоза [272]. При этом в печени повышается уровень биохимических маркеров воспаления (содержание МДА, активность эластазы) и микробного обсеменения (активность уреазы) при одновременном снижении уровня защитных систем: неспецифического иммунитета (активность лизоцима θ и антиоксидантной системы (активность каталазы). Более того, в сыворотке крови наблюдается существенный рост «печеночных» маркеров: содержание билирубина, активность щелочной фосфатазы и АЛТ.

Важно также отметить, что ВЖР с использованием разных по жирнокислотному составу жиров (подсолнечное, оливковое, пальмовое и сливочное масло) существенно влияют на жирнокислотный состав липидов

печени и сыворотки крови [273]. Оказалось, что избыточное поступление в организм в составе пищевых ТГ тех или иных жирных кислот существенно изменяет жирнокислотный профиль тканевых липидов, в частности, приводит к снижению содержания физиологически важных ω -3 ПНЖК: линоленовой ($C_{18:3}$), эйкозапентаеновой ($C_{20:5}$) и докозагексаеновой ($C_{22:6}$) кислот. Более того, потребление кокосового масла (полностью лишённого ПНЖК) крысами, которых содержали на безжировом рационе, многократно снижает не только содержание в липидах печени и сыворотки крови ПНЖК, но и вызывает дисбаланс ω -6 и ω -3 ПНЖК в пользу первых, что можно рассматривать как проявление липотоксичности [274, 275].

Подавление эндогенного биосинтеза ω -3 ПНЖК в организме человека [276], по-видимому, есть результат чрезмерного жирового питания современного человека. Именно этот алиментарный аспект является чрезвычайно важным для патогенеза НАСГ, поскольку он не только обуславливает развитие генерализованного дисбиоза, но и приводит к системному воспалению, прежде всего в печени.

Учитывая все вышеизложенное, стратегия профилактики НАСГ явилась для нас вполне очевидной:

- 1 – снижение потребления жиров с высоким содержанием пальмитиновой кислоты (прежде всего, пальмового масла);
- 2 – снижение степени дисбиоза за счет применения комплекса антидисбиотических средств (про- и пребиотики, биофлавоноиды, адаптогены);
- 3 – восполнение дефицита ω -3 ПНЖК за счет их дополнительного ввода в состав пищи.

Проведенные нами исследования показали высокую эффективность в плане снижения степени дисбиоза, степени воспаления и сохранения уровня ω -3 ПНЖК высокоолеинового подсолнечного масла «Оливка», содержащего 85 % олеиновой (легко утилизируемой и нетоксичной) жирной кислоты [180, 215].

Для восполнения дефицита ω -3 ПНЖК и восстановления физиологического баланса ω -6 и ω -3 ПНЖК нами была предложена

диетическая добавка «Липосан (витамин F)», содержащая все 5 эссенциальных жирных кислот [277].

Важным разделом нашей работы оказалось использование антидисбиотических средств для снижения негативных последствий высокожирового питания. На основании проведенных экспериментальных исследований было предложено комплексное антидисбиотическое средство «Квертулин», содержащее биофлавоноид кверцетин, пребиотик инулин и цитрат кальция [197]. Разработано несколько фармформ этого средства: порошок, таблетки, мукозо-адгезивный гель и зубной эликсир.

Важно отметить, что на все предложенные нами профилактические средства (пищевой продукт «Оливка», диетическая добавка «Липосан» (витамин F) и «Квертулин») разработаны технические условия и получены официальные разрешения Минздрава Украины на применение в качестве профилактических средств [278-284]. Более того, Научно-производственная ассоциация «Одесская биотехнология» организовала опытно-промышленное производство этих средств.

Мы уверены, что широкое внедрение в медицинскую практику и в систему питания разработанных нами профилактических средств, направленных на коррекцию алиментарного и дисбиотического звеньев патогенеза НАСГ позволит существенным образом решить одну из самых актуальных проблем современной медицины.

ВЫВОДЫ

В работе представлены теоретическое обобщение и решение актуальной научно-практической проблемы и сделан существенный вклад в новое научное направление, которое касается роли жирнокислотного состава пищевых жиров и дисбиоза в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени и неалкогольного стеатогепатита, что позволило патогенетически обосновать и разработать принципы алиментарно-дисбиотической профилактики данного патологического процесса.

1. Высокое содержание жиров в рационе вызывает ожирение, повышенный уровень триглицеридов в сыворотке крови (гипертриглицеридемия) и в печени (гепатостеатоз) на 28% уже через час после употребления жиров с высоким содержанием пальмитиновой кислоты (пальмовое масло и сливочное масло).

2. Высокожировые рационы с пальмовым и сливочным маслами достоверно повышает в печени активность эластазы до 0.42 ± 0.01 мк-кат/кг, что свидетельствует о развитии воспаления (стеатогепатита), обусловленного высоким содержанием пальмитиновой кислоты (до 50, 28% соответственно) в этих жирах.

3. Высокожировые рационы значительно изменяют в липидах печени, сыворотки крови, в висцеральной и подкожной жировой тканях содержание незаменимых жирных кислот, особенно, ω -3 полиненасыщенных жирных кислот во фракции свободных жирных кислот. Так, в сыворотке крови их содержание увеличивается в 1.5 - 2.5 раза, тогда как в печени снижается в 2.5 - 3 раза.

4. Высоко жировой рацион вызывает развитие генерализованного дисбиоза, причем в наибольшей степени пальмовое масло и сливочное масло, содержащие 50 и 28% пальмитиновой кислоты соответственно на фоне возрастания содержания уреазы до 0.3 мк-кат/кг и уменьшения количества лизоцима до 0.1 ед/кг, при одновременном увеличении степени дисбиоза более чем в 4 раза.

5. Сочетание высокожирового рациона с кишечным дисбиозом приводит к развитию в печени дисбиоза и воспаления (неалкогольного стеатогепатита), гиперлипидемии и увеличению содержания свободных жирных кислот в жировой ткани. В печени активируется перекисное окисление липидов, о чем можно судить по увеличению почти в два раза до $56,2 \pm 6,6$ ммоль/кг уровня малонового диальдегида, с одновременным ростом активности эластазы от $0,38 \pm 0,2$ до $0,57 \pm 0,3$ мк-кат/кг ($P < 0,05$). Подобным действием обладает и липополисахарид (кишечный эндотоксин).

6. Высоко жировой рацион снижает больше чем в 3 раза содержание ω -3 полиненасыщенных жирных кислот (линоленовой, эйкозапентаеновой, докозагексаеновой кислот) в печени, в сыворотке крови и в жировой ткани. В опытах на крысах, получавших высоко жировой рацион, установлена способность насыщенных жирных кислот подавлять эндогенный биосинтез ω -3 полиненасыщенных жирных кислот.

7. Нарушение иммунной системы после введения цитостатиков, преднизолона и спленэктомии, вызывают развитие неалкогольного стеатогепатита и гиперлипидемию, которые сопровождаются генерализованным дисбиозом.

8. Лечебные минеральные воды («Поляна Квасова», «Вознесенская»), особенно в сочетании с про- и пребиотиками, оказывают лечебно-профилактическое действие в условиях токсического гепатита, особенно четко продемонстрированное уменьшением эластазы в печени более, чем в два раза.

9. Разработана рецептура комплексного антидисбиотического средства, содержащая кварцетин, инулин и цитрат кальция, и показана его гепатопротекторная эффективность в условиях токсического гепатита и неалкогольного стеатогепатита. Подобной гепатопротекторной эффективностью обладают также другие антидисбиотические средства: кварцетин, инулин, кварцетин, лизоцим.

10. Предложено использовать в питании для профилактики неалкогольного стеатогепатита высокоолеиновое подсолнечное масло, которое содержит 85%

олеиновой кислоты, которая обладает питательными свойствами, и содержит минимальное количество насыщенных жирных кислот (7%).

11. Разработанная рецептура диетической добавки, которая содержит все незаменимые жирные кислоты с оптимальным соотношением ω -6/ ω -3 полиненасыщенных жирных кислот (3:1), показана ее способность повышать в печени и в сыворотке крови содержание эссенциальных жирных кислот, особенно ω -3 ряда (содержание докозагексаеновой кислоты в печени возросло в 4 раза по сравнению с контрольной группой крыс которые находились на безжировом рационе).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для разработки новых диетических средств для профилактики НАСГ предложен экспериментальный метод воспроизведения стеатогепатита путем содержания крыс на диете с уровнем пальмового масла 15 % на фоне кишечного дисбиоза, воспроизводимого с помощью линкомицина, который вводят с питьевой водой из расчета 60 мг/кг в сутки в течение 5 дней. Через 3 недели четко определяются все показатели, свидетельствующие о наличии НАСГ: стеатоз печени, гиперлипидемия, воспалительно-дистрофические процессы в паренхиме почек, достоверный рост уровня печеночных маркеров в сыворотке крови: билирубин, ЩФ, АЛТ.

2. Для профилактики НАСГ рекомендовано в питании заменить обычное высоколинолевое подсолнечное масло на высокоолеиновое подсолнечное «Оливка».

3. Для профилактики и лечения НАСГ рекомендуется использовать диетическую добавку «Липосан (витамин F)» и антидисбиотическое средство «Квертулин», которые рекомендованы для клинических испытаний.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Богомолов П. О. Неалкогольный стеатогепатит: патофизиология, патоморфология, клиника и подходы к лечению. / П. О. Богомолов, Т. В. Павлова // Фарматека. – 2003. – № 10. – С. 31 - 39.
2. Богомолов П. О. Многофакторный генез жировой болезни печени // П. О. Богомолов, А. О. Буеверов // Гепатологический форум. – 2006. – № 3. – С. 4 - 10.
3. Current concepts in the Pathogenesis of Nonalcoholic-Fatty Liver Disease / N. Méndez-Sánchez, M. Arrese, D. Zamora-Valdés [et al.] // Liver Gut. – 2007. – V. 27, № 4. – P. 423-433.
4. Северов М. В. Неалкогольная жировая болезнь печени / М. В. Северов // Клиническая фармакология и терапия. – 2008. – Т. 17, № 1. – С. 11 - 15.
5. Adams L. A. Nonalcoholic fatty liver disease / L. A. Adams, K. D. Lindor // Ann. Epidemiol. – 2007. – V. 17. – P. 863 - 869.
6. Мехтиев С. Н. Неалкогольная жировая болезнь печени: клиника, диагностика и лечение / С. Н. Мехтиев, В. Б. Гриневич, Ю. А. Кравчук [и др.] // Лечащий врач. – 2008. – № 2. – С. 29 - 37.
7. Буеверов А. О. Неалкогольная жировая болезнь печени: обоснование патогенетической терапии / А. О. Буеверов, П. О. Богомолов // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2009. – № 1. – С. 3 - 9.
8. Кособян Е. П. Современные концепции патогенеза неалкогольной жировой болезни печени / Е. П. Кособян, О. М. Смирнова // Сахарный диабет. – 2010. – № 1. – С. 55-64.
9. Северова М. М. Неалкогольный стеатогепатит: диагностика и лечение, основанные на факторах риска / М. М. Северова, Т. Н. Лопаткина, А. В. Русских [и др.] // Фарматека. – 2011. – № 2. – С. 50 - 56.
10. Махов В. М. Жировая дистрофия печени и стеатогепатит – возможность смешанного варианта / В. М. Махов, А. А. Соколова // РМЖ. – Т. 19, № 5. – С. 282 - 287.

11. Гаврилюк О. М. Етіологічні чинники цирозу печінки / О. М. Гаврилюк // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 2 (46). – С. 22 - 25.
12. Фадеенко Г. Д. Роль ожирения как компонента метаболического синдрома в возникновении и прогрессировании неалкогольной жировой болезни печени / Г. Д. Фадеенко, К. А. Просоленко, Е. В. Колесникова // Сучасна гастроентерологія. – 2008. – № 2 (40). – С. 4 - 10.
13. Фадеенко Г. Д. Висцеральное ожирение как префактор атерогенеза у больных с неалкогольной жировой болезнью печени / Г. Д. Фадеенко, Т. А. Соломенцева, К. А. Сытник [и др.] // Сучасна гастроентерологія. – 2015. – № 2 (82). – С. 22 - 27.
14. Черняк О. О. Геномные, протеомные и метаболомные предикторы развития неалкогольной жировой болезни печени у больных с ожирением. Сообщение 1 / О. О. Черняк, Т. Б. Сенцова, И. В. Ворожко [и др.] // Вопросы питания. – 2015. – Т. 84, № 4. – С. 18 - 24.
15. Комшилова К. А. Ожирение и неалкогольная жировая болезнь печени: метаболические риски и их коррекция / К. А. Комшилова, Е. А. Трошина // Ожирение и метаболизм. – 2015. – № 2 (43). – С. 35 - 39.
16. Хворостінка В. М. Патогенетичні аспекти жирової дистрофії печінки при цукровому діабеті 2 типу / В. М. Хворостінка, О. В. Лавриненко, Л. В. Журавльова // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 3 (47). – С. 91 - 97.
17. Кравчун Н. О. Взаємозв'язок неалкогольної жирової хвороби печінки та розвитку судинних ускладнень у хворих на цукровий діабет 2 типу, терапевтичні підходи (огляд літератури) / Н. О. Кравчун, В. В. Полторак, О. В. Земляніцина [та ін.] // Проблеми ендокринної патології. – 2011. – № 1. – С. 67 - 75.
18. Колесникова Е. В. Роль постпрандиальних порушень в розвитку стеатоза печени у пацієнтів с сахарним діабетом 2 типу / Е. В. Колесникова // Одеський медичний журнал. – 2012. – № 2 (130). – С. 35 - 40.
19. Боднар П. М. Неалкогольна жирова хвороба печінки у хворих на цукровий діабет типа 2: патогенез, діагностика та лікування / П. М. Боднар, Г. П.

- Михальчишин, Н. М. Кобиляк // *Эндокринологія*. – 2012. – Т. 17, № 1. – С. 94 - 101.
20. Мансуров Х. Х. Инсулинорезистентность у больных метаболическим синдромом и желчно-каменной болезнью / Х. Х. Мансуров, Г. К. Мироджов, Ф. Х. Мансурова [и др.] // *Клиническая медицина*. – 2005. – Т. 83, № 7. – С. 48 - 51.
21. Корочина И. Э. Гастроэнтерологические аспекты метаболического синдрома. Обзор литературы / И. Э. Корочина // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. – 2008. – Т. 18, № 1. – С. 26 - 37.
22. Звягинцева Т. Д. Метаболический синдром и органы пищеварения / Т. Д. Звягинцева, А. И. Чернобай // *Сучасні медичні технології*. – 2010. – № 2. – С. 110-113.
23. Wiernsperger N. Функция печени и метаболический синдром / N. Wiernsperger // *Діабет. Ожиріння. Метаболічний синдром*. – 2014. – № 1. – С. 37 - 47.
24. Никитин И. Г. Состояние кишечной микрофлоры у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом / И. Г. Никитин, Г. И. Сторожаков, И. Г. Федоров [и др.] // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. – 2002. – № 5. – С. 40-44.
25. Membrez M. Gut microbiota modulation with norfloxacin enhances glucose tolerance in mice / M. Membrez [et al.] // *FASEB J*. – 2008. – V. 22. – P. 2416 - 2426.
26. Omagari K. Effects of a long-term high-fat diet and switching from a high-fat to low-fat, standard diet on hepatic fat accumulation in Sprague-Dawley rats / K. Omagari, S. Kato, K. Tsuneyama [et al.] // *Dig. Diseases and Sci*. – 2008. – V. 53, № 12. – P. 3206 - 3212.
27. Feng J. Mir-21 attenuates lipopolysaccharide-induced lipid accumulation and inflammatory response: potential role in cerebrovascular disease / J. Feng, A. Li, J. Deng [et al.] // *Lipids Health Dis*. – 2014. – № 13. – P. 1-18.
28. Velichko V. I. Development of dysbiosis in tissues of rats fed with a high fat food / V. I. Velichko, V. V. Tkachuk, A. P. Levitsky // *Journal of Health Sciences*. – 2014. – V. 4, №. 12. – P. 84-92.

29. Васюк В. Л. Биохимические показатели состояния печени крыс, получавших высокожировые рационы / В. Л. Васюк, А. И. Гоженко, А. П. Левицкий // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2015. – Т. 4, № 1. – С. 142 - 148.
30. Левицкий А. П. Биофлавоноидные гепатопротекторы / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, Е. М. Левченко [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2014. – 86 с.
31. Xu Research advances in the relationship between nonalcoholic fatty liver disease and atherosclerosis / X. Xu, L. Lu, Q. Dong [et al.] // Lipids in health and disease. – 2015. – V. 14, № 158. – P. 1 - 8.
32. Anderson N. Molecular mechanisms and therapeutic targets in steatosis and steatohepatitis / N. Anderson, J. Bórlak // Pharmacol. Rev. – 2008. – V. 60, № 3. – P. 311 - 357.
33. Михальчук Л. М. Неалкогольна жирова хвороба печінки / Л. М. Михальчук, А. С. Єфімов // Международный эндокринологический журнал. – 2010. – № 2 (26). – С. 71 - 82.
34. Голофеевский В. Н. Важнейшие вопросы патоморфогенеза и лечения неалкогольной жировой болезни печени у больных сахарным диабетом / В. Н. Голофеевский // Врач. – 2013. – № 7. – С. 8 - 11.
35. Буеверов А. О. Патогенетическое лечение неалкогольного стеатогепатита: обоснование, эффективность, безопасность / А. О. Буеверов, П. О. Богомолов, М. В. Маевская // Терапевтический архив. – 2007. – № 8. – С. 88 - 92.
36. Билибин А. Ф. Дисбактериоз, аутоинфекция и их значение в патологии и клинике человека / А. Ф. Билибин // Клиническая медицина. – 1970. – № 2. – С. 7 - 12.
37. Сторожаков Г. И. Патогенетические аспекты фиброгенеза при хронических заболеваниях печени / Г. И. Сторожаков, А. Н. Ивкова // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2009. – № 2. – С. 3 - 10.
38. Бабак О. Я. Фиброз печени: современные представления о механизмах, способах диагностики и лечения / О. Я. Бабак, Е. В. Колесникова, Н. А. Кравченко // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 2 (46). – С. 5 - 17.

39. Uetake Y. High-salt in addition to high-fat diet may enhance inflammation and fibrosis in liver steatosis induced by oxidative stress and dyslipidemia in mice / Y. Uetake, H. Ikeda, R. Irie [et al.] // *Lipids in Health and Disease*. – 2015. – V. 14, № 6. – P. 1 - 8.
40. Левицкий А. П. Пребиотики и проблема дисбактериоза / А. П. Левицкий, Ю. Л. Волянский, К. В. Скидан. – Харьков: ЭДЭНА, 2008. – 100 с.
41. Левицкий А. П. Антимикробная функция печени / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко, Ю. В. Цисельский. – Одесса: КП ОГТ, 2011. – 141 с.
42. Левицкий А. П. Применение антидисбиотических средств в стоматологии / А. П. Левицкий // *Вісник стоматології*. – 2014. – № 4. – С. 80 - 88.
43. Левицкий А. П. Гепато-оральный синдром / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко. – Симферополь, 2012. – 140 с.
44. Левицкий А. П. Влияние квертулина на состояние пародонта крыс с экспериментальным метаболическим синдромом [Электронный ресурс] / А. П. Левицкий, О. А. Глазунов, И. Н. Меладзе // *Journal of Health Sciences*. – 2014. – Т. 4, № 11. – С. 133 - 144. – Режим доступа: <http://www.....>
45. Фурдычко А. И. Пародонтопротекторное действие антидисбиотического гепатопротектора при экспериментальном стеатогепатите / А. И. Фурдычко, С. А. Демьяненко, А. П. Левицкий // *Вісник стоматології*. – 2015. – N 4 (93). – С. 15 - 19.
46. Левицкий А. П. Пародонтопротекторное действие квертулина при экспериментальном иммунодефиците / А. П. Левицкий, Т. В. Томилина, И. И. Соколова // *Вісник стоматології*. – 2013. – N 2. – С. 2 - 6.
47. Левицкий А. П. Сравнительная лечебная эффективность оральных аппликаций мукозальных гелей с про- и пребиотиками у крыс с экспериментальным дисбиозом / А. П. Левицкий, И. А. Селиванская, А. В. Воронкова [и др.] // *Актуальные проблемы транспортной медицины*. – 2013. – N 4 (34). – С. 118 - 123.
48. Левицкий А. П. Влияние квертулина на содержание липидов в печени и сыворотке крови крыс с дисбиозом, получавших высокожировую рацион / А. П.

- Левицкий, В. И. Величко, В. В. Ткачук [и др.] // Вісник морської медицини. – 2013. – N 4 (61). – С. 62 - 66.
49. Винницкая Е. В. Спонтанный бактериальный перитонит и системная воспалительная реакция у больных циррозом печени / Е. В. Винницкая, Л. Б. Лазебник, Г. А. Осипов [и др.] // Терапевтический архив. – 2011. – N 2. – С. 47 - 52.
50. В. Б. Гриневич Новые подходы к лечению хронического системного воспаления и синдрома инсулинорезистентности у больных неалкогольной жировой болезнью печени / В. Б. Гриневич, Е. И. Сас, Ю. А. Кравчук [и др.] // РМА. – 2011. – Т. 19, N 5. – С. 299 - 304.
51. Александрова Р. А. Применение пребиотика «Эубикор» у больных алкогольной болезнью печени / Р. А. Александрова, В. И. Немцов, С. Ю. Ермолов // Клиническое питание. – 2007. - № 1/2. - С. А. 19 (Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Фундаментальные и клинические аспекты: матер. междунар. конгресса, 15 – 16 мая 2007 г., Санкт - Петербург).
52. Михальчишин Г. П. Вплив пробіотикотерапії на рівень прозапальних цитокінів у хворих на цукровий діабет типу 2 з неалкогольною жировою хворобою печінки / Г. П. Михальчишин, П. М. Боднар, Н. М. Кобиляк // Лікарська справа. Врачебное дело. – 2013. – N 2. – С. 56 - 62.
53. Jung J. Y. Onion peel extracts ameliorate hyperglycemia and insulin resistance in high fat diet/streptozotocin-induced diabetic rats / J. Y. Jung, Y. Lim, M. S. Moon [et al.] // Nutr. Metab. (Lond). – 2011. – V. 8. – P. 18.
54. Clark J. M. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in advets / J. M. Clark // J. Clin. Gastroenterol. – 2006. – V. 40, N 1. – P. 5 - 10.
55. J. Ludwig Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo clinic experiences with a hitherto unnamed diseases / J. Ludwig, T. R. Viggiano, D. V. McGill [et al.] // Mayo Clin. Proc. – 1980. – V. 55. – P. 434 - 438.

56. Корнійчук І. Ю. Функціональний стан печінки у хворих на неалкогольний стеатоз печінки та стеатогепатит у динаміці лікування атоксиллом / І. Ю. Корнійчук // Медична хімія. – 2013. – Т. 15, N 1 (54). – С. 140 - 144.
57. Величко В. И. Неалкогольная жировая болезнь печени – дополнительный фактор кардиоваскулярного риска / В. И. Величко, Л. И. Колотвина, Е. В. Саид [и др.] // Вісник морської медицини. – 2013. – N 5 (59). – С. 98 - 99.
58. Кайдашев И. П. NF-κB-сигнализация как основа развития системного воспаления, инсулинорезистентности, липотоксичности, сахарного диабета 2-го типа и атеросклероза / И. П. Кайдашев // Международный эндокринологический журнал. – 2011. – N 3 (35). – С. 35 - 45.
59. Хворостінка В. М. Вплив жирової дистрофії печінки в поєднанні з метаболічним синдромом на особливості перебігу цукрового діабету / В. М. Хворостінка, А. В. Власенко // Международный эндокринологический журнал. – 2007. – N 5 (11). – С. 65 - 70.
60. Кравчун П. Смертельный квартет. Метаболический синдром: этиология, патогенез, клинические проявления / П. Кравчун, О. Шушляпин, С. С. Мажар // Ліки України. – 2005. – N 6. – С. 52 - 55.
61. D. Jelinek A high-fat diet supplemented with fish oil improves metabolic features associated with type 2 diabetes / D. Jelinek, J. J. Castillo, S. L. Arora [et al.] // Nutrition. – 2013. – V. 29, ? 9. – P. 1159 - 1165.
62. Namaguchi M. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease / M. Namaguchi, T. Kojima, N. Takeda [et al.] // Ann. Intern. Med. – 2005. – V. 143. – P. 722 - 728.
63. P. Gupte Non-alcoholic steato-hepatitis in type 2 diabetes mellitus / P. Gupte, A. Amarpurkat, P. Kulshrestha [et al.] // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2004. – V. 19. – P. 854-858.
64. Fan J. G. Fatty liver and the metabolic syndrome among Shanghai adnets / J. G. Fan, J. Zhu, X. J. Li [et al.] // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2005. – V. 20. – P. 1825 - 1832.

- 65.Бабак О. Я. Стан сироваткових маркерів фіброзу печінки при неалкогольній жировій хворобі печінки / О. Я. Бабак, О. В. Колеснікова // Сучасна гастроентерологія. – 2008. – N 3. – С. 9 - 13.
- 66.Михайличенко И. С. Эффективность комплексной терапии в лечении неалкогольного стеатогепатита и профилактике фиброза печени / И. С. Михайличенко // Лікарська справа. Врачебное дело. – 2010. – N 1 - 2. – С. 82 - 86.
- 67.Степанов Ю. М. Гістопатологія стеатозу/стеатогепатиту при хронічних дифузних захворюваннях печінки / Ю. М. Степанов, Ю. А. Гайдар // Журнал НАМН України. – 2015. – Т. 21, N 2. – С. 235 - 240.
- 68.Sanal M. G. The blind men “see” the elephant – the many faces of fatty liver disease / M. G. Sanal // World J. Gastroenterol. – 2008. – V. 14, N 6. – P. 831 - 844.
- 69.Комшилова К. А. Кардиометаболические факторы риска на разных клинико - морфологических стадиях неалкогольной жировой болезни печени у больных абдоминальным ожирением / К. А. Комшилова, Е. А. Трошина, С. А. Бутрова [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2012. – N 3 (32). – С. 20 - 25.
- 70.Belentani S. Prevalence of and risk factors for hepatic steatosis in Northern Italy / S. Belentani [et al.] // Ann. Intern. Med. – 2000. – V. 132, N 1. – P. 112 - 117.
- 71.Nechifor M. Chronic ethanol consumption affects the activity of antioxidant enzymes in the rat liver / M. Nechifor, D. Dinu, I. F. Dumitru [et al.] // Rom. J. Physiol. – 2001. – V. 38, N 1 - 4. – P. 127 - 134.
- 72.Абдурахманов Д. Т. Алкогольный гепатит / Д. Т. Абдурахманов // Клиническая фармакология и терапия. – 2009. – Т. 18, N 1. – С. 12 - 16.
- 73.Прудникова І. В. Оцінка ефективності комбінованого фітозасобу Еукарбону у хворих на неалкогольний стеатогепатит, сполучений з ожирінням та його вплив на показники пілопероксидації та вміст «середніх молекул» у сироватці крові / І. В. Прудникова, В. М. Фролов // Фітотерапія. Часопис. – 2010. – N 1. – С. 23 - 29.

74. Jin R. Amount of hepatic fat predicts cardiovascular risk independent of insulin resistance among Hispanic-American adolescents / R. Jin, N.-A. Le, R. Cleaton [et al.] // *Lipids in Health and Disease*. – 2015. – V. 14, N 39. – P. 1 - 15.
75. Шипулин В. П. Неалкогольный стеатогепатит / В. П. Шипулин // *Therapia. Український медичний вісник*. – 2007. – N 9. – С. 28 - 32.
76. Просоленко К. А. Механизмы участия PPAR α -рецепторов в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени и других компонентов метаболического синдрома / К. А. Просоленко // *Сучасна гастроентерологія*. – 2015. – N 2 (88). – С. 111 - 118.
77. Яковлева Т. Ю. Некоторые биохимические показатели крови и слюны в диагностике фиброза печени и при динамическом наблюдении за его прогрессированием / Т. Ю. Яковлева, Л. В. Коркоташвили, О. В. Корочкина [и др.] // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. – 2006. – Т. 16, N 6. – С. 25 - 29.
78. Yeung E. Fibrinogen production is enhanced in an in-vivo model of non-alcoholic fatty liver disease: an isolated risk factor for cardiovascular events? / E. Yeung, P. Treskes, S. Martin [et al.] // *Lipids in Health and Disease*. – 2015. – V. 14, N 86. – P. 1 - 8.
79. Browning J. D. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury / J. D. Browning, J. D. Horton // *J. Clin. Invest.* – V. 114, N 1. – P. 147 - 152.
80. Medina J. Approach to the pathogenesis and treatment of nonalcoholic steatohepatitis / J. Medina, L. I. Fernandez-Salazar, L. Garcca-Bney [et al.] // *Diabetes Care*. – 2004. – V. 27, N 8. – P. 2057 - 2066.
81. H. Bantel Detection of elevated caspase activation and early apoptosis in liver diseases / H. Bantel, P. Ruck, M. Gregor [et al.] // *Eur. J. Cell. Biol.* – 2001. – V. 80. – P. 230 - 239.
82. Базарный В. В. Диагностическое значение определения гранулоцитарного колониестимулирующего фактора при циррозе печени / В. В. Базарный, Н. В. Гаренских // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2013. – N 5. – С. 3 - 5.

83. Kleiner D. E. Nonalcoholic steatohepatitis, Clinical Research Network, Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease / D. E. Kleiner, E. M. Brunt, M. Van Natta [et al.] // *Hepatology*. – 2005. – V. 41. – P. 1313 - 1321.
84. Nensenkamp A. R. Hepatic steatosis and very low density lipoprotein secretion: the involvement of apolipoprotein E / A. R. Nensenkamp, L. M. Havekas, F. Romijn [et al.] // *Hepatology*. – 2001. – V. 35, N 6. – P. 815 - 823.
85. Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in the development of diabetes: is there a role for adipose tissue and liver? / van der Kallen, M. van Greevenbrock, C. Stehouwer [et al.] // *Apoptosis*. – 2009. – V. 14, N 12. – P. 1424 - 1444.
86. Sears B. The role of fatty acids in insulin resistance / B. Sears, M. Perry // *Lipids in Health and Disease*. – 2015. – V. 14, N 121. – P. 1 - 15.
87. Sanayal A. J. Nonalcoholic steatohepatitis: Associations of insulin resistance with mitochondrial abnormalities / A. J. Sanayal [et al.] // *Gastroenterology*. – 2001. – V. 120. – P. 1183 - 1192.
88. Donnelly K. L. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with non-alcoholic fatty liver disease / K. L. Donnelly, C. I. Smith, S. J. Schwarzenberg [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2005. – V. 115. – P. 1139 - 1142.
89. Венгеровский А. И. Улучшение биоэнергетики гепатопротекторами при экспериментальном ингибировании β -окисления жирных кислот / А. И. Венгеровский, В. А. Хазанов, М. С. Тимофеев // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. – 2007. – N 4. – С. 31 - 34.
90. Milanski M. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus implications for the pathogenesis obesity / M. Milanski, G. Degasperi, A. Coore [et al.] // *J. Neurosci.* – 2009. – V. 29, N 2. – P. 359 - 370.
91. Косыгина А. В. Новое в патогенезе ожирения: адипокины – гормоны жировой ткани / А. В. Косыгина, О. В. Власова // *Проблемы эндокринологии*. – 2009. – Т. 55, N 1. – С. 44 - 50.

92. Ярмыш Н. В. Адипоцитокينات в развитии инсулинорезистентности при ожирении / Н. В. Ярмыш, Н. А. Кравченко, Е. И. Войтенко // Проблемы эндокринной патологии. – 2010. – N 3. – С. 110 - 121.
93. Xu A. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice / A. Xu, Y. Wang, H. Keshaw [et al.] // J. Clin. Invest. – 2003. – V. 112, N 1. – P. 91 - 100.
94. Cupples W. A. Regulation of body weight / W. A. Cupples // Amer. J. Physiol. – 2002. – V. 282, N 5. – P. R1264 - R1266.
95. Schubring C. Leptin, the of gene product, in female health and disease / C. Schubring, W. F. Blum, J. Kratsch [et al.] // Eur. J. Obstet., Gynecol. Reprod. Biol. – 2000. – V. 88, N 2. – P. 121 - 127.
96. Папков Ю. А. Роль лептина и его белковых медиаторов в нейрофизиологии / Ю. А. Папков // Вестник РАМН. – 2005. – N 2. – С. 44 - 48.
97. Arrol S. The effects of fatty acids on apolipoprotein B secretion by human hepatoma cells (HEP G2) / S. Arrol, M. I. Mackness, P. N. Durrington // Atherosclerosis. – 2000. – V. 150, N 2. – P. 255 - 264.
98. Tilg H. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis / H. Tilg, A. M. Dieh // N. Engl. J. M. – 2000. – V. 343. – P. 1467 - 1476.
99. J. M. Hui Beyond insulin resistance in NASH: TNE-alfa or adiponectin? / J. M. Hui, A. Hodge, G. C. Farrell [et al.] // Hepatology. – 2004. – V. 40, N 1. – P. 46 - 54.
100. Яковенко Э. П. Метаболические заболевания печени как системные проявления дисбиоза кишечника / Э. П. Яковенко // Consilium Medicum. – 2005. – N 8. – С. 33 - 35.
101. Crispe I. N. The liver as a lymphoid organ / I. N. Crispe // Ann. Rev. Immunology. – 2009. – V. 27. – P. 147 - 163.
102. S. A. Harrison Vitamin E and vitamin C treatment fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis / S. A. Harrison, S. Tolgerson, P. Hayashi [et al.] // Amer. J. Gastroenterol. – 2003. – V. 98, N 11. – P. 2348 - 2350.

103. Ikura Y. Expression of angio-tensin II type receptor on human cirrotic livers: its relation to fibrosis and portal hypertension / Y. Ikura, U. Ohsawa, N. Shirari [et al.] // *Hepatol. Res.* – 2005. – V. 32, N 1. – P. 107 - 116.
104. Targher G. Relation of nonalcoholic hepatic steatosis to early carotid atherosclerosis in healthy men: role of visceral fat accumulation / G.Targher, L. Bertolini, R. Padovani [et al.] // *Diabetes Care.* – 2004. – V. 27. – P. 2498 - 2500.
105. Schindhelm R. K. Liver alanine aminotransferase, insulin resistance and endothelial dysfunction in normotriglyceridaemic subjects with type 2 diabetes mellitus / R. K. Schindhelm, M. Diamant, S. J. Bakker [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2005. – V. 35, N 6. – P. 369 - 374.
106. Goland S. Cardiac abnormalities as a new manifestation of nonalcoholic fatty liver disease: echo-cardiographic and tissue Doppler imaging assessment / S. Goland, S. Shimoni, T. Zornitzki [et al.] // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2006. – V. 40. – P. 949–955.
107. Wannamethee G. Gamma-glutamyltransferase: determinants and association with mortality from ischemic heart disease and all causes / G. Wannamethee, S. Ebrahim, A. G. Shaper // *Am. J. Epidemiol.* – 1995. – V. 142. – P. 699–708.
108. Targher G. Increased risk of cardiovascular disease in non-alcoholic fatty liver disease: causal effect or epiphenomenon? / G. Targher, F. Marra, G. Marchesini // *Diabetologia.* – 2008. – V. 51. – P. 1947–1953.
109. Ranlov I. Regression of liver steatosis following gastroplasty or gastric bypass for morbid obesity / I. Ranlov [et al.] // *Digestion.* – 1990. – V. 47. – P. 208 – 214.
110. James O. NASH/NAFLD management. AASLD single topic Conference Nonalcoholic steatohepatitis / O. James // *Acta gastro-enterologica Belgica.* – 2002. – V. 64, N 4. – P. 200 - 203.
111. Orlistat treatment in obese, non-alcoholic steatohepatitis patients: A pilot study. AASLD single topic Conference Nonalcoholic steatohepatitis / S. Harris, S. Ramrakhiani, E. M. Brunt [et al.] – NASH. – P. 134.

112. Marchesini G. Metformin in non-alcoholic steatohepatitis / G. Marchesini, M. Brizi, G. Bianchi [et al.] // *Lancet*. – 2001. – V. 358. – P. 893 - 894.
113. Uygun A. Metformin in the treatment of patients with non-alcoholic steatohepatitis / A. Uygun, A. Kadayifci, A. T. Isik [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2004. – V. 19. – P. 537 – 544.
114. Blaszyk H. A Pilot study of metformin as treatment for nonalcoholic steatohepatitis / H. Blaszyk, N. Ferrentino, S. Forsell [et al.] // *Gastroenterology*. – 2005. – V. 122. – P. M1699.
115. Nair S. Metformin in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a pilot open label trial / S. Nair, A. M. Diehl, M. Wiseman [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2004. – V. 20. – P. 23 – 28.
116. Bugianesi E. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease / E. Bugianesi, E. Gentilcore, R. Manini [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 2005. – V. 100. – P. 1082 – 1090.
117. Zhou G. Role of AMP-activated protein kinase in metabolism of metformin action / G. Zhou [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2001. – V. 100. – P. 1167 - 1174.
118. Neuschwander-Tetri B. A. Improved nonalcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with the PPAR-gamma ligand rosigli-tazone / B. A. Neuschwander-Tetri, E. M. Brunt, K. R. Wehmeier [et al.] // *Hepatology*. – 2003. – V. 38. – P. 1008 – 1017.
119. Promrat K. A pilot study of pioglitazone treatment for nonalcoholic steatohepatitis / K. Promrat, G. Lutchman, G. I. Uwaifo [et al.] // *Hepatology*. – 2004. – V. 39. – P. 1888 – 1896.
120. Azuma T. A pilot study of a thiazolidinedione, pioglitazone, in nonalcoholic steatohepatitis / T. Azuma, K. Tomita, S. Kato [et al.] // *Hepatology*. – 2002. – V. 28. – P. 406A.
121. Andersen O. M. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications / O. M. Andersen, K. R. Markham. – Tayler and Francis CRC Press, 2005. – 1256 p.
122. Биофлавоноиды как органопротекторы (кверцетин, корвитин, квертин) /под ред. А. А. Мойбенко. – К.: Наукова думка, 2012. – 274 с.

123. Левицкий А. П. Структура и функция растительных полифенолов / А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2010. – N 5. – С. 18 - 20.
124. Ruzsnyak S. Vitamin P: flavonols as vitamins / S. Ruzsnyak, A. Szent-Gyorgy. – Nature. – 1936. – V. 138, N 3479. – P. 27.
125. Middleton E. Jr. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer / E. Jr. Middleton, C. Kandaswami, T. C. Theoharides // Pharmacol. Rev. – 2000. – V. 52, N 4. – P. 673 - 701.
126. Parr A. J. Reviene: Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile / A. J. Parr, G. P. Bolwell // J. Sci. Food Agric. – 2000. – V. 80. – P. 985 - 1012.
127. Духанин А. С. Актуальные вопросы применения ангиопротекторов / А. С. Духанин, Н. Л. Шимановский // Международный медицинский журнал. – 2015. – Т. 21, N 2 (82). – С. 79 - 85.
128. Poudyal H. Comparison of purple carrot juice and beta-carotene in a high-carbohydrate, high-fat diet-fed rat model of the metabolic syndrome / H. Poudyal, S. Panchal, L. Brown // Br. J. Nutr. – 2010. – V. 104. – P. 1322 - 1332.
129. Baiges I. Lipogenesis is decreased by grape seed proanthocyanidins according to liver proteomics of rats fed a high fat diet / I. Baiges, J. Palmfeldt, C. Blade [et al.] // Mol. Cell Proteomics. – 2010. – V. 9. – P. 1499 - 1513.
130. Wang J. Hypolipidaemic and hypoglycaemic effects of total flavonoids from seed residues of Hippophae rhamnoides L. in mice fed a high-fat diet / J. Wang, W. Zhang, D. Zhu [et al.] // J. Sci. Food Agric. – V. 91. – P. 1446 - 1451.
131. Murase T. Coffee polyphenols suppress diet-induced body fat accumulation by downregulating SREBP-1c and related molecules in C57BL/6J mice / T. Murase, K. Misawa, Y. Minegishi [et al.] // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2011. – V. 300. – P. 122 - 133.
132. Bansal P. Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of the flavonoid rich fraction of Pilea microphylla (L.) in high fat diet streptozotocin-

- induced diabetes in mice / P. Bansal, P. Paul, J. Mudgal [et al.] // *Exp. Toxicol. Pathol.* – 2011. – V. 64. – P. 651 - 658.
133. Mulvihill E. E. Protection from metabolic dysregulation, obesity, and atherosclerosis by citrus flavonoids: Activation of hepatic PGC1- α -mediated fatty acid oxidation / E. E. Mulvihill, M. W. Huff // *PPAR. Res.* – 2012. – V. 8 (57). – P. 142.
134. Ramgopal M. Terminalia paniculata bark extract attenuates nonalcoholic fatty liver via down regulation of fatty acid synthase in high fat diet-fed obese rats / M. Ramgopal, B. S. Kruthika, D. Surekha [et al.] // *Lipids in Health and Disease.* – 2014. – V. 13, N 58. – P. 1 - 16.
135. Wang I. Prevention and treatment effect of total flavonoids in *Stellera chamaejasme* L. on nonalcoholic fatty liver in rats / I. Wang, J. Li, M. Han [et al.] // *Lipids in Health and Disease.* – 2015. – V. 14, N 85. – P. 1 - 9.
136. Фітопрепарат гепафіт у лікуванні хворих на стеатогепатит, сполучений із ожирінням і хронічним некалькульозним холециститом: вплив на перекисне окислення ліпідів та активність ферментів системи антиоксидантного захисту / В. М. Фролов, Т. П. Гарник, І. В. Білоусова [та ін.] // *Ліки України.* – 2007. – Т. 115/116. – С. 63 - 66.
137. Gasaschi A. Intestinal apolipoprotein B secretion is inhibited by the flavonoid quercetin: potential role of microsomal triglyceride transfer protein and diacylglycerolacyltransferase / A. Gasaschi, Q. Wang, K. Dang [et al.] // *Lipids.* – 2002. – V. 37, N 7. – P. 647 - 652.
138. Nakamura Y. Effects of quercetin and rutin on serum and hepatic lipid concentrations, fecal steroid excretion and serum antioxidant properties / Y. Nakamura, S. Ishimitsu, Y. Tonogai // *J. Health Sci.* – 2000. – V. 46, N 4. – P. 229 - 240.
139. Висоцький І. Ю. Роль ендогенних ейкозаноїдів у патогенезі токсичної гепатопатії і фармакотерапія деякими лікарськими засобами / І. Ю. Висоцький // *Ліки.* – 2004. – N 3-4. – С. 74 - 81.

140. Гордієнко А. Д. Ліпофен – новий вітчизняний фосфоліпідний гепатопротектор природного походження. Повідомлення 1. Вплив ліпофену на функціональну активність мікосом із печінки щурів / А. Д. Гордієнко, В. В. Левченко, О. В. Кудокоцева // Фізіологічно активні речовини. – 2000. – N 1 (29). – С. 64 - 66.
141. Шеремета Л. М. Дослідження впливу ліпосомального кверцетину («Ліпофлавоноу») на активність процесів перекисного окислення ліпідів та стан системи антиоксидантного захисту при експериментальному парацетомоловому гепатиті / Л. М. Шеремета // Фармацевтичний журнал. – 2007. – N 4. – С. 88 - 92.
142. Therianlt A. Modulation of hepatic lipoprotein synthesis and secretion by toxifolin, a plant flavonoid / A. Therianlt, Qi. Wang, S. C. Van Inderstine [et al.] // J. Lipid Res. – 2000. – V. 41, N 12. – P. 1969 - 1979.
143. Oz H. S. Green-tea polyphenols downregulate cyclooxygenase and BCl-2 activity in autaminophen-induced hepatotoxicity / H. S. Oz, T. S. Chen // Dig. Dis. Sci. – 2008. – V. 8, N 4. – P. 28 - 30.
144. T. Murase Beneficial effects of tea caterhins on diet-induced obesity: Stimulation of lipid catabolism in the liver / T. Murase, A. Nagasawa, J. Suzuki [et al.] // Int. J. Obesity. – 2002. – V. 26, N 11. – P. 1459 - 1464.
145. G. Ji. Anti-inflammatory effect of genistein on non-alcoholic steatohepatitis rats induced by high fat diet and its potential mechanisms / G. Ji, Q. Yang, J. Hao [et al.] // Int. Immunopharmacol. – 2011. – V. 11. – P. 762 - 768.
146. Huang C. Neonatal exposure to genistein ameliorates high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats / C. Huang, X. Qiao, B. Dong // Br. J. Nutr. – 2011. – V. 106. – P. 105 - 113.
147. Белоусов Ю. Б. Фитопрепараты и печень / Ю. Б. Белоусов, К. Г. Гуревич // Фарматека. – 2006. – N 1. – С. 85 - 88.
148. Харченко В. В. Основні механізми дії ліпосомального кверцетину в лікуванні хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки в поєднанні з

- гіпертонічною хворобою / В. В. Харченко // Фітотерапія. Часопис. – 2009. – N 2. – С. 14 - 17.
149. Макаренко О. А. Современные представления о развитии метаболического синдрома и его коррекция биофлавоноидами / О. А. Макаренко, Л. Б. Цевух, А. П. Левицкий // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2015. –Т. 2 (41-II). – N 3. - С. 24 - 31.
150. Доркина Е. Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений / Е. Г. Доркина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2004. – Т. 67, N 6. – С. 41 - 44.
151. Катикова О. Ю. Гепатопротекторное действие препаратов растительного происхождения / О. Ю. Катикова, Я. В. Костин, В. С. Тишкин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65, N 1. – С. 41 - 43.
152. Колеснікова О. В. Особливості перебігу неалкогольної жирової хвороби печінки у пацієнтів з метаболічним синдромом / О. В. Колеснікова, К. О. Просоленко, О. Г. Курінна // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія : Медицина. – 2007. – Вип. 31. – С. 25-28.
153. Duman D. G. Effects of pentoxifilline on TNF- α production by peripheral blood mononuclear cells in patients with nonalcoholic steatohepatitis / D. G. Duman, J. Ozdemir, E. Brifben [et al.] // Dig. Dis. Sci. – 2007. – V. 52, N 10. – P. 2520 - 2524.
154. Патент на КМ N 31012 (UA), МПК⁶ А61Р 31/00. Спосіб моделювання дисбіозу (дисбактеріозу) / А. П. Левицький, І. О. Селіванська, Ю. В. Цисельський [та ін.]. – N u200711609; заявлено 22.10.2007; опубл. 25.03.2008, Бюл. № 6.
155. Новик Г. И. Продукция гидролаз и антибиотикорезистентность молочнокислых и бифидобактерий / Г. И. Новик, Н. И. Астапович, Н. Е. Рябая // Прикладная биохимия и микробиология. – 2007. – Т. 43, № 2. – С. 184 - 192.
156. Левицкий А. П. Влияние липополисахарида Escherichia coli на степень кишечного дисбиоза и на состояние сетчатки глаза крыс / А. П. Левицкий, В. В.

- Вит, Ю. В. Цисельский [и др.] // Мікробіологія і біотехнологія. – 2010. – № 2 (10). – С. 67 - 74.
157. Левицький А. П. Лікувально-профілактична дія муко-адгезивних плівок з лізоцимом на слизову оболонку порожнини рота після аплікацій ліпополісахариду / А. П. Левицький, І. І. Романовська, С. С. Декіна [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2014. – N 4. – С. 9 - 13.
158. Vasyuk V. L. Состояние печени крыс с преднизолоновым иммунодефицитом / V. L. Vasyuk, A. I. Gozhenko, A. P. Levitsky // Journal of Health Sciences. – 2014. – Т. 4, N 8. – С.181-188. ??????????
159. Дроговод С. М. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холеспазмолитической и гепатопротекторной активности новых лекарственных средств / С. М. Дроговод, С. И. Сальникова, Н. П. Скакун [и др.]. – К.: ФКМЗ Украины, 1994. – 46 с.
160. Загайко А. Л. Зміни активності систем регуляції апетиту при хронічному соціальному стресі та експериментальному метаболічному синдромі / А. Л. Загайко, Л. М. Вороніна, К. В. Стрельченко // Медична хімія. – 2006. – Т. 8, № 3. – С. 29-34.
161. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose / Council of Europe – Strasbourg, 18.03.1986 1986. – 52 p.
162. Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч. 1 / под ред. М. А. Базарнова. – К.: Вища школа, 1981. – 55 с.
163. Арутюнян Н. С. Лабораторный практикум по химии жиров / Н. С. Арутюнян, Е. А. Аришева. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 276 с.
164. Інструкція до набору реактивів для визначення тригліцеридів у сироватці і плазмі крові ензиматичним колориметричним методом / ТУ У 24.4-24607793-020-2003.
165. Холестерин. Ферментативно-фотометрический метод с холестерин-оксидазой (пероксидазой): РТ МД11-15796482-001:2003.

166. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / под ред. Н. У. Тец. – М.: Лабинформ, 1997. – С. 128, 459-460.
167. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А. М. Горячковский. - 3-е изд. - Одесса: Экология, 2005. - 616 с.
168. Гаврикова Л. М. Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой одонтогенной инфекцией челюстно-лицевой области / Л. М. Гаврикова, И. Т. Сегень // Стоматология. – 1996. – Спец. Выпуск. – С. 49-50.
169. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.
170. Левицкий А. П. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов: методические рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.
171. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66 - 68.
172. Гирич С. В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гирич // Лабораторная диагностика. – 1999. – № 4. – С. 45 - 46.
173. Левицкий А. П. Методы исследования жиров и масел / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. В. Ходаков. – Одесса: КП ОГТ, 2015. – 32 с.
174. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
175. Левицкий А. П. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2010. – 16 с.
176. Патент на КМ № 43140 (UA), МПК⁶ G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А. П., Деньга О. В., Селіванська І. О. [та ін.]. – N u200815092; заявлено 26.12.2008; опубл. 10.08.2009, Бюл. № 15.

177. Левицкий А. П. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – К.: ГФЦ, 2007. – 22 с.
178. Левицкий А. П. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга [и др.]. – К.: ГФЦ, 2005. – 50 с.
179. Левицкий А. П. Идеальная формула жирового питания / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2002. – 65 с.
180. Титов В. Н. Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина / В. Н. Титов, Д. М. Лисицын. – Тверь: Триада, 2006. – 672 с.
181. Левицкий А. П. Оливка, уникальное подсолнечное масло, аналог оливкового / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2013. – 28 с.
182. Лобода М. В. Мінеральні води Закарпаття. Питне лікуване використання / М. В. Лобода, П. П. Киртич (ред.). – Ужгород: Іва, 1997. – С. 12-45, 123-156.
183. Бабов К. Д. Особенности применения маломинерализованной хлоридной натриевой минеральной воды в восстановительном лечении больных с наиболее распространенными заболеваниями внутренних органов / К. Д. Бабов, Т. А. Беличенко, Е. М. Некипелова [и др.] // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 1999. – № 1. – С. 27 - 30.
184. Філак Ф. Г. Мінеральна вода «Поляна купіль» у лікуванні хворих на хронічний коліт / Ф. Г. Філак // Медична реабілітація, курортологія і фізіотерапія. – 1999. – № 1. – С. 52 - 53.
185. Колесников О. Л. К вопросу о механизмах иммуотропного действия питьевых минеральных вод / О. Л. Колесников, Г. А. Селянина, И. И. Долгушин [и др.] // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2002. – № 3. – С. 15 - 18.
186. Алексеенко Н. А. Моделирование состояния хронического стресса для изучения стресс-протекторных свойств природных лечебных ресурсов / Н. А.

- Алексеевко, С. Г. Гуца, А. В. Иванова [и др.] // Медична реабілітація, курортологія і фізіотерапія. – 2010. – № 3. – С. 17 - 20.
187. Доркина Е. Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений / Е. Г. Доркина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2004. – Т. 67, № 6. – С. 41 - 44.
188. Місюрьова С. В. Виявлення гепатопротекторної активності флавонів, флавонолів і флаванонів на моделі гострого ураження печінки тетрахлорметаном / С. В. Місюрьова, І. А. Зупанець, І. О. Журавель [та ін.] // Вісник фармації. – 2004. – № 3. – С. 66 - 71.
189. Mandal A. K. Hepatoprotective activity of liposomal flavonoid against arsenite-induced liver fibrosis / A. K. Mandal, S. Das, M. K. Basu [et al.] // J. Pharmacol. Experim. Therapeutics. – 2007. – V. 320, № 3. – P. 994 - 1001.
190. Panchal S. K. Rutin attenuates metabolic changes, nonalcoholic steatohepatitis, and cardiovascular remodeling in high-carbohydrate, high-fat diet-fed rats / S. K. Panchal, H. Poudyal, T. V. Arumugam [et al.] // J. Nutr. – 2011. – V. 141. – P. 1062 -1069.
191. Kitano-Okada T. Anti-obesity role of adzuki bean extract containing polyphenols: in vivo and in vitro effects / T. Kitano-Okada, A. Ito, A. Koide [et al.] // 2012. – V. 92. – P. 2644 - 2651.
192. Wigg A. J. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia and tumor necrosis factor- α in a pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis / A. J. Wigg, J. G. Robert-Thompson, R. B. Dymock // GUT. – 2001. – V. 48. – P. 206 - 211.
193. Гарник Т. П. Динаміка показників клінічної ланки імунітету у хворих на неалкогольний стеатогепатит при застосуванні сучасного комбінованого фітозасобу Імупрету / Т. П. Гарник, В. М. Фролов, М. О. Пересадін [та ін.] // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т. 5, № 3. – С. 197 - 202.
194. Caesar R. Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling / R. Caesar, V. Tremaroli, P. Kovatcheva-Datchary [et al.] // Cell Metab. – 2015. – V. 22 (10). – P. 1 - 11.

195. Смірнов О. Флавоноїди рутин і кверцетин. Біосинтез, будова, функції / О. Смірнов, О. Косик // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2011. – Вип. 56. – С. 3 - 11.
196. Flamm G. Inulin and oligofructose as dietary fiber: A review of the evidence / G. Flamm, W. Glinsmann, D. Kritchevsky [et al.] // Crit Rev. Food Sci. Nutr. – 2001. – V. 41, N 5. – P. 353 - 362.
197. Чекман И. Препараты кальция: фармакодинамическая активность / И. Чекман, Л. Казак // Вісник фармакології та фармації. – 2004. – N 4. – С. 26 - 28.
198. Левицкий А. П. Квертулин: витамин Р, пребиотик, гепатопротектор / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2012. – 20 с.
199. Wang X. Endotoxins: structure, function and recognition. Seria: Subcellular Biochemistry / ed. by: X. Wang, P. Quinn. – Springer, 2010. – V. 53. - 415 p.
200. Созинов А. С. Возможность участия эндотоксина грамотрицательных бактерий в патогенезе повреждения печени при вирусных гепатитах / А. С. Созинов // БЭБИМ. – 2002. – Т. 133, N 3. – С. 227 - 230.
201. Яковлев М. Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека / М. Ю. Яковлев // Физиология человека. – 2003. – Т. 29, N 4. – С. 98 - 109.
202. Рябиченко Е. В. Роль кишечной бактериальной аутофлоры и ее эндотоксина в патологии человека / Е. В. Рябиченко, В. М. Бондаренко // ЖМЭИ. – 2007. – N 3. – С. 103 - 111.
203. Петухов В. А. Дисбиоз, эндотоксиновая агрессия, нарушение функций печени и дисфункция эндотелия в хирургии. Современный взгляд на проблему / В. А. Петухов // Трудный пациент (Архив). – 2006. – N 4. – С. 10 - 16.
204. Новак В. Л. Синдром ендогенної інтоксикації, сепсис і поліорганна недостатність: патофізіологічні та клінічні аспекти проблеми (огляд літератури) / В. Л. Новак, О. М. Оборін // Журнал АМН України. – 2009. – Т. 15, N 2. – С. 263 - 275.

205. Vardar-Sengul S. Effects of selective cyclooxygenase-2 inhibitor and omega-3 fatty acid on serum interleukin-1 beta and C-reactive protein levels in rats / S. Vardar-Sengul, N. Buduneli, F. Buduneli [et al.] // *J. Periodontol.* – 2006. – V. 77, N 4. – P. 657 - 663.
206. Sawaki K. Proteomic analysis of Lipopolysaccharide-treated submandibular gland in rat / K. Sawaki, T. Shinomiya, M. Okubo [et al.] // *Bull. Tokyo Dent. Coll.* – 2011. – V. 52, N 1. – P. 31 - 37.
207. Мисула І. Р. Перебіг пародонтиту при гіпоергічному та гіперергічному типах запальної реакції на фоні адреналинової міокардіопатії / І. Р. Мисула, І. О. Суховолець // *Медична хімія.* – 2013. – Т. 15, N 3 (56). – С. 27 - 30.
208. Nakaо A. Changes of circulating blood endotoxin analyzed by quantitative assay after intravenous administration endotoxin / A. Nakaо, M. Shimohara // *Jpn. J. Gastroenterol.* – 1985. – V. 82. – P. 296-300.
209. Левицкий А. П. Стоматогенная эндотоксинемия / А. П. Левицкий // *Журнал НАМН Украины.* – 2013. – Т. 19, N 4. – С. 490 - 493.
210. Parlesak A. Parlesak A. IgA against gut-derived endotoxins: does it contribute to suppression of hepatic inflammation in alcohol-induced liver disease? / A. Parlesak, C. Schafer, C. Bode // *Dig. Dis. Sci.* – 2002. – V. 47, N 4. – P. 760 - 766.
211. Панченко Л. Ф. Механизм антиэндотоксиновой защиты печени / Л. Ф. Панченко, С. В. Пирожков, Н. Н. Теремиліна [и др.] // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* – 2012. – N 2. – С. 62 - 69.
212. Шухтін В. В. Патогенез уражень шкіри у щурів з імунодефіцитним станом / В. В. Шухтін, А. І. Гоженко, А. П. Левицький // *Фізіологічний журнал.* – 2013. – Т. 59, N 4. – С. 63 - 66.
213. Губич О. И. Биохимия простагландинов группы А (обзор) / О. И. Губич, М. В. Шолух // *Биохимия.* – 2006. – Т. 71, Вып. 3. – С. 293 - 304.
214. Титов В. Н. Изоферменты стеарил-коэнзим А-десатуразы и действие инсулина в свете филогенетической теории патологии. Олеиновая жирная кислота в реализации биологических функций трофологии и локомоции / В. Н. Титов // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2013. – Т 11. – С. 16 - 26.

215. Титов В. Н. Регуляция перекисного окисления *in vivo* как этап воспаления. Олеиновая кислота, захватчики активных форм кислорода и антиоксиданты / В. Н. Титов, Д. М. Лисицын // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 6. – С. 3-12.
216. Олія соняшникова «Оливка»: ТУ У 15.4-13903778-36-2002. - Висновок МОЗУ № 5.10/27499 від 26.07.2002 р.
217. Патент на КМ №..... (UA). МПК⁹..... Аліментарний спосіб профілактики та лікування дисбіотичних захворювань / Левицький А. П., Ходаков І. В., Левченко О. М. [та ін.]. – № и 2015.....; заявлено.....; опубліковано....., Бюл. №.....
218. Wall R. Fatty acids from fish: anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids / R. Wall, R. P. Ross, G. F. Fitzgerald [et al.] // Nutr. Rev. – 2010. – V. 68, № 2. – P. 280 - 289.
219. Гладышев М. И. Незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты и их пищевые источники для человека / М. И. Гладышев // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2012. – Т. 4, № 5. – С. 352 - 386.
220. Taltavvuel N. Eicosapentaenoic acid/docosahexaenoic acid 1:1 ratio improves histological alterations in obese rats with metabolic syndrome / N. Taltavvuel, M. Muñoz-Cortés, L. Lluís [et al.] // Lipids in Health and Disease. – 2014. – V.13, № 31. – P. 1 - 26.
221. Mason J. K. α -linolenic acid and docosahexaenoic acid, alone and combined with trastuzumab, reduce HER2-overexpressing breast cancer cell growth but differentially regulate HER2 signaling pathways / J. K. Mason, S. Klair, S. Kharotia [et al.] // Lipids in Health and Disease. – 2015. – V. 14, № 91. – P. 1-10.
222. Титов В. Н. Олеиновая жирная кислота, олеиновые, линолевые и линоленовые липопротеины низкой плотности / В. Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 6. – С. 3 - 13.
223. Сердюк А. М. Профілактика неінфекційних захворювань, що пов'язані зі способом життя, особливостями харчування та фізичною активністю, – вагомий напрям національної стратегії охорони здоров'я

- населення України / А. М. Сердюк, Н. С. Полька, М. П. Гуліч // Журнал АМН України. – 2010. – Т. 16, № 2. – С. 299 - 306.
224. Chicco A. J. Linoleate-rich high-fat diet decreases mortality in hypertensive heart failure rats compared with lard and low-fat diets / A. J. Chicco, G. Sparague, S. McCune [et al.] // Hypertension. – 2008. – V. 52, N 3. – P. 549 - 555.
225. Шуховська А. С. Корекція порушень кардіодинаміки при експериментальному діабеті за допомогою ω -3 поліненасичених жирних кислот / А. С. Шуховська, А. Н. Шиш, М. О. Кузьменко // Фізіологічний журнал. – 2013. – Т. 53, N 2. – С. 100 - 103.
226. Гупіна Л. М. Ефективність застосування ω -3 поліненасичених жирних кислот за фізичних навантажень / Л. М. Гупіна, І. С. Чекман, Т. Ю. Небесна [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2013. – Т. 53, N 1. – С. 68 - 77.
227. Hamazaki K. Fish oil reduces tooth loss mainly through its anti-inflammatory effects? / K. Hamazaki, M. Itomura, S. Sawazaki [et al.] // Med. Hypothesis. – 2006. – V. 67, N 4. – P. 868 - 870.
228. L. Amato Amato L. Integrazione dietetica con i grassi polinsaturi ω -3 nell'acne volgare / L. Amato, S. Berti, P. Fabbri // Dermatol. Clin. – 2008. – V. 28, N 1-2. – P. 15 - 18.
229. Ларёва Н. В. Дисбаланс жирных кислот и формирование дисфункции эндотелия у женщин в постменопаузе / Н. В. Ларёва, А. В. Говорин, Е. В. Лузина // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – N 8. – С. 11-14.
230. Астраханцева И. В. Современная антицитокиновая терапия аутоиммунных заболеваний / И. В. Астраханцева, Г. А. Ефимов, М. С. Друцкая [и др.] // Биохимия. – 2014. – Т. 79, Вып. 12. – С. 1605 - 1616.
231. Титов В. Н. Роль пальмитиновой жирной кислоты в инициации гипертриглицеридемии, гиперхолестеринемии, атеросклероза и атероматоза / В. Н. Титов, Т. А. Рожкова, В. А. Амелюшкина [и др.] // Международный медицинский журнал. – 2015. – Т. 21, N 2 (82). – С. 5 - 14.

232. Xu X. Research advances in the relationship between nonalcoholic fatty liver disease and atherosclerosis / X. Xu, L. Lu, Q. Dong [et al.] // *Lipids in Health and Disease*. – 2015. – V. 14, N 158. – P. 1 - 8.
233. Lonardo A. Nonalcohol fatty liver disease: a precursor of the metabolic syndrome / A. Lonardo, S. Ballestri, G. Marchesini [et al.] // *Dig. Liver Dis*. – 2015. – V. 47, N 3. – P. 181 - 190.
234. Комкова И. И. Поиск новых решений в лечении алкогольной болезни печени / И. И. Комкова, П. Е. Ткаченко, М. В. Маевская // *Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии*. – 2013. – N 4. – С. 27 - 34.
235. Bardon M. Obesity and colorectal cancer / M. Bardon, A. N. Barkun, M. Martel // *Gut*. – 2013. – V. 62, N 6. – P. 933 - 947.
236. Zhou Yu-Hao. Влияние препаратов для лечения ожирения на факторы кардиоваскулярного риска: систематический обзор и метанализ рандомизированных контролируемых клинических исследований / Yu-Hao Zhou, Xiu-Qiang Ma, Cheng Wu [et al.] // *Международный эндокринологический журнал*. – 2014. – N 2 (58). – С. 99 - 111.
237. Михальчишин Г. П. Вплив пробіотикотерапії на клініко-біохімічні та інструментальні показники неалкогольної жирової хвороби печінки у хворих на цукровий діабет типу 2 / Г. П. Михальчишин, П. М. Боднар, Н. М. Кобиляк // *Международный эндокринологический журнал*. – 2014. – N 4 (60). – С. 49 - 56.
238. Титов В. Н. Клиническая биохимия гиполипидемической терапии и механизмы действия статинов, жирных кислот, статины и сахарный диабет / В. Н. Титов // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2014. – N 2. – С. 4-15.
239. Фадеенко Г. Д. Ранние признаки атеросклероза у больных с неалкогольной жировой болезнью печени / Г. Д. Фадеенко, Т. А. Соломенцева, И. Э. Довганюк [и др.] // *Сучасна гастроентерологія*. – 2014. – N 4 (78). – С. 32-37.
240. Титов В. Н. Профилактика атеросклероза. Позиционная специфичность триглицеридов, липазы крови, особые липиды молока, модификация жирных кислот растительных масел и животных жиров / В. Н.

- Титов, В. В. Крылин, Ю. К. Ширяева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – N 3. – С. 3 - 13.
241. Титов В. Н. Единение патогенеза синдрома резистентности к инсулину и неалкогольной жировой болезни печени. Нарушение метаболизма жирных кислот и триглицеридов / В. Н. Титов, К. В. Иванова, П. П. Малышев [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – N 11. – С. 3 - 12.
242. Титов В. Н. Совершенство биологии и не преодоленные в филогенезе несоответствия гуморальной регуляции. Единый алгоритм патогенеза «метаболических пандемий» – болезней цивилизации / В. Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – N 8. – С. 4 - 12.
243. Kotronen A. Fatty liver: a novel component of the metabolic syndrome / A. Kotronen, H. Yki-Jarvinen // *Arterioscler. Thromb Vasc. Bid.* – 2008. – V. 28, N 1. – P. 27 - 38.
244. Zhukova N. V. Effects of the prolonged High-fat diet on the fatty acid metabolism in rat blood and liver / N. V. Zhukova, T. P. Novgorodtseva, I. K. Denisenko // *Lipids in Health and Disease.* – 2014. – V. 13, N 49. – P. 1 - 8.
245. Титов В. Н. Синдром транслокации, липополисахариды бактерий, нарушения биологических реакций воспаления и артериального давления (лекция) / В. Н. Титов, С. Ф. Дугин // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – N 4. – С. 21 - 37.
246. Мечников И. И. Этюды оптимизма / И. И. Мечников. – М.: Наука, 1988. – 328 с.
247. Шендеров Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т. 1. Микрофлора человека и животных и ее функции / Б. А. Шендеров.– М.: Грантъ, 1998. – 416 с.
248. Алибек К. Инфекция как фактор риска развития атеросклероза: современные представления и перспективы лечения / К. Алибек, А. Пашкова // Лікарська справа. Врачебное дело. – 2007. – N 3. – С. 3 - 13.
249. Левицкий А. П. Дисбиоз, диабетическая ретинопатия и пребиотики / А. П. Левицкий, Ю. В. Цисельский. – Одесса: КП ОГТ, 2012. – 197 с.

250. Bengmark S. Gut microbiota, immune development and function / S. Bengmark // *Pharmacol. Res.* – 2013. – V. 69, N 1. – P. 87 - 113.
251. Титов В. Н. Метаболический синдром, физико-химические и биологические основы патогенеза, формирования симптомов, диагностики и лечения / В. Н. Титов // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2005. – N 9. – С. 10 - 15.
252. Бондаренко В. М. Роль условно-патогенных бактерий кишечника в полиорганной патологии человека / В. М. Бондаренко. – М.: Триада, 2007. – 121 с.
253. Харченко В. В. Вплив ліпофлавонолу та артіхону на вміст циклічних нуклеотидів у крові хворих на неалкогольний стеатогепатит, сполучений з дисбіозом кишечника та холестерозом жовчного міхура / В. В. Харченко // *Український медичний альманах.* – 2009. – Т. 12, N 2. – С. 184 - 187.
254. Янковский Д. С. Место дисбиоза в патологии человека / Д. С. Янковский, Р. А. Моисеенко, Г. С. Дымент // *Современная педиатрия.* – 2010. – N 1. – С. 154 - 167.
255. Дисбиозы и современные подходы к их профилактике / Д. С. Янковский, В. П. Ширококов, Р. А. Моисеенко [и др.] // *Современная педиатрия.* – 2010. – N 3. – С. 143 - 151.
256. Корнацький В. М. Проблеми стану здоров'я населення України в сучасних економічних умовах / В. М. Корнацький // *Український медичний часопис.* – 2001. – N 3 (23). – С. 45 - 47.
257. Фойгт Н. А. Загальні тенденції смертності та тривалості життя в Україні в умовах соціально-економічної трансформації / Н. А. Фойгт // *Журнал практ. лікаря.* – 2002. – N 3. – С. 6 - 10.
258. Wada O. Correlation between changes in food and national nutrition and prevalence of diseases / O. Wada // *Asian Med. J.* – 2000. – V. 43, N 11. – P. 509-516.
259. Доценко В. А. Теоретические и практические проблемы питания здорового и больного человека / В. А. Доценко // *Вопросы питания.* – 2004. – N 6. – С. 36 - 39.

260. Ткаченко Е. И. Питание, микробиоценоз и интеллект человека / Е. И. Ткаченко, Ю. П. Успенский. – С-Пб.: Спецлит, 2006. – 590 с.
261. Шендеров Б. А. Роль персонального функционального питания в современных программах медицины антистарения / Б. А. Шендеров // Вестник восстановительной медицины. – 2009. – N 3. – С. 9 - 17.
262. Павловская Е. В. Диетотерапия при заболеваниях печени у детей / Е. В. Павловская, Т. В. Строкова, Н. В. Топильская [и др.] // Вопросы питания. – 2009. – Т. 78, N 5. – С. 11-19.
263. Ткаченко Е. И. Состояние науки о питании в XXI веке. От теории сбалансированного питания к холистической теории / Е. И. Ткаченко // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2009. – N 2. – С. 154-160.
264. Спиричев В. Б. Научное обоснование применения витаминов в профилактических и лечебных целях. Сообщение 1. Недостаток витаминов в рационе современного человека: причины, последствия и пути коррекции / В. Б. Спиричев // Вопросы питания. – 2010. – Т. 79, N 5. – С. 4 - 14.
265. Мазо В. К. Обогащенные и функциональные пищевые продукты: сходство и различие / В. К. Мазо, В. М. Коденцова, О. А. Вржесинская [и др.] // Вопросы питания. – 2012. – Т. 81, N 1. – С. 63 - 68.
266. Levitsky A. P. Fatty food, fatty acids, Healthy sunflower olive / A. P. Levitsky, I. L. Potapova // Intern. Journ. Food a Nutrition sciences. – 2015. – V. 4, Iss. 3. – P. 15 - 20.
267. Tkachuk V. V. Влияние разных пищевых жиров на уровень липидов крови крыс / V. V. Tkachuk, V. I. Velichko, A. P. Levitsky // Journal of Health Sciences. – 2014. – Т. 4, N 11. – С. 377 - 385.
268. Solinas G. Saturated fatty acids inhibit induction of cusulin gene transcription by INK-mediated phosphorylation of insulin-reception substrates / G. Solinas, W. Naugler, F. Galimi [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2006. – V. 103, N 44. – P. 16454 - 16459.

269. Wang J. Lipopolysaccharide promotes lipid accumulation in human adventitial fibroblasts via TLR4-NF-kB pathway / J. Wang, Y. Si, C. Wu [et al.] // *Lipids Health. Dis.* – 2012. – N 11. – P. 1 - 9.
270. Максимова О. В. Микробиота кишечника у детей с ожирением и аллергическими заболеваниями / О. В. Максимова, Е. В. Зайцева, С. А. Мазунина [и др.] // *ЖМЭИ.* – 2015. – N 3. – С. 53 - 58.
271. Костюкевич О. И. Влияние кишечной микрофлоры на здоровье человека. От патогенеза к современным методам коррекции дисбиоза / О. И. Костюкевич // *РМЖ.* – 2011. – Т. 19, N 5. – С. 304 - 308.
272. Ткачук В. В. Вплив дисбіозу на стан печінки та ліпідного обміну щурів, які отримували високожировий раціон / В. В. Ткачук, В. І. Величко, О. М. Левченко [та ін.] // *Одеський медичний журнал.* – 2014. – N 2 (142). – С. 27-31.
273. Амелюшкина В. А. Пальмитиновый и олеиновый варианты метаболизма жирных кислот. Экзогенный синдром резистентности к инсулину при нарушении биологической функции питания (трофологии) / В. А. Амелюшкина, Т. А. Рожкова, В. Н. Титов // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2013. – N 7. – С. 21 - 28, 37 - 38.
274. Левицкий А. П. Гиперлипидемическое и профилактическое действие сливочного масла / А. П. Левицкий, Е. М. Левченко, С. И. Конкин // *Актуальные проблемы транспортной медицины.* – 2014. – Т. 2 (38-II), N 4. – С. 127 - 131.
275. Титов В. Н. Различие конформации АпоВ-100 в липопротеинах низкой и очень низкой плотности. Модифицированные липопротеины и деструктивное воспаление в интима артерий (лекция) / В. Н. Титов, В. А. Амелюшкина, Т. И. Коткина [и др.] // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2014. – N 2. – С. 27-38.
276. Титов В. Н. Теория гуморальной патологии К. Рокитанского, целлюлярная патология Р. Виркова и новая филогенетическая теория становления болезни. Этиология и патогенез «метаболических пандемий» / В.

- Н. Титов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2013. – N 2. – С. 3-12.
277. Yuan F. Fish oil alleviated high-fat diet-induced non-alcoholic fatty disease via regulating hepatic lipids metabolism and metaflammation: a transcriptomic study / F. Yuan, H. Wang, Y. Tian [et al.] // *Lipids Health Dis.* – 2016. – V. 15, N 20. – P. 11- 13
278. Добавка дієтична «Ліпосан» (вітамін F): ТУУ 10.8-37420386-002:2015. -Висновок МОЗУ N 05.03.02-06/22333 від 27.05.2015 р.
279. Левченко Е. М. Сравнительная гепатопротекторная эффективность кверцетина и инулина при экспериментальном токсическом гепатите / Е. М. Левченко, С. А. Демьяненко, П. И. Пустовойт [и др.] // *Вісник стоматології.* – 2010. – N 5. Спецвипуск. – С. 21 - 25.
280. Левченко О. М. Реабілітація після перенесеного токсичного гепатиту за допомогою інуліну / О. М. Левченко, А. П. Левицький // *Одеський медичний журнал.* – 2010. – N 6 (122). – С. 15 - 17.
281. Левицький А. П. Лікувально-профілактична дія інуліну на запальні та дисбіотичні процеси в слизовій оболонці кишечника щурів, які перенесли токсичний гепатит / А. П. Левицький, О. М. Левченко // *Одеський медичний журнал.* – 2011. – N 1. – С. 15 - 16.
282. Левицький А. П. Порівняльна гепатопротекторна дія синбіотика «Біфі-форм» і мінеральної води «Вознесенська» / А. П. Левицький, О. М. Левченко // *Одеський медичний журнал.* – 2011. – N 6 (128). – С. 16 - 18.
283. Левченко Е. М. Реабилитация после перенесенного токсического гепатита с помощью кверцетина / Е. М. Левченко // *Вісник морської медицини.* – 2012. – N 2 (56). –С. 70 - 73.
284. Левицький А. П. Сравнительное действие кверцетина, инулина и квертулина на состояние печени крыс после оральной аппликации липополисахарида / А. П. Левицький, Е. М. Левченко, О. А. Макаренко // *Вісник морської медицини.* – 2013. – N 2 (59). – С. 34 - 38.

285. Gozhenko A. I. The hepatoprotective effect of quertulin in rats with disbiosis after high-fat diet / A. I. Gozhenko, E. M. Levchenko, A. P. Levitsky // *Journal of Health Sciences*. – 2013. – V. 3, N 9. – P. 339 - 346.
286. Черняк О. О. Геномные, протеомные и метаболомные предикторы развития неалкогольной жировой болезни печени у больных с ожирением. Сообщение 1 / О. О. Черняк, Т. Б. Сенцова, И. В. Ворожко [и др.] // *Вопросы питания*. – 2015. – Т. 84, N 4. – С. 18 - 24.
287. Фефелова В. В. Изменение липидного спектра сыворотки крови у молодых мужчин разных соматотипов после пищевой нагрузки / В. В. Фефелова, Т. П. Колоскова, Т. В. Казакова [и др.] // *Вопросы питания*. – 2015. – Т. 84, N 1. – С. 25 - 30.
288. Новгородцева Т. П. Модификация состава жирных кислот полярных и нейтральных липидов крови и ткани печени крыс в условиях пролонгированной высокожировой диеты / Т. П. Новгородцева, Ю. К. Караман, Н. В. Жукова // *Биомедицинская химия*. – 2013. – Т. 59, Вып. 6. – С. 644 - 654.
289. Матосян К. А. Особенности качественного состава жировой ткани в организме в пубертатном и постпубертатном возрасте с учетом возраста, пола, уровня физической активности и характера питания / К. А. Матосян, А. Н. Органская, Д. А. Пустовалов [и др.] // *Вопросы питания*. – 2015. – Т. 84, N 5. – С. 88 - 94.
290. Титов В. Н. Несогласованность регуляции метаболизма в филогенезе на трех уровнях «относительного биологического совершенства»; этиология метаболических пандемий / В. Н. Титов // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2015. – N 11. – С. 4 - 12.
291. Мітченко О. І. Поширеність порушень ліпідного обміну в міській популяції України залежно від ступеня й типу ожиріння / О. І. Мітченко, М. Н. Мамедов, Т. В. Колесник [та ін.] // *Международный эндокринологический журнал*. – 2015. – N 5 (69). – С. 13 - 18.

292. Бабак О. Я. Вплив тиреоїдної дисфункції на перебіг артеріальної гіпертензії у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки / О. Я. Бабак, С. М. Тельнова. – Сучасна гастроентерологія. – 2015. – N 2 (82). – С. 97 - 102.
293. Петрухина Н. Б. Эпидемиологические взаимосвязи пародонтита, дисбиоза кишечника, атерогенной дислипидемии при метаболическом синдроме / Н. Б. Петрухина, О. А. Зорина, И. М. Рабинович [и др.] // Стоматология. – 2015. – Т. 94, N 2. – С. 16 - 19.
294. Бубнова М. Г. Роль ожирения и висцерального жира сердца в запуске сердечно-сосудистого континуума. Клинические эффекты орлистата / М. Г. Бубнова // Международный эндокринологический журнал. – 2014. – N 4 (60). – С. 77 - 87.
295. Gruchot M. Fasting time and lipid parameters: association with hepatic steatosis – data from random population sample / M. Gruchot, T. Graeter, S. Oeztuerk [et al.] // Lipids Health. Dis. – 2014. – N 13. – P. 1 - 18.
296. Wernsperger N. Функция печени и кардиометаболический синдром / N. Wernsperger // Діабет, ожиріння, метаболічний синдром. – 2014. – N 1. – С. 37-47.
297. Yeung E. N. W. Fibrinogen production is enhanced in an in-vitro model of non-alcoholic fatty liver disease: an isolated risk factor for cardiovascular events? / E. N. W. Yeung, P. Treskes, S. F. Martin [et al.] // Lipids Health. Dis. – 2015. – N 14. P. 78 -86.
298. Марущак М. І. Експериментальне аліментарне ожиріння: апоптоз, антиоксидантна система, макро- і мікроелементи в тканині печінки / М. І. Марущак, О. П. Мелюк, І. М. Кліщ // Медична та клінічна хімія. – 2015. – Т. 17, N 4. – С. 29 - 37.
299. Кобиляк Н. М. Сучасні підходи до діагностики та скринінгу метаболічних порушень у хворих із неалкогольною жировою хворобою печінки / Н. М. Кобиляк, О. Б. Динник, Д. В. Кирієнко // Международный эндокринологический журнал. – 2015. – N 5 (69). – С. 89 - 99.

300. Величко В. І. Розвиток порушення місцевого неспецифічного імунітету у дітей з надмірною масою тіла і ожирінням / В. І. Величко // Одеський медичний журнал. – 2012. – N 3 (131). – С. 61 - 64.
301. Velichko V. I. Development of dysbiosis in tissues of rats fed with a high fat food / V. I. Velichko, V. V. Tkachuk, A. P. Levitsky // Journal of Health Sciences. – 2014. – V. 4, N 12. – P. 84 - 92.
302. Harte A. L. High fat intake leads to acute postprandial exposure to circulating endotoxin in type 2 diabetic subjects / A. L. Harte, M. A. Oarina, G. Tripathi [et al.] // Diabetes Care. – 2012. – V. 35, N 2. – P. 375 - 382.
303. Ходаков И. В. Продисбиотическое действие пищевых жиров с высоким содержанием пальмитиновой кислоты / И. В. Ходаков, А. П. Левицкий, В. В. Ткачук [и др.] // Бюллетень XIV чтений им. В. В. Подвысоцкого, 27 -28 мая 2015 г., Одесса. – Одесса: УкрНИИ МТ. - 2015. – С. 200-201.
304. Jones M. L. Holesterol lowering with bile salt hydrolase-active prebiotic bacteria, mechanism of action, dinical evidence, and future direction for heart health applications / M. L. Jones, C. Tomaro-Duchesnean, C. J. Martoni [et al.] // Expert Opin. Biol. Ther. – 2013. – V. 13, № 5. — P. 631 - 642.
305. Mikelsaar M. Regulation of plasma lipide profile by Lactobacillus fermentum (prebiotic strain ME-3 DSM 14241) in a randomized controlled trial of donicaely healthy adults / M. Mikelsaar, E. Sepp, J. Štšepetova [et al.] // BMC Nutrition. – 2015. – V. 27, N 1. – P. 1 - 11.
306. Бондаренко В. М. Анализ профилактического и лечебного действия пробиотических препаратов с позиций новых научных технологий / В. М. Бондаренко, О. В. Рыбальченко // ЖМЭИ. – 2015. – N 2. – С. 90 - 104.
307. Шварц В. Синдром хронического воспаления жировой ткани / В. Шварц // Патологическая физиология и экспериментальная терапия.–2014.– N 1.–С.85-90.
308. Шварц В. Я. Инфекция как фактор патогенеза ожирения / В. Я. Шварц // Патологическая физиология и экспериментальная терапия.– 014.–N2.–С. 94-100.