

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ЛЕВЧЕНКО ОЛЕНА МИХАЙЛІВНА

УДК 616.361-089:576.8-002:615.24

**АЛІМЕНТАРНО-ДИСБІОТИЧНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ
І ПРОФІЛАКТИКИ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТУ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

**Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук**

Суми – 2016

Дисертація є рукописом.

Робота виконана в ДП "Український науково-дослідний інститут медицини транспорту" МОЗ України

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України
ГОЖЕНКО Анатолій Іванович,
ДП "Український науково-дослідний інститут медицини транспорту" МОЗ України (м. Одеса), директор

Офіційні опоненти:

Доктор медичних наук, професор,
Непорада Каріне Степанівна,
ДВНЗ «Українська медична стоматологічна академія»
МОЗ України (м. Полтава), завідувач кафедри медичної, біологічної та біоорганічної хімії

Доктор медичних наук, професор,
Зяблицев Сергій Володимирович,
Український науково-практичний центр
ендокринної хірургії, трансплантації ендокринних органів і тканин МОЗ України (м. Київ), завідуючий відділу патофізіології, імунології та трансплантології

Доктор медичних наук, професор,
Орловський Віктор Феліксович,
Сумський державний університет, завідувач кафедрою сімейної медицини

Захист відбудеться « » червня 2016 р. об 11:00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31).

Із дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Сумського державного університету (40007, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2).

Автореферат розісланий «28» травня 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05
кандидат медичних наук



О. С. Погорелова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) є найбільш поширеним неінфекційним захворюванням печінки (Богомолів П. О. і др., 2006; Северов М. В., 2008; Mendez-Sánchez N. et al., 2007; Кобиляк Н. М. та інш., 2015; Yeting E. N. W. et al., 2015). Сучасні уявлення про НАЖХП охоплюють спектр уражень печінки, представлений трьома основними формами: жировий гепатоз (ЖГ), неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) і фіброз, який переходить в цироз. Деяка частина хворих на НАЖХП вражається гепато-целюлярною гепатомою (Adams L. A. et al., 2007; Кособян Е. П. і др., 2010; Черняк О. О. і др., 2015). Поширеність НАЖХП за даними різних досліджень становить 20-25 % від загальної чисельності населення (Северова М. М. і др., 2011; Фадеєнко Г. Д. і др., 2015; Xu X. et al., 2015), причому 10-15 % з цього числа мають ознаки НАСГ (Гаврилюк О. М., 2009; Комшилова К. А. і др., 2015). Поширеність НАЖХП, особливо НАСГ, значно збільшується у хворих на ожиріння (Фадеєнко Г. Д. і др., 2008; 2015), цукровий діабет II типу (Кравчун Н. О. та інш., 2011; Боднар П. М. та ін., 2012; Колесникова Е. В., 2012), метаболічний синдром (Звягинцева Т. Д. і др., 2010; Wiernsperger N., 2014), кишковий дисбіоз (Membrez M. et al., 2008; Левицький А. П. та інш., 2014; 2015).

Є дані про важливу роль в етіології НАЖХП аліментарних факторів, таких як високожирові раціони (Omagazi K. et al., 2008; Левицький А. П. і др., 2013), споживання жирів з високим вмістом насичених жирних кислот (Васюк В. Л. та інш., 2015), з недостатнім надходженням з їжею антиоксидантних вітамінів (Е, С, Р) (Xu X. et al., 2015; Anderson N. et al., 2008).

Сучасна профілактика та лікування НАЖХП складаються з лікувально-профілактичних заходів щодо тих хвороб, які обумовлюють її розвиток: ожиріння, цукровий діабет, метаболічний синдром (Буєверов А. О. і др., 2007; Михальчук Л. М. та інш., 2010; Голофеевский В. Н., 2013). Перелік медикаментозних засобів та лікарських процедур достатньо відомий і широко представлений в ряді монографій (Medina J. et al., 2014; Левицький А. П. і др., 2015).

Перехід НАЖХП в стадію НАСГ визначає необхідність використання гепатопротекторних препаратів (Буєверов А. О. і др., 2007). На жаль, ефективність сучасного лікування НАСГ недостатньо висока і часто починається тоді, коли НАСГ переходить у незворотню стадію (фіброз) (Бабак О. Я. і др., 2009; Uetake Y. et al., 2015).

Однією з основних причин недостатньої ефективності профілактики та лікування НАСГ є те, що мало приділяють уваги до стану однієї з найважливіших функцій печінки – антимікробної, яка чітко визначена в роботах проф. А. П. Левицького і його школи (Левицький А. П. і др., 2011; Левицький А. П. і др., 2012). Запропоновані в цих роботах антидисбіотичні засоби виявились ефективними в профілактиці ускладнень цукрового діабету (Левицький А. П., 2014), метаболічного синдрому (Левицький А. П. і др., 2014), імунодефіциту (Левицький А. П. і др., 2013), надмірного споживання жирів (Velichko V. I. et

al., 2014).

В останні роки з'явилися дані про зв'язок жирового обміну з мікробною системою макроорганізму (Гриневич В. Б. и др., 2011] і впливі на обмін жирів препаратів про- і пребіотиків (Mikelsaar M. et al., 2015).

На жаль, до цього часу в медицині, в тому числі і в лікуванні НАЖХП, майже не враховують роль харчових жирів, які суттєво відрізняються за своїм жирнокислотним складом.

Все вище вказане свідчить про актуальність проблеми профілактики і лікування НАСГ на основі нових патогенетичних механізмів, які враховують стан антимікробної функції печінки в розвитку дисбіозу і особливості дії на організм харчових жирів з різним складом жирних кислот.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт, що виконувалися у ДУ «Інститут стоматології НАМН України» «Розробити комплексну профілактику і лікування стоматологічних захворювань у осіб з порушеннями травної системи шляхом використання гепатопротекторів» (шифр НАМН 077.09, № державної реєстрації 0109U000506), «Дисбіотичні аспекти патогенезу і профілактики стоматологічних ускладнень при імунодефіциті» (шифр НАМН 092.14, № державної реєстрації 0114U000379), «Дослідити вплив жирнокислотного складу харчових жирів на стан тканин ротової порожнини, печінки і шлунково-кишкового тракту і розробити рекомендації з жирового харчування» (Шифр НАМН 096.15, № державної реєстрації 0115U000271). Робота виконана згідно угоди про творче співробітництво між ДУ «Інститут стоматології НАМН України» та ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту» МОЗ України.

Мета роботи: Обґрунтування ролі жирнокислотного складу харчових жирів, з'ясування дисбіотичних механізмів в патогенезі неалкогольної жирової хвороби печінки і розробка підходів до аліментарно-антидисбіотичної профілактики цього патологічного процесу.

Основні завдання:

1. Вивчити вплив жирів з високим рівнем пальмітинової кислоти (пальмова олія та вершкове масло) на рівень та склад тригліцеридів у сироватці крові експериментальних тварин.
2. Визначити вплив на стан печінки харчових жирів з різним жирнокислотним складом.
3. Вивчити жирнокислотний склад ліпідів печінки щурів, які отримували різні харчові раціони.
4. Визначити роль високожирового раціону харчування у розвитку дисбіозу та запалення печінки.
5. Дослідити роль кишкового експериментального дисбіозу в патогенезі НАСГ.
6. Вивчити вплив експериментальних моделей порушення імунної системи на вміст ліпідів у крові та розвиток НАСГ і генералізованого дисбіозу.
7. Встановити профілактичне значення олеїнової кислоти (високоолеїнова соняшникова олія) щодо розвитку експериментального НАСГ.

8. Визначити гепатопротекторну дію різних антидисбіотичних засобів (лікувальні мінеральні води «Поляна Квасова», «Вознесенська», про- і пребіотики, біофлавоноїди) при експериментальному метаболічному синдромі, токсичних і дисбіотичних гепатитах.

9. Розробити рецептуру та оформити нормативно-технічну документацію на нові лікувально-профілактичні і аліментарні засоби, які мають гепатопротекторну, антидисбіотичну і ліпостабілізуючу дію («Квертулін», «Олівка», «Ліпосан»).

10. Визначити роль в профілактиці стеатогепатита нових аліментарних засобів (дієтичні добавки, комплексний антидисбіотичний засіб «Квертулін»).

Об'єкт дослідження: механізми порушення ліпідного обміну в печінці й плазмі крові та способи їх корекції.

Предмет дослідження: патогенез НАЖХП з врахуванням характеру жирового харчування і стану дисбіозу, аліментарно-антидисбіотична профілактика НАСГ.

Методи дослідження: біохімічні, патофізіологічні, морфологічні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше встановлено, що високожирові раціони з високим вмістом пальмітинової кислоти (пальмова олія і вершкове масло) в експериментальних моделях з використанням білих щурів лінії Вістар збільшують не тільки приріст живої маси тварин, але й підвищують в печінці і в сироватці крові вміст тригліцеридів і загального холестерину, підвищують рівень вільних жирних кислот (ВЖК) в сироватці крові, підшкірному і вісцеральному жирі. Показано, що звичайна соняшникова олія (високолінолева) збільшує в ліпідах печінки вміст насичених жирних кислот (НЖК), олеїнової, лінолевої та арахідонової кислот, але знижує вміст ω -3 ПНЖК. Оливкова олія (високоолеїнова) не знижує вміст ω -3 ПНЖК в ліпідах печінки. Олії з високим вмістом пальмітинової кислоти (пальмова олія і вершкове масло) збільшують в ліпідах печінки вміст НЖК, але суттєво знижують вміст ω -3 ПНЖК. Встановлено, що вісцеральна і підшкірна жирові тканини містять слідові кількості ПНЖК за виключенням лінолевої, причому високожирові раціони (ВЖР) знижують її рівень у 2 рази.

Кишковий дисбіоз, системна ендотоксинемія, різні форми експериментального імунодефіциту у тварин, які отримували ВЖР, збільшують прояви стеатозу печінки, підвищують гіперліпідемію і зумовлюють розвиток НАСГ.

Лікувальні мінеральні води, особливо у сполученні з синбіотиками, здійснюють гепатопротекторну дію, усуваючи дисбіотичні явища в кишечнику і в печінці. Композиція із біофлавоноїда кверцетину, пребіотика інуліну, цитрата кальцію (дієтична добавка «Квертулін») має лікувально-профілактичну дію за умов НАСГ.

Встановлений антидисбіотичний, гепатопротекторний і нормалізуючий рівень ліпідів крові ефект високоолеїнової соняшникової олії «Олівка».

Розроблена рецептура дієтичної добавки «Ліпосан», яка містить усі 5 незамінних ПНЖК, і показана її здатність суттєво підвищувати в печінці і в

сироватці крові рівень ω -3 ПНЖК, що дає можливість усунути дефіцит цих фізіологічно важливих нутрієнтів за умов високожирового харчування

Практичне значення отриманих результатів. Розроблена експериментальна модель НАСГ шляхом відтворення у щурів кишкового дисбіозу на тлі ВЖР з використанням пальмової олії. Розроблено рецептури антидисбіотичної добавки «Квертулін» і препарату «Ліпосан (вітамін F)». Обґрунтовано застосування в харчуванні високоолеїнової соняшникової олії «Оливка». На всі розроблені засоби розроблена технічна документація (ТУ і ТІ) і отримано дозвіл МОЗ України на їх застосування.

Матеріали дисертації впроваджені в науково-педагогічний процес на кафедрах Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці), Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського (м. Тернопіль), Одеського Національного медичного університету (м. Одеса), матеріали використовуються в науково-практичній діяльності ДП «Український НДІ медицини транспорту МОЗ України», ДУ «Інститут стоматології НАМН», ДУ «Український НДІ медичної реабілітації та курортології МОЗ України», КУ «Одеська обласна клінічна лікарня», Одеському обласному клінічному центрі, НВА «Одеська біотехнологія».

Особистий внесок здобувача. Автор разом з науковим консультантом висунув та обґрунтував ідею роботи, особисто сформував мету та завдання дослідження, сформулював висновки та пропозиції щодо подальших наукових досліджень та використання отриманих результатів в клінічній практиці. Здобувач приймав безпосередню участь у проведенні експериментальних досліджень. Усі роботи з щурами та біохімічні дослідження виконувались на базі лабораторії біохімії і віварію ДУ «Інститут стоматології НАМН» під керівництвом проф. А. П. Левицького. Хроматографічне дослідження жирнокислотного складу харчових жирів і тканинних ліпідів виконувалось на базі лабораторії біохімії Інституту стоматології за співробітництвом з н. с.

І. В. Ходаковим. Розробка препарату «Квертулін» проводилась разом з науковцями лабораторії біохімії Інституту стоматології (зав. д.б.н. О. А. Макаренко). Автор дисертації самостійно провела обробку отриманих результатів, підготувала до друку наукові статті та написала текст дисертації.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертації були представлені для обговорення на III, IV і V наукових симпозиумах «Рослинні поліфеноли і неспецифічна резистентність» (Одеса, 1-2 жовтня 2010; 13-14 вересня 2012 і 19 вересня 2014 р.р.), на VI національному конгресі патофізіологів України (Місхор, 3-5 жовтня 2012 р.), на XIII і XIV читаннях ім. В. В. Подвисоцького (Одеса, 19-20 липня 2014; 27-28 травня 2015 р.р.), XI Українському біохімічному з'їзді (Київ, 6-10 жовтня 2014 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 34 наукові роботи, зокрема 25 статей, з яких 16 - статті у наукових фахових виданнях України та 5 статей у наукових зарубіжних виданнях медичного напрямку, 1 монографія, 2 патенти на корисну модель, 1 Технічні умови та 5 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 213 сторінках

друкованого тексту і складається з вступу, 7 розділів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, який містить 307 джерел, з яких 113 закордонних. Роботу ілюстровано 69 таблицями та 54 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ.

Матеріали та методи дослідження. В роботі були використані наступні харчові жири: соняшникова олія (виробництва ПАТ «Полтавський олійно-екстракційний завод»), оливкова олія (виробник Industria Olearia «Biagio Mataluni S. R. L.», Італія), пальмова олія (виробник «Баттер», Малайзія), кокосова олія («Bess», Малайзія) і масло вершкове селянське (виробник ТОВ «Андрушевський маслозавод», Україна).

В якості базового корму для лабораторних тварин (білі щурі лінії Вістар) застосовували повнораціонний гранульований комбікорм К-120-4, виробництва НВА «Одеська біотехнологія».

Експериментальні моделі:

1. *Високожирове харчування.* Для цього використовували високожировий раціон (ВЖР), який отримували шляхом додавання до комбікорму 15 % жиру у вигляді вищевказаних олій.

2. *Експериментальний кишковий дисбіоз* отримували у щурів, які получали з питною водою антибіотик лінкоміцин в дозі 60 на протязі 5 днів (Левицький А. П. та ін., 2008 р.).

3. *Системну ендотоксинемію* відтворювали шляхом в/черевного введення ліпополісахариду (ЛПС) в дозі 50-200 мкг/кг на протязі 1-7 днів, або шляхом оральних аплікацій гелю з ЛПС в дозі 20-40 мкг/кг згідно з метою науково-дослідної роботи (Шифр НАМН 096.15, № державної реєстрації 0115U000271).

4. *Експериментальні порушення імунної системи* відтворювали у щурів загальноприйнятим методом за допомогою введення цитостатика циклофосфана в дозі 25 мг/кг або преднізолону в дозі 5 мг/кг на протязі 12 днів. Крім того, імунодефіцит викликали шляхом проведення спленектомії.

5. *Токсичний гепатит* відтворювали у щурів шляхом однократного в/черевного введення 50%-вого олійного розчину тетрахлорметану (CCl₄) в дозі 3,5 мг/кг.

6. *Експериментальний метаболічний синдром* відтворювали шляхом сумісної дії ВЖР, кишкового дисбіозу та введення цитостатика циклофосфана (Левицький А. П. та ін., 2014 р.).

Перелік експериментальних серій дослідів представлено в таблиці 1, із якої видно, що всього було виконано 16 серій дослідів, в яких було використано 391 щура.

Об'єктами досліджень були кров, сироватка крові, печінка, жирова тканина.

Експериментальні серії

№№	Назва серії	Кількість щурів	Стать вік	Об'єкти дослідження	Показники
1	2	3	4	5	6
1	Вплив ВЖР з різним складом ЖК на організм	40	ч., 8 міс.	Печінка, сироватка, жирова тканина	ЗЛ, ЗХ, ТГ, СЖК, ЖК-склад, маркери запалення, дисбіоза
2	Жирове навантаження	12	ж, 15 міс.	Печінка, сироватка	ЗЛ, ЗХ, ТГ, СЖК, ЖК-склад
3	Вплив ВЖР і дисбіоза на стан печінки	18	ч., 6 міс.	Печінка, сироватка, кишка	ТГ, ЗХ, дисбіоз, печінкові, маркери, маркери запалення
4	Вплив ЛПС (в/чер.) на стан печінки	12	ж, 3 міс.	Печінка, сироватка	ТГ, ЗХ, маркери запалення, печінкові маркери
5	Вплив ЛПС (гель) на стан печінки	16	ч., 8 міс.	Печінка, сироватка	ТГ, ЗХ, маркери запалення, печінкові маркери
6	Вплив спленектомії на стан печінки	18	ж., 10 міс.	Печінка, сироватка	ТГ, ЗХ, маркери запалення, дисбіоз
7	Вплив метаболічного синдрому на стан печінки	14	ч., 4 міс.	Кров, печінка, сироватка	Лейкоцити, ТГ, ЗХ, цукор, маркери запалення, печінкові маркери, дисбіоз
8	Вплив преднізолону на стан печінки	16	ж., 3 міс.	Кров, печінка, сироватка	Лейкоцити, ТГ, ЗХ, цукор, маркери запалення, печінкові маркери, дисбіоз
9	Вплив мінеральних вод на стан печінки (токсичний гепатит)	50	ч., 9 міс.	Печінка, сироватка	Маркери запалення, печінкові маркери, дисбіоз
10	Вплив мінеральних вод і синбіотика на стан печінки (токсичний гепатит)	50	ч., 5 міс.	Печінка, сироватка	Маркери запалення, печінкові маркери, дисбіоз
11	Вплив кверцетина, інуліна, Квертуліна на стан печінки щурів (токсичний гепатит)	40	ж., 5 міс.	Печінка, сироватка	Маркери запалення, печінкові маркери, дисбіоз
12	Вплив Квертуліна на стан печінки (ВЖР+дисбіоз)	18	ч., 6 міс.	Печінка, сироватка	ТГ, ЗХ, печінкові маркери
13	Вплив Квертуліна на стан печінки (ЛПС в/чер.)	18	ж., 3 міс.	Печінка, сироватка	ТГ, ЗХ, печінкові маркери, МДА

Продовження таблиці 1

14	Вплив Квертуліна, лізоцима, Квертгіала на стан печінки (метаболічний синдром)	35	ч., 4 міс.	Кров, печінка, сироватка	ТГ, ЗХ, печінкові маркери, лейкоцити
15	Вплив високоолеїнової соняшникової олії «Оливка» на стан печінки	18	ч., 5 міс.	Печінка, сироватка	ТГ, ЗХ, печінкові маркери, маркери запалення, дисбіоз
16	Вплив дієтичної добавки «Ліпосан» на стан печінки щурів, які отримували безжировий раціон	16	ч., 4 міс.	Печінка, сироватка	ТГ, ЗХ, маркери запалення, дисбіоз, ЖК-склад ліпідів

Біохімічні методи дослідження

Для проведення біохімічних досліджень готували гомогенат печінок щурів: 50 мг. тканини печінки на 1 мл. 0,05 молярного тріс - HCl буфера з рН – 7,5 товкли в ступці на холоді. Визначення вмісту ліпідів, в тому числі вільних жирних кислот, здійснювали за допомогою методів, предствлених в методичних рекомендаціях А. П. Левицького та ін. (2014). Вміст тригліцеридів (ТГ) і загального холестерину (ЗХ) визначали з використанням ензиматичних методів (Тиц Н. У., 1997).

Жирнокислотний склад виділених ліпідів визначали методом хроматографії на газовому хроматографі GC-17A з використанням мас-спектрометра GCMS-CIP5050A (Shimadzu, Японія). В таблицях вміст жирних кислот представлено у вигляді середніх величин з трьох визначень. У зв'язку з невеликою кількістю біологічного матеріалу (сироватка крові та печінка щурів) зразки об'єднувались у загальну пробу, з наступним трьохкратним проведенням аналізу за допомогою хроматографа.

В якості біохімічних маркерів запалення в біоб'єктах (сироватка крові, печінка) визначали вміст малонового діальдегіду (МДА), активність еластази і загальну протеолітичну активність (Левицкий А. П. и др., 2006).

Стан мікробного обсіменіння оцінювали за рівнем активності уреазы (Гаврикова Л. М. і Сегень І. Т., 1996), а деякі показники імунітету визначали за вмістом лімфоцитів, лімфоцитарному індексу, активністю лізоциму.

Кількість лімфоцитів визначали цитологічним методом (Базарнова М. А., 1982), лімфоцитарний індекс (ЛІ) за співвідношенням вмісту лімфоцитів та нейтрофілів. Активність лізоциму визначали бактеріолітичним методом, використовуючи в якості субстрату культуру *Micrococcus lysodeicticus* (Левицкий А. П., 2006). За співвідношенням відносних активностей уреазы і лізоциму розраховували ступінь дисбіозу за А. П. Левицьким (2006). Активність антиоксидантного ферменту каталази визначали за методом С. В. Гіріна (1999). За співвідношенням активності каталази і вмісту МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ (Левицький та інш., 2010).

В якості «печінкових» маркерів в сироватці крові визначали рівень білірубіну, активність АЛТ і лужної фосфатази (Горячковский А. М., 2005).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Було використано 4 різних харчових жирів: соняшникова олія (головна кислота: лінолева – 57,12 %), оливкова (головна кислота: олеїнова – 68,32 %), пальмова (головні кислоти: пальмітинова – 41,43 % і олеїнова – 39,91 %) і вершкове масло (головні кислоти: пальмітинова – 25,12 % і олеїнова – 28,07 %). Їх додавали до стандартного комбікорму в кількості 15 %. Тривалість досліду – 41 день. В цих випадках приріст живої маси у щурів збільшується на 6,6-9,8 %, однак суттєвої різниці між різними жирами не виявлено. В той же час усі ВЖР викликають достовірне збільшення по відношенню до контролю (інтактні щури) вмісту тригліцеридів (ТГ) в печінці і в сироватці крові, причому в найбільшій мірі пальмова олія і вершкове масло, які містять велику кількість пальмітинової

кислоти. Саме ці жири достовірно підвищують в печінці активність еластази, яка є маркером запалення.

Жирове навантаження (споживання ВЖР з 15 % соняшникової олії) вже через годину знижує в печінці вміст ТГ (на 28 %), однак збільшує їх вміст в сироватці крові на 90 %. Тільки через 4 години після жирового навантаження вміст ТГ в печінці і в сироватці повертається до норми.

Показано, що годування щурів протягом 41 дня ВЖР з вмістом 15 % різних жирів викликає зниження в печінці рівня вільних жирних кислот (ВЖК) у 2,5-3 рази, тоді як в сироватці крові він збільшується в 1,5-2,5 разів у порівнянні з контрольною групою (інтактні щури). Зростання рівня ВЖК в сироватці може бути фактором розвитку інсулінорезистентності (Тітов В. Н., 2016). Вміст ВЖК значно збільшувався в жировій тканині щурів, які отримували ВЖР, особливо, з вмістом пальмової олії і вершкового масла. Це може свідчити про активацію в цій тканині гормон-залежної ліпази (С. Holm et al., 2000).

Результати визначення жирнокислотного складу загальних ліпідів печінки щурів, які отримували різні за складом жирів ВЖР, представлені в таблиці 2. З цих даних видно, що при годівлі ВЖР з вмістом соняшникової олії значно збільшується вміст лінолевої, арахідонової і олеїнової кислот, з вмістом оливкової олії – олеїнової кислоти, з вмістом пальмової олії – пальмітинової і олеїнової кислот. Годування ВЖР із вмістом вершкового масла збільшує в найбільшій мірі вміст міристинової кислоти. Саме головне, що усі ВЖР суттєво знижують вміст ω -3 ПНЖК у загальних ліпідах печінки, причому у фракції ВЖК печінки це зниження значно більше.

Таблиця 2

Вміст жирних кислот у загальних ліпідах печінки щурів, які отримували високо жировий раціон (мг/кг)

Кислота	Група				
	Контроль	Соняшникова олія	Оливкова олія	Пальмова олія	Вершкове масло
міристинова	24,1	46,4	36,5	38,2	96,3
пальмітинова	1750,3	2542,4	2367,2	3543,1	2159,3
стеаринова	386,4	774,2	479,7	389,4	416,8
олеїнова	1840,6	3939,7	6766,2	4800,0	2546,2
лінолева	3479,5	8611,2	3628,8	3902,0	2962,0
ліноленова	136,5	80,7	83,0	73,3	117,1
арахідонова	728,6	1413,4	853,2	836,9	409,8
ейкозапентаєнова	55,2	24,2	31,5	29,0	32,8
докозапентаєнова	109,4	82,7	99,6	122,2	83,4
докозагексаєнова	303,1	260,1	356,9	230,6	172,7

При утриманні щурів на ВЖР (+15 % соняшникової олії) з одночасним відтворенням кишкового дисбіозу спостерігається достовірне збільшення рівня ТГ в печінці (рис. 1), суттєве підвищення рівня в печінці біохімічних маркерів запалення (табл. 3), а в сироватці крові – печінкових маркерів (рис. 2).

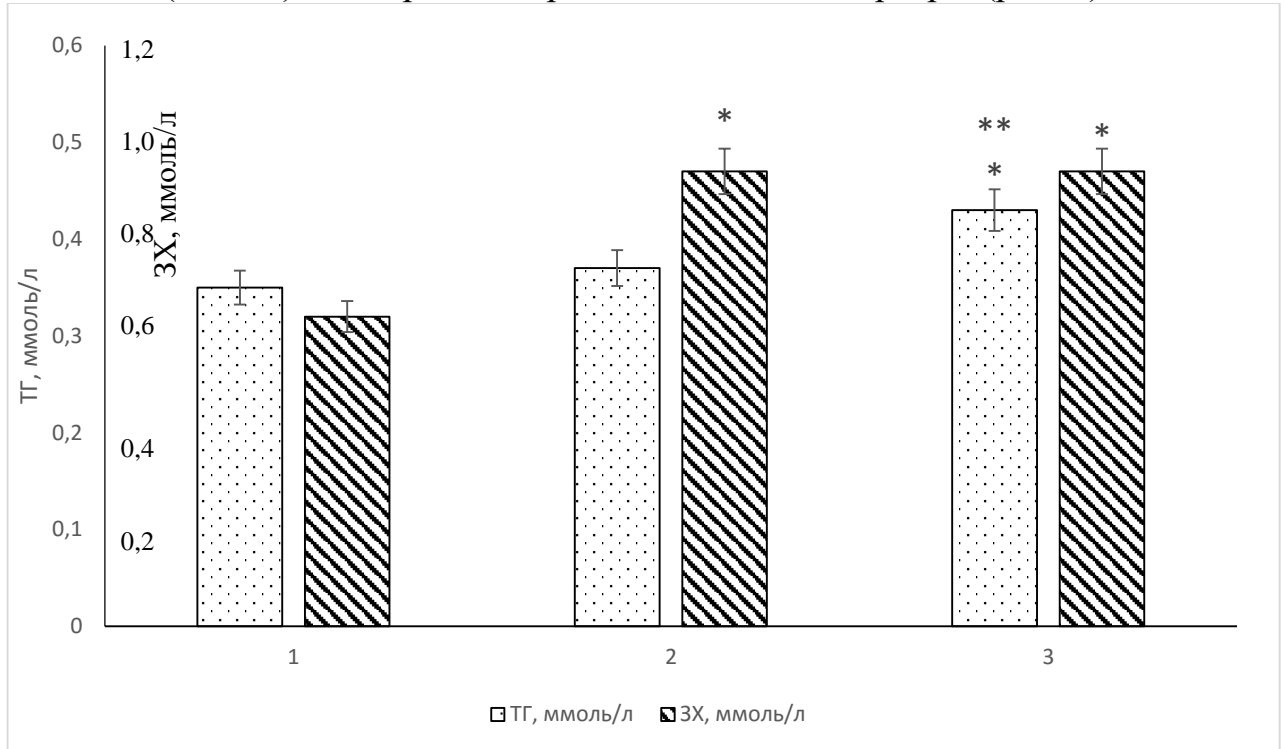


Рис. 1. Вміст ($M \pm m$, $n=6$) ТГ і ЗХ у сироватці крові щурів, які отримували ВЖР на тлі дисбіоза (1-контроль, 2-ВЖР, 3-ВЖР + дисбіоз), * - $p < 0,05$ в порівнянні з групою 1, ** - $p < 0,05$ в порівнянні з групою 2

Таблиця 3

Вплив високожирових раціонів і дисбіоза на рівень маркерів запалення в печінці щурів ($M \pm m$, $n=6$)

№№	Групи	МДА, ммоль/кг	Еластаза, мк-кат/кг
1	Контроль	$32,1 \pm 1,8$	$0,38 \pm 0,02$
2	ВЖР	$38,6 \pm 2,9$ $p > 0,05$	$0,44 \pm 0,03$ $p > 0,05$
3	ВЖР + дисбіоз	$56,2 \pm 6,6$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	$0,57 \pm 0,03$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$

Примітка: p – в порівнянні з групою 1; p_1 – в порівнянні з групою 2.

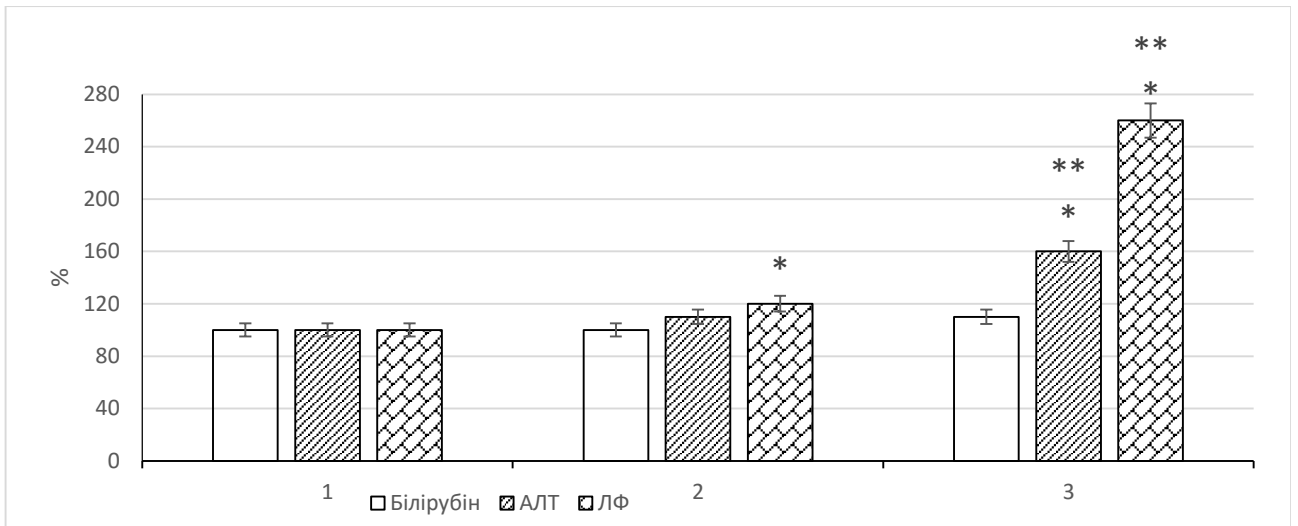


Рис. 2. Рівень «печінкових» маркерів у сироватці крові щурів ($M \pm m$, $n=6$), які отримували високожировий раціон на тлі дисбіоза, (1-контроль, 2-ВЖР, 3-ВЖР + дисбіоз) * - $p < 0,05$ в порівнянні з групою 1, ** - $p < 0,05$ в порівнянні з групою 2.

Подібну дію можна спостерігати і після оральних аплікацій кишкового ендотоксина (ЛПС) в дозі 40 мкг/кг. Показано достовірне збільшення вмісту ТГ в печінці і в сироватці крові щурів після введення ЛПС порівняно з контрольною групою.

Споживання ВЖР викликає розвиток дисбіозу не тільки в кишечнику, але й в печінці (рис. 3), причому в найбільшій мірі жири з великим вмістом пальмітинової кислоти – пальмова олія і вершкове масло.

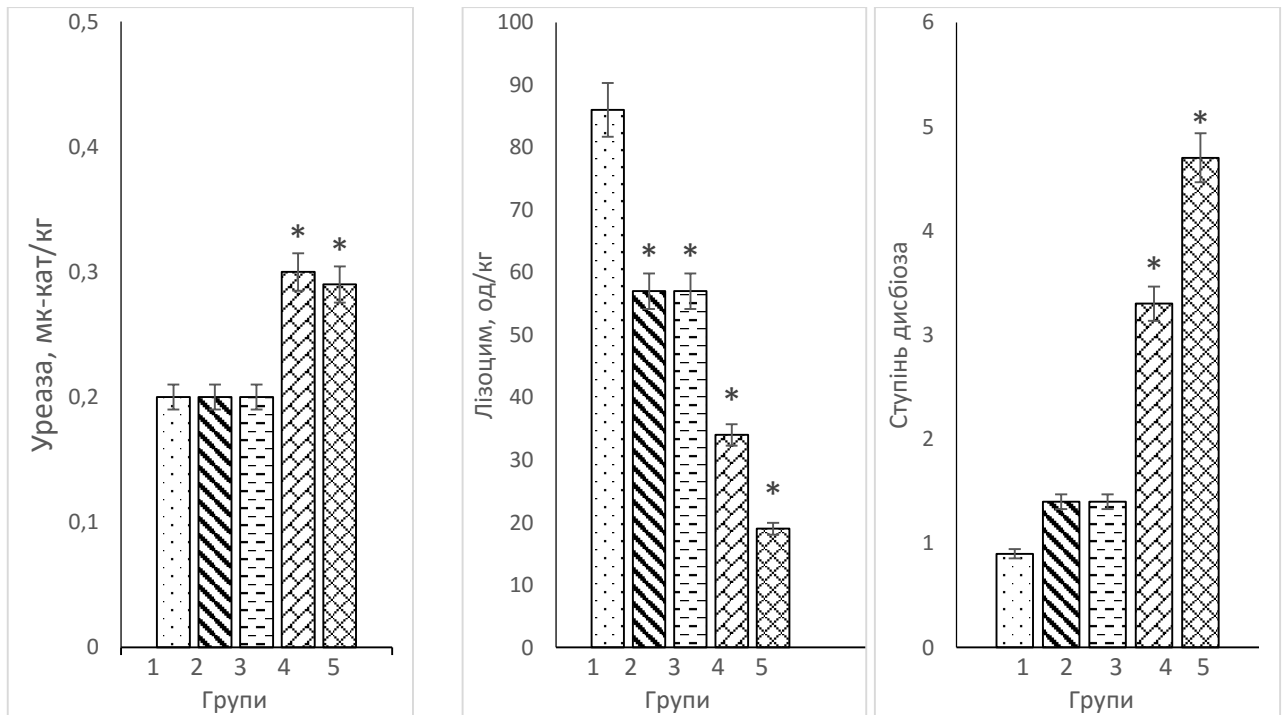


Рис. 3. Активність уреазы, лізоцима і ступінь дисбіоза ($M \pm m$, $n=8$) в печінці щурів, (1 – контроль, 2 – соняшникова олія, 3 – оливкова, 4 – пальмова, 5 – вершкове масло), * - $p < 0,05$ в порівнянні з групою 1

При експериментальному метаболічному синдромі в печінці достовірно зростає вміст ТГ, МДА, активність еластази, уреази, ЛФ на тлі зниження активності лізоцима (табл. 4). Це веде до збільшення ступеня дисбіоза в печінці у 12,3 рази.

Таблиця 4

Стан печінки щурів з метаболічним синдромом ($M \pm m$, $n=7$)

Показники	Контроль	Метаболічний синдром
ТГ, ммоль/кг	$7,65 \pm 0,46$	$11,52 \pm 0,68$; $p < 0,01$
МДА, ммоль/кг	$37,6 \pm 1,8$	$50,7 \pm 2,2$; $p < 0,001$
Еластаза, мк-кат/кг	$0,382 \pm 0,008$	$0,486 \pm 0,012$; $p < 0,001$
Уреаза, мк-кат/кг	$0,20 \pm 0,05$	$0,97 \pm 0,11$; $p < 0,01$
Лізоцим, од/кг	167 ± 15	62 ± 20 ; $p < 0,01$
ЛФ, мк-кат/кг	$4,84 \pm 0,25$	$6,44 \pm 0,48$; $p < 0,05$
Каталаза, мкат/кг	$5,93 \pm 0,20$	$5,78 \pm 0,09$; $p > 0,3$
Ступінь дисбіоза	$1,0 \pm 0,15$	$12,3 \pm 1,5$; $p < 0,001$
АПІ	$1,58 \pm 0,12$	$1,14 \pm 0,10$; $p < 0,05$

За умов експериментального (преднізолонового) імунодефіциту рівень ТГ і ЗХ суттєво зростає як в печінці, так і в сироватці крові (рис. 4). При цьому в сироватці крові зростає рівень «печінкових» маркерів, що свідчить про розвиток стеатогепатиту.

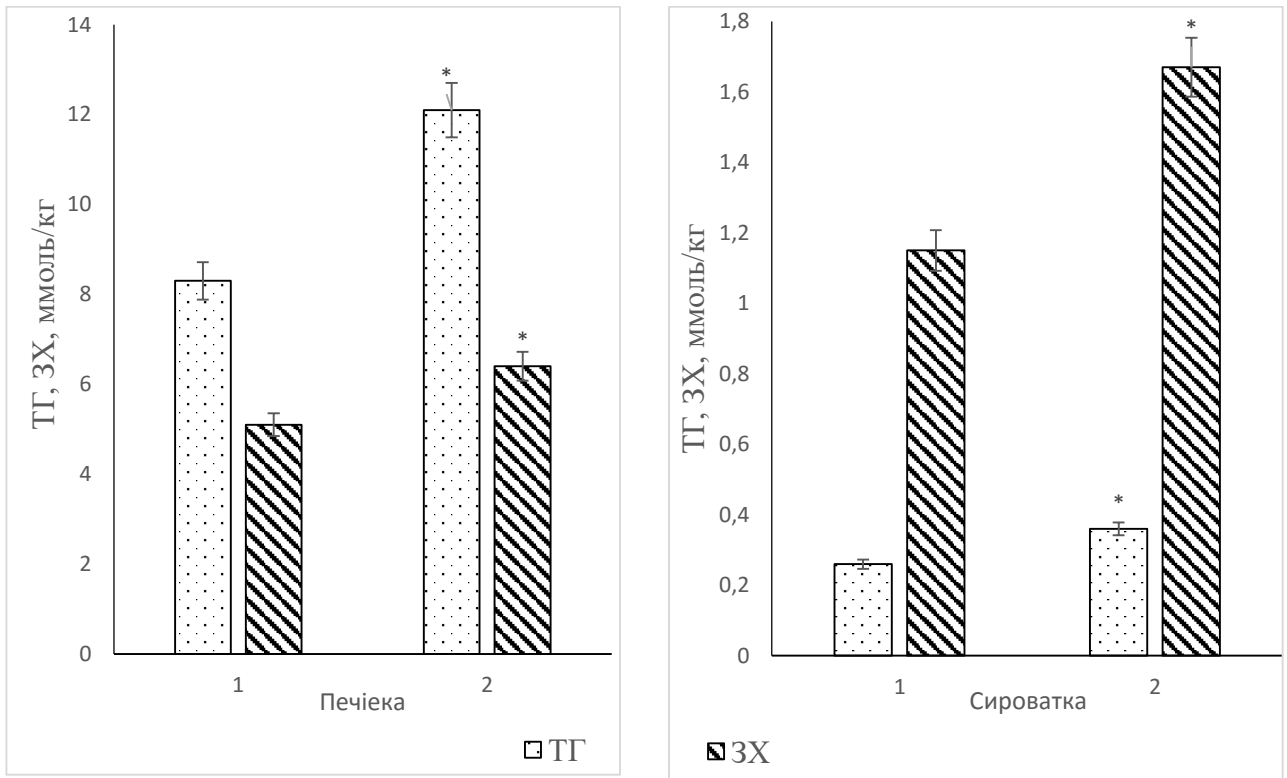


Рис. 4. Вплив преднізолону на рівень ТГ і ЗХ ($M \pm m$, $n=8$) в печінці і в сироватці крові щурів (1 – контроль, 2 – преднізолон) (* - $p < 0,05$ в порівнянні з групою 1)

На моделі експериментального токсичного гепатиту було вивчено лікувально-профілактичну дію мінеральної води («Поляна Квасова», «Вознесенська», «Моршинська»). Встановлено, що споживання мінеральної води суттєво знижує ступінь запалення та дисбіозу в печінці, особливо, коли до споживання води додається препарат синбіотика («Біфі-форм»).

При токсичному гепатиті і при ендотоксинемії гепатопротекторну активність проявляють антидисбіотичні препарати, зокрема інулін, кверцетин і «Квертулін».

Експериментальний неалкогольний стеатогепатит відтворювали у щурів, які отримували ВЖР на тлі кишкового дисбіозу. Введення антидисбіотичного засобу «Квертулін» (кверцетин + інулін + цитрат кальцію) достовірно знижує рівень ТГ і ЗХ в печінці і в сироватці крові, а також усуває явища запального процесу в печінці. Відповідні дані представлено на рис. 5, 6 і 7.

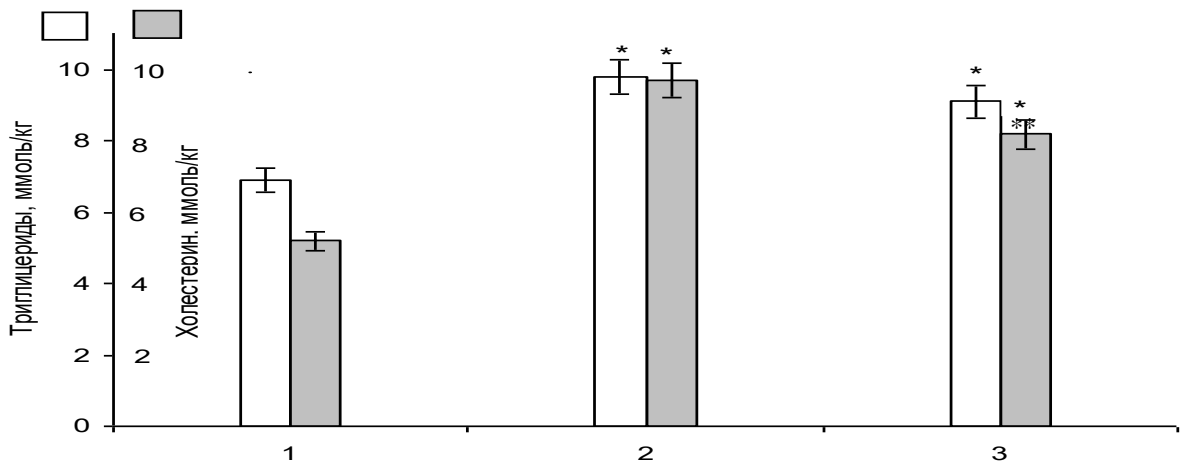


Рис. 5. Вплив «Квертуліна» на рівень ліпідів ($M \pm m$, $n=6$) у печінці щурів з експериментальним стеатогепатитом (ЕСГ): 1 – контроль, 2 – ЕСГ, 3 – ЕСГ+«Квертулін» (* – $p < 0,05$ до гр. 1, ** – $p < 0,05$ до гр. 2)

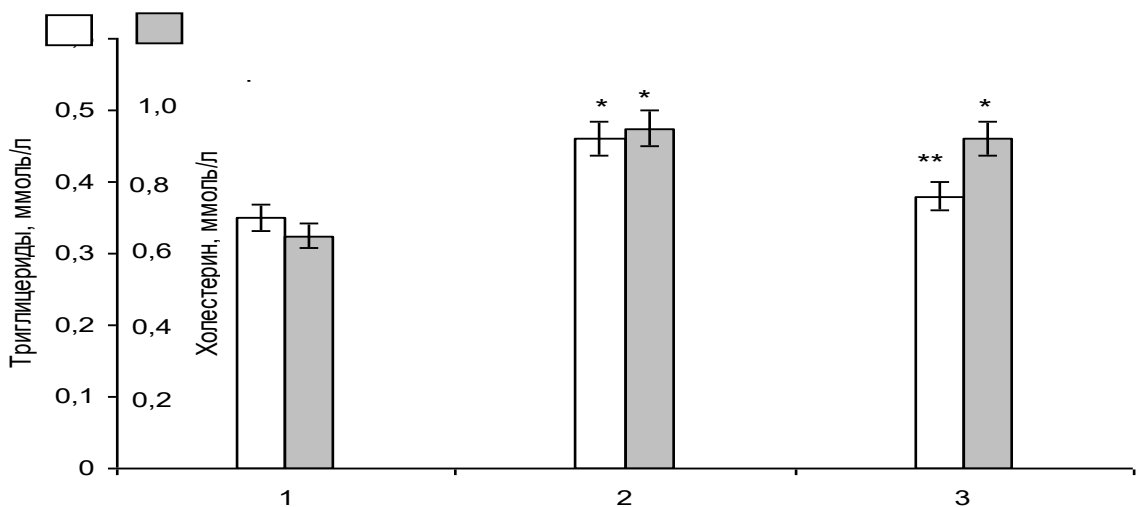


Рис. 6. Вплив «Квертуліна» на рівень ліпідів ($M \pm m$, $n=6$) у сироватці крові щурів з експериментальним стеатогепатитом (ЕСГ): 1 – контроль, 2 – ЕСГ, 3 – ЕСГ+«Квертулін» (* – $p < 0,05$ до гр. 1, ** – $p < 0,05$ до гр. 2)

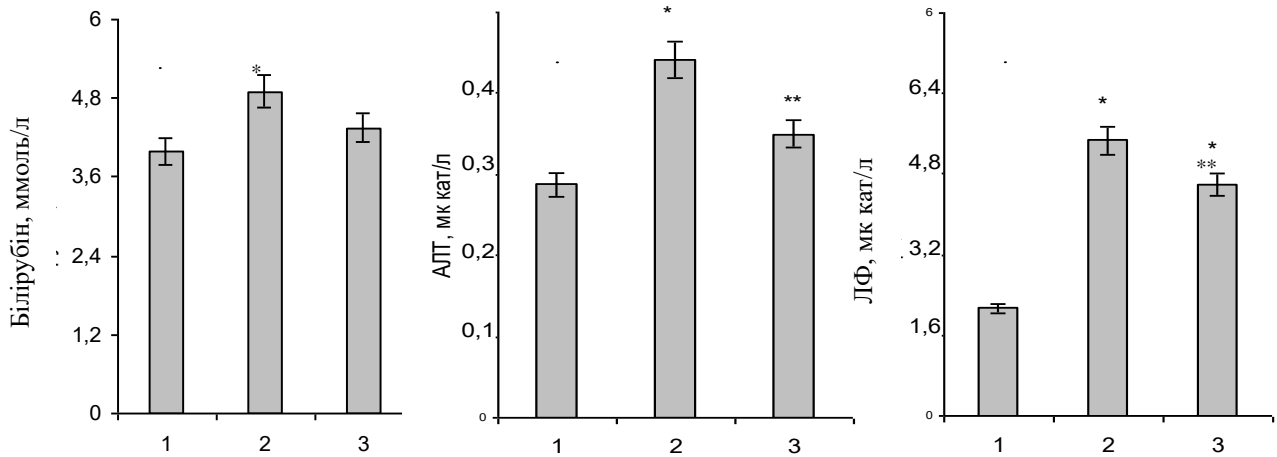


Рис. 7. Вплив «Квертуліна» (3) на рівень печінкових маркерів ($M \pm m$, $n=6$) у сироватці крові щурів з експериментальним стеатогепатитом (ЕСГ): 1 – контроль, 2 – ЕСГ, 3 – ЕСГ+«Квертулін» (*– $p < 0,05$ до гр.1, **– $p < 0,05$ до гр.2)

Патогенна дія дисбіозу реалізується через ЛПС (кишковий ендотоксин). Нами було показано, що введення ЛПС (в/черевно або у складі орального гелю) викликає розвиток стеатогепатиту.

Введення ЛПС в/черевно в дозі 50 мкг/кг протягом 10 днів викликає збільшення рівня ТГ в печінці і в сироватці крові, а також підвищення рівня маркера запалення МДА [А. П. Левицький та ін. 2010 р.]. Введення per os «Квертуліну» в дозі 200 мг/кг суттєво знижує вміст ТГ і МДА (рис. 8, 9).

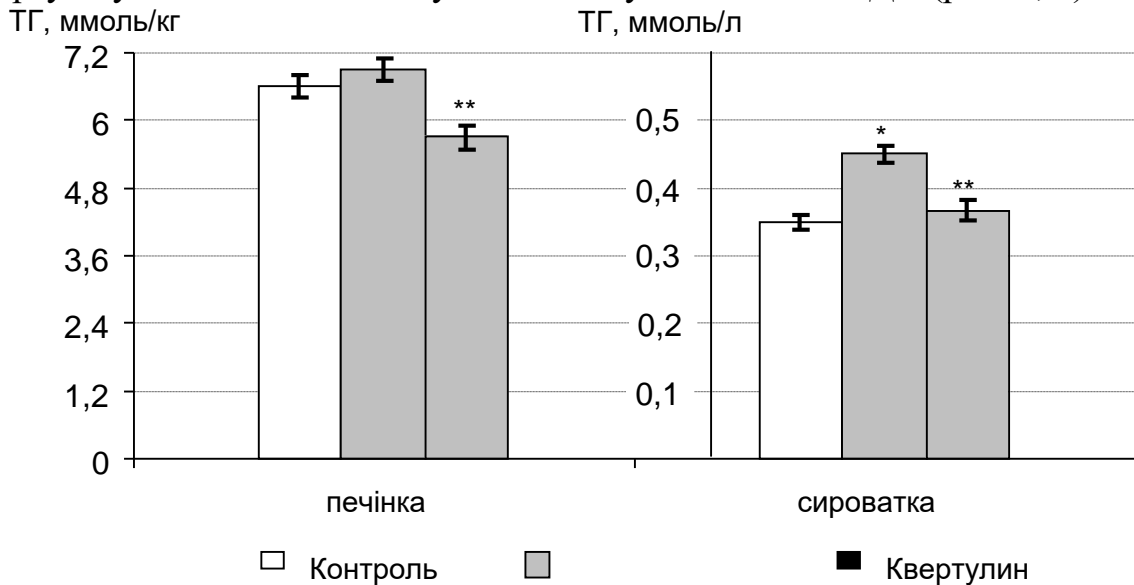


Рис. 8. Вплив «Квертуліна» (3) на вміст тригліцеридів ($M \pm m$, $n=6$) у печінці та сироватці крові щурів з системною ендотоксинемією (2) (1 – контроль) (*– $p < 0,05$ до гр. 1; **– $p < 0,05$ до гр. 2)

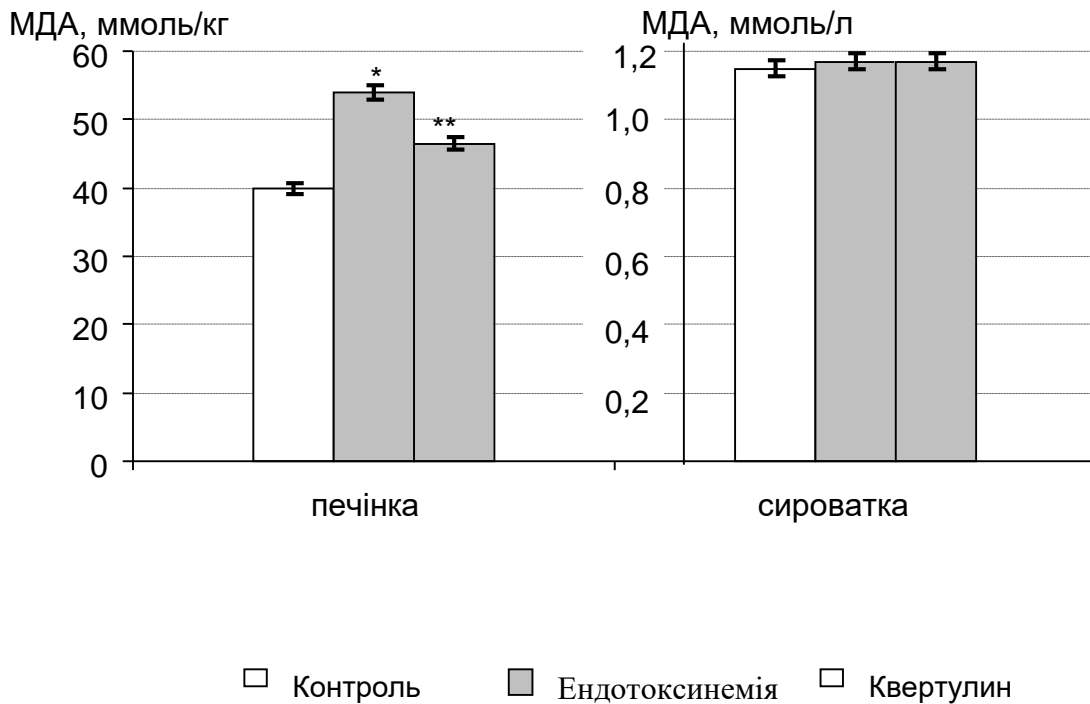


Рис. 9. Вплив «Квертуліна» (3) на вміст малонового діальдегіду ($M \pm m$, $n=6$) у печінці та сироватці крові щурів з системною ендотоксинемією (2) (1 – контроль (* – $p < 0,05$ до гр. № 1; ** – $p < 0,05$ до гр. № 2))

Аналогічну дію на стан печінки і вміст ліпідів в печінці і в сироватці здійснює кверцетинвмісний препарат квертгіал (кверцетин + інулін + гіалуронова кислота + цитрат кальцію) за умов метаболічного синдрому. Відповідні дані представлено на рис. 10, 11 і 12.

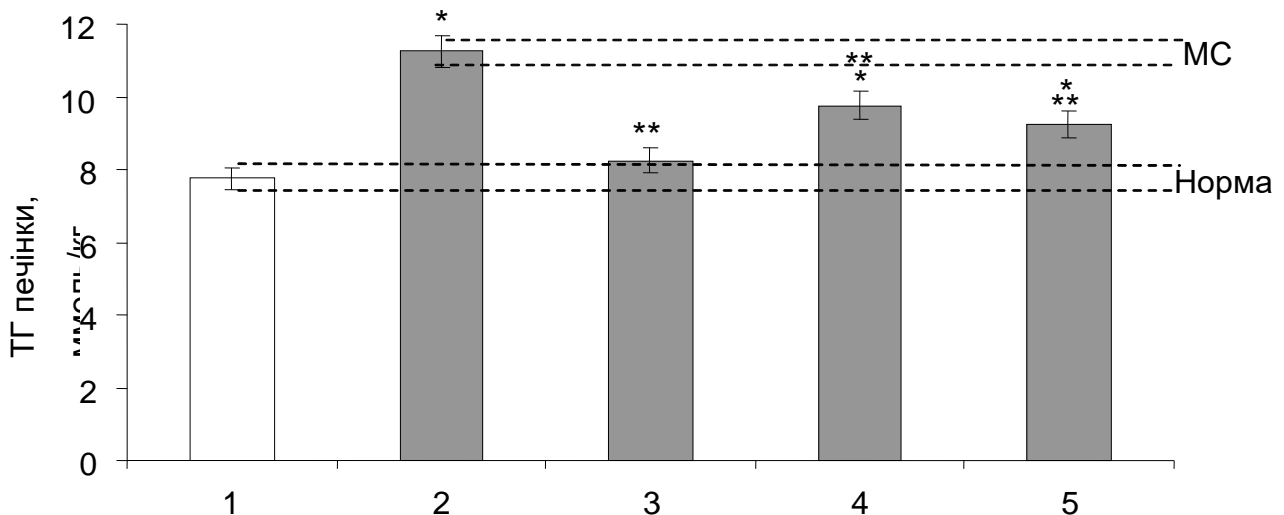


Рис. 10. Вплив «Квертуліна», квертгіала та лізоцима на вміст тригліцериду ($M \pm m$, $n=7$) у печінці щурів з експериментальною моделлю метаболічного синдрому (МС) (1 – контроль, 2 – МС, 3 – МС + «Квертулін», 4 – МС + лізоцим, 5 – МС + квертгіал) (* – $p < 0,05$ до гр. № 1; ** – $p < 0,05$ до гр. № 2)

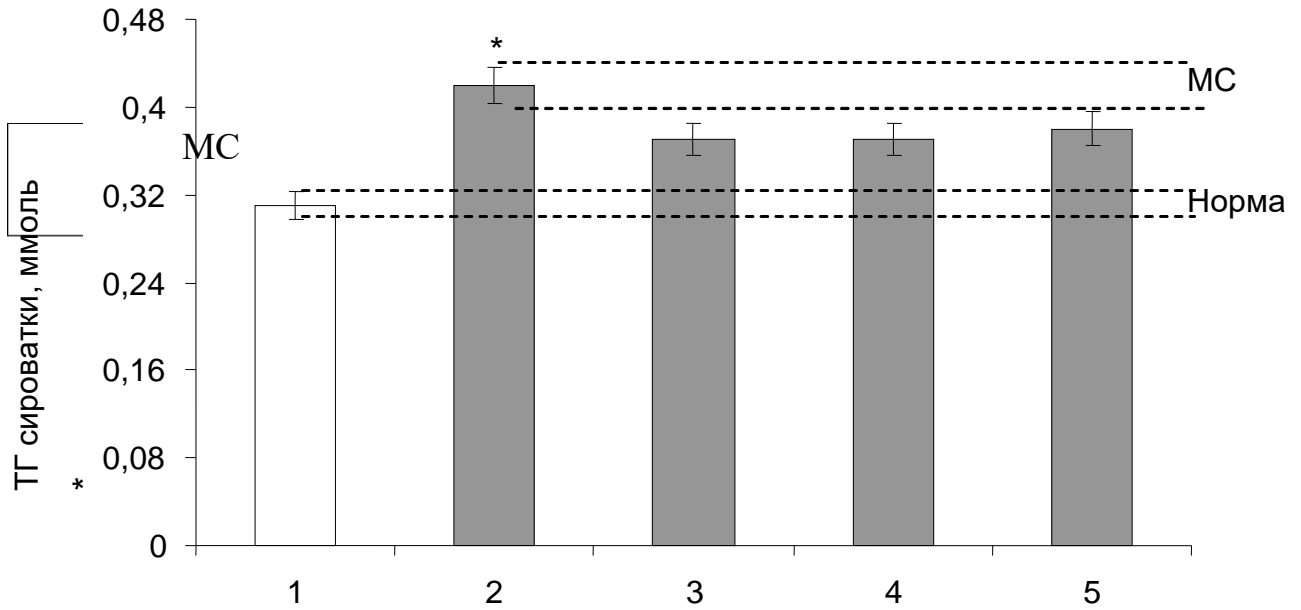


Рис. 11. Вплив «Квертуліна», квертгала та лізоцима на вміст тригліцериду ($M \pm m$, $n=7$) у сироватці крові щурів з експериментальною моделлю метаболічного синдрому (1-5 – див. рис. 10) *– $p < 0,05$ до гр. № 1

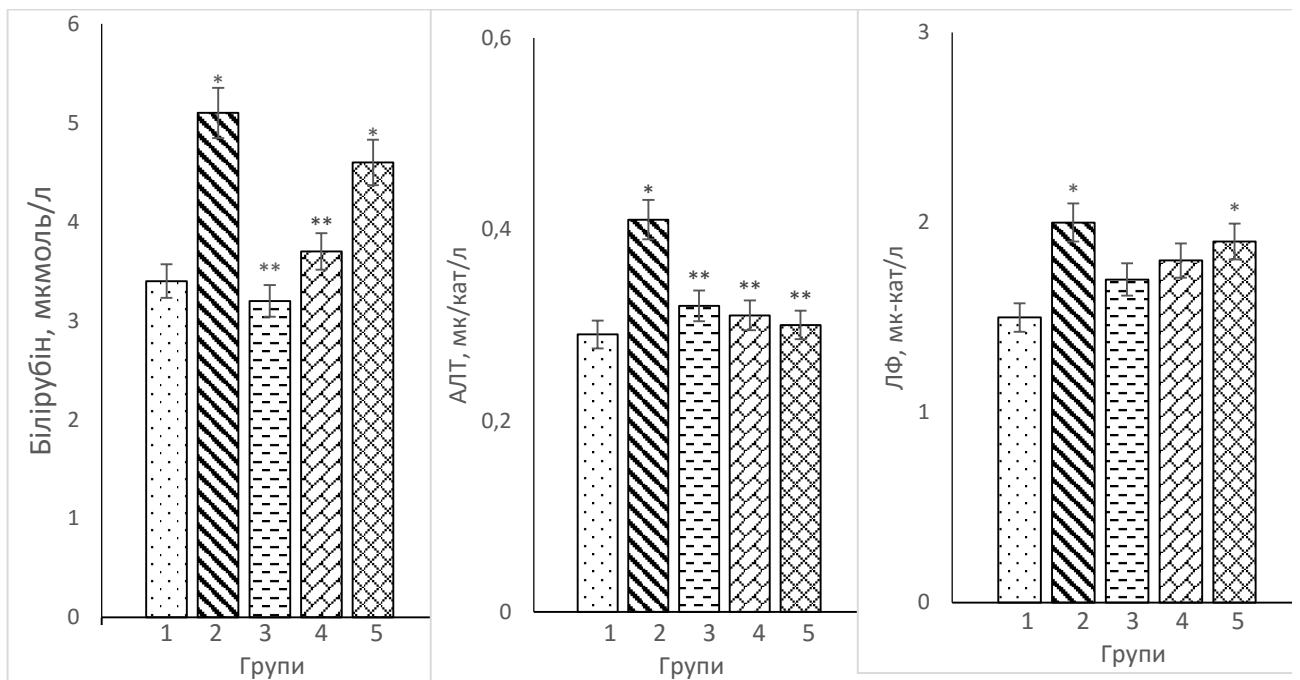


Рис. 12. Вплив «Квертуліна», квертгала та лізоцима на рівень печінкових маркерів ($M \pm m$, $n=7$) у сироватці крові щурів з експериментальною моделлю метаболічного синдрому (1-5 – див. рис. 10) *– $p < 0,05$ до гр. № 1, **– $p < 0,05$ до гр. №2

Враховуючи важливі споживчі властивості олеїнової кислоти, можна було чекати позитивної дії високоолеїнової соняшникової олії, яку виробляють із спеціальних, селекційним шляхом отриманих, сортів і гібридів соняшника [В. В. Кириченко, 2011; А. П. Левицький, 2002].

При вивченні впливу високоолеїнової соняшникової олії «Оливка», виробництва НВА «Одеська біотехнологія», на стан печінки щурів, які отримували безжировий раціон (БЖР). Додавання до цього раціону 5 % «Оливки», яка містить 84,6 % олеїнової кислоти і всього 6,2 % лінолевої (звичайна соняшникова олія містить 30,3 % олеїнової кислоти і 57,1 % лінолевої), знижувало в печінці вміст ТГ і ЗХ на відміну від звичайної олії.

Високоолеїнова соняшникова олія не знижує рівень ω -3 ПНЖК в ліпідах печінки, тоді як звичайна соняшникова олія знижує їх вміст в 1,5-10 разів і в 5 разів підвищує співвідношення ω -6/ ω -3.

Нами був розроблений препарат «Ліпосан», який містить усі 5 незамінних жирних кислот. Додавання «Ліпосану» в кількості 2,5 % до складу БЖР підвищує вміст ПНЖК в багато разів (табл. 5).

Таблиця 5

Вплив препарату поліненасичених жирних кислот «Ліпосан» на вміст есенціальних жирних кислот ($M \pm m$, $n=8$) у ліпідах печінки щурів, що отримували безжировий раціон (%)

Жирна кислота	БЖР	БЖР+«Ліпосан»
Лінолева ($C_{18:2}$)	12,08 \pm 1,44	17,94 \pm 1,31*
Ліноленова ($C_{18:3}$)	0,29 \pm 0,03	1,38 \pm 0,15*
Арахідонова ($C_{20:4}$)	2,10 \pm 0,15	2,31 \pm 0,26
Ейкозапентаєнова ($C_{20:5}$)	0,11 \pm 0,02	0,89 \pm 0,02*
Докозапентаєнова ($C_{22:5}$)	0,10 \pm 0,02	1,58 \pm 0,25*
Докозагексаєнова ($C_{22:6}$)	0,34 \pm 0,21	2,83 \pm 0,31*

Примітка: * – $p < 0,05$

Таким чином, результати дослідження дозволили обґрунтувати роль аліментарних факторів та дисбіозу у патогенезі НАСГ, що стало теоретичною основою аліментарно дисбіотичної-профілактики цього захворювання печінки.

ВИСНОВКИ

У роботі представлено теоретичне узагальнення і рішення актуальної науково-практичної проблеми та зроблений суттєвий вклад в новий науковий напрямок, що стосується ролі жирнокислотного складу харчових жирів і дисбіозу в патогенезі неалкогольної жирової хвороби печінки і неалкогольного стеатогепатиту, що дозволило патогенетично обґрунтувати і розробити принципи аліментарно-антидисбіотичної профілактики даного патологічного процесу.

1. Високий вміст жирів в раціоні щурів викликає ожиріння, підвищений рівень тригліцеридів в сироватці крові (гіпертригліцеридемія) і в печінці (гепатостеатоз), на 28% вже через годину після вживання жирів з високим вмістом пальмітинової кислоти (пальмова олія і вершкове масло).

2. Високожирові раціони з пальмовою олією або вершковим маслом достовірно підвищують в печінці активність еластази до $0,42 \pm 0,01$ мк-кат/кг, що свідчить про розвиток запалення (стеатогепатита), обумовленого високим вмістом пальмітинової кислоти (50%, 28% відповідно) в цих жирах.

3. Високожирові раціони значно змінюють в ліпідах печінки, сироватки

крові, у вісцеральній і підшкірній жировій тканинах вміст незамінних жирних кислот, особливо, ω -3 поліненасичених жирних кислоти у фракції вільних жирних кислот. Так, у сироватці крові він збільшується у 1,5 – 2,5 рази, тоді як у печінці знижується у 2,5 – 3 рази.

4. Високожировий раціон викликає розвиток генералізованого дисбіозу, причому в найбільшій мірі пальмова олія і вершкове масло, які містять 50 і 28 % пальмітинової олії відповідно із зростанням уреазу до 0,3 мк-кат/кг та зменшенням лізоциму до 0,1 од/кг при одночасному збільшенні ступеня дисбіозу більш, ніж у 4 рази.

5. Поєднання високожирового раціону з кишковим дисбіозом призводить до розвитку в печінці дисбіозу та запалення (неалкогольний стеатогепатит), гіперліпідемії і збільшенню вмісту вільних жирних кислот в жировій тканині. В печінці активізується перекисне окислення ліпідів, судячи по зростанню майже в двічі до $56,2 \pm 6,6$ ммоль/кг рівня малонового діальдегіду, з одночасним зростанням активності еластази від $0,38 \pm 0,2$ до $0,57 \pm 0,3$ мк-кат/кг ($P < 0,05$). Подібна дія притаманна і ліпополісахариду (кишковому ендотоксину).

6. Високожировий раціон знижує більше, ніж в 3 рази вміст ω -3 поліненасичених жирних кислот (ліноленої, ейкозапентаєнової, докозагексаєнової кислот) в печінці, в сироватці крові і в жировій тканині. В дослідях на щурах, які отримували високожировий раціон, встановлена здатність насичених жирних кислот пригнічувати ендогенний біосинтез ω -3 поліненасичених жирних кислот.

7. Порушення імунної системи, відтворені шляхом введення цитостатиків, преднізолону або спленектомії, викликають розвиток неалкогольного стеатогепатиту і гіперліпідемію, які супроводжуються генералізованим дисбіозом.

8. Лікувальні мінеральні води («Поляна Квасова», «Вознесенська»), особливо в поєднанні з про- і пребіотиками, здійснюють лікувально-профілактичну дію за умов токсичного гепатиту, що особливо чітко демонструє зменшення активності еластази у печінці більш, ніж удвічі.

9. Розроблена рецептура комплексного антидисбіотичного засобу, яка містить кверцетин, інулін і цитрат кальцію, і показана його гепатопротекторна ефективність за умов токсичного гепатиту і неалкогольного стеатогепатиту. Подібною гепатопротекторною ефективністю володіють також інші антидисбіотичні засоби: кверцетин, інулін, квертгіал, лізоцим.

10. Запропоновано використовувати в харчуванні для профілактики неалкогольного стеатогепатиту високоолеїнову соняшникову олію, яка містить 85% олеїнової кислоти, яка має поживні властивості, та містить мінімальну кількість насичених жирних кислот (7 %).

11. Розроблена рецептура дієтичної добавки, яка містить усі незамінні жирні кислоти з оптимальним співвідношенням ω -6/ ω -3 поліненасичених жирних кислот (3:1), показана її здатність підвищувати в печінці і в сироватці крові вміст есенціальних жирних кислот, особливо ω -3 ряду (вміст докозагексаєнової кислоти збільшився у 4 рази у порівнянні з контрольною групою щурів, які знаходились на безжировому раціоні).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для розробки нових дієтичних засобів для профілактики НАСГ запропоновано експериментальний метод відтворення стеатогепатиту шляхом утримання щурів на дієті з вмістом пальмової олії 15 % на тлі кишкового дисбіозу, який викликали за допомогою лінкоміцину, який вводять з питною водою з розрахунку 60 мг/кг за добу протягом 5 днів. Через 2 тижні чітко визначаються усі показники, що свідчать про наявність НАСГ: стеатоз печінки, гіперліпідемія, запально-дистрофічні процеси в печінці, достовірне зростання печінкових маркерів (білірубін, ЛФ, АЛТ) в сироватці крові.

2. Для профілактики НАСГ рекомендовано в харчуванні замінити звичайну високолінолеву соняшникову олію на високоолеїнову соняшникову олію «Оливка».

3. Для профілактики та лікування НАСГ рекомендовано вживати дієтичну добавку «Ліпосан» (вітамін F) та антидисбіотичний засіб «Квертулін», які пропонуються до клінічних випробувань.

ПЕРЕЛІК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях:

1. Левченко Е. М. Сравнительная гепатопротекторная эффективность кверцетина и инулина при экспериментальном токсическом гепатите / Е. М. Левченко, С. А. Демьяненко, П. И. Пустовойт, А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2010. – № 5 (73). – С. 21-25. *(Внесок здобувача – проведено аналіз літературних даних, узагальнено результати, підготовлено статтю до друку).*

2. Левченко О. М. Реабілітація після перекисного токсичного гепатиту за допомогою інуліну / О. М. Левченко, А. П. Левицький // Одеський медичний журнал. – 2010. – № 6 (122). – С. 15-17. *(Внесок здобувача – проведено набір та обстеження хворих, аналіз отриманих даних, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).*

3. 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. – № 1 (123). – С. 15-16. *(Внесок здобувача – узагальнення літературних джерел та статистичних даних).*

4. Левицький А. П. Порівняльна гепатопротекторна дія синбіотика «Біфіформ» і мінеральної води «Вознесенська» / А. П. Левицький, О. М. Левченко // Одеський медичний журнал. – 2011. – № 6. – С. 16-18. *(Внесок здобувача – узагальнення літературних джерел, організація та проведення досліджень).*

5. Левченко Е. М. Реабилитация после перенесенного токсического гепатита с помощью кверцетина / Е. М. Левченко // Вісник морської медицини. – 2012. – № 2 (56). – С. 70-74.

6. Левицький А. П. Влияние квертулина на содержание липидов в печени и в сыворотке крови крыс с эндотоксинемией / А. П. Левицкий, А. И. Гоженко, Е. М. Левченко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2013. – № 1 (31). – С. 139-143. *(Внесок здобувача – обґрунтована)*

мета та завдання дослідження, проаналізована наукова література, проведений статистичний аналіз, узагальнені результати дослідження, підготовлено статтю до друку).

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

8. 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, С. В. Гончарук, Е. М. Левченко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2013. – № 4 (34). – С. 118-123. *(Внесок здобувача – проведено аналіз літературних даних, узагальнено результати, підготовлено статтю до друку).*

9. Влияние лечебно-профилактических препаратов на содержание триглицеридов в печени и сыворотке крови крыс, получавших высокожировой рацион на фоне дисбиоза и иммунодефицита / А. И. Гоженко, А. П. Левицкий, Е. М. Левченко, В. В. Ткачук // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2014. – № 1 (35). – С. 69-74. *(Внесок здобувача – обробка експериментальних та статистичних даних)*

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

11. Левицький А. П. Гиперлипидемическое и продисбиотическое действие сливочного масла / А. П. Левицкий, Е. М. Левченко, С. И. Конкин // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2014. – № 4, т. 2 (38-II). – С. 127-131. *(Внесок здобувача – проведено аналіз літературних даних, узагальнено результати, підготовлено статтю до друку).*

12. Левицький А. П. Гепатопротекторное действие антидисбиотических препаратов при экспериментальном метаболическом синдроме / А. П. Левицкий, Е. М. Левченко, В. Л. Васюк // Журнал НАМН Украины. – 2014. – т. 20, № 4. – С. 478-482. *(Внесок здобувача – обробка експериментальних та статистичних даних)*

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

14. Макаренко А. О. Сравнительная гепатопротекторная эффективность биофлавоноидов / О. А. Макаренко, И. В. Ходаков, Е. М. Левченко, В. Л. Васюк // Вісник стоматології. – 2014. – № 8. – Спец. випуск. – № 8. – С. 20-23. *(Внесок здобувача – в організації і проведенні досліджень, написанні статті, узагальнення літературних джерел).*

15. Васюк В. Л. Влияние антидисбиотических препаратов на состояние печени крыс с экспериментальным стеатогепатитом / В. Л. Васюк, Е. М. Левченко, С. А. Демьяненко // Вісник морської медицини. – 2015. – № 3 (68). – С. 103-109. *(Внесок здобувача – узагальнення літературних джерел, організація та проведення досліджень)*.

16. Левченко Е. М. Влияние высокоолеинового подсолнечного масла на содержание липидов в печени и сыворотке крови крыс / Е. М. Левченко // Вісник морської медицини. – 2016. – № 1 (70). – С. 70-81.

Статті у наукових зарубіжних виданнях:

17. Gozhenko A. I. The hepatoprotective effect of quertulin in rats with disbiosis after high-fat diet / A. I. Gozhenko, Ye. M. Levchenko, A. P. Levitsky // Journal of Health Sciences. – 2013. – v. 3, № 9. – P. 339-346. *(Внесок здобувача – узагальнення літературних джерел, організація та проведення досліджень)*.

18. Мрочко О. І. Вплив Квертуліну на вміст ліпідів в печінці та сироватці крові щурів за умов інгаляції спирта / О. І. Мрочко, О. М. Левченко // Journal of Health Sciences. – 2014. – № 4 (15). – С. 149-156. *(Внесок здобувача – обробка експериментальних та статистичних даних)*

19. Levchenko Ye. M. Гепатопротекторное и антидисбиотическое действие высокоолеинового подсолнечного масла (экспериментальное исследование) = Hepatoprotective and antidysbiotic effects of high oleic sunflower oil (experimental investigation). / Ye. M. Levchenko // Journal of Education, Health and Sport. – 2015. – № 5 (11). – P. 735-744. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.48417>

20. Левченко Е. М. Влияние незаменимых жирных кислот на жировой обмен и микробиоценоз у животных на безжировом рационе. / Е. М. Левченко // Journal of Education, Health and Sport. – 2015. – т. 5, № 12. – С. 73-83.

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

Монографії:

22. Левченко Е. М. Биофлавоноидные гепатопротекторы / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, Е. М. Левченко, С. А. Демьяненко. – Одесса: КП ОГТ, 2014. – 86 с. *(Внесок здобувача – проведено аналіз літературних даних)*

Статті в інших наукових виданнях:

23. Левицкий А. П. Биохимические маркеры воспаления и дисбиоза в печени крыс при экспериментальной эндотоксинемии и воздействии квертулина / А. П. Левицкий, Е. М. Левченко // Вісник морської медицини. – 2013. – № 1 (58). – С. 64-69. *(Внесок здобувача – узагальнення літературних джерел, організація та проведення досліджень)*.

24. Левицкий А. П. Сравнительное действие кверцетина, инулина и квертулина на состояние печени крыс после оральной аппликации липополисахарида / А. П. Левицкий, Е. М. Левченко, О. А. Макаренко // Вісник морської медицини. – 2013. – № 2 (59). – С. 34-38. *(Внесок здобувача – обробка експериментальних та статистичних даних)*

25. 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, Е. М. Левченко // Вісник морської медицини. – 2013. – № 4 (61). – С. 62-66. *(Внесок здобувача – узагальнення літературних джерел, організація та проведення досліджень).*

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

Тези:

27. Пребиотические свойства полифенолов / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская, Ю. В. Цисельский, С. А. Демьяненко, Е. М. Левченко // Український біохімічний журнал. – 2010. – т. 82, № 4 (додаток 2). – С. 116. *(Внесок здобувача – проведено огляд літератури, узагальнено результати, підготовлено тези до друку).*

28. Сравнительная оценка гепатопротекторных свойств препаратов биофлавоноидов / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко, П. И. Пустовойт, Е. М. Левченко, М. И. Скидан // Вісник стоматології. – 2012. – № 7. – Спец. випуск. – С. 30. *(Внесок здобувача – проведено аналіз отриманих даних, сформульовано висновки, підготовлено тези до друку).*

29. Патологические механизмы лечебно-профилактического действия биофлавоноидов / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская, Л. Н. Хромагина, И. В. Ходаков, О. Э. Кнава, В. Н. Почтарь, Е. М. Левченко, К. В. Скидан, Н. Л. Хлыстун // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – т. 15, № 3. – Ч. 2. – С. 350. *(Внесок здобувача – проведено аналіз отриманих даних, підготовлено тези до друку).*

30. Левченко Е. М. Лечебно-профилактический синергизм флавоноида, пребиотика и цитрата кальция / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, Е. М. Левченко, Цисельская О. Ю. // Український біофармацевтичний журнал. – 2013. – № 4 (27). – С. 23-24. *(Внесок здобувача – проведено огляд літератури, узагальнено результати, підготовлено тези до друку).*

31. Продисбиотическое действие пищевых жиров с высоким содержанием пальмититновой кислоты / И. В. Ходаков, А. П. Левицкий, В. В. Ткачук, И. А. Цушко, Е. М. Левченко // Бюллетень XIV чтений им. В. В. Подвысоцкого. – 2015. – С. 222-223. *(Внесок здобувача – участь в експерименті, аналіз результатів, обґрунтування наукової новизни отриманих даних).*

Патенти:

32. Патент на корисну модель 71429 Україна. МПК А61Р 1/16. Гепатопротектор («Квертулин») / А. П. Левицький, 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. *(Внесок здобувача – участь в експерименті, аналіз результатів)*

33. 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. *(Внесок здобувача – участь в експерименті, аналіз результатів)*

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

АНОТАЦІЯ

Левченко О. М. Аліментарно-дисбіотичні аспекти патогенезу і профілактики неалкогольного стеатогепатиту. Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Сумський державний університет МОН України, Суми, 2016.

В роботі показано, що високий вміст жиру в раціоні (15 %) викликає розвиток гепатостеатозу, ступень якого залежить від вмісту у складі жирів пальмітинової кислоти. Жири з високим вмістом пальмітинової кислоти (пальмова олія і вершкове масло) викликають також дисбіоз в тканинах кишечника і печінки.

Високожировий раціон на фоні кишкового дисбіозу викликає розвиток неалкогольного стеатогепатиту. Останній розвивається також за умов системної ендотоксинемії, метаболічного синдрому, імунодефіциту.

Застосування антидисбіотичних засобів (кверцетин, інουλін, лізоцим, квертгіал) здійснювало лікувально-профілактичний ефект за умов експериментального стеатогепатиту. Розроблено рецептуру засобу квертулін.

Показано, що високожировий раціон знижує вміст ω -3 поліненасичених жирних кислот (ліноленової, ейкозапентаєнової і докозагексаєнової) в ліпідах печінки і сироватки крові.

Запропоновано використовувати високоолеїнову соняшникову олію «Оливка». Показана її лікувально-профілактична дія за умов високожирового раціону і здатність не знижувати рівень ω -3 жирних кислот. Розроблена дієтична жирова добавка «Ліпосан (вітамін F)», яка містить 5 есенціальних жирних кислот з оптимальним співвідношенням ω -6/ ω -3. Показана можливість за допомогою цього препарату нормалізувати стан печінки і жирового обміну. На розроблені засоби отримано дозвіл МОЗУ на застосування.

Ключові слова: неалкогольний стеатогепатит, жирове харчування, дисбіоз, жирні кислоти, антидисбіотичні засоби.

АННОТАЦИЯ

Левченко Е. М. Алиментарно-дисбиотические аспекты патогенеза и профилактики неалкогольного стеатогепатита. Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Сумской государственной университету МОН Украины, Сумы, 2016.

Диссертационная работа посвящена теоретическому обобщению и решению актуальной научно-практической проблемы, касающейся роли жирнокислотного состава пищевых жиров и дисбиоза в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени и неалкогольного стеатогепатита, что позволило патогенетически обосновать и разработать принципы алиментарно-антидисбиотической профилактики патологического процесса.

В работе было проведено 16 экспериментальных серий исследований с использованием 391 лабораторной крысы линии Вистар стадного разведения. У животных моделировали гепатит, стеатогепатит, дисбиоз, эндотоксинемию, иммунодефицит разного происхождения, метаболический синдром. Высокожировые рационы для крыс создавали путем добавления к стандартному комбикорму 15 % различных пищевых масел: подсолнечного, оливкового, пальмового или сливочного. На безжировом полусинтетическом рационе у животных исследовали действие кокосового масла (5 %), высокоолеинового подсолнечного масла «Оливка» (5 %) и диетической добавки «Липосан» (витамин F) (2,5 %).

Жирнокислотный состав липидов печени, сыворотки крови и жировой ткани определяли хроматографическим методом с использованием газового хроматографа и масс-спектрометра GCMS-CIP5050A (Shimadzu, Япония). Содержание триглицеридов и общего холестерина определяли ферментативными методами. О наличии воспаления в печени судили по уровню биохимических маркеров воспаления в ткани печени (содержание малонового диальдегида и активность эластазы) и уровню печеночных маркеров в сыворотке крови (билирубин, активность аланинтрансаминазы и щелочной фосфатазы). Степень дисбиоза определяли ферментативным методом по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима.

Установлено, что высокожировой рацион вызывает у крыс развитие гепатостеатоза, а в сочетании с кишечным дисбиозом – неалкогольный стеатогепатит. Показано, что степень патогенного действия высокожирового рациона зависит от уровня пальмитиновой кислоты, наибольшее содержание которой установлено в пальмовом и сливочном маслах.

На моделях системной эндотоксинемии, метаболического синдрома, иммунодефицита различного происхождения (введение цитостатиков, преднизолона или спленэктомия) по биохимическим маркерам в сыворотке крови и печени у крыс показано развитие неалкогольного стеатогепатита и гиперлипидемии. Установлено, что ведущим патогенетическим механизмом развития неалкогольного стеатогепатита во всех случаях является дисбиоз, проявляющийся системной эндотоксинемией.

Показано лечебно-профилактическое действие антидисбиотических средств (кверцетин, инулин, лизоцим, квертгил) на фоне моделирования у крыс неалкогольного стеатогепатита независимо от его происхождения. Установлена высокая лечебно-профилактическая эффективность минеральных вод «Поляна Квасова» и «Вознесенская» при одновременном использовании их с про- и пребиотиками. Предложен более эффективный комплексный антидисбиотический препарат «Квертулин», содержащий натуральные соединения: биофлавоноид кверцетин, пребиотик инулин и цитрат кальция. «Квертулин» на фоне экспериментальной патологии эффективно снижал степень дисбиоза и оказывал выраженное гепатопротекторное действие.

Показано, что высокожировой рацион, особенно с высоким содержанием пальмитиновой кислоты, снижает содержание полиненасыщенных жирных кислот ω -3 ряда в липидах печени и сыворотки крови. В то же время установлено, что высокоолеиновое подсолнечное масло «Оливка», содержащее 85 % олеиновой кислоты, в условиях потребления крысами высокожирового рациона не снижает уровень ω -3 полиненасыщенных жирных кислот и оказывает умеренное гепатопротекторное действие.

Предложена диетическая жировая добавка «Липосан (витамин F)», содержащая все эссенциальные жирные кислоты (линолевая, линоленовая, арахидоновая, эйкозапентаеновая и докозагексаеновая) в оптимальном соотношении ω -6/ ω -3 полиненасыщенных жирных кислот. Установлено положительное действие Липосана на жировой обмен и состояние печени, а также на уровень ω -3 полиненасыщенных жирных кислот.

На разработанные препараты «Оливка», «Квертулин», «Липосан (витамин F)» получено разрешение Минздрава Украины на применение в практическом здравоохранении.

Ключевые слова: неалкогольный стеатогепатит, жировое питание, дисбиоз, жирные кислоты, антидисбиотические средства.

SUMMARY

Levchenko E. M. Nutritional and disbiotic aspects of non-alcoholic steatohepatitis pathogenesis and prevention. – The manuscript.

Dissertation for scientific degree of Doctor of Medical sciences in specialty 14.03.04 – pathological physiology. – Sumy State University of MES of Ukraine, Sumy, 2016.

It is shown that a high fat content in the diet (15%) triggers development of hepatosteatosis, the degree of which depends on the content of palmitic acid. Fats with a high composition of palmitic acid (palm oil and butter) also cause dysbiosis in the tissues of the intestine and liver.

High fat diet on the background of intestinal dysbiosis causes the development of nonalcoholic steatohepatitis. The latter also develops under conditions of endotoxynemy, metabolic syndrome, an immunodeficiency.

Application of antidysbiotic agents (quercetin, inulin, lysozyme, kverthial) fulfil the therapeutic effect under the experimental steatohepatitis. Compounding means kvertulin is developed.

It is shown that high lipid diet reduces the content of ω -3 polyunsaturated fatty acids (linolenic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic) lipids in liver and serum.

It is recommended to use a high oleic sunflower oil "Olive". Shown its therapeutic and preventive action in conditions of high lipid diet and the ability not to reduce the level of ω -3 fatty acids. Developed dietary fat supplement "Liposan (Vitamin F)», which contains five essential fatty acids with optimal ω -6 / ω -3. The possibility of using this drug normalize the state of the liver and fat metabolism. Permission on use was received on developed means by MOH.

Key words: non-alcoholic steatohepatitis, fatty food, dysbiosis, fatty acids, antidisbiotic remedy.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АЛТ	– аланінамінотрансфераза
АПІ	– антиоксидантно-прооксидантний індекс
АСТ	– аспартатамінотрансфераза
АТ	– ангіотензин
БЖР	– безжировий раціон
ВЖК	– вільні жирні кислоти
ВЖР	– високожировий раціон
ГГТП	– γ -глутамілтранспептидаза
ГТ	– гепатит токсичний
ЕКМ	– екстрацелюлярний колагеновий матрикс
ЖГ	– жировий гепатоз
ЖД	– жирова дистрофія
ЗЛ	– загальні ліпіди
ЗХ	– загальний холестерин
ІІ	– інтерлейкін
ІМТ	– індекс маси тіла
КТ	– компютерна томографія
ЛПДНЩ	– ліпопротеїди дуже низької щільності
ЛПС	– ліпополісахарид
ЛФ	– лужна фосфатаза
МДА	– малоновий диальдегід
МС	– метаболічний синдром
НАЖХП	– неалкогольна жирова хвороба печінки
НАСГ	– неалкогольний стеатогепатит
НЖК	– насичені жирні кислоти
НТГ	– низька толерантність до глюкози
ПНЖК	– поліненасичені жирні кислоти
ПОЛ	– перекисне окислення ліпідів
С-РБ	– С-реактивний білок
ССЗ	– серцево-судинні захворювання
ТГ	– тригліцеріди
ФНП _{α}	– фактор некрозу пухлини α
ЦД II	– цукровий діабет II типу
ЦК	– цитокін