

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КОСЕНКО ТЕТЯНА ВАСИЛІВНА

УДК 616.36-008.6 (043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ
РОЛЬ ДИСБІОЗУ У РОЗВИТКУ ПЕЧІНКОВОЇ ОСТЕОДИСТРОФІЇ

091 Біологія

09 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Т. В. Косенко

(підпис)

Науковий керівник: Макаренко Ольга Анатоліївна, д.б.н., с.н.с., зав. каф.
фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти
ОНУ імені І. І. Мечникова

Одеса–2023

АНОТАЦІЯ

Косенко Т. В. Роль дисбіозу у розвитку печінкової остеодистрофії.

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 091 Біологія – Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, 2023.

Дисертаційна робота присвячена з'ясуванню ролі розвитку дисбіозу у патогенезі остеодистрофії, яка індукована патологією печінки або жовчного міхура у лабораторних щурів, а також обґрунтуванню профілактики дисбіозу та порушень у кістковій тканині, які викликані гепатобіліарною патологією.

Для реалізації мети і виконання завдань дослідження заплановано проведення трьох експериментів на лабораторних щурах. Під час досліджень щурів утримували згідно правил роботи з експериментальними тваринами, встановлених Директивою Європейського парламенту та Ради (2010/63/EU) та наказом Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249, щури знаходилися на постійному харчовому та питному режимі віварію ОНУ імені І. І. Мечникова.

Завданням першого етапу роботи було дослідження стану головного відділу травного тракту, в якому відбувається всмоктування поживних речовин – слизової оболонки тонкої кишки у щурів з токсичним гепатитом, що моделювали шляхом введення гідразинсульфату у дозі 50 мг/кг два рази на тиждень протягом місяця. За визначенням біохімічних показників запалення у печінці (активністю еластази та кислій фосфатази), «печінкових» маркерів у сироватці крові (активністю аланінамінотрансферази, лужної фосфатази і вмісту білірубину) констатували запалення паренхіми та пошкодження клітин печінки, тобто наявність токсичного гепатиту у тварин. Стан слизової оболонки тонкої кишки щурів оцінювали за показниками запалення (активністю еластази та кислій фосфатази), контамінацією умовно-патогенними бактеріями (активністю уреаз), антимікробного фактора

(активністю лізоциму) та ступенем дисбіозу. На тлі розвитку токсичного гепатиту у слизовій оболонці тонкої кишки було зареєстровано ознаки запалення, зниження антимікробного захисту, посилене розмноження патогенної мікробіоти та розвиток дисбіозу. Встановлені зміни в печінці та тонкій кишці щурів вказують на порушення однієї з важливих функцій печінки – антимікробної, внаслідок чого спостерігали збільшення показнику контамінації умовно-патогенною мікробіотою та розвиток дисбіозу у слизовій оболонці тонкої кишки.

Отримані результати дозволяють висловити припущення: запалення та дисбіоз у слизовій оболонці тонкої кишки тварин з патологією печінки призведе до погіршення останнього етапу гідролізу поживних речовин та їх всмоктування у кров та лімфу. У свою чергу дефіцит необхідних компонентів може викликати дистрофічні зміни у тканинах та органах, зокрема у кістках тварин з гепатобіліарною патологією.

Тому на наступному етапі роботи були проведені поширені дослідження по всмоктуванню кальцію та амінокислот на ізольованій ділянці тонкої кишки, ступеню засвоєння кальцію, як головного компоненту кісткової тканини, проникності стінки тонкої кишки, маркерів запалення та дисбіозу у всіх відділах травного тракту самців і самок щурів, яким моделювали токсичний гепатит шляхом введення сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців. За морфометричними показниками (атрофія альвеолярної кістки, щільність, вміст мінерально-органічного компонента, окремо мінеральної і органічної складової кісток) було проведено дослідження стану альвеолярної кістки щелеп, стегнових, великих гомілкових кісток, поперекових хребців, а також окремо епіфізу та діафізу стегнових кісток щурів з хронічним токсичним гепатитом.

Отримані результати складу периферичної крові, біохімічний аналіз сироватки крові та тканини печінки щурів, яким вводили розчин сірчаноокислого гідразину двічі на тиждень протягом трьох місяців, вказують на наявність ураження печінки та загального запалення у тварин, що можна

тракувати як прояв токсичного гепатиту. Одним з негативних наслідків токсичного пошкодження печінки є зниження її здатності виконувати антимікробну функцію та знешкоджувати умовно-патогенні бактерії та їх токсини.

Тривале введення щурам гідразинсульфату призвело до зниження всмоктування та засвоєння кальцію у слизовій оболонці тонкої кишки, що частково компенсувалося гальмуванням екскреції нирками цього елемента. Кальцій, який не всмоктався у кров із тонкої кишки тварин, виводився з калом. Хронічний гепатит не впливав на всмоктування амінокислот у слизовій оболонці тонкої кишки. Проведене дослідження встановило недостатність засвоєння кальцію у травному тракті щурів з хронічним гепатитом. На ізольованій ділянці тонкої кишки тварин показано збільшення у 2,2-3,5 рази проникності її стінки у щурів з гепатитом, яке більш виражене у самців.

Результати біохімічного дослідження ясен та слизових оболонок тонкої і товстої кишки щурів з токсичним гепатитом вказують на розвиток запалення, пошкодження клітин, інтенсифікацію перекисного окиснення ліпідів (зростання активності еластази на 21,9-39,0 %, кислій фосфатази на 1,7-97,9 %, вмісту малонового діальдегіду на 22,8-60,9 %) зниження неспецифічного антимікробного захисту, підвищення контамінації умовно-патогенними бактеріями та розвиток дисбіозу (збільшення активності уреаз на 12,4-179,4 %, ступеня дисбіозу у 2,2-10,5 рази на тлі зниження активності лізоциму на 26,1-90,4 %) у досліджуваних відділах травного тракту тварин. Встановлені порушення були більш виражені у щурів самців з хронічним токсичним гепатитом.

Морфометричні дослідження кісток щурів показали, що моделювання гепатиту не вплинуло на стан зубів, тобто на каріозний процес як самок, так і самців. Водночас розвиток хронічного токсичного гепатиту у самців щурів сприяв підвищенню ступеню атрофії альвеолярного відростку щелеп і зменшенню щільності діяфізу стегнової кістки, що свідчить про активацію

резорбційних процесів у кістковій тканині. Моделювання патології у самок викликало протилежний ефект, а саме не вплинуло на атрофію альвеолярної кістки, але призвело до достовірного підвищення щільності поперекових хребців, великих гомілкових кісток, стегнових кісток та їх епіфізу. Визначення мінеральної та органічної частки поперекових хребців, великих гомілкових кісток та діафізу стегнових кісток встановило, що збільшення їх щільності у самок з гепатитом відбувалося завдяки підвищенню мінеральної складової кісткової тканини. Зменшення щільності діафізу стегнових кісток у самців з токсичним гепатитом відбувалося за рахунок зниження мінеральної частки кісткової тканини.

Біохімічні дослідження кісткової тканини альвеолярного відростку та стегнових кісток щурів також показали різноспрямовані процеси у кістковій тканині самок та самців з токсичним гепатитом. Так, у кістковій тканині самок з гепатитом встановлено більш інтенсивне руйнування органічної матриці під впливом кісткової еластази та компенсаторне підвищення остеогенезу за участю кісткової лужної фосфатази (зростання активності еластази на 31,2-39,8 %, підвищення активності лужної фосфатази на 61,7-77,3 %), чим можна пояснити підвищення щільності хребців у самок при патології. Тривале введення сірчаноокислого гідразину самцям призвело до протилежних процесів у кістковій тканині, а саме – до більш активного руйнування гідроксиапатиту під впливом кісткової кислої фосфатази (зростання активності кислої фосфатази на 88,3-93,7 %), зниження вмісту кальцію – на 16,9-18,3 %, результатом чого стало відповідно зменшення мінеральної частки та щільності кісток. Цим і можна пояснити збільшення резорбції альвеолярної кістки щелеп, а також тенденцію до зниження мінеральної частки кісткової тканини і щільності всіх кісток, що досліджували, у самців щурів з гепатитом.

Встановлені закономірності дозволяють твердити про негативний вплив гепатиту на метаболізм і склад кісткової тканини щурів із

компенсаторною участю естрогенів, які, як відомо, уповільнюють швидкість ремоделювання кісткової тканини і запобігають патологічній резорбції.

Таким чином, результати другого етапу дослідження дозволяють підтвердити припущення про те, що порушення антимікробної функції печінки при гепатиті веде до розвитку дисбіотичних явищ, запалення, інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів у слизових оболонках травного тракту, зокрема тонкої кишки, тварин з хронічним токсичним гепатитом. Встановлені патологічні зміни призводять до зниження всмоктування кальцію у слизовій оболонці тонкої кишки та недостатності його засвоєння у травному тракті, а також до суттєвого підвищення проникності стінок тонкої кишки щурів з хронічним гепатитом. Компенсаторною реакцією на низьку абсорбцію кальцію в тонкій кишці стало посилення резорбції кісткової тканини щурів з гепатитом, що підтвердилося підвищенням активності кісткової кислої фосфатази та зниженням рівня кальцію в кістковій тканині. Більш значно процес резорбції кісткової тканини був виражений у самців: збільшення резорбції альвеолярної кістки щелеп, тенденція до зниження мінеральної частки кісткової тканини і щільності стегнових, великих гомілкових кісток, поперекових хребців, а також епіфізу та діафізу стегнових кісток.

Отримані результати попередніх етапів дослідження дали підставу для необхідності патогенетичного корегування порушень у кістковій та травній системах тварин з патологією печінки за допомогою протизапальних, антидисбіотичних, гепатопротекторних препаратів та сорбентів.

Тому на заключному етапі роботи провели дослідження профілактичної ефективності комплексу, який складався із гепатопротектора і сорбенту у щурів з тривалим холестазом. Гепатопротектор (Леквін, НВА «Одеська біотехнологія», Україна) містить лецитин, кверцетин, інулін, кальцій, аскорбінову кислоту та володіє гепатопротекторними, антидисбіотичними та протизапальними властивостями. Дієтична добавка (Мінерол, НВМП «ГОБОР», Україна) – глинистий мінерал монтморилоніт з

активністю сорбенту і вмістом макро- та мікроелементів. Обидва препарати дозволені для застосування у клініці (Додаток).

Хронічний холестаза, як дуже поширену патологію сучасності, відтворювали у самців щурів шляхом перев'язки жовчної протоки під тіопенталовим наркозом. Профілактичний комплекс препаратів вводили тваринам з холестазом через 3 дні після операції. Тривалість експерименту склала 4 місяці.

Наявність відтворення холестаза підтвердили за визначенням у сироватці крові щурів активності аланінамінотрансферази, еластази, та головного маркера холестаза – лужної фосфатази, які були підвищені. Аналіз показників ліпідного обміну (тригліцериди, холестерин) у сироватці крові тварин показав наявність порушення метаболізму цих речовин в умовах хронічного холестаза. Також встановлено зниження вмісту кальцію у крові щурів з хронічним холестазом.

Хронічний холестаза сприяв збільшенню органного індексу печінки на 23,5 %, а також зростанню у тканині печінки маркерів запалення (активності еластази, кислої фосфатази), інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів (вмісту малонового діальдегіду), зниженню антитоксичної функції печінки (збільшення активності уреаз). У слизових оболонках порожнини рота, тонкої та товстої кишок встановлено розвиток запалення (збільшення активності еластази на 28,4-41,1 %, активності кислої фосфатази на 19,3-45,6 %), активація перекисного окиснення ліпідів (збільшення вмісту малонового діальдегіду на 55,8-127,1 %), пригнічення антиоксидантного (зменшення активності каталази на 6,5-32,1 %) та антимікробного (зниження активності лізоциму на 44,5-70,6 %) захисту, посилення контамінації умовно-патогенними бактеріями (підвищення активності уреаз 40,7-92,3 %) та збільшення ступеня дисбіозу у 3,2-5,5 раз.

Хронічний холестаза призвів до суттєвих порушень у кістковій тканині альвеолярного відростку і стегновій кістці щурів: руйнування білкової матриці (зростання активності еластази на 37,0-56,5 %), посилення гідролізу

гідроксиapatиту (збільшення активності кислої фосфатази на 58,4-60,3 %), порушення кісткоутворення, про що свідчило зниження активності маркеру остеобластів – активності лужної фосфатази на 26,5-42,2 % і вмісту кальцію 20,2-42,6 %.

Гістологічний аналіз стегнових кісток у щурів з хронічним холестазом встановив зниження питомого об'єму хряща суглобових поверхонь епіфізів на 25,8 %, зниження питомого об'єму кісткового мозку на 14,4 % та зменшення кількості остеобластів на 39,4 % на тлі збільшення питомого об'єму кісткових балок на 33,1 %.

Тобто загалом показано, що патологія холестазу викликає такі ж зміни у печінці, слизових оболонках травного тракту і, як наслідок, у кістковій тканині тварин, як і при токсичному пошкодженні печінки.

Проведення профілактики ефективно попереджувало встановлені зміни у печінці та сироватці крові щурів з холестазом, а також сприяло збереженню показників запалення, антимікробного та антиоксидантного захисту, ступеня контамінації умовно-патогенними бактеріями та дисбіозу у травному тракті щурів на нормальному рівні. Профілактичне введення гепатопротектора, сорбента і джерела мінералів гальмувало процеси резорбції кісткової тканини, нормалізувало вміст кальцію та збільшувало рівень мінералізуючого індексу. Остеопротекторна дія профілактичного комплексу більш виражена у тканині альвеолярного відростка щурів з холестазом.

Встановлені ефекти профілактичного комплексу проявилися завдяки таким компонентам гепатопротектора: лецитин і кверцетин, які володіють гепатопротекторними, антиоксидантними, протизапальними та жовчорозріджувальними властивостями, інулін з антидисбіотичною дією, кальцій та аскорбінова кислота. У поєднанні з сорбентом, який знижував рівень інтоксикації організму тварин в умовах холестазу, застосування гепатопротектора дозволило підтримати метаболічні функції печінки в межах норми, в результаті – попередити дисбіотичні та запальні процеси у слизових

оболонках травного тракту, і, як наслідок, нормалізувати процеси ремоделювання в кістковій тканині тварин хворих на холестааз.

Ключові слова: щури, печінка, жовчний міхур, кістки, остеодистрофія, травний тракт, запалення, дисбіоз, всмоктування кальцію, гепатопротектор, сорбент, антидисбіотична, антиоксидантна, протизапальна дія.

ABSTRACT

Kosenko T.V. The role of dysbiosis in the development of hepatic osteodystrophy.

Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the scientific degree of Candidate of Biological Sciences (Doctor of Philosophy) in the specialty 091 Biology Odesa I. I. Mechnikov National University, Odesa, 2023.

The dissertation is devoted to elucidating the dysbiotic mechanism of the development of osteodystrophy, which is induced by pathology of the liver or gall bladder in laboratory rats, as well as to the justification of the prevention of dysbiosis and disorders in bone tissue caused by hepatobiliary pathology.

Three experiments on laboratory rats are planned for the realization of the goal and the fulfillment of research tasks. During the research, the rats were kept in accordance with the rules for working with experimental animals, established by the Directive of the European Parliament and the Council (2010/63/EU) and the order of the Ministry of Education and Science, Youth and Sports of Ukraine dated 01.03.2012 No. 249, the rats were on permanent food and the drinking regime of the vivarium of the Mechnikov National University.

The task of the first stage of the work was to find out the condition of the main part of the digestive tract in which nutrients are absorbed, the mucous membrane of the small intestine in rats with toxic hepatitis, which was simulated by administering hydrazine sulfate at a dose of 50 mg/kg twice a week for a month. Based on the determination of biochemical indicators of inflammation in the liver (activity of elastase and acid phosphatase), "hepatic" markers in blood serum (activity of alanine aminotransferase, alkaline phosphatase and bilirubin content), inflammation of the parenchyma and damage to liver cells, i.e. the presence of toxic hepatitis in animals, were determined. The condition of the mucous membrane of the small intestine of rats was assessed by indicators of inflammation (elastase and acid phosphatase activity), contamination with opportunistic bacteria

(urease activity), antimicrobial factor (lysozyme activity) and the degree of dysbiosis. Against the background of the development of toxic hepatitis in the mucous membrane of the small intestine, signs of inflammation, a decrease in antimicrobial protection, increased reproduction of pathogenic microbiota and the development of dysbiosis were registered. The established changes in the liver and small intestine of rats indicate a violation of one of the important functions of the liver - antimicrobial, as a result of which an increase in the rate of contamination with opportunistic microbiota and the development of dysbiosis in the mucous membrane of the small intestine were observed.

The obtained results allow us to make an assumption: inflammation and dysbiosis in the mucous membrane of the small intestine of animals with liver pathology will lead to deterioration of the last stage of hydrolysis of nutrients and their absorption into the blood and lymph. In turn, the deficiency of necessary components can cause dystrophic changes in tissues and organs, in particular in the bones of animals with hepatobiliary pathology.

Therefore, at the next stage of the work, widespread studies were conducted on the absorption of calcium and amino acids in an isolated area of the small intestine, the degree of absorption of calcium as the main component of bone tissue, the permeability of the wall of the small intestine, markers of inflammation and dysbiosis in all departments of the digestive tract of male and female rats, which modeled toxic hepatitis by administering hydrazine sulfate at a dose of 50 mg/kg twice a week for three months. According to morphometric parameters (alveolar bone atrophy, density, content of the mineral-organic component, separately mineral and organic component of bones), the condition of the alveolar bone of the jaws, femurs, large tibias, lumbar vertebrae, as well as separately the epiphysis and diaphysis of the femurs of rats with chronic toxic hepatitis.

The obtained results of determining the composition of peripheral blood, biochemical analysis of blood serum and liver tissue of rats, which were injected with a solution of sulfuric acid hydrazine twice a week for three months, indicate the presence of liver damage and general inflammation in animals, which can be

interpreted as a manifestation of toxic hepatitis. One of the negative consequences of toxic damage to the liver is a decrease in its ability to perform an antimicrobial function and neutralize opportunistic bacteria and their toxins.

Long-term administration of hydrazine sulfate to rats led to a decrease in the absorption and assimilation of calcium in the mucous membrane of the small intestine, which was partially compensated by inhibition of the renal excretion of this element. Calcium, which was not absorbed into the blood in the small intestine of sick animals, was excreted with feces. Chronic hepatitis did not affect the absorption of amino acids in the mucous membrane of the small intestine. The conducted study established insufficient absorption of calcium in the digestive tract of rats with chronic hepatitis. An isolated area of the small intestine of animals showed a 2.2-3.5 times increase in the permeability of its wall in rats with hepatitis, more pronounced in males.

The results of a biochemical study of the gums and mucous membranes of the small and large intestines of rats with toxic hepatitis indicate the development of inflammation, cell damage, intensification of lipid peroxidation (increase in the activity of elastase by 21.9-39.0 %, acid phosphatase by 1.7-97.9 %, the content of malondialdehyde by 22.8-60.9 %), a decrease in non-specific antimicrobial protection, an increase in contamination with opportunistic bacteria and the development of dysbiosis (an increase in urease activity by 12.4-179.4 %, the degree of dysbiosis in 2.2-10.5 times against the background of a decrease in lysozyme activity by 26.1-90.4 %) in the investigated departments of the digestive tract of animals with chronic toxic hepatitis. The established disorders were more pronounced in male rats with chronic toxic hepatitis.

Morphometric studies of rat bones showed that hepatitis simulation did not affect the state of the teeth, that is, the carious process in both females and males. At the same time, the development of chronic toxic hepatitis in male rats contributed to an increase in the degree of atrophy of the alveolar process of the jaws and a decrease in the density of the diaphysis of the femur, which indicates the activation of resorption processes in the bone tissue. Modeling the pathology in

females had the opposite effect, that is, it did not affect alveolar bone atrophy, but led to a significant increase in the density of lumbar vertebrae, large tibiae, femurs and their epiphysis. Determination of the mineral and organic fraction of the lumbar vertebrae, large tibia bones, and diaphysis of the femurs established that the increase in the density of these bones in females with hepatitis occurred due to an increase in the mineral component of bone tissue. The decrease in the density of the femur diaphysis in males with toxic hepatitis occurred due to a decrease in the mineral content of bone tissue.

Biochemical studies of bone tissue of the alveolar process and femurs of rats also showed divergent processes in the bone tissue of females and males with toxic hepatitis. Thus, in the bone tissue of females with hepatitis, a more intense destruction of the organic matrix under the influence of bone elastase and a compensatory increase in osteogenesis with the participation of bone alkaline phosphatase was established (increase in elastase activity by 31.2-39.8 %, increase in alkaline phosphatase activity by 61.7-77.3 %), which can explain the increase in the density of vertebrae in females with pathology. Long-term administration of hydrazine to males led to the opposite processes in bone tissue, namely, to more active destruction of hydroxyapatite under the influence of bone acid phosphatase (an increase in acid phosphatase activity by 88.3-93.7 %), a decrease in calcium content by 16.9-18.3 %, resulting in a decrease in mineral content and bone density, respectively. This can explain the increase in resorption of the alveolar bone of the jaws, as well as the tendency to decrease the mineral content of bone tissue and the density of all the bones examined in male rats with hepatitis.

The established regularities allow us to conclude that hepatitis has a negative effect on the metabolism and composition of bone tissue in rats with the compensatory role of estrogens, which, as is known, slow down the rate of bone tissue remodeling and prevent pathological resorption.

Thus, the results of the second stage of the study allow us to confirm the assumption that a violation of the antimicrobial function of the liver in hepatitis leads to the development of dysbiotic phenomena, inflammation, intensification of

lipid peroxidation in the mucous membranes of the digestive tract, in particular the small intestine, of animals with chronic toxic hepatitis.

The established pathological changes lead to a decrease in the absorption of calcium in the mucous membrane of the small intestine and insufficient absorption of it in the digestive tract, as well as to a significant increase in the permeability of the walls of the small intestine of rats with chronic hepatitis. A compensatory reaction to the low absorption of calcium in the small intestine was an increase in the resorption of bone tissue in rats with hepatitis, which was confirmed by an increase in the activity of bone acid phosphatase and a decrease in the level of calcium in bone tissue. The process of bone tissue resorption was more pronounced in males: an increase in resorption of alveolar bone of the jaws, a tendency to decrease the mineral fraction of bone tissue and the density of femurs, large tibias, lumbar vertebrae, as well as the epiphysis and diaphysis of femurs.

The obtained results of the previous stages of the study provided the basis for the need for pathogenetic correction of disorders in the bone and digestive systems of animals with liver pathology with the help of anti-inflammatory, anti-dysbiotic, hepatoprotective drugs and sorbents.

Therefore, at the final stage of the work, a study of the preventive effectiveness of the complex, which consisted of a hepatoprotector and a sorbent, was conducted in rats with long-term cholestasis. Hepatoprotector (Leqin, NVA «Odeska Biotechnology», Ukraine) contains lecithin, quercetin, inulin, calcium, ascorbic acid and has hepatoprotective, anti-dysbiotic and anti-inflammatory properties. Dietary supplement (Minerol, NVMP «GOBOR», Ukraine) is a clay mineral montmorillonite with sorbent activity and mineral content. Both drugs are approved for clinical use.

Chronic cholestasis, as a very common modern pathology, was reproduced in male rats by ligation of the bile duct under thiopental anesthesia. A prophylactic complex of drugs was administered to animals with cholestasis 3 days after surgery. The duration of the experiment was 4 months.

The presence of reproduction of cholestasis was confirmed by determining the activity of alanine aminotransferase, elastase, and alkaline phosphatase, the main marker of cholestasis, in the blood serum of rats, which were elevated. Analysis of indicators of lipid metabolism (triglycerides, cholesterol) in the blood serum of animals showed the presence of a violation of the metabolism of these substances in conditions of chronic cholestasis. A decrease in calcium content in the blood of rats with chronic cholestasis was also established.

Chronic cholestasis contributed to an increase in the organ index of the liver of rats, and in the liver tissue to an increase in markers of inflammation (elastase, acid phosphatase activity), intensification of lipid peroxidation (malondialdehyde content), and a decrease in the antitoxic function of the liver (increase in urease activity). In the mucous membranes of the oral cavity, small and large intestines, the development of inflammation was established (increase in acid phosphatase activity by 19.3-45.6 %, elastase activity by 28.4-41.1 %), activation of lipid peroxidation (increase in the content of malondialdehyde by 55.8-127.1 %), suppression of antioxidant (decrease in catalase activity by 6.5-32.1 %) and antimicrobial (decrease in lysozyme activity by 44.5-70.6 %) protection, increased contamination by opportunistic pathogens bacteria (an increase in urease activity by 40.7-92.3 %) and an increase in the degree of dysbiosis by 3.2-5.5 times.

Chronic cholestasis led to significant disturbances in the bone tissue of the alveolar process and the femur of rats: destruction of the protein matrix due to the activation of elastase (increase in elastase activity by 37.0-56.5 %), increased hydrolysis of hydroxyapatite by the action of acid phosphatase (increase in the activity of acid phosphatase by 58.4-60.3 %), a violation of bone formation, which was evidenced by a decrease in the activity of the osteoblast marker - alkaline phosphatase activity by 26.5-42.2 % and calcium content by 20.2-42.6 %. Histological analysis of femurs in rats with chronic cholestasis revealed a decrease in the specific volume of the cartilage of the articular surfaces of the epiphyses by 25.8 %, a decrease in the specific volume of bone marrow by 14.4 %, and a

decrease in the number of osteoblasts by 39.4 % against the background of an increase in the specific volume of bone beams by 33.1 %.

That is, in general, it is shown that the pathology of cholestasis causes the same changes in the liver, mucous membranes of the digestive tract and, as a result, in the bone tissue of animals, as in the case of toxic damage to the liver.

Conducting prevention effectively prevented established changes in the liver and blood serum of rats with cholestasis, and also contributed to the maintenance of indicators of inflammation, antimicrobial and antioxidant protection, the degree of contamination with opportunistic bacteria and dysbiosis in the digestive tract of rats with cholestasis at a normal level. Prophylactic administration of hepatoprotector and sorbent inhibited bone resorption processes, normalized the calcium content and increased the level of the mineralization index. The osteoprotective effect of the prophylactic complex is more pronounced in the tissue of the alveolar process of rats with cholestasis.

The established effects of the drugs were manifested due to the following components of hepatoprotector: lecithin and quercetin, which have hepatoprotective, antioxidant, anti-inflammatory and choleric properties, inulin with an antidysbiotic effect, calcium and ascorbic acid. In combination with the sorbent, which reduced the level of toxicity of the animal body in cholestasis conditions, the use of hepatoprotector made it possible to preserve the antitoxic function of the liver and support its metabolic functions within normal limits, as a result - to prevent dysbiotic and inflammatory processes in the mucous membranes of the digestive tract, and, as a consequence, to normalize remodeling processes in the bone tissue of animals suffering from cholestasis.

Key words: rats, liver, gall bladder, bones, osteodystrophy, digestive tract, inflammation, dysbiosis, calcium absorption, hepatoprotector, sorbent, antidysbiotic, antioxidant, anti-inflammatory.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації

1. Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Порівняльна ефективність препаратів біофлавоноїдів при експериментальному гепатиті. *Вісник ОНУ. Біологія*. 2019. Т. 24, № 2 (45). С.129-135.

[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2019.2\(45\).185649](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2019.2(45).185649)

2. Макаренко О. А., Могилевська Т. В., Гладкій Т. В. Морфометричні та метаболічні порушення у кістковій тканині лабораторних щурів з хронічним токсичним гепатитом. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sport*. 2021. Vol. 6 (3). P. 347-352. <https://doi.org/10.26693/jmbs06.03.347>

3. Olga Makarenko., Tatiana Mogilevskaya., Larissa Khromagina. Peculiarities of suction, extraction and assignment of calcium in experimental chronic hepatitis in rats. *Scientific Journal «ScienceRise: Biological Science»*. 2022. № 2 (31). P.4-7. <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2022.258790>

4. Макаренко О. А., Могилевська Т. В., Борисенко Л. М. Гепатопротекторна ефективність комплексу Мінерол і Леквін у щурів з хронічним холестазом. *Вісник ОНУ. Біологія*. 2022. Т. 27, вип. 1 (50). С. 115-124. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.1\(50\).259837](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.1(50).259837)

5. Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Стан слизових оболонок травного тракту щурів на тлі хронічного холестазу та профілактики препаратами Мінерол і Леквін. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2022. № 2 (68). С. 120-127. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.6814978%20>

6. Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Корекція порушень у травному тракті щурів з хронічним холестазом комплексом Леквін і Мінерол. *Вісник ОНУ. Біологія*. 2023. Т. 28, вип. 1 (52). С. 147-158.

[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.1\(52\).284693](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.1(52).284693)

Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Ходаков И. В., Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Морфометричні показники кісток щурів при експериментальному гепатиті. *Медико-біологічні аспекти та мультидисциплінарна інтеграція в концепції здоров'я людини:*

матеріали Всеук. наук-практ. конф. з міжнар. уч., м. Тернопіль, 9-11 квітн. 2020 р. Тернопіль: ТНМУ, 2020. С. 207-209.

2. Могилевська Т. В., Макаренко О. А. Особливості поведінкової активності щурів на тлі хронічного гідрозинного гепатиту. *Медицина транспорту – 2020*: тези доп. IV міжнар. конгресу., м. Одеса, 16-18 вересн. 2020 р. Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2020. С. 21-22.

3. Могилевська Т. В., Сьомік Л. І. Порухення складу периферичної крові лабораторних щурів при хронічній гідрозинній інтоксикації. *Актуальні питання судової ветеринарії, морфології та патоморфології*: тези доп. міжн. наук-практ. інт-конф., м. Одеса, 17-18 черв. 2021 р. Одеса: ОДАУ, ФВМ, 2021. С. 79-81.

4. Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Морфометричні та метаболічні порушення у кістковій тканині лабораторних щурів з хронічним токсичним гепатитом. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція*: тези доп. IV наук-практ. інт-конф. з міжнар. уч., м. Харків, 18 лист. 2021 р. Харків: НфаУ, 2021. С. 197-200.

5. Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Морфометричні та метаболічні порушення у кістковій тканині лабораторних щурів з хронічним токсичним гепатитом. *42 Наукові читання імені О. О. Богомольця*: матеріали наук-практ. конф. з міжнар. уч., присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О. О. Богомольця., м. Київ, 24 травн. 2021 р. Київ: НМУ імені О. О. Богомольця, 2021. С. 112-113.

6. Могилевська Т. В., Макаренко О. А. Профілактика порушень у травному тракті щурів при хронічному холестази. *XXI-і читання В. В. Підвисоцького*: бюлетень матеріалів наук конф., м. Одеса, 23-24 червня. 2022 р. Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2022. С. 68-70.

7. Могилевська Т. В., Макаренко О. А. Стан слизових оболонки травного тракту щурів з холестазом та після профілактики комплексом Мінерол і Леквін. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації*: матеріали V наук-практ. конф. студ.

та мол. вчен. з міжнар. уч., м. Харків, 18 травн. 2023 р. Харків: НфаУ, 2023. С. 221-224.

8. Методи дослідження стану кишечника та кісток у лабораторних щурів: довідник / О. А. Макаренко, Л. М. Хромагіна, І. В. Ходаков, Г. В. Майкова, Л. М. Мудрик, В. В. Кіка, Т. В. Могилевська. Одеса: ОНУ імені І. І. Мечникова, 2022. 81 с.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	24
РОЗДІЛ 1 ПАТОГЕНЕЗ ПЕЧІНКОВОЇ ОСТЕОДИСТРОФІЇ І СТАН КИШЕЧНИКУ (огляд літератури).....	32
1.1. Гепатобіліарна патологія. Сучасний стан проблеми.....	32
1.2. Фізіологія кісткової тканини та патогенез печінкової остеодистрофії.....	37
1.2.1. Вітамін D і К.....	40
1.2.2. Жовчні кислоти та білірубін	42
1.2.3. Статеві гормони.....	43
1.2.4. Цитокіни і фактори росту.....	44
1.3. Вплив антимікробної функції печінки на мікробіом кишечника...45	45
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	50
2.1. Умови проведення експерименту	50
2.2. Методи дослідження в кишечнику	54
2.2.1. Методика дослідження виведення та засвоєння кальцію	54
2.2.2. Методика дослідження проникності епітелію тонкої кишки ...54	54
2.2.3. Методика дослідження всмоктування кальцію і амінокислот ..55	55
2.3. Морфометричні методи дослідження кісток.....	57
2.3.1. Визначення атрофії альвеолярного відростка щелеп	57
2.3.2. Визначення щільності, вмісту мінерального і органічного компонентів у кістках.....	57
2.4. Гістологічне дослідження кісток	58
2.5. Біохімічні методи дослідження кісток.....	59
2.6. Біохімічні дослідження слизових оболонок травного тракту	60
2.7. Біохімічні дослідження тканин печінки	62
2.8. Дослідження загальноклінічних та біохімічних показників сироватки крові	63
2.9. Характеристика препаратів, які входили до профілактичного комплексу	66

2.10. Статистичні методи дослідження	69
РОЗДІЛ 3 ОСТЕОДИСТРОФІЯ В УМОВАХ ТОКСИЧНОГО	
УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ – ЯК НАСЛІДОК РОЗВИТКУ ДИСБІОЗУ ТА	
ЗАПАЛЕННЯ У КИШЕЧНИКУ ЩУРІВ	71
3.1. Стан слизових оболонок кишечника щурів після відтворення токсичного гідразинового гепатиту	71
3.2. Абсорбція кальцію, проникність стінок кишечника, ремоделювання кісткової тканини та стан слизових оболонок травного тракту щурів з хронічним гепатитом.....	75
3.2.1. Особливості всмоктування та засвоєння кальцію і амінокислот у щурів з хронічним токсичним гепатитом	75
3.2.2. Порухення складу крові та стан печінки щурів з хронічним гепатитом	78
3.2.3. Стан слизових оболонок травного тракту щурів на тлі розвитку хронічного токсичного гепатиту	84
3.2.4. Морфометричні та біохімічні дослідження кісткової тканини у щурів з хронічним токсичним гепатитом	93
РОЗДІЛ 4 ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОФІЛАКТИКИ ПОРУШЕНЬ У	
ТРАВНОМУ ТРАКТІ І КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ ЩУРІВ З ХРОНІЧНИМ	
ХОЛЕСТАЗОМ	105
4.1. Стан печінки та гепатопротекторні властивості профілактичного комплексу у щурів з хронічним холестаазом	105
4.2. Стан слизових оболонок травного тракту щурів з хронічним холестаазом та щурів після профілактики.....	111
4.3. Порухення у кістковій тканині щурів з холестаазом та їх корекція за допомогою профілактичного комплексу.....	118
4.4. Гістологічні дослідження стегнової кістки щурів з холестаазом та після профілактики	121
РОЗДІЛ 5 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ	
РЕЗУЛЬТАТІВ	135

ВИСНОВКИ	151
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	154
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	176
ДОДАТКИ	177

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЛАТ – аланінамінотрансфераза

АПІ – антиоксидантно-прооксидантний індекс

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ГБС – гепатобіліарна система

ІЛ – інтерлекини

ІФР-1 – інсуліноподібний фактор росту-1

КФ – кисла фосфатаза

ЛФ – лужна фосфатаза

МДА – малоновий діальдегід

МОК – мінерально-органічний компонент кістки

МК – мінеральний компонент кістки

НАЖХП – неалкогольна жирова хвороба печінки

ОК – органічний компонент кістки

ПОЛ – перекисне окислення ліпідів

РЕС – ретикуло-ендотеліальна система

СОПР – слизова оболонка порожнини рота

RANKL – мембранний білок

RANK – специфічні рецептори, розташовані на остеокластах

OPG – остеопротегерин

ВСТУП

Актуальність дослідження.

На сьогодні патологія гепатобіліарної системи (ГБС) залишається важливою соціально-економічною проблемою охорони здоров'я в Україні і світі. Різноманітні порушення харчування, екологічні фактори, шкідливі звички, застосування лікарських препаратів зумовлюють неухильне зростання кількості хворих з гепатобіліарною патологією. На даний час в усьому світі налічується більше 2 млрд осіб із різними проблемами ГБС. В Україні також відзначається тенденція до зростання і розповсюдження гепатобіліарної патології [96, 133].

Хронічні захворювання печінки належать до найбільш небезпечних захворювань, які призводять до непрацездатності і смерті населення. Крім того, тенденція до росту захворюваності на хронічні ураження печінки спостерігається особливо серед людей працездатного віку. Тому проблема виявлення механізмів розвитку, профілактики, діагностики і лікування патології печінки займає одне з провідних місць в гастроентерології і наразі набуває значної актуальності [59, 88].

Патології ГБС різної етіології супроводжуються розвитком стеатогепатиту, фіброзу, цирозу печінки, що призводить до зниження професійної працездатності, загальної інвалідизації та смертності [104].

Печінці притаманна важлива роль у підтримці гомеостазу організму, будь-які патологічні зміни її структури характеризуються системними проявами. Порушення функцій печінки, в основному, спричиняють хронічні патологічні процеси, які лежать в основі таких захворювань, як хронічні гепатити і цирози. До провідних етіологічних чинників відносять вірусну інфекцію, хронічні інтоксикації, порушення прохідності жовчних шляхів та спадкові фактори. Гострі отруєння різноманітними токсичними речовинами, як правило, також закінчуються хронічним гепатитом або цирозом. При токсичному і вірусному ураженні печінки має місце пошкодження її клітин, в

результаті чого відбувається структурна дезорганізація печінкових дольок і як наслідок порушуються усі життєво важливі функції даного органу [31, 64, 181].

Незалежно від того, які причини призвели до ураження печінки, мають місце порушення її функцій, а отже, і порушення синтезу білків. Відзначаються також негативні зміни ліпідного обміну, зниження синтезу холестерину, що спричиняє порушення утворення жовчних кислот. Крім того, зниження виділення у кишечник жовчних кислот стає причиною порушення травлення, що супроводжується недостатнім надходженням в організм макро- і мікроелементів, білків, жиророзчинних вітамінів (А, Д, Е, К) тощо. Все це порушує гормональний баланс в організмі та спричиняє дефіцит тих речовин, які виступають у ролі будівного матеріалу, необхідного для процесів регенерації кісткової тканини, як наслідок розвивається остеопороз [85, 94].

Печінка – найбільший внутрішній орган в організмі людини, який виконує безліч різноманітних функцій, значною мірою визначає стан практично всіх органів і систем організму, у тому числі і кісткової системи [66, 86]. Порушення стану кісткової тканини на тлі хронічних захворювань печінки прийнято називати печінковою остеодистрофією. Дана патологія виявляється у 40-75 % хворих з хронічною патологією печінки [37].

Патогенез розвитку печінкової остеодистрофії дуже складний і включає в себе багато факторів. На стан кісткової системи і метаболізм кісткової тканини впливає етіологія хвороби, активність стадії захворювання, ступінь функціональної недостатності печінки, вираженість холестатичного синдрому [7, 196]. А, враховуючи не дуже високу ефективність лікування печінкової остеодистрофії сьогодні, можна стверджувати про недостатність знання механізмів розвитку цієї складної патології.

Хоча на сьогодні встановлено основні фактори ризику, що асоційовані із гепатобіліарною патологією і впливають на метаболізм кісток. Вважається, що одним з потенційних механізмів розвитку печінкової остеодистрофії є

недостатнє формування кісткової тканини як результат мальабсорбції вітаміну D і кальцію, оскільки 90 % синтезу вітаміну D відбувається у печінці [78]. Другим фактором, що ініціює порушення у кістковій тканині при патології ГБС, є дефіцит вітаміну K₂, який синтезується клітинами печінки та сапрофітними бактеріями в тонкому відділі кишечника [175]. Наступними чинниками розвитку остеодистрофії при захворюваннях ГБС вважають шкідливий вплив білірубіну і токсичних жовчних кислот та токсичну дію заліза на остеобласти. Перебіг таких патологій, як хронічний гепатит і цироз печінки, пов'язують із дисбалансом продукції цитокінів, що проявляється збільшенням концентрації прозапальних та зменшенням вмісту протизапальних інтерлейкінів. Холестатичний синдром, який досить часто супроводжує перебіг патологій печінки також призводить до порушень метаболізму у кістковій тканині [149,156].

Незважаючи на те, що патогенез остеодистрофії при захворюваннях ГБС відомий, а ефективність лікування зберігається на низькому рівні, можна висловити припущення, що механізм розвитку метаболічних порушень в кістковій тканині при патології печінки та жовчного міхура до кінця не з'ясований. На підставі відомостей про взаємозв'язок між порушенням антимікробної функцій печінки та розвитком явищ дисбіозу у кишечнику людини [48], можна стверджувати, що запалення та посилення мікробної контамінації у тонкій кишці при патології ГБС призведе до порушення всмоктування макро- і мікроелементів, жиророзчинних вітамінів (A, D, E, K), а їх дефіцит – викличе дистрофію органів та тканин, зокрема кісткової.

Тому, одним з можливих додаткових механізмів розвитку остеодистрофії при захворюваннях печінки і жовчовивідних шляхів можуть бути запальні і дисбіотичні процеси, які розвиваються в тонкій кишці. Перевірці цієї гіпотези присвячено дослідження. З'ясування патогенетичних механізмів печінкової остеодистрофії спонукає до розробки лікувально-профілактичних засобів, які будуть ефективно усувати розлади порушень в гепатобіліарній та кістковій системах.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.
Дослідження проведені в рамках наукової теми кафедри фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти Одеського національного університету імені І. І. Мечникова «Дослідження лікувально-профілактичних властивостей раковин молюсків Чорного моря», № держ. реєстрації 0119U000499 та ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України» «Експериментальне дослідження змін тканин ротової порожнини у щурів під впливом ксенобіотиків та гіпоксії» № держ. реєстрації 0120U105477.

Мета. Експериментальне дослідження ролі дисбіозу у розвитку остеодистрофії у лабораторних щурів з гепатобіліарною патологією та обґрунтування патогенетичної схеми профілактики встановлених порушень.

Завдання дослідження:

1. Встановити стан слизових оболонок тонкої кишки у щурів за умов моделювання токсичного гепатиту шляхом введення гідразинсульфату.
2. Дослідити стан слизових оболонок кишечника у самок та самців щурів з хронічним токсичним гепатитом за показниками всмоктування, засвоєння кальцію та амінокислот, проникності епітелію стінки тонкої кишки, запалення, ступеня дисбіозу.
3. Виявити статеву різницю у порушенні морфометричних параметрів кісток та біохімічних показників ремоделювання кісткової тканини у щурів на тлі розвитку хронічного токсичного гепатиту.
4. На підставі отриманих результатів обґрунтувати патогенетичну схему профілактики печінкової остеодистрофії та встановити її вплив на стан печінки щурів, яким моделювали хронічний холестаза.
5. Оцінити вплив запропонованого комплексу препаратів на біохімічні показники запалення, дисбіозу, стан антиоксидантно-прооксидантної системи у слизових оболонках травного тракту щурів з моделлю хронічного холестазу .

6. Визначити стан альвеолярних та стегових кісток щурів з хронічним холестазом та після профілактики препаратами за біохімічними параметрами резорбції та кісткоутворення, а також за допомогою гістологічного і морфометричного аналізу.

Об'єкт дослідження – гепатобіліарна патологія, дисбіоз та запалення у слизових оболонках кишечника, метаболічні порушення у кістковій тканині, профілактична корекція порушень.

Предмет дослідження – показники стану гепатобіліарної системи, морфометричні та біохімічні показники кісткової тканини, показники запалення та дисбіозу у травному тракті щурів з патологією печінки та жовчовивідних шляхів до та після профілактики.

Методи дослідження – патофізіологічні (моделювання хронічного токсичного гепатиту та хронічного холестазу); біохімічні (визначення маркерів запалення, дисбіозу, ремоделювання кісткової тканини); фізіологічні (всмоктування, виведення та засвоєння кальцію, проникність стінки тонкої кишки); морфологічні (визначення атрофії альвеолярного відростку щелеп, щільності, вмісту мінерально-органічного компоненту кісток); гістологічні; статистичний аналіз результатів.

Наукова новизна отриманих результатів.

На підставі отриманих результатів експериментальних досліджень дисертаційної роботи поглиблені знання про патогенез печінкової остеодистрофії із включенням ролі дисбіозу у тонкій кишці при гепатобіліарній патології.

Встановлено, що порушення антимікробної функції печінки при гепатиті веде до розвитку дисбіотичних явищ, запалення, інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів у слизових оболонках травного тракту, зокрема тонкої кишки, тварин з хронічним токсичним гепатитом, більш виражених у самців.

Вперше доведено погіршення всмоктування кальцію у слизовій оболонці тонкої кишки, збільшення проникності епітелію стінки тонкої

кишки, зниження засвоєння кальцію на тлі зменшення його екскреції нирками, що є наслідком розвитку запалення та дисбіозу у слизовій оболонці тонкої кишки щурів з хронічним токсичним гепатитом.

Вперше проведено морфометричне дослідження кісток щурів з гепатитом, яке виявило різноспрямовані процеси у самок та самців. У самців токсичний гепатит викликав збільшення атрофії альвеолярного відростку щелеп, тенденцію до зменшення щільності поперекових хребців, стегнових та великих гомілкових кісток завдяки зниженню мінеральної частини кісткової тканини. Моделювання патології у самок, навпаки, призвело до зменшення білкової складової кісткової тканини та одночасного збільшення щільності кісток завдяки зростанню мінеральної частини.

Біохімічні дослідження альвеолярного відростку та стегнових кісток щурів підтвердили різноспрямовані процеси у кістковій тканині самок та самців з токсичним гепатитом. У кістковій тканині самок з патологією встановлено більш інтенсивне руйнування органічної матриці під впливом кісткової еластази та компенсаторне підвищення остеогенезу за участю кісткової лужної фосфатази. Токсичний гепатит у самців призвів до більш активного зниження вмісту кальцію та руйнування гідроксиапатиту під впливом кісткової кислої фосфатази.

Показано, що патологія холестазу викликає такі ж зміни у печінці, слизових оболонках травного тракту і, як наслідок, у кістковій тканині тварин, як і при токсичному пошкодженні печінки.

Встановлена роль дисбіозу у розвитку остеодистрофії при гепатобілярній патології дозволила обґрунтувати склад профілактичного комплексу для попередження зниження антимікробної функції печінки, розвитку дисбіозу, запалення у травному тракті, і, як наслідок, порушення ремоделювання кісткової тканини.

Практичне значення отриманих результатів.

З'ясування ролі дисбіотичного механізму у патогенезі остеодистрофії, що індуковано гепатобілярною патологією, у експериментальному

дослідженні стало основою для розробки профілактичного комплексу, який має антидисбіотичні, гепатопротекторні, жовчорозріджувальні, антиоксидантні, протизапальні та сорбційні властивості.

Застосування запропонованого комплексу дозволило підтримати метаболічні функції печінки в межах норми, в результаті – попередити дисбіотичні та запальні процеси у слизових оболонках травного тракту, і, як наслідок, нормалізувати процеси ремоделювання в кістковій тканині тварин, хворих на холестаза.

Результати експериментального дослідження дають підставу рекомендувати використання компонентів профілактичного комплексу у клінічній практиці для осіб з гепатобіліарною патологією при попередженні розвитку печінкової остеодистрофії.

Особистий внесок дисертанта.

Дисертантом проведено пошук та аналіз джерел літератури за обраною темою. Разом з науковим керівником були визначені мета та завдання дослідження, обрані методи дослідження, сформовані висновки. Автором було самостійно проведено моделювання патологій на лабораторних щурах (введення препаратів тваринам, дослідження всмоктування і проникності в тонкій кишці), частково виконано біохімічні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, написані статті, дисертаційна робота. За допомогу у проведенні гістологічного аналізу кісткової тканини висловлюємо велику подяку к.б.н., доц. кафедри фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти ОНУ імені І. І. Мечникова Рижко І. Л., за участь у виконанні морфометричних та біохімічних досліджень – співробітникам лабораторії біохімії ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицьової хірургії НАМН України» к.б.н. Хромагіній Л. М. та н.с. Ходакову І. В.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були оприлюднені на: Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Медико-біологічні аспекти та

мультидисциплінарна інтеграція в концепції здоров'я людини» (Тернопіль, 2020); IV міжнародному конгресі «Медицина транспорту – 2020» (Одеса, 2020); міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Актуальні питання судової ветеринарії, морфології та патоморфології» (Одеса, 2021); IV науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2021); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О. О. Богомольця «42 Наукові читання імені О. О. Богомольця» (Київ, 2021); науковій конференції «XXI–і читання В. В. Підвисоцького» (Одеса, 2022); V науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 2023).

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 14 наукових праць: 6 статей у наукових фахових виданнях України, 7 тез у матеріалах конференцій, 1 довідник у співавторстві.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 181 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів власних досліджень, аналізу та обговорення результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертація ілюстрована 20 рисунками і 37 таблицями. Перелік використаних джерел містить 200 найменувань (106 кирилицею і 94 латиницею).

РОЗДІЛ 1

ПАТОГЕНЕЗ ПЕЧІНКОВОЇ ОСТЕОДИСТРОФІЇ І СТАН КИШЕЧНИКУ (огляд літератури)

1.1 Гепатобіліарна патологія. Сучасний стан проблеми

Печінка є центральним органом, який виконує безліч життєвоважливих функцій в організмі. Перш за все слід вказати метаболічну функцію печінки, яка полягає у синтезі білків (близько 85) та амінокислот, ліпідів, утворенні ліпопротеїдів, синтезі глюкози та її депонуванні у вигляді глікогену, утворенні жовчних кислот, метаболізмі вітамінів та інших важливих сполук. Другою важливою функцією печінки є антитоксична функція, яка забезпечує захист організму від інтоксикацій і полягає у здатності печінки знищувати токсичні речовини екзогенного або ендогенного походження (білірубін, аміак та ін.) [91]. Останніми роками особливу увагу приділяють антимікробній функції печінки, оскільки вона створює бар'єр для мікроорганізмів та їх метаболітів, які надходять із кишечника. Печінка також здатна продукувати гострофазні білки, які проявляють антимікробні та протизапальні властивості [46, 48].

На сьогодні багато наукових робіт присвячено дослідженням патології ГБС, адже згідно даних епідеміологічних і статистичних досліджень, в Україні та світі значно зросла частота захворюваності на хронічну патологію печінки та жовчовивідних шляхів. Найчастіше при патології у печінці відбуваються такі зміни: виникає запальний процес (гепатит), дистрофія через порушення обміну речовин у клітинах (гепатоз або жирова, пігментна, холестатична дистрофія печінки), дифузне розростання сполучної тканини на тлі дистрофії печінкової паренхіми. Хронічні ураження печінки супроводжуються значними змінами у структурі колагену [44, 149, 169].

Найбільшу розповсюдженість серед усіх патологічних станів ГБС мають гепатити різної етіології. Хронічний гепатит відзначається у 4-6 % усього населення. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, у світі

налічується більше 2-х млрд осіб із цією патологією, у тому числі з них 400 млн пацієнтів є хронічними носіями вірусів [28].

Головними етіологічними чинниками гепатиту є віруси та токсини. Серед вірусних гепатитів найбільшу проблему становлять гепатити В та С, які призводять до 96 % випадків смертей. З метою вирішення проблем, пов'язаних з вірусними гепатитами, ВООЗ розробила Глобальну Стратегію сектору охорони здоров'я на 2016-2021 роки – «На шляху до ліквідації вірусних гепатитів», в якій було поставлено ключові цілі до 2020 та 2023 років: по скороченню виникнення нових випадків вірусних гепатитів В та С та скороченню кількості смертей [16, 45].

Хронічні вірусні гепатити спричинюють цироз та первинний рак печінки (гепатоцелюлярна карцинома), які призводять до погіршення якості та скорочення тривалості життя та передчасної смертності [117, 153].

Неабияке місце серед різних факторів виникнення пошкодження печінки займають токсичні ураження, які стають всі більше актуальною проблемою на сьогодні. У структурі гострих і хронічних захворювань печінки пошкодження її токсичними речовинами складають від 0,7 до 20 %, а частота розвитку хронічного токсичного гепатиту складає 3,9-6,0 на 100 тис. населення [13, 198].

Відомо широке коло речовин, які володіють гепатотоксичною дією. До них відносяться природні сполуки, які продукують рослини, гриби, мікроорганізми; мінерали, різноманітні продукти хімічної і фармацевтичної промисловості, а також відходи від цих видів виробничої діяльності. Також до ксенобіотиків відносяться пестициди, гербіциди, речовини рослинного, грибкового або мікробного походження, з токсичними і /або канцерогенними властивостями [55]

Дуже важливе місце у загальній структурі токсичних уражень печінки займають медикаментозно-індуковані ураження. Щороку приблизно 1 млн людей страждає від побічних ефектів фармакотерапії і близько 180 тис. вмирають [77]. Медикаментозні ушкодження печінки становлять близько 10-

28 % усіх побічних реакцій організму, які пов'язані із застосуванням фармакологічних препаратів. Згідно з результатами досліджень клініки Мейо (США), 40 % випадків гепатитів у пацієнтів віком старше 40 років і 25 % випадків печінкової недостатності зумовлені саме медикаментозною гепатотоксичністю [50, 81]. При лікарському пошкодженні печінки токсичний вплив спричинюють лікарські препарати, які належать до групи факультативних гепатотоксинів прямої і/або непрямої дії [55].

Токсичні ураження печінки можуть протікати у вигляді гепатитів, фіброзів, жирових гепатозів та цирозів печінки. В залежності від дози отруйної речовини і тривалості її дії на організм розвивається гостра або хронічна форма уражень печінки. При потраплянні ксенобіотиків з гепатотоксичними властивостями в організм у печінці утворюються активні метаболіти, які можуть чинити або пряму або опосередковано токсичну дію на клітини останньої. Пряма і опосередкована дії викликають цитоліз, некроз гепатоцитів і, як наслідок, розвиток гострого або хронічного гепатиту [125].

Запропоновано зараховувати речовини, які спричинюють ураження печінки, до двох груп: 1) облігатні гепатотоксиканти і 2) ідіосинкразичні токсиканти (такі, які ушкоджують орган лише у чутливих індивідів). Облігатні гепатотоксиканти викликають досить передбачуваний дозозалежний ефект, який, як правило, відтворюють у дослідженнях на експериментальних тваринах [132].

Хімічний етіологічний фактор, який викликає патологічний стан печінки, запускає патогенез по цитотоксичному або холестатичному шляху. Цитотоксичні пошкодження печінки проявляються у вигляді некрозу, стеатозу і канцерогенезу, а холестатичні – порушенням секреції жовчі і розвитком жовтяниці. Токсичні гепатопатології носять змішаний характер перебігу. Незалежно від діючого чинника виникають патологічні реакції, серед яких найважливіші: некроз, стеатоз, холестаза, фіброз (цироз) і канцерогенез [33].

Негативний вплив ксенобіотиків проявляється у вигляді порушень ліпідного обміну в печінці, до механізмів яких належать: порушення процесів кон'югації тригліцеридів з білками та утворення ліпопротеїнів низької щільності; пригнічення синтезу фосфоліпідів, порушення процесів β -окислення жирних кислот; порушення необхідних для синтезу білка та фосфоліпідів процесів біоенергетики у клітинах печінки. Під впливом ксенобіотиків відбуваються дегенеративні зміни клітин у вигляді некрозу з подальшою загибеллю клітин. При цьому відбувається пошкодження плазматичної мембрани та цитоскелету, порушуються функції мітохондрій та внутрішньоклітинний іонний гомеостаз; активізуються ферменти деградації речовин, а також окислювальний стрес, який обумовлений невідповідністю прооксидантних та антиоксидантних ресурсів клітини [2, 174, 200].

Кінцевим результатом патологічних процесів в печінці під впливом ксенобіотиків, як правило, є виникнення фіброзів і цирозів печінки. Для цього стану характерна поява в печінці сполучнотканинних тяжів, які руйнують нормальну структуру органу, порушують внутрішньопечінковий кровоток і процеси жовчовиділення. Внаслідок цього виникає печінкова недостатність, з порушенням дезінтоксикаційної, білково-синтетичної функції, а також виникає портальна гіпертензія [27, 158].

Відомо, що, незалежно від етіологічного фактору, будь то хімічні шкідливі речовини, алкоголь, радіація тощо, в патогенезі гепатитів характерним є пошкодження мембран гепатоцитів, і, як наслідок, порушення функції печінки. Перебіг захворювання супроводжується виснаженням системи антиоксидантного захисту, при цьому розвивається хронічна інтоксикація з метаболічними порушеннями, які негативно впливають на функціональний стан печінки [57, 81].

Токсичні пошкодження печінки можуть включати ураження паренхіми печінки, які виявляються у вигляді функціональних порушень (індукції ферментів, гіпербілірубінемії), що, в свою чергу, призводять до некрозу або апоптозу клітин. Гепатотоксини також призводять до формування стеатозу у

вигляді гострих жирових змін, стеатогепатиту, холестазу, до змін судинної системи печінки (розширення синусоїдних капілярів, пурпурний гепатит, нециротична портальна гіпертензія, обструкція венозного відтоку з печінки), а також викликають пухлини печінки (гемангіома, гепатоцелюлярна карцинома, холангіо-карцинома, гемангіосаркома та ін.) [60, 62].

Одним із механізмів порушення роботи і функціонування печінки є інтенсифікація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Вільні радикали і продукти ПОЛ призводять до пошкодження мембран гепатоцитів, змінюючи при цьому їх структуру і проникність, а також їх фізичні і хімічні властивості [17].

Перекисне окиснення ліпідів відіграє велике патогенетичне значення у різних фізіологічних і патологічних процесах в організмі. Зокрема, при хронічному гепатиті основним субстратом ПОЛ є ненасичені жирні кислоти, які можуть піддаватись вільнорадикальному окисненню, знаходячись у складі мембранних фосfolіпідів. Продукти ПОЛ впливають на поділ і ріст клітин, ушкоджують мітохондрії, порушують обмін речовин. Також продукти ПОЛ посилюють розпад білків, що спричиняє звільнення тканинних токсинів, таких як гістамін, холін та призводить до жирової дистрофії печінки. Інтенсифікація процесів ПОЛ при гострих та хронічних гепатитах також спричиняє некроз гепатоцитів, мезенхімальне запалення, розлади печінкової гемодинаміки, при цьому пригнічуються процеси тканинного дихання, що зумовлює запальні і дистрофічні зміни у печінці [5, 95].

Пошкоджуюча дія вільних радикалів і перекисів на клітини і тканини організму регулюється складною і багатокомпонентною системою антиоксидантного захисту. Антиоксидантна система у своєму складі містить комплекс гідрофільних і гідрофобних біологічних речовин, ферментів та антиперекисних ензимів [61].

Одним із небезпечних ксенобіотиків вважається гідразин і його похідні, токсичний вплив якого спричиняє ураження всього організму, а особливо печінки [30].

Гідразинсульфат та його похідні являють собою токсичну сполуку з сильною місцевою подразнювальною і вираженою резорбтивною дією [15]. Для гострої інтоксикації гідрaziном характерним є зміни з боку системи крові, а саме утворення метгемоглобіну та гемоліз еритроцитів, а також токсичне ураження печінки та нирок, що проявляються у вигляді жирового переродження та/або токсичного гепатиту і токсичної нефропатією відповідно [6].

Основним механізмом, за якого відбувається токсичне ураження печінки гідрaziном та його похідними, є посилення процесів перекисного окислення ліпідів, на тлі чого порушуються такі функції печінки як антитоксична, екскреторна, білковоутворююча. Інтоксикація сполуками гідразину призводить до оксидативного стресу [40].

Таким чином, гепатобіліарна патологія займає провідне місце у структурі захворюваності печінки. В патогенезі важливу роль відіграє активація процесів перекисного окислення ліпідів на тлі антиоксидантної недостатності. При цьому створюються сприятливі умови для розвитку патологічних реакцій, на тлі того, що захисні системи організму виснажені і не спроможні попереджати руйнівну дію радикалів і перекисів.

1.2 Фізіологія кісткової тканини та патогенез печінкової остеодистрофії

Кісткова тканина являє собою динамічну систему, в якій впродовж життя відбуваються процеси руйнування старої кістки (кісткова резорбція), а на її місці – утворення нової кістки тобто відбувається процес кісткового ремоделювання [76, 190].

До головних функцій кісткової тканини відносяться механічна, захисна та метаболічна, за допомогою якої підтримується кальцієво-фосфорний

гомеостаз. Відомо, що основна кількість кальцію та фосфору депонується в кістковій тканині. Важливе значення має саме біологічно активний іонізований кальцій, який не пов'язаний з білками. Обмін кальцію і фосфору та їх постійний вміст у крові регулюються, головним чином, гормонами: паратиреоїдний гормоном, вітамін D і кальцитонін [159, 172]. Дефіцит надходження в організм солей кальцію, фосфору, магнію, міді, цинку, заліза, кобальту та деяких інших мікроелементів, білка і окремих амінокислот супроводжується порушеннями фосфорно-кальцієвого обміну і виникненням клінічної картини захворювань кісткової тканини [84, 185].

Маса кістки залежить від балансу між кістковою резорбцією і утворенням нової кістки в даний період часу. Пік кісткової маси в середньому формується до 20 років, потім настає період відносної рівноваги, і лише з 35-40 років розпочинається вікова фізіологічна втрата маси кістки. При будь-якому патофізіологічному механізмі маса кісткової тканини зменшується, досягаючи при цьому певного порогового значення, після якого виникає ризик спонтанних переломів [43, 73].

Процес ремоделювання є основним механізмом, який підтримує механічну цілісність скелета за допомогою руйнування старої кісткової тканини і відновлення пошкодженої кістки. Цей процес контролюється молекулами гормонів, що регулюють обмін кальцію, цитокінами та різноманітними системними білками [25, 163].

При патологічних станах відбувається порушення нормального співвідношення між процесами резорбції і формування нової кістки та розвивається остеопороз [179].

На остеопороз страждають близько 75 млн людей у світі. Найбільш поширений остеопороз у жінок у постменопаузі. 80 % пацієнтів, які страждають на остеопороз, є жінки. Крім найбільш поширеного постменопаузального остеопорозу, в теперішній час у цивілізованих країнах все частіше зустрічається сенильний остеопороз, який розвивається у чоловіків і жінок після 70 років із майже однаковою частотою, а також

вторинний остеопороз, який спричинений різними захворюваннями або пов'язаний з тривалим прийомом деяких лікарських препаратів [70, 71, 154].

Виникненню та розвитку остеопорозу сприяють хвороби печінки, підшлункової залози, кишечника, хвороби жовчних шляхів та ін. Ці захворювання обумовлюють зменшене всмоктування кальцію та фосфатів, що часто поєднується із порушенням обміну вітаміну D та дефіцитом білка. Абсолютний чи відносний дефіцит вітаміну D спричиняє порушення мінералізації органічного матрикса кістки. Результатом таких комплексних порушень більшості випадків є остеопенія [38, 52].

На розвиток остеопенії, безумовно, впливають такі популяційні фактори як вік, менопауза, гіпогонадизм, ускладнення цирозу печінки, надмірне вживання алкоголю, порушення у харчуванні [31, 147, 171].

На даний час є доведеним зв'язок між порушенням функції печінки та змінами у кістковій тканині, які прийнято називати печінковою остеодистрофією. За результатами досліджень, дана патологія діагностується у 40-75 % хворих на хронічні захворювання печінки: хронічні гепатити і цирози печінки сприяють розвитку гепатогенної або печінкової остеодистрофії [1, 37].

За даними літератури, у 20-100 % хворих на цироз печінки, виявляють остеопороз і остеопенію. Головна ознака остеопорозу, який пов'язаний з холестатичними і хронічними захворюваннями печінки є низький рівень кісткоутворення [32].

У дослідженнях Т. Л. Мартинович зі співавторами [53] показано, що у 83,3 % пацієнтів, хворих на хронічні гепатити В та С, були наявні порушення структурно-функціонального стану кісткової тканини. Виражені розлади кальцієвого обміну виявляються при первинних і вторинних біліарних цирозах печінки, а це в свою чергу призводить до виникнення остеопорозу [106].

Розглянемо, які порушення функції печінки можуть бути потенційними факторами розвитку остеодистрофії. Патогенез розвитку остеодистрофії при

хронічних захворюваннях печінки складний, вважається, що на стан кісткової тканини і метаболізм кісток впливає етіологія хвороби, ступінь функціональної недостатності печінки, активність перебігу хвороби та вираженість холестатичної складової. Фактори ризику, які є наслідком фіброзних змін у печінці: порушення метаболізму вітаміну D, недостатність остеопротегерину та інсуліноподібного фактора росту-1 (ІФР-1). Розвиток фіброзу в тканині печінки порушує синтез даних речовин. Відкладення заліза, збільшення продукції цитокінів на тлі хронічного запального процесу в печінці призводять до розвитку порушень структури кісткової тканини. Наявність у хворих із хронічною патологією печінки гіпербілірубінемії, гіпоальбумінемії, холестазу також посилює процеси резорбції кісткової тканини [31, 129, 157].

1.2.1 Вітамін D і К

Стан печінкової остеодистрофії частіше розвивається при захворюваннях ГБС як результат мальабсорбції вітаміну D і кальцію [78, 173].

Одним з патогенетичних факторів розвитку остеопорозу є порушення окислення у печінці вітаміну D. Відомо, що 90 % синтезу вітаміну D відбувається у печінці, де здійснюється перша реакція гідроксилювання холекальциферолу і кальциферолу за участю мікросомального ферменту 25-гідроксилази. Далі 25(OH)D надходить у кров, а потім в нирки. Вітамін D всмоктується з кишечника у вигляді міцел, які містять у собі жовчні солі, жирні кислоти та моногліцериди [90, 115].

За умов низької активності 25-гідроксилази печінки порушується метаболізм вітаміну D і виникають різноманітні кісткові деформації. При цьому в сироватці крові знижується рівень кальцію, 25(OH)D та збільшується активність лужної фосфатази, яка є ізоферментом печінки і кісток [164]. Найактивніший метаболіт вітаміну D – це гормон кальцитріол, під дією якого в слизовій оболонці кишечника за допомогою ентероцитів утворюється

кальцій-зв'язуючий білок. Останній сприяє всмоктуванню кальцію в кишечнику, забезпечуючи при цьому потребу організму в кальції і фосфорі [67, 188].

За умов дефіциту вітаміну D у кишечнику адсорбується лише 10-15 % кальцію. Зниження абсорбції вітаміну D в кишечнику при патології печінки викликає порушення мінеральної щільності кісткової тканини [12].

Крім вітаміну D, для ефективного засвоєння кальцію необхідні й інші компоненти. Згідно досліджень все більшої уваги приділяється вітаміну K, який покращує мінералізацію кісткової тканини, за рахунок того, що він активує білок остеокальцин, функцією якого є зв'язування кальцію і гідроксиапатитів, що є основоположним процесом для формування і метаболізму кісткової тканини [192, 197].

Найбільшу цікавість являють дві форми вітаміну K: вітамін K₁ і вітамін K₂. Вітамін K₁ або філохінон синтезується в рослинах, тоді як вітамін K₂ (менахінон) – синтезується мікроорганізмами (сапрофітними бактеріями), а також клітинами печінки, переважно в тонкому відділі кишечника. Саме друга форма вітаміну K – менахінон, відіграє велику роль у підтримці нормальної кісткової щільності [175].

Багато досліджень вказують на те, що високі сироваткові рівні ундеркарбоксільованого остеокальцину пов'язані з більш низькою мінеральною щільністю кісткової тканини. Високе споживання вітаміну K пов'язується з більш високою мінеральною щільністю кісток або частими переломами стегна. Гіповітаміноз K може розвиватись при таких захворюваннях, як гострий холангіт, дискінезія жовчовивідних шляхів та жовчокам'яна хвороба [178, 191].

Дослідження G. K. Schwalfenberg [187] при спостереженні японських пацієнтів показали, що вітамін K₂ на 60 % запобігав переломам хребців, на 77 % – переломам стегна та на 81 % – позахребцевим переломам.

1.2.2 Жовчні кислоти та білірубін

Особливе значення у абсорбції вітамінів D і K грають жовчні кислоти, головне фізіологічне значення яких полягає в емульгуванні жирів, утворенні ліпоїдно-жовчних комплексів. Жовчні кислоти також активізують панкреатичну ліпазу, полегшуючи при цьому всмоктування жиророзчинних вітамінів, зокрема і вітаміну D. Зниження виділення жовчних кислот у кишечник призводить до порушення травлення, внаслідок недостатнього надходження в організм макро- та мікроелементів, білків і жиророзчинних вітамінів (A, D, E, K), що може як поглиблювати вже існуючий остеопороз, так і спровокувати його розвиток [82, 85].

При первинному біліарному цирозі порушується метаболізм жовчних кислот (зокрема, літохолової), що в свою чергу призводить до пошкодження епітелію жовчних шляхів та надходження жовчних кислот у перидуктулярні простори. При цьому розвиваються запальні реакції та фіброз. Порушення секреції жовчі призводить до зниження надходження жовчних кислот у просвіт кишечника, концентрація яких буде недостатньою для повноцінного травлення і всмоктування вітаміну D та кальцію. За умов холестазу та недостатньому надходженні жовчних кислот у просвіт кишечника виникають стеаторея, гіповітаміноз та остеопороз [119, 151].

Одним з потенційних механізмів, який сприяє розвитку печінкової остеодистрофії є недостатнє формування кісткової тканини у зв'язку з шкідливою дією білірубину [18].

Дослідженнями *in vitro* показано, що білірубін проявляє інгібуючу дію на проліферацію остеобластів. Вірогідно, такий негативний вплив білірубину на остеобласти частково пояснює зв'язок між тяжкістю захворювання печінки і ступенем остеопорозу [120]. Відомо, що некон'югований білірубін у хворих на жовтяницю призводить до дефектів остеобластів та зниження їх життєздатності. Результати досліджень також підтверджують негативний вплив підвищеного вмісту білірубину при прогресуючому хронічному холестазі та хронічних захворюваннях печінки, що в свою чергу призводить

до порушень кісткоутворення, яке пов'язане з дисфункцією остеобластів [118].

Дослідження хворих з синдромом Жильбера показало негативну кореляцію неконьюгованого білірубину із мінеральною щільністю кісток. Неконьюгований білірубін інгібує проліферацію остеобластів, що підвищує ризик виникнення остеопорозу у пацієнтів із синдромом Жильбера [121]. Хоча у інших дослідженнях показано позитивний зв'язок між концентрацією білірубину та рівнем мінеральної щільності кісток у підлітків та вважається, що рівень загального білірубину може бути захисним маркером від втрати кісткової маси [113]. У дослідженнях J. Zhao et al [194] також вказується, що хронічна гіпербілірубінемія є вторинним чинником, який сприяє остеодистрофії при патології печінки.

1.2.3 Статеві гормони

Печінка приймає участь у метаболізмі статевих гормонів (естрогену і тестостерону), які також підтримують кісткову тканину в фізіологічному стані. Відомо, що рецептори до андрогенів присутні на остеокластах, остеобластах та остеоцитах, тому ймовірно, андрогени безпосередньо впливають на їх функцію. Так, тестостерон пригнічує апоптоз остеокластів і остеобластів, тим самим збільшується тривалість життя даних клітин. Окрім цього, тестостерон стимулює проліферацію остеобластів, що збільшує формування кісткової тканини і зменшує її резорбцію [72, 124, 170].

Існує прямий ефект естрогену, який зумовлений його дією на спеціальні рецептори остеокластів. За рахунок такої дії пригнічується резорбтивна функція остеокластів. Опосередкована дія естрогену на кісткову тканину відбувається через вплив на гомеостаз кальцію шляхом зниження чутливості кісткової тканини до дії паратиреоїдного гормону. Також естрогени стимулюють синтез кальцитоніну і кальцитріолу, таким чином забезпечують адекватну абсорбцію кальцію в кишечнику [70, 134, 165].

1.2.4 Цитокіни і фактори росту

Відомо, що в печінці здійснюється синтез різноманітних факторів росту і цитокінів, частина з яких впливає на функцію остеобластів. Факторами ризику розвитку остеопеній при захворюваннях печінки, зокрема при хронічному фіброзі, є нестача ІФР-1 та остеопротегерину, через порушення їх синтезу в печінці [31].

Нестача ІФР-1 у хворих з хронічними патологіями печінки провокує зниження активності остеобластів, послаблення синтезу колагену та мінералізацію кісток. Показано, що у пацієнтів з хронічним цирозом печінки із встановленим остеопорозом спостерігається зниження вмісту ІФР-1 [25].

Неабияку роль в молекулярній регуляції процесу остеокластогенезу відіграє система ліганд рецептора-активатора ядерного фактора Каппа-В. (RANKL) і остеопротегерин (OPG) RANKL являє собою розчинний ліганд, який продукується остеобластами. Він здатен зв'язуватись із специфічним рецептором RANK, який розташований на остеокластах, тому є основним стимулюючим фактором утворення зрілих остеокластів, а збільшення його експресії призводить до резорбції кісткової тканини. На противагу активації остеокластів виступає OPG, який є ключовою ланкою зниження диференціації і активації остеокластів і тому відіграє велике значення в попередженні резорбції кісткової тканини [20, 138, 180]. У пацієнтів із хронічними захворюваннями печінки, зокрема первинним біліарним цирозом, відзначається більш високе співвідношення OPG/RANKL, ніж у групі здорових людей [182].

Отже, підвищення резорбції кісткової тканини за рахунок системи RANK/RANKL/OPG, активація запальних цитокінів та зниження інсуліноподібного фактора росту-1 також є важливими механізмами розвитку остеопорозу у пацієнтів із захворюваннями печінки.

Таким чином, патогенез розвитку остеодистрофії при гепатобіліарних захворюваннях складний і на метаболізм кісток впливає етіологія та активність перебігу хвороби, ступінь функціональної недостатності печінки,

вираженість холестатичної складової. До головних факторів ризику патології відносять: порушення метаболізму та абсорбції вітамінів К і D, дефіцит жовчних кислот у кишечнику, гіпербілірубінемію та розлади метаболізму статевих гормонів у печінці. Тобто основні ланки патогенезу печінкової остеодистрофії здійснюються у кишечнику, тому далі важливо розглянути, взаємозв'язок порушень функції печінки із розладами у кишечнику та, як наслідок, розвиток патології кісткової тканини.

1.3 Вплив антимікробної функції печінки на мікробіом кишечника

Більшу частину крові печінка отримує з кишечника через систему *v. porta*, тому вона є першим органом, який піддається впливу токсичних речовин із кишечника, у тому числі бактерій та їх метаболітів [148]. Важливі метаболічні функції печінки виконують гепатоцити, які складають приблизно 64 % від усіх клітин цього органу. Останні 36 % приходить на синусоїдальні клітини, що утворюють ретикуло-ендотеліальну систему (РЕС). Представниками РЕС є ендотеліоцити та клітини Купфера, головною функцією яких є видалення шляхом ендцитозу патогенних факторів, у тому числі бактерій, вірусів, дріжджів і паразитів та їх токсинів, що потрапили в печінку з кровотоком через систему *v. porta*. До клітин РЕС відносять також ріт-клітини, які володіють цитотоксичністю до вірусів та пухлинних клітин завдяки утворенню віруспецифічних Т-лімфоцитів [79, 126].

Крім фільтрації та ендцитозу бактерій, вірусів та їх токсинів, печінка продукує речовини, які володіють антимікробною дією. Зокрема, жовч, яку печінка виробляє, регулює кишковий мікробіоценоз, пригнічуючи при цьому ріст одних бактерій і стимулюючи ріст інших. Також із жовчі у просвіт дванадцятипалої кишки секретується імуноглобулін А (IgA), він гальмує транслокацію бактерій з кишечника у кров і лімфу [48]. Окрім цього, клітини Купфера здійснюють синтез лізоциму, який володіє неспецифічною антимікробною дією, а також інших гідролаз, що руйнують бактерії та їх фрагменти [102].

Порушення бар'єрної функції печінки призводить до транслокації бактерій і токсинів у інші тканини та органи. Зв'язок між хронічними захворюваннями печінки та порушенням кишкової мікробіоти першим описав В. Hoefert, цей зв'язок підтверджується і іншими дослідженнями [89, 162]. Механізм такого взаємозв'язку досі остаточно не встановлено і сьогодні проводяться багато досліджень по його уточненню.

Порушення мікробіоти кишечника виникають як наслідок або причина виникнення різноманітних захворювань печінки, таких як неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), хронічні вірусні гепатити, неалкогольний стеатогепатит та ін. Так у роботах О. С. Хухліної та ін. [100] було виявлено, що важливим компонентом патогенезу прогресування НАЖХВ була метаболічна інтоксикація, внаслідок порушень кількісного та якісного стану мікробіоти та виникнення дисбіозу у товстому кишечнику. Другим фактором, який вказує на взаємозв'язок між станом мікробіому кишечника та НАЖХП, є утворення ендogenous етанолу, що може призводити до розвитку змін у печінці або викликати оксидативний стрес, який в свою чергу буде сприяти переходу від стеатозу до стеатогепатиту. Показано, що велика кількість у кишечнику *Klebsiella pneumoniae*, яка продукує надмірну кількість етанолу, може прискорювати розвиток НАЖХП, адже ендogenous синтез етанолу призводить до утворення вільних жирних кислот та сприяє виникненню оксидативному стресу [41, 142].

Кишкова мікробіота, внаслідок ендотоксемії, модуляції жовчних кислот та гіперпродукції ендogenous етанолу, посилює прогресування також і неалкогольного стеатогепатиту [101].

Результати досліджень показують, що склад кишкової мікробіоти статистично значущо відрізняється у хворих на НАЖХП за рахунок збільшення кількості патогенних форм порівняно із контрольною групою осіб [94]. При дослідженні мікробіому хворих на хронічний гепатит С встановлено контамінацію порожнини товстого кишечника патогенними та умовно-патогенними ентеробактеріями, клостридіями, стафілококами та

дріжджоподібними грибами роду *Candida* [26]. Роботи Ю. М. Степанова та ін. [55] по аналізі мікробіоти кишечника у дітей з ожирінням та НАЖХП, показали різке зменшення кількості основних симбіонтів мікробіоценозу та збільшення вмісту умовно-патогенної мікробіоти.

Як відомо, у хворих на гепатит В у порожнині товстого кишечника утворюються сприятливі умови для розвитку умовно-патогенних мікроорганізмів та виникнення дисбіотичних зсувів. Такі дисбіотичні явища зумовлені зміною середовища проживання мікроорганізмів у товстому кишечнику на тлі порушень функціонального стану печінки, розладів жовчовиділення. Результати мікробіологічних досліджень вмісту товстого кишечника у хворих на гепатит В вказують на те, що у 100% пацієнтів присутні зміни якісного та кількісного складу мікробіоти, а також за наявності дисбіотичних порушень спостерігалось зменшення рівня біфідобактерій та лактобактерій [63, 103, 143].

Хронічні ураження печінки знижують її антитоксичну функцію, призводять до запалення кишечника, що є одним з найбільш частих факторів, які викликають підвищену проникність кишечника, що призводить до зростання рівня фізіологічної транслокації як бактерій, так і їхніх токсинів та продуктів життєдіяльності через портальну вену у печінку. Таким чином, таке перевантаження антигенами призводить до прогресування патології печінки та ще більшого пошкодження її клітин. В дослідженнях на хворих з НАЖХП встановлено підвищену проникність стінки кишечника, надлишковий бактеріальний ріст в тонкій кишці на тлі даної патології [111, 152].

Щодо пробіотичної кишкової мікробіоти, то за сучасними уявленнями вона вважається ще одним «органом», який важить приблизно 2 кг і налічує близько 100 різновидів клітин мікроорганізмів, а це в 10 разів більше, ніж власних клітин організму хазяїна [186].

Переважає більшість мікробіоти людини міститься у шлунково-кишковому тракті, а саме в товстій кишці. Кишечник заселяють дев'ять

основних видів бактерій: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria*, *Deferribacteres*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Tenericutes*, *TM7* і *Verrucomicrobia*, серед яких перевагу мають *Bacteroidetes* і *Firmicutes* [21].

Пробіотична мікробіота кишечника виконує ряд життєво важливих функцій, які підтримують гомеостаз в організмі людини, головні з яких: травна функція (розщеплення харчових волокон, синтез коротколанцюгових жирних кислот, обмін жовчних кислот), запобігання заселенню та розмноженню патогенних мікроорганізмів, синтетична функція (синтез вітамінів групи К і В, амінокислот, амінів та інших біологічно активних речовин), імуномодулююча функція (синтез про-і протизапальних цитокінів, IgA, лізоциму) [24].

Згідно з літературними джерелами, показано, що кишкова мікробіота відіграє важливу роль у регулюванні гомеостазу шлунково-кишкового тракту, а її зміни у якісному та кількісному співвідношенні можуть впливати на стан імунної системи та призводити до порушення метаболізму [109, 193].

Вище було зазначено, що при захворюваннях гепатобіліарної системи у пацієнтів показано розвиток гіповітамінозу вітаміну К [178]. На нашу думку, причиною такого дефіциту вітаміну К може бути не тільки функціональні розлади печінки, а і наявність дисбіозу у тонкому відділі кишечника хворих, тобто зменшення рівня сапрофітних бактерій, які синтезують вітамінК₂. Саме менахінон відіграє велику роль у підтримці нормальної кісткової щільності [189].

Як зазначено вище, останніми роками з різних причин кількість пацієнтів із гепатобіліарною патологією значно збільшилася. Неминучим наслідком патології печінки та жовчовивідних шляхів є розвиток дисбіозу і порушення взаємовідносин між організмом людини та її мікробіомом. Як правило, дисбіоз супроводжується збільшенням у крові концентрації токсинів та чисельності бактерій, що створює реальну загрозу для розвитку поліорганної патології, в тому числі і для кісткової системи [11, 169].

Таким чином, печінка грає центральну роль у механізмі взаємодії функціонування кісткової тканини зі кишечником, а саме із мікробіомом, і є своєрідним посередником між цими системами. З одного боку, печінка є головним органом синтезу білків плазми крові, підтримки сталості амінокислотного складу та стабільної концентрації глюкози, які є важливим фактором для процесу синтезу колагену кісткової тканини. Окрім того, печінка контролює обмін вітамінів К, D, статевих гормонів, жовчних кислот, білірубину, міді. З другого боку, печінка слугує бар'єром на шляху проходження бактерій та їх токсинів з кишечника в печінку через *v. porta* та регулює видовий склад і чисельність бактерій в організмі, насамперед у кишечнику, завдяки синтезу речовин, що стимулюють зростання пробіотичних бактерій і пригнічують розмноження патогенних мікробів (жовчні кислоти, імуноглобуліни, специфічні білки та ферменти). До головних факторів ризику печінкової остеодистрофії відносять порушення метаболізму білків, амінокислот, вітамінів К, D і статевих гормонів у печінці, дефіцит жовчних кислот у кишечнику, гіпербілірубінемію. Водночас природа взаємозв'язку патогенезу ремоделювання кісткової тканини із розладами у кишечнику, які були ініційовані гепатобіліарною патологією, залишається нез'ясованою. Патогенетичне розуміння такого взаємозв'язку є важливим для розробки ефективних та безпечних препаратів, які здатні попередити розвиток печінкової остеодистрофії. Цим питанням і присвячена дисертаційна робота.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Умови проведення експерименту

Експериментальні дослідження проводились на тваринах, які знаходились в стандартних умовах віварію Одеського національного університету імені І. І. Мечникова. Утримання, годування, догляд та виведення тварин з експерименту проводили за принципами, які викладені в Законі України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) з урахуванням правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 18 березня 1986 р., ETS № 123) та відповідно до вимог «Директиви 2010/63/ЄС Європейського парламенту та Ради від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, що використовуються в наукових цілях» [29, 35, 123, 140].

Експериментальні дослідження відбувались у три етапи.

Перший етап дослідження проводили на лабораторних білих щурах самцях, віком 10 місяців, із середньою масою 338 г. Тварини були розподілені на дві групи: 1 група (n=8) – інтактна (слугувала контролем), 2 група (n=8) – дослідна (щури, яким моделювали токсичний гепатит). Формування токсичного гепатиту здійснювали шляхом внутрішньоочеревинного введення гідразинсульфату у дозі 50 мг/кг два рази на тиждень упродовж місяця. Щурів виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (внутрішньоочеревинно в дозі 20 мг/кг) шляхом тотального кровопускання з магістральних судин.

Збирали кров для отримання сироватки, виділяли печінку, слизову оболонку тонкої кишки, які зберігали для подальших досліджень у спеціальній морозильній камері при $t = -30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Гомогенати тканин готували з розрахунку 50 мг/мл 0,05 М трис-НСl-буфера при рН 7,5; для біохімічних досліджень використовували надосадову рідину [54].

В сироватці крові визначали активність «печінкових» маркерів – активність аланінамінотрансферази (АлАТ), лужної фосфатази (ЛФ) та вміст білірубіну. В гомогенатах печінки проводили визначення активності еластази та кислої фосфатази. У слизовій оболонці тонкої кишки визначали активність еластази, кислої фосфатази та вміст малонового діальдегіду. За відносними показниками активності уреазі і лізоциму розраховували ступінь дисбіозу в тонкій кишці.

Другий етап дослідження. На другому етапі в дослідженнях використовували щурів лінії Wistar (самців і самок) віком 1 місяць, із середньою масою 65 г. Були сформовані дві групи тварин. Перша група була інтактною, до неї входило 5 самиць і 5 самців (n=10), і слугувала контролем. До другої групи (експериментальна) входило також 10 тварин (5 самок і 5 самців), яким проводили моделювання токсичного гепатиту. Токсичний гепатит у другій групі відтворювали шляхом внутрішньоочеревинного введення сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців.

Досліджували засвоєння і виділення кальцію у щурів за допомогою метаболічних камер. Для цього було відібрано 9 тварин, з яких 3 були з контрольної групи і 6 тварин із змодельованим токсичним гепатитом. Дослідження проводили протягом 3-х діб.

Досліджували проникність епітелію тонкої кишки у щурів за допомогою фарби Еванса (Evans Blue, Німеччина). Дослідження проникності проводили на 11 щурах. Проникність оцінювали за кількістю дифундованої фарби в інкубаційному розчині [54].

Досліджували всмоктування кальцію і амінокислот (фенілаланіну, тирозину, триптофану) в ізольованому відрізку тонкої кишки щурів. Відбирали по 4 тварини із контрольної і дослідної груп.

Перед виведенням тварин з експерименту була взята на дослідження кров з хвостової вени, в якій визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів та рівень гемоглобіну.

Виводили щурів з експерименту шляхом тотального кровопускання з серця під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг).

Для проведення морфометричних досліджень у щурів виділяли нижні щелепи, стегнові, великогомілкові кістки та останній поперековий хребець перед куприковим відділом. В щелепах, попередньо очищених від м'яких тканин проводили підрахунок каріозних порожнин та глибину каріозних уражень [105]. Визначали ступінь атрофії альвеолярного відростка нижніх щелеп щурів. У великогомілкових кістках, поперекових хребцях, діафізі та епіфізі стегнових кісток визначали щільність і ваговий вміст мінерально-органічного (МОК), мінерального (МК) та органічного компонентів (ОК) [54].

Біохімічні дослідження проводили у тканині альвеолярного відростку та стегнових кісток. У гомогенатах кісткової тканини (75 мг/мл 0,1 М цитратного буферу рН 6,1) визначали активність еластази, кислої і лужної фосфатази та вміст кальцію. По співвідношенню активностей кислої і лужної фосфатаз розраховували мінералізуючий індекс.

У зразках сироватки крові досліджували активність АлАТ, лужної фосфатази, еластази та вміст білірубину і кальцію. У гомогенатах печінки визначали активність еластази, кислої фосфатази, уреаз, лізоциму та вміст МДА. У гомогенатах слизової оболонки ясен були визначені: активність еластази, кислої фосфатази, вміст МДА, а також активність уреаз, лізоциму та розрахований ступінь дисбіозу. У гомогенатах слизової оболонки тонкої кишки та товстого кишечника проводили визначення активності еластази, кислої фосфатази, уреаз, лізоциму, вмісту МДА та ступінь дисбіозу.

Третій етап дослідження проводили на самцях лабораторних щурів стадного розведення (n = 20, віком 7-8 міс, 160-180 г). Тварини були поділені на три групи: 1 група (n = 6) – інтактна (слугувала контролем), 2 група (n = 7) – щури, яким моделювали хронічний холестаза, 3 група (n = 7) – щури, яким на тлі хронічного холестазу проводили профілактику.

Хронічний холестаза у дослідних тварин моделювали шляхом перев'язки загальної жовчної протоки [56]. За добу до проведення операції щурів утримували від їжі, оперували тварин під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг). До складу профілактичного комплексу входили два препарати: сорбент Мінерол (НВМП «ГОБОР», Україна) у дозі 1 г/кг і гепатопротектор Леквін (НВА «Одеська біотехнологія», Україна) – 500 мг/кг. Препарати комплексу Леквін і Мінерол дозволено для використання як дієтичні добавки (Додаток А). Препарати вводили тваринам щоденно, починаючи з третьої доби після моделювання патології. Вранці натще вводили щурам гепатопротектор Леквін, ввечері – сорбент Мінерол.

Тривалість моделювання хронічного холестазу та його профілактика тривала впродовж 4-х місяців. Щурів виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (внутрішньоочередно 20 мг/кг) шляхом тотального кровопускання з магістральних судин.

Збирали кров для отримання сироватки, в якій визначали активність лужної фосфатази, аланінамінотрансферази, еластази, концентрацію кальцію, тригліцеридів та холестерину. Стан печінки оцінювали за органним індексом та рівнем біохімічних показників. Для цього виділяли печінку, готували гомогенати із розрахунку 50 мг/мл 0,05 М трис-НСІ буферу рН 7,6. В гомогенатах печінки досліджували активність еластази, кислої фосфатази і уреазі, а також розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс за співвідношенням активності каталази та вмісту МДА.

Виділяли слизові оболонки порожнини рота, тонкої кишки та товстого кишечника і готували гомогенати (50 мг/мл 0,05 М трис-НСІ буферу рН 7,6). У слизових оболонках травного тракту визначали маркери запалення (активність еластази і кислої фосфатази), маркер неспецифічного антимікробного захисту – активність лізоциму, маркер контамінації умовно-патогених бактерій – активність уреазі, за відносними значеннями уреазі і лізоциму розраховували ступінь дисбіозу. Стан антиоксидантної системи

оцінювали за активністю каталази, розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс (активність каталази, вміст МДА).

Виділяли альвеолярну і стегову кістки для проведення біохімічного дослідження. Гомогенати кісткової тканини готували на 0,1 N цитратному буфері рН 6,1, виходячи із співвідношення 75 мг кістки на 1 мл буфера. В гомогенатах проводили визначення маркерів резорбції кісткової тканини (активність еластази і кислій фосфатази) та маркерів кісткоутворення (активність лужної фосфатази, вміст кальцію і мінералізуючий індекс).

В стеговій кістці проводили гістологічне дослідження.

2.2 Методи дослідження в кишечнику

2.2.1 Методика дослідження виведення та засвоєння кальцію

Для дослідження кількості надходження та виведення кальцію у щурів використовували спеціальні метаболічні камери, в яких розташовували тварин. Дослідження проводили впродовж трьох діб, збираючи залишки корму, калу та сечі. Корм, яким годували тварин впродовж дослідження, попередньо зважували (50 г на кожну тварину) і розташовували у годівниці метаболічної камери.

Збирали залишки добового калу, розміщували на фільтрувальному папері і висушували у сушильній шафі при 65 °С. Сухий кал зважували, відбирали наважку у 1 г для подальшого визначення у ньому вмісту кальцію. Сечу кожної тварини збирали, вимірювали її кількість мірним циліндром та відбирали 1 мл для проведення аналізу. У калі та сечі визначали вміст кальцію шляхом аналізу концентрації, яку множили на кількість залишеного матеріалу і таким чином визначали кількість виведеного кальцію з сечею та калом.

У кормі також аналізували вміст кальцію, завдяки чому визначали кількість введеного кальцію щурам. Ступінь абсорбції кальцію – це різниця між введеною кількістю та сумарною кількістю виведеного кальцію із сечею та калом [54].

2.2.2 Методика дослідження проникності епітелію тонкої кишки

Проникність епітелію тонкого кишечника у щурів досліджували за кількістю дифундованої фарби в інкубаційний розчин. В якості фарби використовували фарбник Еванса (Evans Blue, Німеччина). У попередньо наркотизованих тіопенталом натрію щурів виділяли за допомогою лігатур ділянку тонкого кишечника довжиною 7 см. У ізольований відрізок кишечника вводили 0,001 % фарбу Еванса на 0,9 % фізіологічному розчині. Відрізок тонкої кишки щура поміщали у скляний стакан об'ємом 50 мл з інкубаційним середовищем (0,9 % фізіологічний розчин) та ставили на інкубацію у термостат на 60 хв. при температурі 37 °С. Через годину з розчину, у який був поміщений ізольований відрізок кишечника, відбирали 0,5 мл для визначення ступеня проникності стінок кишечника за показниками в ньому оптичної щільності дифундованої фарби. Оптичну щільність вихідної та дослідної проб вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 620 нм.

Розрахунок проводили за формулою (2.1):

$$C = E_{\text{дослід}} / E_{\text{станд}} \times 1,0 \quad (2.1), \text{ де}$$

1,0 – концентрація фарби Еванса в розчинні, мкг/мл;

$E_{\text{дослід}}$ – оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;

$E_{\text{станд}}$ – оптична щільність вихідної проби, од. опт. щільності;

C – концентрація дифундованої фарби, мкг/мл. Кількість фарби у рідині виражали в мкг/мл [54].

2.2.3 Методика дослідження всмоктування кальцію і амінокислот

Дослідження всмоктування кальцію у тонкій кишці щурів проводили за методикою А. М. Уголева та Б. З. Заріпова [92]. Дослідних щурів, попередньо наркотизованих тіопенталом натрію (20 мг/кг) фіксували на спеціальній дощечці, прив'язавши лапи бинтами. Далі робили розтин по середній лінії черевця, на порожній кишці лігатурами ізолювали ділянку довжиною 5 см. За

допомогою шприца в ізольований відрізок вводили 1 мл розчину кальцію та залишали тва рин на 60 хвилин. По досягненню часу вилучали рідину з ізольованої ділянки в приготовлену заздалегідь ємність, та вимірювали об'єм рідини піпеткою. Для перерахунку кількості кальцію, що залишився у ділянці ізольованої кишки, об'єм множили на концентрацію і отримували кількість кальцію, що не всмоктався. Визначали концентрацію кальцію у розчині, який вводився у ділянку ізольованої кишки, шляхом множення її на об'єм. Кількість кальцію, що всмоктався, розраховували за формулою (2.2):

$$A_2 = A_1 - A \quad (2.2), \text{ де}$$

A_2 – кількість речовини, що всмокталася в мг;

A_1 – кількість речовини, що вводили у ділянку ізольованої кишки, в мг;

A – кількість речовини, що залишилася у ізольованої кишці, в мг.

Дослідження всмоктування амінокислот в ізольованій ділянці тонкої кишки шурів проводили за такою ж схемою, як і всмоктування кальцію. Для цього використовували 1 мл 0,25 % розчину суміші ароматичних амінокислот (фенілаланін, тирозин, триптофан) у рівних кількостях.

Визначення концентрації кальцію у розчині, вилученому з ізольованої ділянки тонкої кишки, проводили за методом, принцип якого засновується на тому, що кальцій з арсеназним реагентом утворює забарвлений комплекс, який вимірюється спектрофотометрично. Розрахунок проводили за формулою (2.3):

$$C = E_{\text{дослід}}/E_{\text{каліб}} \times 2,5 \quad (2.3), \text{ де}$$

2,5 – концентрація кальцію в калібрувальному розчинні, ммоль/л;

$E_{\text{дослід}}$ – оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;

$E_{\text{каліб}}$ – оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності;

C – концентрація кальцію в дослідній пробі, ммоль/л.

Визначення концентрації амінокислот у вилученому розчині з ізольованої петлі тонкої кишки, проводили колориметричним методом з використанням реактиву ФолинаЧокалтеу. Метод заснований на тому, що фосфовольфрамова і фосфомолібденова кислоти, які містяться в реактиві,

при відновленні ароматичними амінокислотами в лужному середовищі утворюють комплекс синього кольору (вольфрамова синь). Інтенсивність отриманого забарвлення пропорційна кількості амінокислот.

Розрахунок проводили за формулою (2.4):

$$C = (E_{\text{дослід}} / E_{\text{станд}}) \times C_0 \quad (2.4), \text{ де}$$

C – концентрація амінокислот в дослідній пробі, мг/мл;

C_0 – концентрація амінокислот в стандартному зразку, мг/мл;

$E_{\text{дослід}}$ – оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;

$E_{\text{станд}}$ – оптична щільність стандартної проби, од. опт. щільності [54].

2.3 Морфометричні методи дослідження кісток

2.3.1 Визначення атрофії альвеолярного відростка щелеп

Визначення атрофії альвеолярного відростка щелеп проводили оцінюючи дистрофічний процес у пародонті за ступенем оголення коренів молярів [54]. Величину ступеня атрофії (СА) як відносне оголення коренів молярів у відсотках розраховували за формулою (2.5):

$$CA = (L \times 100) / M (\%) \quad (2.5), \text{ де}$$

L – відстань від краю альвеоли до анатомічної шийки зуба,

M – відстань від краю альвеоли до вершини горбка зуба.

2.3.2 Визначення щільності та вмісту мінерального і органічного компонентів у кістках

Розрахунок щільності кісток (ρ) проводили за формулою (2.6):

$$\rho = m/V \quad (2.6), \text{ де}$$

m – маса вологої кістки,

V – об'єм кістки.

Об'єм кісток визначали за виміром архімедової сили. Величину архімедової сили переводили в об'єм води, який витісняє кістка, цей об'єм і дорівнював об'єму кістки [99].

Відносний ваговий вміст МК $m_{\text{мін.відн.}}$ в кістці визначали за формулою (2.7):

$$m_{\text{мін.відн.}} = m_{\text{мін}} / m_0 \cdot 100 \% \quad (2.7),$$

а відносний ваговий вміст ОК $m_{\text{орг.відн.}}$ за формулою (2.8):

$$m_{\text{орг.відн.}} = m_{\text{орг}} / m_0 \cdot 100 \% \quad (2.8).$$

Кісткова тканина – це система, яка складатися з трьох основних компонентів: мінеральний компонент (МК), органічний компонент (ОК) і вода. Кожен із цих компонентів кістки характеризується індивідуальними значеннями щільності $\rho_{\text{мін}}$ і $\rho_{\text{орг}}$, які приймаються як константні значення. Вагове та об’ємне відношення МК і ОК в кістці формує певне значення щільності мінерального-органічного комплексу (МОК).

Базою для обчислення абсолютного та відносного вмісту компонентів в кістках є формула визначення об’ємного вмісту МК (2.9):

$$V_{\text{мін}} = V_{\text{мок}} \cdot \frac{\rho_{\text{мок}} - \rho_{\text{орг}}}{\rho_{\text{мін}} - \rho_{\text{орг}}} \quad (2.9), \text{ де}$$

$V_{\text{мін}}$ – об’єм МК, мм³;

$V_{\text{мок}}$ – об’єм МОК, мм³;

$\rho_{\text{мок}}$ – щільність МОК, мг/мм³;

$\rho_{\text{мін}}$ – щільність МК, мг/мм³;

$\rho_{\text{орг}}$ – щільність ОК, мг/мм³.

Об’єм та щільність МОК ($V_{\text{мок}}$ і $\rho_{\text{мок}}$) розраховували шляхом попереднього визначення маси вологої і висушеної кістки та її об’єму [99].

2.4 Гістологічне дослідження кісток

Для гістологічного дослідження виділяли стегнову кістку і фіксували її у розчині 10 % формаліну. Далі проводили декальцифікацію кісткової тканини, після чого заливали у парафінові блоки і робили гістологічні зрізи товщиною 5-7 мкм. Забарвлення зразків здійснювали гематоксиліном та еозином, а також пікрофуксином за Ван Гізоном. Гістолічний аналіз та фотографування зрізів проводили з використанням світлового мікроскопу та

камери для мікроскопу Olympus LC30 (Japan). Для дослідження використовували світлову мікроскопію [19].

Морфометрію різних зон стегнової кістки щурів проводили за наступними параметрами: питомий об'єм (%) суглобового епіфізарного хряща, питомий об'єм (%) кісткових балок, питомий об'єм (%) кісткового мозку, кількість остеобластів на певній площі [10].

2.5 Біохімічні методи дослідження кісток

Приготування гомогенатів: для дослідження ферментативної активності у кістках, їх попередньо препарували, очищали від м'яких тканин і сухожиль та проводили приготування їх гомогенатів. Обовязковою умовою є приготування гомогенатів при низькій температурі (на лотку із льодом) для збереження активності ферментів. Гомогенати готували на 0,1 N цитратному буфері рН 6,1 за співвідношенням 75 мг кістки на 1 мл буфера. Очищені цільні кістки зважували на терезах з точністю до 1 мг, потім кістки подрібнювали і поміщали в охолоджену ступку, додаючи трохи товченого скла і необхідний об'єм буферу. Ретельно все розтирали і переносили в центрифужну пробірку. Потім всі пробірки поміщали в штатив і струшували на шейкері протягом 15 хвилин при температурі + 4 °С. Після цього гомогенати центрифугували 20 хвилин при 2 500 об/хв і температурі + 4 °С. Для проведення аналізу використовували надосадову рідину [54].

В гомогенатах кісткової тканини проводили визначення таких ферментів: активність кислої фосфатази, лужної фосфатази, еластази, вміст кальцію.

Активність кислої та лужної фосфатази визначали на основі гідролізу субстрату *p*-нітрофенілфосфату по методу Бессея-ЛоуріБрока. Субстрат для кислої фосфатази готували на цитратному буфері з рН 4,8, а для лужної фосфатази – на гліциновому буфері з рН 10,5. Під впливом фосфатаз від субстрату відщеплюється *p*-нітрофенол, який в лужному середовищі забарвлюється у жовтий колір. Інтенсивність забарвлення розчину

пропорційна активності досліджуваного ферменту. Активність ферментів виражали в мікрокаталах на 1 кг кісткової тканини (мк-кат /кг). За 1 катал приймали активність ферменту, яка здатна утворити 1 моль *p*-нітрофенолу [54].

Індекс мінералізації у кістковій тканині визначали за співвідношенням активності лужної фосфатази до активності кислої фосфатази (ЛФ/КФ).

Активність ферменту еластази оцінювали за ступенем гідролізу синтетичного субстрату *N*-*t*-BOC-*L*-alanine-*p*-nitrophenyl ester за методом Visser et Blouf. Під дією еластази від субстрату відщеплюється *p*-нітрофенол жовтого кольору. Інтенсивність забарвлення розчину пропорційна рівню активності еластази. Активність еластази виражали в мікрокаталах на 1 кг кісткової тканини, де 1 катал – це активність еластази, що каталізує відщеплення 1 *p*-нітрофенолу за 1 секунду [54].

Для переведення кальцію з кристалічної решітки гідроксиapatиту в іонізовану форму кісткову тканину потрібно гідролізувати. Для цього проводили ретельне очищення кістки від м'яких тканин і кісткового мозку та висушували до постійної ваги при 65 °С. В пробірку поміщали наважку 50 мг, заливали 2 мл 0,2 N HCl, струшували на шейкері протягом 24 годин при кімнатній температурі. Гідролізат переносили через паперовий фільтр в мірну колбу на 25 мл, при цьому фільтр кілька разів промивали 0,1 N HCl і далі доводили об'єм до 25 мл 0,1 N HCl. В приготованому гідролізаті проводили кількісне визначення іонізованого кальцію. Вміст іонізованого кальцію в гомогенатах кісткової тканини визначали за допомогою арсеназного реагенту, який разом з іонами кальцію утворює забарвлений комплекс, інтенсивність якого оцінювали спектрофотометричним методом. Концентрацію іонізованого кальцію в кістковій тканини виражали в ммоль/г тканини [54].

2.6 Біохімічні дослідження слизових оболонок травного тракту

Приготування гомогенатів: для приготування гомогенатів слизових оболонок кишечника відрізали ділянку тонкої або товстої кишки довжиною 20 см, ретельно промивали водою за допомогою шприца і акуратно відокремлювали слизову оболонку шляхом її вичавлення за допомогою скальпеля. Виділену слизову оболонку поміщали у попередньо марковані чашки Петрі і, при необхідності, зберігали при -20°C .

Тканини розморожували, зважували і гомогенізували в 0,05 М трис-НСІ буфері рН 7,6 з розрахунку 50 мг тканини на 1 мл буфера. Гомогенізацію здійснювали вручну в порцелянових ступках, розташованих на заморожених акумуляторах холоду. Гомогенати при постійному помішуванні розміщували протягом 30 хв в холодильнику, потім центрифугували при 2500 об/хв і $+4^{\circ}\text{C}$ 15 хв. Супернатант переносили в пробірки і проводили біохімічний аналіз [54].

В слизових оболонках шлунково-кишкового тракту визначали активність еластази, кислої фосфатази, каталази, уреаз, лізоциму, вміст МДА, розраховували ступінь дисбіозу.

Дослідження активності ферменту каталази проводили за допомогою методу, який заснований на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс з максимумом поглинання при 410 нм. Активність каталази оцінювали за інтенсивністю забарвлення розчинів та виражали в мкат/кг [54].

Вміст малонового діальдегіду визначали за таким принципом, що при високій температурі в кислому середовищі малоновий діальдегід реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений триметиловий комплекс, з максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм. Кількість малонового діальдегіду виражали в ммоль/кг тканини [54].

Визначення активності уреазі проводили за методом, принцип якого полягає у здатності ферменту уреазі розщеплювати сечовину до аміаку, який з реактивом Неслера дає жовте забарвлення. Інтенсивність забарвлення

проби прямо пропорційна активності уреазі в гомогенаті. Оптичну щільність дослідних проб проти контролю на реактиви вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 440 нм. Активність уреазі виражали в мікрокаталах на кг слизової оболонки, де 1 катал – це активність ферменту, яка каталізує відщеплення 1 молю аміаку за 1 секунду [54].

Визначення активності ферменту лізоциму засноване на тому, що лізоцим здатний лізувати бактерії. При гідролізі лізоцимом *Micrococcus lysodeikticus* спостерігається просвітлення субстрату, ступінь якого буде пропорційна активності лізоциму. Активність лізоциму перераховували в од/кг слизової оболонки.

Ступень дисбіозу слизових оболонок травного тракту розраховували як відношення показників активності уреазі і лізоциму за формулою (2.10):

$$CД = \frac{Y_{відн}}{L_{відн}} \quad (2.10).$$

Результати розрахунку ступіню дисбіозу виражали в ум. од [54].

Принцип методики визначення активності еластази і кислій фосфатази в слизових оболонках ідентичний принципу їх визначення в кістковій тканині.

2.7 Біохімічні дослідження тканин печінки

Приготування гомогенатів: гомогенати печінки щурів готували на 0,05 М трис-НСІ буфері рН 7,6 із розрахунку 50 мг тканини на 1 мл буфера. Гомогенізацію проводили у порцелянових ступках, які розміщували на акумуляторах холоду. Гомогенати при постійному помішуванні витримували 30 хв в холодильнику, потім центрифугували при 2500 об/хв і +4°C протягом 15 хв. Супернатант переносили у пробірки і використовували для подальших біохімічних досліджень [54].

Визначення у гомогенатах печінки активності ферментів еластази, кислій фосфатази, каталази, уреазі, лізоциму, вміст МДА проводили за

такими же методиками, як в кістковій тканині та слизових оболонках травного тракту.

Органний індекс печінки щурів розраховували як співвідношення маси печінки (мг) до маси тіла тварини (г) за формулою (2.11):

$$OI = m_{\text{печінки}} / m_{\text{тіла}} \quad (2.11).$$

2.8 Дослідження загальноклінічних та біохімічних показників сироватки крові

У периферичній крові, взятої з хвостової вени щурів, визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів та вміст гемоглобіну.

Принцип підрахунку кількості еритроцитів: кількість еритроцитів у периферичній крові щурів підраховували за допомогою лічильної камери Горяєва під мікроскопом. Кров розводили 3 % натрієм хлоридом і заповнювали камеру Горяєва. Рахували клітини у 5 великих квадратах розташованих по діагоналі. Обчислення кількості еритроцитів проводили за формулою [42]:

$$X = (E \times 4000 \times 200) / 80 \quad (2.12), \text{ де}$$

E – сума еритроцитів у 80 маленьких квадратах;

200 – розведення крові;

80 – кількість маленьких квадратів;

4000 – об'єм простору камери над одним квадратом.

Принцип підрахунку кількості лейкоцитів: кількість лейкоцитів рахували під мікроскопом у лічильній камері Горяєва. Периферичну кров розводили у 10 разів з 5 % розчином оцтової кислоти, підфарбований метиленовим синім. Для обчислення кількості лейкоцитів використовували формулу [42]:

$$X = (L \times 4000 \times 10) / 400 \quad (2.13), \text{ де}$$

L – кількість лейкоцитів у 1 мкл;

400 – кількість маленьких квадратів;

10 – розведення крові.

Принцип підрахунку кількості тромбоцитів: кількість тромбоцитів рахували за методом Фоніо у пофарбованих за Романовським-Гімзе мазках крові. Рахували тромбоцити у мазках під світловим мікроскопом з імерсійним об'єктивом. Кількість тромбоцитів розраховували за формулою [42]:

$$X = (A \times B) / 1000 \quad (2.14), \text{ де}$$

A – число підрахованих тромбоцитів;

B – абсолютне число еритроцитів.

Принцип визначення вмісту гемоглобіну: вміст гемоглобіну у периферичній крові визначали гемоглобінціанідним методом. Гемоглобін, взаємодіючи з ціаністим калієм, окиснюється у метгемоглобін, що утворює з ацетонціангідрином кольоровий гемоглобінціанід. Інтенсивність забарвлення пропорціональна концентрації гемоглобіну. Оптичну щільність вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 540 нм проти контрольної проби. За калібрувальним графіком визначали вміст гемоглобіну у крові і виражали у г/л [42].

У сироватці крові спектрофотометричним методом визначали такі показники: активність аланінамінотрансферази (АлАТ), активність лужної фосфатази (ЛФ) і еластази, вміст тригліцеридів (ТГ), білірубину, холестерину та кальцію.

Принцип методу визначення активності АлАТ: активність аланінамінострасферази в сироватці крові дослідних тварин визначали за допомогою набору реактивів (ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна) по методу Райтмана-Френкеля. Під дією аланінамінотрансферази відбувається амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, при цьому утворюються L-глутамінова та піровиноградна кислоти. Визначення базується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі. Гідразон піровиноградної кислоти має високий коефіцієнт молярної екстинції, тому спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної щільності реакційного розчину від

активності фермента. Вимірювали оптичну щільність дослідної проби проти холостої при довжині хвилі 530 нм. Розрахунок активності ферменту проводили за калібрувальним графіком та виражали в мк-кат/л [4,161].

Принцип методу визначення тригліцеридів: вміст тригліцеридів у сироватці крові визначали ензиматичним колориметричним методом (набір реагентів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна) гліцерофосфорною оксидазою. Концентрацію хіноніміну визначали фотометрично при довжині хвилі 505 нм. Його інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації тригліцеридів в дослідному зразку. Вміст ТГ виражали у ммоль/л [4, 161].

Принцип методу визначення концентрації білірубіну: концентрацію білірубіну у сироватці крові визначали за методом Ендрашика (набір реагентів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна). В присутності кофеїнового реактиву діазотована сульфанілова кислота утворює з прямим та зв'язаним білірубіном азобілірубін рожево-фіолетового кольору. Інтенсивність забарвлення дослідного розчину прямопропорційна концентрації загального білірубіну у пробі. Вимірювання оптичної щільності проводили при довжині хвилі 550 нм. Концентрацію білірубіну розраховували за калібрувальним графіком і виражали у ммоль/л [4,161].

Принцип методу визначення холестерину: концентрацію холестерину у сироватці крові проводили ферментативним методом (набір реагентів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна). Під дією холестериноксидази холестерин сироватки крові окислюється киснем повітря до холестен-3-ону та перекису водню. Перекис водню під дією пероксидази утворює з фенолом та 4-аміноантипірином хінонімін рожево-червоного кольору. Інтенсивність забарвлення розчину прямо пропорційна концентрації холестерину у сироватці крові. Оптичну щільність вимірювали при довжині 500 нм і виражали у ммоль/л [4,161].

Принцип методу визначення кальцію: концентрацію кальцію у сироватці крові визначали фотометричним методом. В лужному середовищі іони кальцію реагують з о-крезолфталеїновим комплексом і утворюють

при цьому кольоровий комплекс. Інтенсивність забарвлення утвореного комплексу фіолетового кольору пропорційна концентрації кальцію в дослідній пробі. Вимірювання оптичної щільності проводили при довжині хвилі 650 нм. Концентрацію кальцію розраховували за формулою і виражали у ммоль/л [4, 161].

Визначення активності еластази та лужної фосфатази у сироватці крові проводили за допомогою методів, описаних вище.

2.9 Характеристика препаратів, які входили до профілактичного комплексу

На першому і другому етапах дослідження для моделювання хронічного токсичного гепатиту використовували в якості гепатотоксину сірчаноокислий гідразин, відомий також як гідразинсульфат або діамід сульфат ($[\text{N}_2\text{H}_6]\text{SO}_4$). Гідразинсульфат являє собою сіль сірчаної кислоти і гідразину. Гідразин (N_2H_4) – сполука типу пероксидів, безбарвна гігроскопічна рідина із запахом аміаку, є сильним відновником у хімічних реакціях [34].

Використовується гідразин в органічному синтезі, виробництві пластмас, гуми, інсектицидів, різноманітних вибухових речовин, як компонент рідкого ракетного палива. У фармацевтичній практиці використовують гідразин гідрат $\text{N}_2\text{H}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ в якості відновника, а також для одержання біологічно активних похідних карбонових кислот. Деякі органічні похідні гідразину використовують як протитуберкульозні препарати (наприклад, Фтивазид, Ізоніазид) [40].

Гідразин та його похідні є токсичними речовинами, дія яких супроводжується порушенням біохімічних реакцій майже всіх видів обміну в організмі людини. Потрапляючи до кров'яного русла, він розповсюджується у органи і тканини, легко проходить через гематоенцефалічний бар'єр. Резорбтивна дія гідразину проявляється ураженням центральної нервової системи, крові, нирок і печінки. При ураженні печінки гідрaziном

посилюються процеси перекисного окиснення ліпідів, в гепатоцитах накопичуються нейтральні ліпіди, пригнічується синтез білків, знижується антитоксична функція печінки [22, 40].

На третьому етапі досліджень в якості профілактичного комплексу при моделюванні хронічного холестазу використовували два препарати – Леквін і Мінерол.

Леквін (виробник НВА «Одеська біотехнологія», Одеса, Україна) – препарат з гепатопротекторними, антиоксидантними та антидисбіотичними властивостями. До складу Леквіну входять лецитин соняшниковий, кверцетин з софори японської, пребіотик інулін з цикорію, цитрат кальцію та аскорбінова кислота.

Лецитин – один з основних компонентів препарату Леквін. Це жироподібна органічна речовина, яка являє собою комплекс есенціальних фосфоліпідів (фосфатидилхолін, фосфатидилінозит, фосфатидилетаноламін) та незамінних жирних кислот. Фосфатидилхолін – є основним фосфоліпідом, який є сполукою холіну з фосфорною кислотою. Він становить близько 50 % лецитину [146].

Лецитин є невід’ємною складовою клітинної мембрани, з нього на 50 % складаються клітини печінки, третина захисної оболонки мозку і 17 % всіх нервових клітин організму. Переважним джерелом лецитину є рослинні продукти, такі як боби сої, арахіс, насіння, соняшнику, рапсу та кукурудзи. Лецитин соняшниковий отримують шляхом екстракції з соняшnikової олії. Від соєвого лецитин соняшниковий відрізняється в першу чергу за складом і вмістом жирних кислот. В соняшниковому лецитині немає рослинних гормонів – фітоестрогенів, які стимулюють вироблення естрогену, тому він є безпечнішим у використанні для чоловіків та жінок, не викликаючи у останніх зміни гормонального фону [58].

Лецитин проявляє виражені гепатопротекторні, жовчорозріджувальні властивості. Як емульгатор, лецитин покращує поглинання і використання жиророзчинних поживних речовин, таких як вітаміни А, D, E і К. Лецитин

проявляє також виражені антиоксидантні властивості за рахунок природного антиоксиданту фосфатидилхоліну, який входить до його складу [66, 68].

Кверцетин – природній флавоноїд рослинного походження, володіє протизапальними та антиоксидантними властивостями. Кверцетин стимулює антиоксидантні системи організму людини. Антиоксидантна дія проявляється здатністю інгібувати перекисне окислення ліпідів та зменшувати вміст вільних радикалів і токсичних продуктів пероксидації [49, 110].

Інулін – це природний рослинний полісахарид, який міститься більше ніж в 3000 рослинах, переважно в їх коренях і бульбах. Потрапляючи до шлунково-кишкового тракту інулін покращує травлення, стимулює перистальтику кишечника, сприяє кращому засвоєнню необхідних для організму мікроелементів (кальцій, магній, фосфор, мідь, залізо), підвищує інтенсивність обмінних процесів. Інулін володіє пребіотичними властивостями, тобто усуває явища дисбіозу, завдяки тому, що сапрофітна мікробіота здійснює гідроліз інуліну до фруктози, яку використовує як джерело харчування. Вживання інуліну сприяє підвищенню кількості біфідобактерій у кишечнику та знижує кількість патогенних і ентеропатогенних бактерій [47, 155].

Аскорбінова кислота – водорозчинний вітамін, який володіє потужною антиоксидантною дією та відновлюваними властивостями, захищає клітини від пошкоджень активними формами кисню, регулює окисно-відновні процеси в організмі, сприяє синтезу колагену, проколагену, а також стероїдних гормонів і медіаторів [80]. Доведено, що у поєднанні із флавоноїдами аскорбінова кислота досить ефективно пригнічує окисні процеси [23].

Цитрат кальцію – форма кальцію, яка легко засвоюється організмом. Являє собою комплекс кальцію з лимонною кислотою. Цитрат кальцію необхідний для поповнення нестачі в організмі іонів кальцію [36, 18].

Мінерол – природний сорбент і детоксикант, виготовлений на основі природного мінералу монтморилоніту з донних відкладень молюсків і водоростей, зформованих в епоху докембрійського періоду. Виробник НВМП «ГОБОР», Україна. Мінерол має високу сорбційну здатність: сорбційна активність складає до 380 од., сорбційна поверхня – до 260 м²/г, катіонообмінна ємність – до 100 мг-екв. на 100 г речовини. За даними виробника препарат очищує кров, судини, печінку та інші органи від токсинів, консервантів, шкідливих харчових добавок, важких металів, радіонуклідів [8].

До складу Мінеролу входять практично всі необхідні для організму людини макро- та мікроелементи, найважливіші з яких: кальцій, залізо, мідь, хром, селен, калій, магній, марганець, йод, сірка, цинк, а також кремній. Мінерол нормалізує мінеральний обмін, збагачує організм природно-збалансованим набором мінеральних елементів; має високу сорбційну здатність, завдяки чому очищує організм від токсинів; швидко усуває розлади функції шлунково-кишкового тракту (харчове отруєння, печію, пронос, метеоризм); знижує рівень холестерину в крові; проявляє антиоксидантну дію; нормалізує функціональний стан печінки та жовчовивідних шляхів [8].

2.10 Статистичні методи дослідження

Статистичний аналіз результатів досліджень проводили з використанням Т-критерію Стьюдента з поправкою Бонфероні. Розраховували середнє арифметичне значення (M), похибку середнього арифметичного значення (m) і наводили у вигляді (M ± m). Результати досліджень статистично обробляли із використанням пакетів прикладних програм «MicrosoftExcel» і «Statistica 12.0». Статистично достовірними вважалися відмінності при значеннях p < 0,05 [87].

Середнє арифметичне визначали по формулі 2.15:

$$M = \frac{\sum x}{n} \quad (2.15), \text{ де}$$

M – середнє арифметичне;

x – результат виміру;

n – число визначень.

Визначення квадратичної помилки одиничного виміру (2.16):

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}} \quad (2.16), \text{ де}$$

σ – квадратична помилка;

d – відмінність одиничного виміру від контролю;

n – число визначень.

Далі визначали середню арифметичну помилку (2.17):

$$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad (2.17), \text{ де}$$

m – середня арифметична помилка;

σ – квадратична помилка;

n – число визначень.

Критерій вірогідності p визначали за таблицею Стьюдента – Фішера, попередньо визначивши показник вірогідності відмінностей (2.18):

$$t = \frac{|M_1 - M_2|}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}} \quad (2.18), \text{ де}$$

t – показник вірогідності відмінностей;

M_1 – середнє арифметичне дослідної групи;

M_2 – середнє арифметичне контрольної групи;

m_1 – середня арифметична помилка дослідної групи;

m_2 – середня арифметична помилка контрольної групи.

РОЗДІЛ 3

ОСТЕОДИСТРОФІЯ В УМОВАХ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ – ЯК НАСЛІДОК РОЗВИТКУ ДИСБІОЗУ ТА ЗАПАЛЕННЯ У КИШЕЧНИКУ ЩУРІВ

3.1 Стан слизових оболонок кишечника щурів після відтворення токсичного гідрозинного гепатиту

Метою першого етапу роботи було встановлення змін у слизовій оболонці тонкої кишки (головному відділі травного тракту, де відбувається всмоктування поживних речовин) за розвитку токсичного гепатиту, що ініційовано введенням гідрозинсульфату щурам упродовж місяця.

Насамперед, треба було показати токсичний вплив гідрозинсульфату на стан печінки, тобто довести створення моделі токсичного гепатиту у експериментальних тварин. В таблиці 3.1 представлено результати дослідження біохімічних маркерів запалення в тканині печінки щурів після введення токсичного гідрозину.

Таблиця 3.1

Активність маркерів запалення в тканині печінки щурів на тлі введення гідрозинсульфату

Групи тварин	Активність еластази, мк-кат/кг	Активність кислої фосфатази, мк-кат/кг
Інтактна	193,7 ± 3,5	1,46 ± 0,27
Токсичний гепатит	255,6 ± 12,4 p < 0,01	4,05 ± 0,24 p < 0,001

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

Із наведених даних видно, що введення щурам гідрозинсульфату два рази на тиждень упродовж місяця призвело до збільшення в гомогенатах печінки активності еластази на 31,9 % (p < 0,01), а кислої фосфатази – у 2,8 рази (p < 0,001) порівняно з рівнем показників у групі інтактних тварин.

Еластаза відноситься до протеїназ нейтрофільного походження, тому збільшення її активності свідчить про скупчення нейтрофілів у печінці, а значить і інтенсифікацію запальних процесів [167, 168, 199].

Кисла фосфатаза є представником лізосомальних гідролаз – первинних медіаторів запалення і підвищення її активності розглядається як пошкодження лізосом у результаті їх руйнування. Тобто, за результатами табл. 3.1, можна стверджувати, що гідразинсульфат чинив пошкоджуючу та запальну дію на печінку щурів, а саме призводив до виникнення токсичного гепатиту [3].

В якості «печінкових» маркерів досліджували активність аланінамінотрансферази (АлАТ), рівень якої вказує на ступінь пошкодження гепатоцитів, та лужної фосфатази (ЛФ) і вмісту білірубину, які є маркерами холестазу. Результати даного дослідження наведені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Рівень печінкових маркерів у сироватці крові щурів при експериментальній патології

Групи тварин	Активність АлАТ, мк-кат/л	Активність лужної фосфатази, мк-кат/л	Вміст білірубину, мкмоль/л
Інтактна	0,39 ± 0,05	1,60 ± 0,11	2,38 ± 0,24
Токсичний гепатит	0,72 ± 0,04 p < 0,01	6,56 ± 0,40 p < 0,001	3,33 ± 0,15 p < 0,05

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

Дослідження сироватки крові показало достовірне підвищення у порівнянні з контрольними значеннями рівня всіх досліджуваних нами «печінкових» маркерів. Так, активність АлАТ збільшилась на 85,0 % (p < 0,01), вміст білірубину – на 40,0 % (p < 0,05), а активність ЛФ зросла в 4 рази (p < 0,001). Отримані результати свідчать про пошкодження клітин печінки та порушення виділення жовчі у щурів, яким вводили сірчаноокислий гідразин (табл. 3.2).

За результатами, що наведені у табл. 3.1 і 3.2, можна стверджувати про розвиток токсичного гепатиту у щурів після введення їм гідразинсульфату 50 мг/кг два рази на тиждень упродовж місяця.

Токсичне ураження печінки гідразинсульфатом супроводжувалось розвитком запалення та дисбіозу у слизових оболонках тонкої кишки щурів. Так, було виявлено наявність запальних процесів, що підтверджується зростанням активності еластази на 38,6 % ($p < 0,05$) та кислій фосфатази – на 36,4 % ($p < 0,05$). Крім того, токсичний гепатит сприяв і зростанню вмісту малонового діальдегіду (МДА) у слизовій оболонці тонкої кишки на 31,1 % ($p < 0,05$), що свідчить про посилення перекисного окиснення ліпідів (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Показники запалення в слизовій оболонці тонкої кишки щурів з токсичним гепатитом

Групи тварин	Активність еластази, мк-кат/кг	Активність кислій фосфатази, мк-кат/кг	Вміст МДА, ммоль/кг
Інтактна	1982,49 ± 89,29	41,62 ± 2,12	14,13 ± 0,90
Токсичний гепатит	2748,21 ± 93,72 $p < 0,05$	56,79 ± 2,80 $p < 0,05$	18,53 ± 0,85 $p < 0,05$

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

У таблиці 3.4 наведено результати біохімічного дослідження слизової оболонки тонкої кишки щурів, які характеризують антимікробний захист, ступінь мікробного обсіменіння та дисбіозу в цьому біотопі.

Встановлено, що токсичний гепатит призводив до зростання активності уреазу на 43,0 % ($p < 0,05$), що свідчить про посилене розмноження і зростання чисельності умовно-патогенної і патогенної мікробіоти у тонкій кишці. Вірогідно, що цьому сприяло зменшення рівня неспецифічного антимікробного захисту, фактором якого є фермент лізоцим, який руйнує оболонки бактерій. Активність даного ферменту була знижена на 27,6 %

($p < 0,05$), а отже і був послаблений рівень антимікробного захисту у слизовій оболонці тонкої кишки щурів на тлі моделювання токсичного гепатиту (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Активність уреазы, лізоциму та ступінь дисбіозу у слизовій оболонці тонкої кишки щурів з токсичним гепатитом

Групи тварин	Активність уреазы, мк-кат/кг	Активність лізоциму, од/кг	Ступінь дисбіозу, у. о.
Інтактна	$1,54 \pm 0,14$	76 ± 9	$1,00 \pm 0,13$
Токсичний гепатит	$2,20 \pm 0,35$ $p < 0,05$	55 ± 6 $p < 0,05$	$1,99 \pm 0,20$ $p < 0,05$

Примітки: р – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

За відносною активністю ферментів уреазы та лізоциму був розрахований ступінь дисбіозу, який у тонкій кишці тварин з токсичним гепатитом був підвищений удвічі ($p < 0,05$).

Отже, інтоксикація гідразинсульфатом упродовж місяця призвела до розвитку патологічних змін у печінці щурів, а саме до виникнення запалення та пошкодження клітин печінки, що свідчить про токсичне ураження цього органу та розвиток токсичного гепатиту. На тлі розвитку токсичного гепатиту у слизовій оболонці тонкої кишки було зареєстровано ознаки запалення, зниження антимікробного захисту, посилене розмноження патогенної мікробіоти та розвиток дисбіозу. Встановлені порушення в печінці та тонкій кишці щурів є негативним наслідком впливу гідразинсульфату і вказують на порушення функціональної діяльності печінки, а саме – зниження її антимікробної функції, внаслідок чого спостерігали розвиток дисбіозу у слизовій оболонці тонкої кишки. Отримані нами результати підтверджують клінічні спостереження про порушення мікробіому кишечника у хворих на гепатобіліарну патологію [65, 94, 112].

Неминучим наслідком запалення та дисбіозу у тонкій кишці незалежно від причини є погіршення останнього етапу гідролізу поживних речовин та їх всмоктування у кров та лімфу. В свою чергу дефіцит необхідних компонентів може викликати дистрофічні зміни у тканинах та органах, зокрема у кістках тварин при патології печінки та жовчовивідних шляхів.

3.2 Абсорбція кальцію, проникність стінок кишечника, ремоделювання кісткової тканини та стан слизових оболонок травного тракту щурів з хронічним гепатитом

Наступним кроком роботи стали детальніші дослідження у травному тракті та кістковій тканині щурів з хронічним токсичним гепатитом, а саме: всмоктування кальцію та амінокислот у тонкій кишці, ступінь засвоєння кальцію, як головного компоненту кісткової тканини, проникності стінки тонкої кишки, маркерів запалення та дисбіозу у всіх відділах травного тракту, а також стан кісткової тканини.

Дослідження проведені на самцях і самках щурів, яким моделювали токсичний гепатит шляхом введення сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців. Тривалість моделювання гепатиту було продовжено до 3 місяців у зв'язку з тим, що повний цикл ремоделювання кісткової тканини у щурів у середньому складає 30-35 днів, в залежності від віку та якості кісткової тканини [116].

Тому, для виявлення змін у кістковій тканині щурів необхідно продовжити тривалість дії негативних факторів до 3-4 циклів ремоделювання, тобто 3-4 місяців.

3.2.1 Особливості всмоктування та засвоєння кальцію і амінокислот у щурів з хронічним токсичним гепатитом

Результати дослідження ступеня всмоктування кальцію та амінокислот у тонкій кишці щурів з хронічним гепатитом наведені у табл. 3.5. При однаковій кількості введеного кальцію у ізольовану ділянку тонкої кишки,

залишок розчину кальцію у інтактних тварин був у 2 рази меншим, ніж у щурів з гепатитом. Розрахунок кількості кальцію, який всмоктався, говорить про те, що хронічний токсичний гепатит сприяв зниженню всмоктування кальцію у тонкій кишці щурів на 34,5 % ($p < 0,001$). Поряд з цим, як вказано у табл. 3.5, введення щурам сірчаноокислого гідразину двічі на тиждень протягом трьох місяців не виявило суттєвого впливу на всмоктування амінокислот – гальмування абсорбції амінокислот складало всього 5,5 % ($p > 0,5$, табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Всмоктування кальція і амінокислот в тонкій кишці щурів на тлі тривалого введення гідразинсульфату

Групи	Кількість введеної речовини	Залишкова кількість речовини	Кількість речовини, що всмокталась
Кальцій, ммоль/л			
Інтактна	15,13 ± 0,53	3,64 ± 0,19	11,50 ± 0,24
Гідразинсульфат	15,13 ± 0,41 $p > 0,9$	7,60 ± 0,23 $p < 0,001$	7,53 ± 0,17 $p < 0,001$
Амінокислоти (фенілаланін, тирозин, триптофан), мг/мл			
Інтактна	2,83 ± 0,17	0,73 ± 0,06	2,10 ± 0,15
Гідразинсульфат	2,83 ± 0,17 $p > 0,9$	0,84 ± 0,09 $p > 0,5$	1,99 ± 0,12 $p > 0,5$

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

Зниження всмоктування кальцію в слизовій оболонці тонкої кишки у щурів з хронічним токсичним гепатитом призводило до зменшення його вмісту у крові з $2,24 \pm 0,10$ до $1,91 \pm 0,05$ ммоль/л, що склало 14,7 % ($p < 0,001$) і є дуже значним відхиленням, оскільки рівень кальцію у крові – постійний гормонозалежний параметр.

Дослідження засвоєння кальцію у тварин з хронічним гепатитом було проведено за допомогою розміщення щурів у спеціальних метаболічних камерах для добового збирання сечі, калу та залишків корму, в яких

визначали середній вміст кальцію (за три доби на одну тварину). Результати цього дослідження наведені у таблиці 3.6.

Результати нашого дослідження показали, що щури інтактної групи з кормом отримували кальцію на 16,5 % (хоча $p > 0,5$) більше, ніж група тварин з гепатитом. Вірогідно ця тенденція пов'язана з вживанням меншої кількості їжі щурами з гепатитом внаслідок загальної інтоксикації, яка є наслідком функціональних порушень печінки при гепатиті.

Хронічний гепатит сприяв зниженню екскреції кальцію з сечею у щурів у 1,8 раза ($p < 0,001$), навпроти, збільшенню виведення кальцію з калом у 1,5 рази ($p < 0,01$). У результаті загальна кількість виведеного кальцію з сечею та калом у групі щурів з токсичним гепатитом суттєво не змінювалась ($p > 0,5$). Але, узагальнюючи отримані дані, можемо стверджувати, що підсумкове засвоєння кальцію (різниця між введеною та виведеною кількістю) у щурів з хронічним гепатитом знижувалось на 24,2 % ($p < 0,001$; табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Засвоєння кальцію у щурів з хронічним токсичним гепатитом, мг

Показники	Інтактна група	Гепатит
Надходження з кормом, мг	12,92 ± 0,62	10,79 ± 0,40 $p > 0,5$
Виведення з сечею, мг	1,62 ± 0,06	0,90 ± 0,005 $p < 0,001$
Виведення з калом, мг	1,89 ± 0,17	2,76 ± 0,17 $p < 0,01$
Сумарне виведення, мг	3,51 ± 0,20	3,65 ± 0,22 $p > 0,5$
Абсорбція, мг	9,41 ± 0,09	7,13 ± 0,14 $p < 0,001$

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

Таким чином, тривале введення щурам гідразинсульфату призводило до зниження всмоктування та засвоєння кальцію у слизовій оболонці тонкої кишки, що частково компенсувалося гальмуванням екскреції нирками цього елемента. Кальцій, який не всмоктався у кров у тонкому відділі кишечника

хворих тварин, виводився з калом. Хронічний гепатит не впливав на всмоктування амінокислот у слизовій оболонці тонкої кишки. Проведене дослідження встановило недостатність засвоєння кальцію у травному тракті щурів з хронічним гепатитом.

3.2.2 Стан печінки та склад крові щурів з хронічним гепатитом

Токсичне ураження печінки гідразинсульфатом мало підтвердження і при візуальному спостереженні (рис. 3.1). Макроскопічно печінка щурів з хронічним гепатитом була збільшена в об'ємі та досить різко відрізнялася за кольором від печінки здорових щурів.



А

Б

Рис. 3.1 Печінка здорових щурів (Б) та щурів з гепатитом (А)

Перед виведенням з експерименту, у щурів збирали кров з хвостової вени для визначення загальних показників крові. Результати аналізу наведені табл. 3.7 (самці) і 3.8 (самки). Виявлено, що у здорових самців щурів кількість еритроцитів в середньому складала $6,58 \pm 0,23 \times 10^{12}/\text{л}$; рівень гемоглобіну – $90,8 \pm 3,6$ г/л; кількість лейкоцитів – $71,8 \pm 3,1 \times 10^9/\text{л}$; кількість тромбоцитів – $123,52 \pm 9,84 \times 10^9/\text{л}$.

У самців, яким модельовали хронічний гепатит, кількість еритроцитів в середньому складала $5,06 \pm 0,20 \times 10^{12}/\text{л}$ (відносно показника інтактної групи відбувалось зменшення приблизно на 23,1 %); рівень гемоглобіну – $80,75 \pm 1,49$ г/л (зменшення майже на 11,0 %); кількість лейкоцитів – $84 \pm 3,54 \times 10^9/\text{л}$ (збільшення відносно показника інтактної групи на 17,0 %); кількість

тромбоцитів – $108,9 \pm 25,4 \times 10^9/\text{л}$ (менше ніж в інтактній групі майже на 11,8 %) (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Склад периферичної крові самців щурів з хронічним гепатитом

Самці	Еритроцити ($\times 10^{12}/\text{л}$)	Гемоглобін (г/л)	Лейкоцити ($\times 10^9/\text{л}$)	Тромбоцити ($\times 10^9/\text{л}$)
Інтактна група	$6,58 \pm 0,23$	$90,8 \pm 3,6$	$71,8 \pm 3,1$	$123,52 \pm 9,84$
Гепатит	$5,06 \pm 0,20$	$80,75 \pm 1,49$ $p < 0,05$	$84 \pm 3,54$	$108,9 \pm 25,4$

Примітка: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

У самок щурів інтактної групи кількість еритроцитів в середньому складала $6,76 \pm 0,26 \times 10^{12}/\text{л}$; рівень гемоглобіну – $78,5 \pm 2,6$ г/л; кількість лейкоцитів – $66,6 \pm 2,3 \times 10^9/\text{л}$; тромбоцитів – $169,1 \pm 24,1 \times 10^9/\text{л}$. У самок щурів, яким моделювали гепатит, кількість еритроцитів складала $5,77 \pm 0,18 \times 10^{12}/\text{л}$ (на 14,6 % менше ніж показник в інтактній групі); рівень гемоглобіну – $66,57 \pm 4,11$ г/л (на 15,2 % менше ніж в інтактній групі); кількість лейкоцитів – $81,6 \pm 3,2 \times 10^9/\text{л}$ (на 22,5 % більше ніж у інтактній групі); тромбоцитів – $127,2 \pm 30,4 \times 10^9/\text{л}$ (на 24,8 % менше ніж у інтактній групі) (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Склад периферичної крові самок щурів з хронічним гепатитом

Самки	Еритроцити ($\times 10^{12}/\text{л}$)	Гемоглобін (г/л)	Лейкоцити ($\times 10^9/\text{л}$)	Тромбоцити ($\times 10^9/\text{л}$)
Інтактна група	$6,76 \pm 0,26$	$78,5 \pm 2,6$	$66,6 \pm 2,3$	$169,1 \pm 24,1$
Гепатит	$5,77 \pm 0,18$	$66,57 \pm 4,11$ $p < 0,05$	$81,6 \pm 3,2$ $p < 0,05$	$127,2 \pm 30,4$

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

Таким чином, встановлено, що тривале введення гідразинсульфату виявило негативний вплив на показники клітинного складу периферичної крові як у групі самок, так і у групі самців. Так, знижувалась кількість еритроцитів, тромбоцитів та рівня гемоглобіну, що може свідчити про порушення кровотворної та згортаючої функції печінки. Також у крові тварин, яким вводили розчин сірчаноокислого гідразину, відбувалось підвищення кількості лейкоцитів відносно показника інтактної групи, що вказує на ознаки запального процесу. Причиною таких змін у периферичній крові слід вважати хронічне отруєння гідразинсульфатом з подальшим розвитком токсичного гепатиту.

У зразках сироватки крові щурів досліджували «печінкові» маркери: рівень активності аланінамінотрансферази (АлАТ), лужної фосфатази (ЛФ) та вміст білірубіну, маркер запалення – активність еластази, а також вміст кальцію. Результати цього аналізу наведені у таблиці 3.9.

Згідно даних таблиці 3.9, суттєвих відмінностей між показниками у групах самців і самок не було виявлено, тому достовірності різниць рахували між групами незалежно від статі.

Активність ферменту АлАТ у сироватці крові щурів самців з токсичним гепатитом достовірно зростала на 31,1 % ($p_1 < 0,05$) та становила $0,59 \pm 0,04$ мк-кат/л проти $0,45 \pm 0,02$ мк-кат/л у інтактній групі щурів. У сироватці самок, яким тривало вводили гідразин, ріст активності АлАТ складав 22,4 % ($p_2 < 0,05$).

У щурів з токсичним гепатитом зростання активності другого «печінкового» маркеру – активності лужної фосфатази (ЛФ) було більш вираженим: на 66,7 % у сироватці крові самців ($p_1 < 0,001$) та на 93,7 % у сироватці крові самок ($p_2 < 0,001$).

У ході досліджень також було виявлено тенденцію до збільшення вмісту білірубіну у сироватці крові щурів, яким моделювали гепатит. Так, у щурів самців вміст білірубіну зростав на 18,3 % ($p_1 > 0,05$), а у крові самок щурів був підвищений на 14,7 % ($p_2 > 0,05$). Довготривале введення

гідразинсульфату щурам сприяло збільшенню активності нейтрофільної еластази у сироватці крові на 37,5 % ($p_1 < 0,01$) у самців, та на 53,8 % ($p_2 < 0,01$) у самок (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Активність аланінамінотрансферази, лужної фосфатази, еластази, вміст білірубину та кальцію в сироватці крові щурів з хронічним токсичним гепатитом

Групи	Активність АлАТ, (мк-кат/л)	Активність ЛФ, (мк-кат/кг)	Активність еластази, (мкат/л)	Вміст білірубину, (мкмоль/л)	Вміст кальцію, (ммоль/л)
	Самці				
Інтактна	0,45 ± 0,02	1,41 ± 0,04	0,16 ± 0,007	4,82 ± 0,35	2,18 ± 0,12
Гепатит	0,59 ± 0,04 $p_1 < 0,05$	2,35 ± 0,07 $p_1 < 0,001$	0,22 ± 0,01 $p_1 < 0,01$	5,70 ± 0,41 $p_1 > 0,05$	1,84 ± 0,04 $p_1 < 0,05$
Самки					
Інтактна	0,49 ± 0,04	1,27 ± 0,15	0,13 ± 0,01	4,98 ± 0,25	2,29 ± 0,09
Гепатит	0,60 ± 0,02 $p_2 < 0,05$	2,46 ± 0,19 $p_2 < 0,001$	0,20 ± 0,005 $p_2 < 0,01$	5,70 ± 0,65 $p_2 > 0,05$	1,99 ± 0,06 $p_2 < 0,02$

Примітки: p_1 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самцями; p_2 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самками

На тлі хронічного гідразинового гепатиту було встановлено достовірне зменшення вмісту кальцію: у сироватці крові самців вміст кальцію знижувався на 15,6 % ($p_1 < 0,05$), та на 13,1 % у самок ($p_2 < 0,02$) (табл. 3.9).

Таким чином, проведені біохімічні дослідження сироватки крові щурів підтвердили пошкоджуючу та прозапальну дію на печінку щурів тривалого введення гідразинсульфату. Отримані дані є переконливим доказом моделювання токсичного гепатиту у тварин. Істотної різниці за ступенем порушення досліджених показників сироватки крові між самцями і самками не встановлено.

Дослідження стану печінки щурів з хронічним токсичним гепатитом показало наявність запальних процесів у тканині цього органу (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Показники активності еластази, кислій фосфатази та вмісту малонового діальдегіду в гомогенатах печінки щурів, яким моделювали токсичний гепатит

Показники	Інтактна	Гепатит
Активність еластази, мкат/кг	0,33 ± 0,02	0,40 ± 0,006 p < 0,05
Вміст МДА, ммоль/кг	50,6 ± 3,8	86,9 ± 4,3 p < 0,01
Активність КФ, мк-кат/кг	94,1 ± 4,3	121,4 ± 5,5 p < 0,02
Активність еластази, мкат/кг	0,30 ± 0,02	0,35 ± 0,03 p > 0,05
Вміст МДА, ммоль/кг	70,03 ± 7,08	90,77 ± 2,86 p < 0,05
Активність КФ, мк-кат/кг	112,6 ± 4,8	107,4 ± 7,2 p > 0,5

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

У ході дослідження було встановлено, що рівень активності ферменту еластази в гомогенатах печінки щурів-самців з токсичним гепатитом достовірно підвищувався на 21,2 % (p < 0,05) у порівнянні з показником в інтактній групі. У печінці самок з токсичним гепатитом відмічалась лише тенденція до підвищення активності еластази – на 16,7 % (p > 0,05, табл. 3.10).

Вміст МДА у гомогенатах печінки щурів-самців, яким тривало вводили гідразин був збільшений на 71,7 % (він становив 86,9 ± 4,3 ммоль/кг, на противагу значень у інтактній групі – 50,6 ± 3,8 ммоль/кг (p < 0,01)). У гомогенатах печінки самок вміст МДА зростав менш значно – лише на 29,6 % (p < 0,05), порівняно з показником у інтактній групі (табл. 3.10).

Наше дослідження також встановило достовірне підвищення ще одного маркера запалення – активності кислій фосфатази (КФ). У тканині печінки щурів-самців, яким тривало вводили гідразинсульфат, активність даного

ферменту зросла на 29,01 % ($p < 0,02$). Натомість, у печінці самок за розвитку токсичного гепатиту не було встановлено суттєвих змін активності КФ ($p > 0,5$; табл. 3.10).

Окрім маркерів запалення у гомогенатах печінки щурів було досліджено активність уреазы, яка показує ступінь інтоксикації, та активність ферменту лізоциму, який відображає рівень неспецифічного антимікробного захисту. Результати аналізу цих ферментів наведені у таблиці 3.11.

Таблиця 3.11

Активність уреазы та лізоциму в гомогенатах печінки щурів з токсичним гепатитом

Показник	Інтактна	Гепатит
Активність лізоциму, од/кг	150 ± 9	130 ± 3 $p > 0,2$
Активність уреазы, мк-кат/кг	0,295 ± 0,009	0,437 ± 0,01 $p < 0,01$
Активність лізоциму, од/кг	143 ± 9	116 ± 2 $p < 0,05$
Активність уреазы, мк-кат/кг	0,172 ± 0,021	0,241 ± 0,018 $p < 0,1$

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

Після тривалого введення гідразинсульфату у щурів-самців було встановлено деяке зниження активності лізоциму на 13,3 % ($p > 0,2$), в порівнянні з показником у інтактній групі, що не є достовірно значущим. У печінці хворих самок активність лізоциму була меншою на 18,9 % ($p < 0,05$). Активність уреазы в гомогенатах печінки групи тварин, які тривалий час отримували ін'єкції гідразину, збільшилась на 48,13 % у самців і на 40,12 % у самок щодо значень інтактної групи тварин ($p < 0,01$ і $p < 0,01$, відповідно, табл. 3.11).

Таким чином, результати складу периферичної крові, біохімічний аналіз сироватки крові та тканини печінки щурів, яким вводили розчин сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців, вказують на наявність ураження печінки у тварин, що можна трактувати як токсичний гепатит. Токсичне пошкодження гідразинсульфатом призводило до розвитку запалення в тканині печінки, до зниження її здатності виконувати антимікробну функцію та знешкоджувати умовно-патогенні бактерії та їх токсини. Істотної різниці за ступенем порушення досліджених параметрів сироватки крові між самцями і самками не встановлено, тоді як в печінці ступінь прояву запальних, переокисних процесів та інтоксикації при гепатиті був нижчим у самок, що передбачає наявність захисного впливу естрогенів по відношенню до гепатошкідливої дії гідразинсульфату.

3.2.3 Стан слизових оболонок травного тракту щурів на тлі розвитку хронічного токсичного гепатиту

Стан шлунково-кишкового тракту у щурів з хронічним токсичним гепатитом досліджували за зміною біохімічних показників у слизовій оболонці ясен, слизовій оболонці тонкої та товстої кишок.

У гомогенатах слизової оболонки ясен експериментальних тварин досліджували маркери запалення: активність еластази і кислої фосфатази (КФ) та вміст малонового діальдегіду (МДА) (табл. 3.12).

Моделювання хронічного токсичного гепатиту у гомогенатах слизової оболонки ясен призвело до достовірного зростання активності еластази у самок на 21,9 % ($p_2 < 0,05$), а у самців – на 25,8 % ($p_1 < 0,001$). Це свідчить про наявність деструктивних процесів та розвиток запалення у тканинах ясен тварин, яким вводили розчин сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців. Зростання активності кислої фосфатази було більш вираженим: у яснах самців з гепатитом цей показник

збільшувався на 45,7 % ($p_1 < 0,01$), а у яснах самок – на 47,0 % ($p_2 < 0,01$; табл. 3.12).

Розвиток експериментального хронічного гепатиту у щурів призвело до зростання рівня МДА у яснах самців на 45,3 % ($p_1 < 0,05$) та самок – на 48,0 % ($p_2 < 0,02$), що свідчить про інтенсифікацію процесів перекисного окиснення ліпідів у порожнині рота тварин на тлі тривалого введення гідразин сульфату (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Активність еластази, кислій фосфатази та вміст малонового діальдегіду у яснах щурів з токсичним гепатитом

Групи	Активність еластази, МК-кат/кг	Активність КФ, МК-кат/кг	Рівень МДА, ммоль/кг
	Самці		
Інтактна	92,13 ± 2,13	20,90 ± 2,05	24,87 ± 1,97
Гепатит	115,87 ± 2,55 $p_1 < 0,001$	30,45 ± 1,04 $p_1 < 0,01$	36,15 ± 3,50 $p_1 < 0,05$
Самки			
Інтактна	78,80 ± 7,70	24,62 ± 1,11	25,64 ± 1,67
Гепатит	96,13 ± 2,88 $p_2 < 0,05$	36,19 ± 2,17 $p_2 < 0,01$	37,95 ± 3,18 $p_2 < 0,02$

Примітки: p_1 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самцями; p_2 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самицями

Результати оцінки ступеня мікробного обсіменіння за біохімічним маркером (активністю уреазу) та рівня неспецифічного мікробного захисту (активність лізоциму) у яснах щурів з хронічним токсичним гепатитом представлені у таблиці 3.13.

В умовах відтворення експериментального гепатиту у яснах самців спостерігали достовірне підвищення активності уреазу на 30,2 % ($p_1 < 0,01$), а у яснах самок – на 20,0 % ($p_2 < 0,05$). Одночасно була значно знижена активність лізоциму: у самців на 90,4 % ($p_1 < 0,001$), у самок на 67,0 % ($p_2 < 0,001$). На тлі суттєвих змін активностей уреазу та лізоциму ступінь

дисбіозу у яснах самців за розвитку гепатиту підвищувався у 10,5 раза ($p_1 < 0,001$), а у яснах самок – тільки у 3,6 раза ($p_2 < 0,001$; табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Активність уреазы та лізоциму у яснах щурів з хронічним токсичним гепатитом

Групи	Активність лізоциму, од/кг	Активність уреазы, мк-кат/кг	Ступінь Дисбіозу
	Самці		
Інтактна	147 ± 19	0,96 ± 0,07	1,01 ± 0,01
Гепатит	14 ± 1,1 $p_1 < 0,001$	1,25 ± 0,05 $p_1 < 0,01$	10,47 ± 1,21 $p_1 < 0,001$
Самки			
Інтактна	79 ± 8	1,00 ± 0,05	1,01 ± 0,01
Гепатит	26 ± 1,37 $p_2 < 0,001$	1,20 ± 0,06 $p_2 < 0,05$	3,64 ± 0,25 $p_2 < 0,001$

Примітки: p_1 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самцями; p_2 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самками

Результати біохімічного дослідження гомогенатів ясен щурів, яким вводили розчин сірчанокиислового гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців, вказують на розвиток запалення, пошкодження клітин, інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів, зниження неспецифічного антимікробного захисту, підвищення контамінації умовно-патогенними бактеріями та розвиток дисбіозу у порожнині рота тварин з хронічним токсичним гепатитом.

Необхідно звернути увагу на те, що зміни показників запалення (активність еластази, кислої фосфатази) та активації перекисного окиснення ліпідів (вміст МДА) при гепатиті у порожнині рота самців та самок були приблизно однаковими. Тоді як показники активності лізоциму (антимікробного захисту), уреазы (маркеру мікробної контамінації) та ступеню дисбіозу зазнали більш істотної зміни у порожнині рота самців з хронічним токсичним гепатитом (збільшення на 10,2 % активності уреазы, у

3,6 раза ступеня дисбіозу та зниження на 23,4 % активності лізоциму) порівняно з самками.

У наступному відділі травного тракту експериментальних тварин – слизовій оболонці тонкої кишки, проводили визначення тих же показників. Але насамперед досліджували ступінь проникності стінки тонкої кишки щурів з хронічним гепатитом на ізольованій ділянці. Результати цього аналізу представлено на рисунку 3.2.

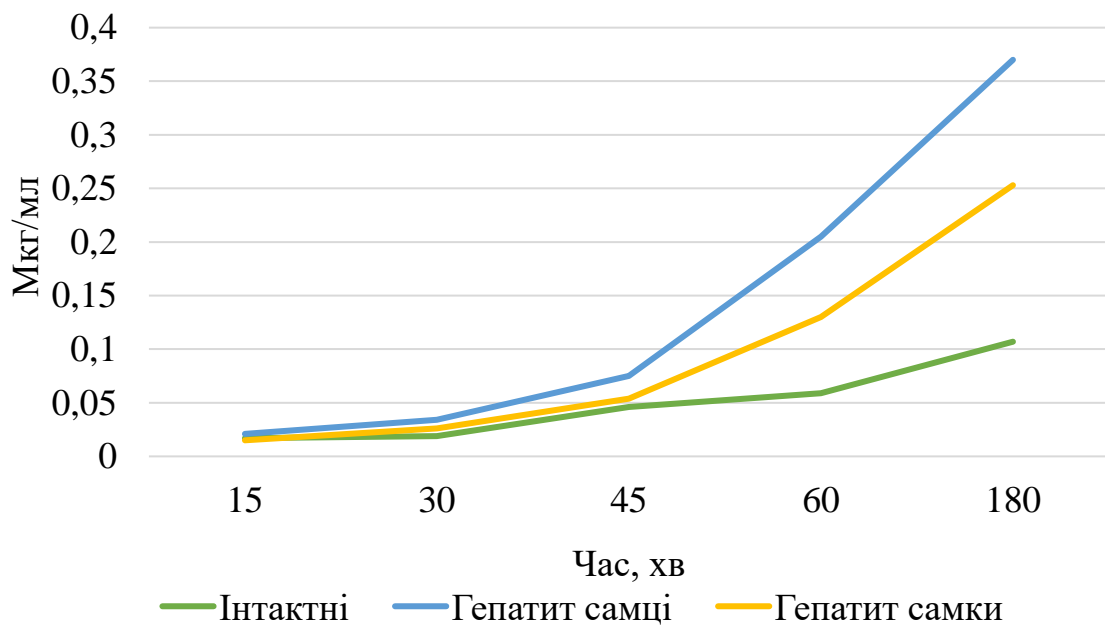


Рис. 3.2 Проникність ізольованої ділянки тонкої кишки у щурів з хронічним токсичним гепатитом, мкг/мл фарби Еванса

Як показано на рис. 3.2, через 15 хвилин після введення фарби Еванса в ізольовану ділянку тонкої кишки, не виявлено суттєвих відмінностей між кількістю фарби, що вийшла з кишки здорових щурів та щурів з гепатитом. Вимірювання, які провели через 30 хвилин, показали збільшення кількості фарби, що вийшла із ізольованої ділянки кишки самців на 78,9 %, а самок – на 36,8 % в порівнянні з показником в інтактній групі тварин. Отримані дані вказують на збільшення проникності тонкої кишки щурів на тлі хронічного

гепатиту, яке краще виражене у самців вже через 30 хв після введення фарби (рис. 3.2).

На наступному етапі виміру, через 45 хвилин, спостерігали таку ж тенденцію: з ізольованої ділянки тонкої кишки самців з гепатитом надійшло фарби Еванса на 63,0 % більше, ніж із кишки щурів інтактної групи, а у самок, з гепатитом, це підвищення було недостовірним і становило 17,4 %.

Через 60 хвилин кількість фарби Еванса, що вийшла з ізольованої ділянки тонкої кишки самців з гепатитом, була більшою у 3,5 раза (або на 247,5 %) ніж у інтактних щурів. З ізольованої ділянки тонкої кишки самок з гепатитом фарби надійшло у 2,2 раза (або на 120,3 %) більше, ніж з тонкої кишки інтактних тварин. На останньому етапі аналізу, через 180 хвилин, зберігалася така ж тенденція: кількість фарби Еванса, що вийшла з ізольованої ділянки тонкої кишки самців з гепатитом, була підвищена у 3,5 раза, а з ділянки кишки самок з гепатитом фарби вийшло у 2,4 раза більше, ніж з ділянки кишки щурів інтактної групи.

За результатами рис. 3.2 можна визначити про збільшення у 2,2-3,5 раза проникності стінки тонкої кишки тварин, яким двічі на тиждень протягом трьох місяців вводили сульфат гідразину. Більш суттєве підвищення проникності тонкої кишки встановлено у самців щурів з токсичним хронічним гепатитом.

У таблиці 3.14 наведено результати біохімічних досліджень показників запалення у слизовій оболонці тонкої кишки щурів, яким вводили розчин сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців.

Проведений аналіз встановив, що моделювання хронічного гідразинового гепатиту у слизовій оболонці тонкої кишки щурів призвело до збільшення активності еластази у групі самок на 27,6 % ($p_2 < 0,02$) і у групі самців на 39,0 % ($p_1 < 0,02$).

Щодо активності кислої фосфатази, то достовірне підвищення активності цього ферменту у слизовій оболонці тонкої кишки самців з

гепатитом склало 29,0 % ($p_1 < 0,1$), тоді як у групі хворих самок активність цього маркера запалення не змінилася ($p_2 > 0,5$). Моделювання хронічного гепатиту у тварин викликало у слизовій оболонці тонкої кишки вірогідне збільшення рівня малонового діальдегіду на 41,8 % у групі самців ($p_1 < 0,02$) і на 27,8 % – у самок ($p_2 < 0,05$; табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Активність еластази, кислій фосфатази та вміст малонового діальдегіду у слизовій оболонці тонкої кишки щурів з хронічним гепатитом

Групи	Активність еластази, мк-кат/кг	Активність КФ, мк-кат/кг	Рівень МДА, ммоль/кг
	Самці		
Інтактна	1,00 ± 0,04	18,56 ± 2,16	3,18 ± 0,34
Гепатит	1,39 ± 0,08 $p_1 < 0,02$	23,94 ± 2,41 $p_1 < 0,1$	4,51 ± 0,39 $p_1 < 0,02$
	Самки		
Інтактна	0,94 ± 0,15	25,29 ± 2,01	4,21 ± 0,30
Гепатит	1,20 ± 0,07 $p_2 < 0,02$	25,72 ± 3,61 $p_2 > 0,5$	5,38 ± 0,27 $p_2 < 0,05$

Примітки: p_1 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самцями; p_2 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самками

Результати дослідження показників біохімічного маркера мікробного обсіменіння (активність уреаз) та неспецифічного мікробного захисту (активність лізоциму), ступеню дисбіозу у слизовій оболонці тонкої кишки щурів, яким вводили розчин сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців, представлені у таблиці 3.15. Видно, що активність уреаз у слизовій оболонці тонкої кишки самців з хронічним гепатитом зростала на 25,1 % ($p_1 < 0,05$); у хворих самок дещо менше – на 12,4 % (при $p_2 > 0,5$).

Токсичне хронічне ураження печінки гідразинсульфатом призвело до значного зниження антимікробного захисту слизової оболонки тонкої кишки,

що підтверджується зменшенням активності лізоциму у самців на 37,4 % ($p_1 < 0,001$), а у самок – на 26,1 % ($p_2 < 0,02$).

Таблиця 3.15

Активність уреазы та лізоциму у слизовій оболонці тонкої кишки щурів з хронічним гепатитом

Групи	Активність лізоциму, од/кг	Активність уреазы, мк-кат/кг	Ступінь дисбіозу
	Самці		
Інтактна	139 ± 5	6,53 ± 0,80	1,01 ± 0,01
Гепатит	87 ± 6 $p_1 < 0,001$	8,17 ± 0,23 $p_1 < 0,05$	1,99 ± 0,09 $p_1 < 0,001$
	Самки		
Інтактна	138 ± 11	6,28 ± 0,77	1,01 ± 0,01
Гепатит	102 ± 7 $p_2 < 0,02$	7,06 ± 0,34 $p_2 > 0,5$	1,52 ± 0,34 $p_2 < 0,01$

Примітки: p_1 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самцями; p_2 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самками

Ступінь дисбіозу у слизовій оболонці тонкої кишки щурів після тривалого введення гідразинсульфату у самців зростала вдвічі ($p_1 < 0,001$), а у самок – у 1,4 раза ($p_2 < 0,01$).

Отримані результати біохімічного аналізу гомогенатів тонкої кишки щурів, які впродовж трьох місяців отримували ін'єкції розчину сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень, показали наявність запального процесу та посилення перекисного окислення ліпідів у тонкій кишці тварин, яке було більш виражене у групі самців (активність еластази, КФ і МДА порівняно з контролем зростали на 39,0 %, 29,0 % і 41,8 %, відповідно, тоді як у групі самок активність еластази зростала на 27,6 %, вміст МДА на 27,8 %, а активність КФ не змінювалась ($p_2 > 0,5$)). Результати дослідження показників біохімічного маркеру мікробного обсіменіння (активність уреазы) та неспецифічного мікробного захисту (активність лізоциму), ступеню дисбіозу у слизовій оболонці тонкої кишки щурів з

хронічним гепатитом, вказують на зниження неспецифічного антимікробного захисту, зростання контамінації умовно-патогенними бактеріями та розвиток дисбіозу у досліджуваному відділі кишечника тварин, яке спостерігалось більше у групі самців з гепатитом (ступінь дисбіозу у хворих самців зростав у 2 рази, тоді як у хворих самок у 1,4 рази).

Результати біохімічного дослідження показників запалення у слизовій оболонці товстої кишки щурів на тлі розвитку хронічного гідрозного гепатиту представлені у таблиці 3.16.

Введення щурам сірчаноокислого гідразину двічі на тиждень протягом трьох місяців призвело до збільшення у слизовій оболонці товстої кишки активності еластази: у самок – на 22,5 % ($p_2 < 0,1$), у самців – на 24,9 % ($p_1 < 0,05$), відповідно до значень у інтактній групі (табл. 3.16).

Таблиця 3.16

Активність еластази, кислої фосфатази та вміст малонового діальдегіду у слизовій оболонці товстої кишки щурів з хронічним гепатитом

Групи	Активність еластази, мк-кат/кг	Активність КФ, мк-кат/кг	Рівень МДА, ммоль/кг
	Самці		
Інтактна	57,87 ± 6,77	8,97 ± 1,44	7,08 ± 0,70
Гепатит	72,27 ± 5,37 $p_1 < 0,05$	17,75 ± 2,05 $p_1 < 0,01$	11,39 ± 1,06 $p_1 < 0,02$
Самки			
Інтактна	65,07 ± 6,29	12,19 ± 1,50	11,28 ± 0,49
Гепатит	79,73 ± 2,47 $p_2 < 0,1$	18,87 ± 1,31 $p_2 < 0,02$	13,85 ± 0,92 $p_2 < 0,05$

Примітки: p_1 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самцями; p_2 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самками

Досліджуючи активність кислої фосфатази, другого маркера запалення, у слизовій оболонці товстої кишки також було встановлено достовірне

підвищення її активності: у самок – на 54,8 % ($p_2 < 0,02$), у самців – на 97,9 % ($p_1 < 0,01$).

Щодо рівня малонового діальдегіду, то встановили, що зростання його рівня у гомогенатах слизової оболонки товстої кишки було вищим у самців – на 60,9 % ($p_1 < 0,02$), а у самок лише на 22,8 % ($p_2 < 0,05$).

Результати дослідження біохімічного маркера мікробного обміненія (активність уреаз) та неспецифічного мікробного захисту (активність лізоциму), ступеню дисбіозу у слизовій оболонці товстої кишки щурів, яким вводили сірчаноокислий гідразин двічі на тиждень протягом трьох місяців, представлені у таблиці 3.17.

Таблиця 3.17

Активність уреаз і лізоциму та ступінь дисбіозу у слизовій оболонці товстої кишки щурів з хронічним токсичним гепатитом

Групи	Активність лізоциму, од/кг	Активність уреаз, мк-кат/кг	Ступінь дисбіозу
	Самці		
Інтактна	35 ± 2	1,36 ± 0,30	1,01 ± 0,01
Гепатит	19 ± 2 $p_1 < 0,001$	3,80 ± 0,45 $p_1 < 0,002$	5,17 ± 0,34 $p_1 < 0,001$
Самки			
Інтактна	41 ± 2	1,45 ± 0,21	1,01 ± 0,01
Гепатит	28 ± 3 $p_2 < 0,005$	3,95 ± 0,42 $p_2 < 0,002$	4,01 ± 0,39 $p_2 < 0,001$

Примітки: p_1 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самцями; p_2 – рівень значущості достовірності різниць у порівнянні з інтактними самками

Із наведених у таблиці 3.17 даних видно, що активність уреаз у слизовій оболонці товстої кишки щурів з токсичним гепатитом значно зростала, цей показник у самців був вищим у 2,8 раза ($p_1 < 0,002$), порівняно з рівнем її активності у інтактної групи. У слизовій оболонці товстої кишки самок активність уреаз також зростала у 2,7 раза ($p_2 < 0,002$), відносно контрольних значень (табл. 3.17).

Значне зростання активності уреаз, а значить і контамінації умовно-патогенними бактеріями, у слизовій оболонці товстої кишки є наслідком зниження антимікробного захисту у цьому відділі травного тракту. Так, спостерігали достовірне зниження активності лізоциму у обох груп щурів з гепатитом: активність антимікробного фактору була знижена у самців на 45,7 % ($p_1 < 0,001$) та у самок – на 31,7 % ($p_2 < 0,005$).

У результаті змін активності уреаз та лізоциму у слизовій оболонці товстої кишки щурів з хронічним гепатитом, ступінь дисбіозу збільшувався у самців у 5,2 раз ($p_1 < 0,001$) та у самок – у 4,0 раза ($p_2 < 0,001$, табл. 3.17).

Отже, введення шурам сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців призводило до виникнення запалення, інтенсифікації перекисного окислення ліпідів, розвитку дисбіозу у товстому відділі кишечника як у самок, так і у самців. При чому, слід зазначити, що розвиток запальних процесів за показниками активності еластази, КФ та вмісту МДА (аналогічно, як і в тонкій кишці (табл. 3.14)) більш значно був виражений у групі самців з гепатитом, а також зниження антимікробного захисту (активність лізоциму), посилення контамінації умовно-патогенними бактеріями (активність уреаз) і збільшення ступеня дисбіозу у слизовій оболонці товстого кишечника (аналогічно, як і в тонкій кишці (табл. 3.15)) були більш виражені знову ж таки у групі самців з гепатитом.

3.2.4. Морфометричні та біохімічні дослідження кісткової тканини у щурів з хронічним токсичним гепатитом

У представленому розділі наведені результати досліджень, що характеризують стан різних кісток самок та самців щурів, яким моделювали хронічний токсичний гепатит на протязі трьох місяців. По-перше, визначали стан зубо-щелепної системи експериментальних тварин. З даних представлених в таблиці 3.18 видно, що в групі самців та самок, яким моделювали токсичний гепатит за допомогою сульфату гідразину, показники

каріозного процесу не змінилися в порівнянні зі значеннями в інтактній групі ($p > 0,05$, $p > 0,02$), тобто хронічний токсичний гепатит не справив суттєвого впливу на стан зубів щурів протягом часу спостереження. (табл. 3.18).

Ступінь атрофії альвеолярного відростку нижньої щелепи самців, яким вводили розчин сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців, збільшився на 24,7 % ($p < 0,02$), що свідчить про наявність посиленних резорбційних процесів у кістковій тканині щелеп, які ініційовані розвитком токсичного гепатиту. При цьому, хронічний токсичний гепатит не вплинув на стан щелеп самок, тому що ступень атрофії їх альвеолярної кістки не змінився в порівнянні з показником в інтактній групі щурів ($p > 0,05$; табл. 3.18).

Таблиця 3.18

Каріозний процес та ступінь атрофії альвеолярного відростку нижньої щелепи самців та самок щурів з гепатитом

Групи щурів	Кількість каріозних порожнин	Глибина ураження зубів карієсом, бали	Ступінь атрофії альвеолярного відростку нижньої щелепи, %
Самці			
Інтактна	3,6 ± 0,6	4,0 ± 0,8	28,7 ± 0,9
Гепатит	4,2 ± 0,7 $p > 0,05$	4,5 ± 0,8 $p > 0,02$	35,8 ± 2,1 $p < 0,02$
Самки			
Інтактна	3,2 ± 0,4	3,9 ± 0,3	26,0 ± 0,7
Гепатит	3,8 ± 0,2 $p > 0,02$	4,4 ± 0,3 $p > 0,05$	26,5 ± 1,7 $p > 0,05$

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

На наступному етапі визначали щільність стегнових, великих гомілкових кісток, поперекових хребців, а також окремо епіфізу та діафізу стегнових кісток щурів, яким вводили розчин сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців. Результати цього дослідження представлені у табл. 3.19.

Таблиця 3.19

Щільність деяких кісток самців та самок щурів з гепатитом

Групи щурів	Інтактна група	Гепатит
Самці	стегнові кістки	
	1,458 ± 0,0146	1,467 ± 0,0131 p > 0,05
	епіфіз стегнових кісток	
	1,354 ± 0,0079	1,389 ± 0,0180 p > 0,02
	діафіз стегнової кістки	
	2,062 ± 0,0207	1,977 ± 0,0130 p < 0,01
	великі гомілкові кістки	
	1,494 ± 0,0128	1,512 ± 0,0136 p > 0,02
	поперекові хребці	
	1,435 ± 0,0235	1,426 ± 0,0062 p > 0,05
Самки	стегнові кістки	
	1,484 ± 0,0116	1,528 ± 0,0014 p < 0,01
	епіфіз стегнових кісток	
	1,388 ± 0,0203	1,443 ± 0,0073 p < 0,05
	діафіз стегнової кістки	
	2,035 ± 0,0146	2,006 ± 0,0353 p > 0,05
	великі гомілкові кістки	
	1,515 ± 0,0077	1,560 ± 0,0073 p < 0,01
	поперекові хребці	
	1,387 ± 0,0148	1,461 ± 0,0094 p < 0,01

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

Моделювання гепатиту у самців призвело до достовірного зниження щільності тільки діафізу стегнової кістки на 4,1 % (p < 0,01). Щільність інших досліджуваних кісток самців не змінилася при тривалому моделюванні токсичного гепатиту за допомогою введення гідразинсульфату (табл. 3.19).

Більш суттєві зміни щільності кісток були встановлені у самок з хронічним токсичним гепатитом. Так, моделювання патології у самок сприяло підвищенню щільності стегнової кістки на 3,0 % ($p < 0,01$), епіфізу стегнової кістки – на 4,0 % ($p < 0,05$), великої гомілкової кістки – на 3,0 % ($p < 0,01$) та поперекових хребців – на 5,3 % ($p < 0,01$). Незважаючи на низькі зміни відсоткових значень, завдяки малій похибці, усі наведені зменшення щільності кісток були достовірно значущими. Розвиток хронічного токсичного гепатиту не вплинув тільки на діафіз стегнової кістки, щільність якого не зазнала змін у самок щурів, яким моделювали патологію ($p > 0,05$).

Для більш детального дослідження впливу патології хронічного гепатиту на склад кісток щурів, крім щільності кісток, провели визначення мінеральної та органічної частини кісткової тканин поперекових хребців, великих гомілкових кісток та діафізу стегнової кістки тварин. Результати морфометричного дослідження складу деяких кісток щурів з токсичним хронічним гепатитом наведені у таблиці 3.20.

Як відмічено раніше, у ході морфометричного дослідження кісток тварин було встановлено достовірне підвищення щільності хребців у самок з гепатитом: $1,461 \pm 0,009$ проти $1,387 \pm 0,015$ г/см³ ($p < 0,05$). Ріст щільності кісток у самок з гепатитом супроводжувався збільшенням вмісту мінерально-органічного комплексу у хребцях – $63,94 \pm 0,55$ проти контролю $60,62 \pm 0,98$ % ($p < 0,05$). Збільшення вмісту останнього на тлі хронічного гепатиту відбувалося за рахунок збільшення маси мінерального компоненту в хребцях – $33,81 \pm 0,82$ % проти $26,87 \pm 2,98$ %, а також за рахунок зниження вмісту органічного компоненту в хребцях – $30,12 \pm 0,30$ % проти $33,76 \pm 2,34$ % ($p < 0,05$).

Таблиця 3.20

**Щільність та вміст мінерально-органічних компонентів у кістках
щурів з хронічним токсичним гепатитом**

Показники		Поперекові хребці	Великі гомілкові кістки	Діафіз стегнової кістки
Самці				
Щільність, г/см ³	Інтактна	1,435 ± 0,024	1,494 ± 0,0128	2,062 ± 0,020
	Гепатит	1,426 ± 0,006 p > 0,05	1,512 ± 0,0136 p > 0,02	1,977 ± 0,013 p < 0,05
Вміст МОК, %	Інтактна	61,19 ± 1,59	65,92 ± 0,692	91,97 ± 0,60
	Гепатит	61,86 ± 0,19 p > 0,05	67,67 ± 0,864 p > 0,02	90,00 ± 0,59 p < 0,05
Вміст МК, %	Інтактна	32,44 ± 1,94	36,13 ± 1,060	63,72 ± 0,99
	Гепатит	31,08 ± 0,73 p > 0,05	36,87 ± 0,960 p > 0,05	59,94 ± 0,58 p < 0,01
Вміст ОК, %	Інтактна	28,74 ± 1,31	29,79 ± 0,796	28,25 ± 0,99
	Гепатит	30,78 ± 0,73 p > 0,02	30,80 ± 0,633 p > 0,02	30,06 ± 0,67 p > 0,02
Самки				
Щільність, г/см ³	Інтактна	1,387 ± 0,015	1,515 ± 0,0077	2,035 ± 0,015
	Гепатит	1,461 ± 0,009 p < 0,05	1,560 ± 0,0073 p < 0,01	2,006 ± 0,035 p > 0,05
Вміст МОК, %	Інтактна	60,62 ± 0,98	67,50 ± 0,334	91,03 ± 0,47
	Гепатит	63,94 ± 0,55 p < 0,05	69,72 ± 0,511 p < 0,01	89,38 ± 1,48 p > 0,05
Вміст МК, %	Інтактна	26,87 ± 2,98	37,44 ± 0,607	62,84 ± 0,59
	Гепатит	33,81 ± 0,82 p < 0,05	40,52 ± 0,441 p < 0,01	62,07 ± 1,41 p > 0,05
Вміст ОК, %	Інтактна	33,76 ± 2,34	30,06 ± 0,305	28,19 ± 0,39
	Гепатит	30,12 ± 0,30 p < 0,05	29,20 ± 0,336 p > 0,01	27,31 ± 1,13 p > 0,05

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

Зміни у морфологічних показниках великих гомілкових кісток самок були схожими зі змінами їх поперекових хребців. Ріст щільності у великих гомілкових кістках самок (на 3,0 %; p < 0,01) супроводжувався збільшенням вмісту мінерально-органічного комплексу на 3,3 % (p < 0,01) за рахунок збільшення мінерального компоненту на 8,2 % (p < 0,01) та зменшення

органічного на 2,9 % ($p > 0,01$). У діафізі стегнових кісток самок моделювання гепатиту не викликало достовірних змін (табл. 3.20).

У щурів самців з хронічним гепатитом спостерігалась тенденція до зменшення щільності поперекових хребців за рахунок зниження у них частки мінерального компоненту і збільшення органічного ($p > 0,05$) у порівнянні з показниками інтактної групи. Це поєднувалося з достовірним зниженням щільності стінки діафізу їх стегнових кісток: $1,977 \pm 0,013$ проти $2,062 \pm 0,020$ мг/мм³ ($p < 0,05$). У великих гомілкових кістках щурів самців спостерігалась тенденція до підвищення щільності ($p > 0,02$), що супроводжувалось незначним зростанням мінерально-органічного комплексу (на 2,7 %; $p > 0,02$) за рахунок деякого підвищення органічного компоненту ($p > 0,02$; табл. 3.20).

Таким чином, морфометричні дослідження показали, що моделювання гепатиту у щурів не вплинуло на стан зубів, тобто на каріозний процес, як самок так і самців. При цьому розвиток хронічного токсичного гепатиту у самців щурів сприяв підвищенню ступеню атрофії альвеолярного відростку щелеп і зменшенню щільності діафізу стегнової кістки. Моделювання патології у самок викликало протилежний ефект, а саме не вплинуло на атрофію альвеолярної кістки, але призвело до достовірного підвищення щільності поперекових хребців, великих гомілкових кісток, стегнових кісток та їх епіфізу. Визначення мінеральної та органічної частки поперекових хребців, великих гомілкових кісток та діафізу стегнових кісток встановило, що збільшення щільності цих кісток у самок з гепатитом відбувалося завдяки підвищенню мінеральної складової кісткової тканини. Зменшення щільності діафізу стегнових кісток у самців з токсичним гепатитом відбувалося за рахунок зниження мінеральної частки кісткової тканини.

Тому на наступному етапі проводили визначення активності ферментів у кістковій тканині, які характеризують стан ремоделювання кісткової тканини в умовах відтворення токсичного гепатиту у щурів.

В таблиці 3.21 наведені результати біохімічних досліджень у кістковій тканині альвеолярної та стегнової кісток щурів, яким вводили розчин сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців.

Таблиця 3.21

Біохімічні показники тканини альвеолярної та стегнової кістки щурів з хронічним токсичним гепатитом

Показники	Альвеолярна кістка		Стегнова кістка	
	Інтактна	Гепатит	Інтактна	Гепатит
	Самки			
Активність еластази, мк-кат/кг	17,87 ± 1,46	24,98 ± 2,15 p < 0,02	13,07 ± 0,94	17,15 ± 1,63 p < 0,01
Активність кислої фосфатази, мк-кат/кг	2,95 ± 0,15	4,04 ± 0,39 p < 0,05	1,32 ± 0,14	1,65 ± 0,21 p > 0,2
Активність лужної фосфатази, мк-кат/кг	34,79 ± 1,20	58,22 ± 3,41 p < 0,001	9,97 ± 0,81	16,12 ± 1,34 p < 0,02
ЛФ/КФ	11,80 ± 0,93	14,41 ± 1,09 p > 0,2	7,55 ± 0,69	9,76 ± 0,83 p < 0,001
Вміст кальцію, ммоль/кг	3,07 ± 0,26	2,69 ± 0,18 p > 0,2	3,32 ± 0,24	2,89 ± 0,16 p > 0,2
	Самці			
Активність еластази, мк-кат/кг	22,14 ± 2,05	21,07 ± 1,83 p > 0,5	18,04 ± 1,53	17,16 ± 1,12 p > 0,5
Активність кислої фосфатази, мк-кат/кг	2,54 ± 0,18	4,92 ± 0,67 p < 0,02	1,03 ± 0,14	1,94 ± 0,17 p < 0,01
Активність лужної фосфатази, мк-кат/кг	39,12 ± 3,01	46,74 ± 4,72 p > 0,5	12,86 ± 1,59	11,74 ± 1,08 p > 0,5
ЛФ/КФ	15,40 ± 1,48	9,50 ± 0,87 p < 0,02	12,48 ± 1,15	6,05 ± 0,72 p < 0,01
Вміст кальцію, ммоль/кг	3,39 ± 0,25	2,77 ± 0,19 p < 0,01	3,32 ± 0,31	2,70 ± 0,22 p < 0,02

Примітка: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками інтактної групи

Моделювання хронічного гепатиту призвело до підвищення активності еластази в кістковій тканині альвеолярного відростка щелеп самок на 39,8 % ($p < 0,02$). У стегновій кістці самок розвиток хронічного гепатиту також призвів до зростання 31,2 % цього ферменту ($p < 0,01$). Активність еластази в тканині альвеолярного відростка і стегнової кістки при моделюванні хронічного гепатиту у щурів самців істотно не змінювалася ($p > 0,05$ для альвеолярної кістки, $p > 0,05$ для стегнової кістки). Отримані результати вказують на більш значне руйнування органічної матриці кісткової тканини у самок ніж у самців, (табл. 3.21), що підтверджує зменшення органічної частки кісток у самок з хронічним гепатитом за результатами морфометричного аналізу.

Тривале введення гідразинсульфату призвело до збільшення іншого маркера остеорезорбції – активності кислої фосфатази, яка за умов відтворення хронічного гепатиту у самок підвищувалася в альвеолярному відростку на 36,9 % ($p < 0,05$) і в стегновій кістці на 25,0 % (хоча $p > 0,2$).

У самців з хронічним гепатитом відзначали більш істотні зміни: активність кислої фосфатази в альвеолярній кістці збільшувалася на 93,7 % ($p < 0,02$) і в стегновій кістці – на 88,3 % ($p < 0,01$). Отримані дані вказують на більш інтенсивне руйнування гідроксиапатиту кісткової тканини під впливом хронічного введення гідразинсульфату, яке було більш виражене у самців.

Досліджуючи маркер кісткоутворення – лужну фосфатазу, встановили, що активність даного ферменту достовірно збільшувалась при моделюванні хронічного гепатиту у самок, як в альвеолярній кістці – на 67,3 % ($p < 0,001$), так і в стегновій кістці – на 61,7 % ($p < 0,02$). Таке підвищення активності кісткової ЛФ можна пояснити компенсаторною реакцією кісткової тканини на руйнування гідроксиапатиту в умовах відтворення хронічного гепатиту. У щурів самців істотних змін активності лужної фосфатази в кістковій тканині двох типів кісток при хронічному гепатиті не було виявлено ($p > 0,05$), незважаючи на те, що активність кислої фосфатази збільшилась більш

істотно, ніж у самок. Компенсації у вигляді підвищення активності ЛФ не спостерігалось (табл. 3.21).

Ступінь ремоделювання кісткової тканини відображає співвідношення активності лужної до активності кислої фосфатази (ЛФ/КФ). Цей індекс вказує на те, яка із складових процесу ремоделювання переважає: процес остеогенезу або резорбції кісткової тканини. Із наведених в таблиці 3.21 результатів видно, що індекс ЛФ/КФ в альвеолярному відростку у самок з хронічним гепатитом збільшувався на 22,1 % (хоча $p > 0,2$), а це свідчить про переважання процесу остеогенезу над резорбцією. У стегновій кістці самок з хронічним гепатитом відзначали зростання індексу ЛФ/КФ на 29,3 % ($p < 0,001$), чим можна пояснити підвищення щільності хребців у самок з гепатитом. У самців хронічний гепатит навпаки зменшував коефіцієнт ЛФ/КФ на 38,3 % у альвеолярному відростку ($p < 0,02$) та більш ніж у 2 рази у стегновій кістці ($p < 0,01$, табл. 3.21).

Щодо вмісту кальцію, то нами було встановлено, що в кістковій тканині альвеолярного відростка у самок з гепатитом вміст його знижувався на 12,4 % ($p > 0,2$), а в стегновій кістці – на 13,0 % ($p > 0,2$). Моделювання хронічного гепатиту у самців призводило до більш вираженого зменшення вмісту кальцію в альвеолярному відростку – на 18,3 % ($p < 0,01$), а в стегновій кістці – на 16,9 % ($p < 0,02$). Таке зменшення вмісту кальцію узгоджується і з більш високою активністю кісткової кислої фосфатази у самців з гепатитом, зменшенням ЛФ/КФ та тенденцією до зменшення щільності поперекових хребців та діафізу стегнової кістки (табл. 3.21).

Підводячи підсумок морфометричних та біохімічних результатів дослідження кісток самок та самців щурів на тлі розвитку хронічного гепатиту, треба підкреслити наступне. Введення розчину сірчанокислового гідразину двічі на тиждень протягом трьох місяців викликало різноспрямовані процеси у кістковій тканині самок та самців щурів. Так, у кістковій тканині самок з гепатитом встановлено більш інтенсивне руйнування органічної матриці під впливом кісткової еластази та

компенсаторне підвищення остеогенезу (активності лужної фосфатази), чим можна пояснити підвищення щільності хребців у самок при патології. Тривале введення гідразину самцям призвело до протилежних процесів у кістковій тканині, а саме – до більш активного руйнування гідроксиапатиту під впливом кісткової кислої фосфатази без компенсації підвищення активності лужної фосфатази, зниження вмісту кальцію, результатом чого стало зменшення мінеральної частки та щільності кісток, відповідно.

УЗАГАЛЬНЕННЯ. На підставі проведених результатів дослідження складу периферичної крові, біохімічного аналізу сироватки крові та тканини печінки щурів, яким вводили розчин сірчаноокислого гідразину у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців можна констатувати наявність ураження печінки у тварин і трактувати встановлені порушення як токсичний гепатит. Токсичне пошкодження гідразинсульфатом призводило до розвитку запалення в тканині печінки, до зниження її здатності виконувати антимікробну функцію та знешкоджувати умовно-патогенні бактерії та їх токсини. Істотної різниці за ступенем порушення досліджених параметрів сироватки крові між самцями і самками не встановлено, тоді як в печінці ступінь прояву запальних, переокисних процесів та інтоксикації при гепатиті був нижчим у самок, що передбачає наявність захисного впливу естрогенів по відношенню до гепатотоксичної дії гідразинсульфату.

Тривале введення щурам гідразинсульфату призвело до зниження всмоктування та засвоєння кальцію у слизовій оболонці тонкої кишки, що частково компенсувалося гальмуванням екскреції нирками цього елемента. Хронічний гепатит не впливав на всмоктування амінокислот у слизовій оболонці тонкої кишки щурів. Поряд з цим визначено збільшення у 2,2-3,5 рази проникності стінки тонкої кишки тварин з токсичним хронічним гепатитом, що вказує на розвиток запалення у слизовій оболонці кишки. Більш значне підвищення проникності кишки щурів встановлено у самців, яким двічі на тиждень протягом трьох місяців вводили сульфат гідразину.

Токсичний хронічний гепатит у щурів викликав розвиток запалення та дисбіоза на тлі зниження антимікробного захисту у слизових оболонках порожнини рота, тонкої та товстої кишки тварин, яким протягом трьох місяців вводили гідразинсульфат. Зміни показників запалення та активації перекисного окиснення ліпідів при гепатиті у порожнині рота самців та самок були приблизно однаковими. Тоді як показники антимікробного захисту, мікробної контамінації та ступеню дисбіозу зазнали більш істотної зміни у слизових оболонках порожнини рота, тонкої та товстої кишки самців з хронічним токсичним гепатитом (різниця від 10,2 до 114,1 %).

Зниження всмоктування кальцію у слизовій оболонці тонкої кишки та недостатність його засвоєння у травному тракті, а також суттєве підвищення проникності стінок тонкої кишки при хронічному гепатиті є, на нашу думку, наслідком розвитку запалення, інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів та наявності дисбіотичних явищ у слизових оболонках травного тракту, зокрема тонкої кишки тварин, яким моделювали хронічний токсичний гепатит.

Для підтримки фізіологічного рівня кальцію в крові щурів з гепатитом, гальмування ниркової екскреції, мабуть, недостатньо. Як показали наші дослідження, вміст кальцію в крові щурів із гепатитом мав лише тенденцію до зниження. Тому іншою компенсаторною реакцією на низьку абсорбцію кальцію в тонкій кишці стало посилення резорбції кісткової тканини, що підтвердилося підвищенням активності кісткової кислої фосфатази і зниженням рівня кальцію в кістковій тканині. Більш значно процес гідролізу гідроксиapatиту під впливом кислої фосфатази був виражений у самців.

Поряд з руйнуванням мінерального компоненту кісткової тканини (гідроксиapatиту) при хронічному гепатиті здійснювався гідроліз органічної складової кісткової тканини тварин за участю кісткової еластази, активність якої була збільшена лише у самок. Важливо підкреслити, що у самок з гепатитом резорбція кісткової тканини компенсувалася активацією мінералізації кісткової тканини за рахунок збільшення активності кісткової

лужної фосфатази і формування в кістковій тканині сполуки, що збільшує частку мінерального компонента (ймовірно, без участі кальцію), щільність поперекових хребців та стегнових кісток самок з гепатитом.

У самців токсичний гепатит викликав збільшення резорбції мінерального компонента кісткової тканини, причому інтенсивність гідролізу органічної частини не змінювалася, і не спостерігалось компенсаторного збільшення мінералізації за допомогою активації кісткової лужної фосфатази. Цим і можна пояснити збільшення резорбції альвеолярної кістки щелеп, а також тенденцію до зниження мінеральної частки кісткової тканини і щільності всіх кісток, що досліджувались, у самців щурів з гепатитом.

Встановлені закономірності дозволяють стверджувати про негативний вплив гідразинсульфату на метаболізм і склад кісткової тканини щурів за участю компенсаторної ролі естрогенів, які, як відомо, уповільнюють швидкість ремоделювання кісткової тканини і запобігають патологічній резорбції.

Таким чином, на підставі того, що ступінь дисбіозу та запалення у слизових оболонках травного тракту, зокрема тонкої кишки, а також руйнування мінерального компоненту кісткової тканини та зниження її щільності більш значно було виражено у самців з гепатитом, можна стверджувати, що одним з механізмів патогенезу печінкової остеодистрофії, окрім відомих причин, є розвиток дисбіотичних явищ та запалення у травному тракті, які були ініційовані токсичним пошкодженням печінки.

Отримані результати на цьому етапі дослідження дають підставу для обґрунтування застосування лікувально-профілактичних препаратів для корекції порушень у травній, і як наслідок у кістковій, системах щурів за розвитку гепатобіліарної патології. Тому наступний етап роботи присвячено експериментальному дослідженню ефективності профілактики порушень у кістковій та травній системах щурів з хронічним холестаазом за допомогою гепатопротекторів, сорбенту, антидисбіотичних та протизапальних речовин.

РОЗДІЛ 4

ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОФІЛАКТИКИ ПОРУШЕНЬ У ТРАВНОМУ ТРАКТІ І КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ ЩУРІВ З ХРОНІЧНИМ ХОЛЕСТАЗОМ

Результати попереднього експерименту встановили, що функціональні порушення в печінці під тривалим впливом гепатотоксину викликали цілу низку негативних процесів у травному тракті, особливо в тонкій кишці, щурів: зниження всмоктування та засвоєння кальцію, збільшення проникності стінки тонкої кишки, розвиток запалення та дисбіозу, внаслідок чого порушилися процеси ремоделювання у кістковій тканині тварин. Встановлені зміни більш суттєво були виражені у травній та кістковій системах самців. Отримані результати дозволили стверджувати про необхідність застосування профілактичних засобів для попередження порушень у шлунково-кишковому тракті та кістках тварин з гепатобіліарною патологією.

Тому на заключному етапі провели дослідження по встановленню ефективності профілактики порушень у кістковій та травній системі щурів самців з хронічним холестазом за допомогою гепатопротектору, який містить лецитин, кверцетин, інουλін, кальцій, аскорбінову кислоту та володіє гепатопротекторними, антидисбіотичними та протизапальними властивостями, а також сорбенту.

4.1 Стан печінки та гепатопротекторні властивості профілактичного комплексу у щурів з хронічним холестазом

Результати біохімічного дослідження сироватки крові щурів з холестазом та щурів з профілактикою представлено у табл. 4.1. Однією з провідних ознак холестазу серед лабораторних методів дослідження є підвищення активності ферменту лужної фосфатази. У сироватці крові щурів 2-ої групи, яким моделювали холестаза, активність даного ферменту зростала

на 43,6 % у порівнянні з контрольною групою ($p < 0,001$), що свідчить про порушення відтоку жовчі, а саме підтверджує наявність відтворення моделі холестазу. У сироватці крові 3-ої групи щурів після профілактики активність лужної фосфатази зростала лише на 3,6 % та не відрізнялась від показників контрольної групи тварин ($p > 0,5$ і $p_1 < 0,001$, табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Біохімічні показники сироватки крові щурів з холестазом та після профілактики

№	Групи щурів	Активність АлАТ, мккат/л	Активність еластази, мккат/л	Активність ЛФ, мккат/л
1	Контроль	$0,39 \pm 0,02$	$198,23 \pm 7,87$	$0,55 \pm 0,03$
2	Холестаз	$0,27 \pm 0,01$ $p < 0,001$	$281,50 \pm 11,29$ $p < 0,001$	$0,79 \pm 0,02$ $p < 0,001$
3	Холестаз+ профілактика	$0,35 \pm 0,01$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,001$	$152,08 \pm 6,18$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	$0,57 \pm 0,02$ $p > 0,5$ $p_1 < 0,001$

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p_1 – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «холестаз»

Моделювання хронічного холестазу у щурів призвело до зниження у сироватці крові активності аланінамінотрансферази (АлАТ) на 30,8 % ($p < 0,001$), що може свідчити про зменшення кількості гепатоцитів або зниження їх функціональної активності в умовах тривалого холестазу. Проведення профілактики комплексом із гепатопротектора і сорбента суттєво підвищувало активність АлАТ в сироватці крові щурів 3-ої групи – на 29,6 % ($p_1 < 0,001$), хоча цей показник не досяг нормального рівня ($p < 0,05$).

За активністю ферменту еластази визначали ступінь генералізованого запалення. У сироватці крові щурів з холестазом активність даного ферменту достовірно підвищувалась на 42,0 % ($p < 0,001$), а введення профілактичних засобів хворим щурам сприяло значному зниженню цього маркера запалення у сироватці крові – на 45,9 % ($p < 0,001$ і $p_1 < 0,001$).

Для визначення ліпідного стану та вмісту кальцію у щурів із експериментальним хронічним холестазом було досліджено рівень тригліцеридів та холестерину в сироватці крові. У таблиці 4.2 наведено результати даного дослідження.

Таблиця 4.2

Стан ліпідного та кальцієвого обміну у щурів з хронічним холестазом та після профілактики

№	Групи щурів	Вміст тригліцеридів, ммоль/л	Вміст холестерина, ммоль/л	Вміст кальцію, ммоль/л
1	Контроль	0,24 ± 0,03	0,88 ± 0,04	2,46 ± 0,09
2	Холестаз	0,39 ± 0,02 p < 0,001	0,72 ± 0,06 p > 0,05	2,29 ± 0,05 p < 0,05
3	Холестаз + профілактика	0,29 ± 0,03 p > 0,05 p ₁ < 0,01	1,02 ± 0,08 p > 0,2 p ₁ < 0,01	2,39 ± 0,07 p > 0,05 p ₁ > 0,1

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p₁ – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «холестаз»

Хронічний холестаз призводив до підвищення концентрації тригліцеридів на 62,5 % (p < 0,001). В цей же час концентрація холестерину залишалась зниженою на 18,2 % (p > 0,05). Встановлені порушення показників ліпідного обміну можуть свідчити про виражене паренхіматозне ураження печінки, яка не здатна у повній мірі приймати участь у метаболізмі тригліцеридів і холестерину. В сироватці крові щурів, які отримували профілактику, була зареєстрована нормалізація рівня тригліцеридів (p > 0,05 і p₁ < 0,01) та концентрації холестерину (p > 0,2 і p₁ < 0,01, табл. 4.2).

Що стосується вмісту кальцію, то було встановлено, що хронічний холестаз сприяв вірогідному зниженню його концентрації в сироватці крові (p < 0,05), а тривала профілактика призводила до підвищення його концентрації відносно показника у сироватці крові групи щурів з холестазом та майже приблизила до показників контрольної групи (p > 0,05).

В таблиці 4.3 наведено результати дослідження маркерів запалення (активність еластази і кислої фосфатази) та інтоксикації (активність уреаз) у гомогенатах печінки щурів з хронічним холестазом.

Таблиця 4.3

Біохімічні показники стану печінки щурів з хронічним холестазом та після профілактики

№	Групи щурів	Активність КФ, мккат/кг	Активність еластази, мккат/кг	Активність уреаз, мккат/кг
1	Контроль	98,43 ± 4,72	483,30 ± 25,01	0,039 ± 0,006
2	Холестаз	127,79 ± 6,95 p < 0,01	601,87 ± 18,05 p < 0,01	0,085 ± 0,007 p < 0,001
3	Холестаз + профілактика	108,60 ± 2,72 p > 0,1 p ₁ < 0,05	483,87 ± 28,01 p > 0,5 p ₁ < 0,01	0,027 ± 0,004 p > 0,1 p ₁ < 0,001

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p₁ – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «холестаз»

У печінці щурів з хронічним холестазом відбувалося підвищення активності кислої фосфатази на 29,8 % (p < 0,01). Даний факт вказує на руйнування та підвищення проникності мембран гепатоцитів. Проведення профілактики попереджало ріст цього маркера запалення у печінці тварин з профілактикою – активність КФ відповідала рівню у печінці контрольної групи (p > 0,1 і p₁ < 0,05; табл. 4.3).

Запальні процеси в печінці щурів з холестазом підтверджувались ростом активності еластази в її гомогенатах, яка була підвищена на 24,5 % (p < 0,01). Профілактичне введення гепатопротектора і сорбента призвело до зниження активності еластази в печінці щурів 3-ої групи до значень контрольної групи (p > 0,5 і p₁ < 0,01).

На тлі інтенсифікації запалення в печінці щурів з холестазом нами було встановлено зниження однієї з важливих функцій цього органу – антитоксичної функції. Про це свідчило зростання більш ніж у 2 рази активності уреаз в печінці хворих щурів (p < 0,001). Введення

профілактичного комплексу ефективно запобігало підвищенню активності уреазу в печінці щурів 3-ої групи, рівень якої відповідав контрольним значенням ($p > 0,1$ і $p_1 < 0,001$, табл. 4.3).

Для визначення антиоксидантно-прооксидантного стану печінки досліджували активність каталази та вміст МДА. Результати нашого дослідження, які наведені у таблиці 4.4, показали, що моделювання хронічного холестазу не впливало на активність одного з основних ферментів антиоксидантного захисту – каталази ($p > 0,5$). Введення гепатопротектора і сорбента щурам 3-ої групи також не змінювало активність каталази в печінці тварин ($p > 0,1$ і $p_1 > 0,1$, табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Стан антиоксидантно-прооксидантної системи печінки щурів з холестазом та після профілактики

№	Групи щурів	Активність каталази, мкат/кг	Вміст МДА, ммоль/кг	АПІ
1	Контроль	$2,25 \pm 0,03$	$15,5 \pm 1,2$	$1,45 \pm 0,12$
2	Холестаз	$2,26 \pm 0,05$ $p > 0,5$	$21,2 \pm 1,6$ $p < 0,001$	$0,47 \pm 0,05$ $p < 0,001$
3	Холестаз + профілактика	$2,32 \pm 0,03$ $p > 0,1$ $p_1 > 0,1$	$15,0 \pm 0,8$ $p > 0,5$ $p_1 < 0,01$	$1,55 \pm 0,17$ $p > 0,5$ $p_1 < 0,001$

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою,
 p_1 – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «холестаз»

На тлі стабільної активності каталази в печінці щурів 2-ої групи відбувалось збільшення вмісту МДА на 36,8 % ($p < 0,001$), що вказує на інтенсифікацію перекисного окиснення ліпідів в печінці щурів з хронічним холестазом. Профілактика сприяла збереженню вмісту МДА в печінці щурів 3-ої групи на рівні, який відповідав значенням контролю ($p > 0,5$ і $p_1 < 0,01$).

Для більш наочного визначення стану антиоксидантно-прооксидантної системи печінки при патології холестазу та її профілактиці розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ). Як видно з даних табл. 4.4,

АПІ печінки щурів з хронічним холестазом знижувався у 3 рази ($p < 0,001$), що свідчить про зсув рівноваги антиоксидантно-прооксидантної системи у бік активації перекисних процесів. У печінці групи щурів, яка отримувала профілактику, АПІ відповідав рівню у печінці тварин контрольної групи ($p > 0,5$ і $p_1 < 0,001$, табл. 4.4).

В результаті відтворення хронічного холестазу шляхом перев'язки жовчної протоки тварини 2-ої групи несуттєво втрачали у вазі, але при цьому вага печінки суттєво збільшувалась. В результаті відмічено збільшення органного індексу печінки хворих щурів на 23,5 % ($p < 0,01$), а у щурів, яким проводили профілактику цей показник відповідав значенням контрольної групи ($p > 0,5$). Отримані результати вказують на суттєве ушкодження печінки, її набряк внаслідок запалення, що було індуковано хронічним холестазом, а також поряд з біохімічними маркерами, підтверджують високу гепатопротекторну ефективність профілактичного комплексу (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

Органний індекс печінки щурів з холестазом та після профілактики

№	Групи щурів	Органний індекс, мг/г
1	Контроль	$30,27 \pm 1,57$
2	Холестаз	$37,39 \pm 1,44$ $p < 0,01$
3	Холестаз + профілактика	$32,79 \pm 1,96$ $p > 0,5$ $p_1 < 0,01$

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою,
 p_1 – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «холестаз»

Таким чином, біохімічний аналіз сироватки крові та печінки щурів дозволяють стверджувати, що хронічний холестаз викликав пошкодження паренхіми печінки, її набряк, розвиток запалення, перекисного окиснення ліпідів, порушення ліпідного обміну та зниження антитоксичної функції в

умовах припинення відтоку жовчі. Проведені дослідження також вказують на гепатопротекторну ефективність профілактичного комплексу.

4.2 Стан слизових оболонок травного тракту щурів з хронічним холестазом та щурів після профілактики

У таблиці 4.6 наведені дані щодо результатів біохімічного дослідження слизової оболонки порожнини рота у щурів з хронічним холестазом та після введення профілактичного комплексу.

Таблиця 4.6

Біохімічні показники слизової оболонки порожнини рота щурів з холестазом та після профілактики

Групи щурів	Активність КФ, мккат/кг	Активність еластази, мккат/кг	Активність лізоциму, од/кг	Активність уреаз, мккат/кг	Ступень дисбіозу
Контроль	17,68 ± 1,26	45,09 ± 4,50	109 ± 11	0,251 ± 0,049	1,01 ± 0,01
Холестаза	21,12 ± 2,29 p > 0,2	57,88 ± 5,08 p < 0,05	32 ± 4 p < 0,001	0,397 ± 0,068 p < 0,05	5,40 ± 0,61 p < 0,001
Холестаза + комплекс	16,59 ± 0,53 p > 0,5 p ₁ > 0,1	50,61 ± 2,75 p > 0,2 p ₁ < 0,05	94 ± 8 p > 0,2 p ₁ < 0,001	0,282 ± 0,060 p > 0,2 p ₁ < 0,05	1,30 ± 0,12 p > 0,05 p ₁ < 0,001

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p₁ – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «холестаза»

Активність кислої фосфатази (КФ) у слизовій оболонці порожнини рота (СОПР) щурів, яким моделювали хронічний холестаза, зростала на 19,5 % (при p > 0,2). Тенденція до збільшення активності даного ферменту свідчить про розвиток запальних процесів у СОПР. Введення препаратів профілактики 3-ій групі тварин знижувало активність КФ, тим самим попереджувало розвиток запалення. Так, активність КФ в СОПР 3-ої групи тварин знижувалась на 21,4 % у порівнянні з рівнем показнику в групі тварин з холестазом та майже відповідала рівню нормальних значень контрольної групи (p > 0,5).

Поряд з активацією кислої фосфатази у СОПР щурів з холестазом зростав інший маркер запалення – активність еластази, рівень якої була підвищена на 28,4 % (p < 0,05), а на тлі профілактики майже відповідала

значенням контролю ($p > 0,2$, $p_1 < 0,05$). Зростання активності кислої фосфатази та еластази свідчить про розвиток запальних процесів в СОПР щурів з холестазом. Введення профілактичного комплексу попереджувало згубний вплив патології холестазу у СОПР щурів 3-ої групи.

Хронічний холестаз сприяв також зростанню активності уреазы, яка в СОПР групи тварин, яким моделювали холестаз, була збільшена на 58,16 % щодо значень інтактної групи ($p < 0,05$). Отримані дані вказують на посилення мікробного обсіменіння в слизовій оболонці порожнини рота щурів на тлі моделювання хронічного холестазу. Причиною цього ймовірно стало достовірне зниження антимікробного захисту СОПР, а саме активності лізоциму на 70,6 % ($p < 0,001$). У результаті ступінь дисбіозу в СОПР щурів з холестазом збільшився у 5,5 раза ($p < 0,001$). Профілактичне введення комплексу гепатопротектора і сорбента запобігало розвитку дисбіозу в СОПР щурів з холестазом: активність уреазы та лізоциму відповідала нормальним значенням, а ступінь дисбіозу наближався до відповідного рівня у інтактних тварин ($p_1 < 0,05-0,001$; табл. 4.6).

У таблиці 4.7 представлені результати дослідження антиоксидантно-прооксидантного стану слизової оболонки порожнини рота щурів з хронічним холестазом та після профілактики.

Таблиця 4.7

Антиоксидантно-прооксидантний стан слизової оболонки порожнини рота щурів на тлі хронічного холестазу та після профілактики

№	Групи щурів	Активність каталази, мкат/кг	Вміст МДА, ммоль/кг	АПІ
1	Контроль	5,63 ± 0,30	19,4 ± 4,5	2,9 ± 0,10
2	Холестаз	5,19 ± 0,37 $p > 0,2$	30,2 ± 8,2 $p < 0,05$	1,71 ± 0,07 $p < 0,05$
3	Холестаз + профілактика	5,77 ± 0,17 $p > 0,5$ $p_1 > 0,2$	23,3 ± 2,4 $p > 0,5$ $p_1 < 0,05$	2,5 ± 0,06 $p > 0,5$ $p_1 < 0,05$

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою,
 p_1 – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «холестаз»

Активність ферменту каталази в СОПР не зазнавала істотних змін, як у групі тварин з холестазом (зниження на 7,8 % при $p > 0,2$), так і у групі тварин з профілактикою ($p > 0,5$ і $p_1 > 0,2$, табл. 4.7).

Дослідження показали, що в умовах моделювання хронічного холестазу спостерігалась активація процесів перекисного окиснення ліпідів у слизовій оболонці порожнині рота 2-ої групи щурів, що підтверджувалось достовірним підвищенням вмісту малонового діальдегіду (МДА) на 55,8 % ($p < 0,05$). Застосування профілактичного комплексу у 3-ій групі тварин знижувало вміст МДА на 22,8 %, порівняно з групою холестазу ($p_1 < 0,05$) до рівня нормальних значень ($p > 0,5$).

З даних таблиці 4.7 видно, що антиоксидантно-прооксидантний індекс, який відображає баланс у системі «антиоксиданти-прооксиданти» у СОПР щурів 2-ої групи, був достовірно знижений ($p < 0,05$). Отримані результати вказують на те, що хронічний холестаз призводив до зміщення балансу цієї системи в СОПР у бік активації перекисних процесів та пригнічення антиоксидантного захисту. Незважаючи на те, що активність ферменту каталази в нашому дослідженні не змінилася, можливо припустити зниження активності інших антиоксидантних ферментів, за рахунок чого і відбувалась інтенсифікація пероксидації ліпідів, а саме підвищення рівня МДА.

Застосування профілактичного комплексу достовірно підвищувало АПІ у СОПР щурів з холестазом ($p_1 < 0,05$), що свідчить про антиоксидантні властивості досліджуваних препаратів (табл. 4.7).

У таблиці 4.8 наведені результати біохімічного аналізу у другому відділі травного тракту, який ми досліджували – у слизовій оболонці тонкої кишки щурів, на тлі патології холестазу та після профілактики.

Таблиця 4.8

Біохімічні показники слизової оболонки тонкої кишки щурів з холестазом та після профілактики

Групи щурів	Активність КФ, мккат/л	Активність еластази, мккат/кг	Активність лізоциму, од/кг	Активність уреазы, мккат/кг	Ступень дисбіозу
Контроль	34,27 ± 1,26	877,58 ± 35,43	128 ± 10	1,79 ± 0,72	1,01 ± 0,02
Холестаза	40,88 ± 1,33 p < 0,001	1238,53 ± 41,09 p < 0,001	71 ± 8 p < 0,001	3,44 ± 0,67 p < 0,001	3,49 ± 0,26 p < 0,001
Холестаза + комплекс	35,69 ± 1,69 p > 0,5 p ₁ < 0,05	965,20 ± 40,97 p > 0,2 p ₁ < 0,002	106 ± 9 p > 0,5 p ₁ < 0,001	1,91 ± 0,52 p > 0,5 p ₁ > 0,01	1,29 ± 0,09 p > 0,02 p ₁ < 0,001

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p₁ – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «холестаза»

Результати, наведені в таблиці 4.8, показують, що у тварин 2-ої групи спостерігались ознаки запалення у слизовій оболонці тонкої кишки. Це підтверджувалось достовірним підвищенням активності кислої фосфатази на 19,3 % (p < 0,001) та еластази на 41,1 % (p < 0,001). Застосування профілактичного комплексу призвело до зменшення ознак запалення: так, активність КФ була зниженою на 12,7 % (p₁ < 0,05), а активність еластази на 22,0 % (p₁ < 0,002) і відповідали нормальним значенням (p > 0,2-0,5, табл. 4.8).

На тлі розвитку хронічного холестазу у слизовій оболонці тонкої кишки щурів спостерігали явища дисбіозу: зниження активності лізоциму – на 44,5 % (p < 0,001), підвищення активності уреазы – на 92,3 % (p < 0,001) та як результат збільшення ступеню дисбіозу у 3,4 раза (p < 0,001). Застосування комплексу профілактики сприяло поверненню активності лізоциму та уреазы, а також ступеню дисбіозу у слизовій оболонці тонкої кишки, до контрольних значень (p > 0,5-0,5; p₁ > 0,01-< 0,001). Це говорить про те, що даний профілактичний комплекс володіє антимікробними та антидисбіотичними властивостями та підвищує антимікробний захист у слизовій оболонці тонкої кишки в умовах патології холестазу (табл. 4.8).

Результати визначення маркерів стану антиоксидантно-прооксидантної системи у слизовій оболонці тонкої кишки щурів представлено у таблиці 4.9.

Таблиця 4.9

Антиоксидантно-прооксидантний стан слизової оболонки тонкої кишки щурів з холестазом та після профілактики

№	Групи щурів	Активність каталази, мкат/кг	Вміст МДА, ммоль/кг	АПІ
1	Контроль	3,93 ± 0,37	7,15 ± 0,62	5,5 ± 0,2
2	Холестаз	2,67 ± 0,20 p < 0,02	11,68 ± 1,50 p < 0,02	2,3 ± 0,08 p < 0,001
3	Холестаз + профілактика	3,92 ± 0,28 p > 0,5 p ₁ < 0,01	5,77 ± 0,89 p > 0,2 p ₁ < 0,01	6,8 ± 0,6 p < 0,02 p ₁ < 0,001

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p₁ – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «холестаз»

Активність каталази у слизовій оболонці тонкої кишки щурів з хронічним холестазом суттєво знижувалась – на 32,1 % (p < 0,02). Хронічний холестаз призводив також до зростання вмісту МДА, який перевищував контрольні показники на 63,4 %, при p < 0,02. На тлі даних порушень у тварин з патологією холестазу знижувався АПІ – на 58,2 %. Регулярне введення профілактичного комплексу покращувало антиоксидантний захист у слизовій оболонці тонкої кишки хворих щурів: активність каталази та вміст МДА відповідали рівню контрольних значень (p > 0,2-0,5), АПІ зростав у 2,9 раза (p₁ < 0,001, табл. 4.9).

Таблиця 4.10 містить результати біохімічного дослідження маркерів запалення та мікробної контамінації у слизовій оболонці товстої кишки щурів з холестазом та після його профілактики.

Таблиця 4.10

Біохімічні показники дослідження слизової оболонки товстої кишки щурів з холестазом та після профілактики

Групи щурів	Активність КФ, мк-кат/л	Активність еластази, мккат/кг	Активність лізоциму, од/кг	Активність уреазы, мккат/кг	Ступень дисбіозу
Контроль	13,21 ± 0,62	128,95 ± 10,37	38 ± 5	6,198 ± 0,659	1,01 ± 0,04
Холестаза	19,23 ± 1,08 p < 0,002	171,50 ± 8,63 p < 0,01	17 ± 2 p < 0,005	8,726 ± 0,674 p < 0,02	3,20 ± 0,21 p < 0,001
Холестаза +комплекс	16,90 ± 0,68 p < 0,05 p ₁ > 0,1	146,95 ± 5,80 p > 0,2 p ₁ < 0,02	29 ± 4 p > 0,2 p ₁ < 0,02	7,033 ± 0,916 p > 0,5 p ₁ > 0,5	1,49 ± 0,11 p > 0,5 p ₁ < 0,001

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p₁ – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «холестаза»

У слизовій оболонці товстої кишки щурів з холестазом також були наявні ознаки запальних процесів. Про це свідчило зростання активності КФ на 45,6 % (p < 0,002), та еластази – на 33,0 % (p < 0,01). Застосування профілактики сприяло покращенню стану слизової оболонки товстої кишки за рахунок властивостей компонентів препаратів, наближаючи активність еластази до рівня контрольних значень (p > 0,2). Активність КФ при цьому не зазнавала істотних змін (p < 0,05, p₁ > 0,1).

Моделювання патології холестаза у щурів викликало у слизовій оболонці товстої кишки зниження активності лізоциму на 55,2 % (p < 0,005), підвищення активності уреазы у 1,4 раза (p < 0,02) та збільшення ступеню дисбіозу у 3,2 раза (p < 0,001). Проведення профілактики за допомогою комплексу із гепатопротектора і сорбента сприяло зберіганню показників антимікробного захисту та контамінації умовно-патогенними бактеріями у слизовій оболонці товстої кишки на рівні значень контрольної групи тварин (p > 0,5-0,2, табл. 4.10).

Хронічний холестаза незначно знижував активність каталази на 6,5 % (p > 0,2), але суттєво підвищував МДА у 2,3 раза (p < 0,005) у слизовій

оболонці товстої кишки тварин. АПІ при цьому був знижений на 59,0 % ($p < 0,005$; табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Антиоксидантно-прооксидантний стан слизової оболонки товстої кишки щурів з холестазом та після профілактики

№	Групи щурів	Активність каталази, мкат/кг	Вміст МДА, ммоль/кг	АПІ
1	Контроль	$1,70 \pm 0,07$	$1,88 \pm 0,22$	$9,0 \pm 1,04$
2	Холестаз	$1,59 \pm 0,09$ $p > 0,2$	$4,27 \pm 0,52$ $p < 0,005$	$3,7 \pm 0,30$ $p < 0,001$
3	Холестаз + профілактика	$1,87 \pm 0,04$ $p > 0,1$ $p_1 < 0,02$	$2,53 \pm 0,15$ $p > 0,5$ $p_1 < 0,02$	$7,4 \pm 0,80$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,001$

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p_1 – достовірність розбіжності показників порівняно з групою «холестаз»

Встановлені зміни вказують на зниження антиоксидантного захисту та прогресування перекисного окиснення ліпідів у слизовій оболонці товстої кишки щурів, хворих на холестаз.

Введення профілактичного комплексу чинило антиоксидантну дію на стан слизових оболонок товстої кишки щурів з холестазом: було встановлено вірогідне підвищення активності каталази ($p > 0,1$; $p_1 < 0,02$) та АПІ ($p > 0,05$; $p_1 < 0,001$) на тлі зниження вмісту МДА ($p > 0,5$; $p_1 < 0,02$) (табл. 4.11).

Підсумовуючи результати досліджень травного тракту щурів, необхідно констатувати розвиток запалення і дисбіозу, посилення контамінації умовно-патогенними бактеріями, активацію перекисного окислення ліпідів у слизових оболонках, що було індуковано моделюванням холестазу та порушеннями функції печінки. Тобто встановлено, що у слизових оболонках травного тракту щурів з холестазом виникають такі порушення, які були зареєстровані при моделюванні хронічного токсичного гепатиту за допомогою гідразинсульфату. Застосування профілактичного комплексу із гепатопротектора і сорбента у щурів в умовах хронічного

холестазу ефективно попереджувало запальні процеси, активацію пероксидації ліпідів у слизових оболонках травного тракту тварин.

4.3 Порушення у кістковій тканині щурів з холестазом та їх корекція за допомогою профілактичного комплексу

На заключному етапі цього експерименту проводили дослідження показників альвеолярного відростку щелеп та стегнових кісток, які характеризують стан процесів ремоделювання кістковій тканині. Таблиця 4.12 містить дані щодо маркерів руйнування кісткової тканини щелеп щурів в умовах патології та за профілактики.

Таблиця 4.12

Показники маркерів руйнування тканини альвеолярного відростку щелеп щурів з холестазом та після профілактики

№	Групи щурів	Активність КФ, мк-кат/кг	Активність еластази, мккат/кг
1	Контроль	2,14 ± 0,09	21,87 ± 0,83
2	Холестаз	3,39 ± 0,15 p < 0,001	29,98 ± 2,07 p < 0,01
3	Холестаз + профілактика	2,66 ± 0,07 p < 0,001 p ₁ < 0,001	18,47 ± 1,39 p < 0,05 p ₁ < 0,001

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p₁ – достовірність розбіжності показників порівняно з групою холестаз

В кістковій тканині альвеолярного відростку щелеп щурів моделювання хронічного холестазу призвело до збільшення активності еластази на 37,08 % (p < 0,01), що вказує на посилення руйнування білкової матриці кісткової тканини. Моделювання патології також сприяло активації процесів резорбції гідроксиапатиту в альвеолярному відростку тварин, про що свідчить зростання активності кислої фосфатази на 58,41 % (p < 0,001), у порівнянні з контрольними значеннями. У щелепах щурів 3-ої групи під впливом профілактичного комплексу активність КФ була вищою від

показників контролю на 24,3 %, а активність еластази нижче на 15,54 %, відповідно (табл. 4.12).

Отже, профілактичне введення гепатопротектора і сорбента сприяло гальмуванню резорбційних процесів та знижувало інтенсивність руйнування органічної складової кісткової тканини альвеолярного відростка щелепи дослідних тварин в умовах змодельованої патології холестазу.

Моделювання хронічного холестазу порушувало процеси кісткоутворення в альвеолярному відростку щелеп щурів, яке супроводжувалось зниженням маркеру остеобластів – активності лужної фосфатази на 26,52 % (табл. 4.13).

Таблиця 4.13

Показники маркерів кісткоутворення тканини альвеолярного відростка щелепи щурів з холестазом та після профілактики

№	Групи щурів	Активність ЛФ, мк-кат/кг	Вміст кальцію, ммоль/кг	ЛФ/КФ
1	Контроль	15,91 ± 2,62	5,39 ± 0,14	74,3 ± 1,35
2	Холестаз	11,69 ± 0,54 p > 0,2	3,09 ± 0,10 p < 0,001	34,4 ± 0,34 p < 0,001
3	Холестаз + профілактика	13,38 ± 0,77 p > 0,5 p ₁ > 0,1	5,00 ± 0,16 p > 0,1 p ₁ < 0,001	50,3 ± 0,42 p < 0,001 p ₁ < 0,05

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою,
p₁ – достовірність розбіжності показників порівняно з групою холестаз

У ході експерименту нами також було виявлено значне зниження вмісту кальцію на 42,6 % (p < 0,001) у альвеолярному відростку щурів з хронічним холестазом, що підтверджує активацію резорбційних процесів та «вимивання» кальцію з кісткової тканини. Вміст кальцію у групі щурів з профілактикою майже досягав значень контрольної групи тварин (p > 0,1), а активність лужної фосфатази була навіть нижчою від рівня показника контролю на 15,9 %.

Розраховуючи мінералізуючий індекс (ЛФ/КФ) у щурів з холестазом в кістковій тканині альвеолярного відростка було виявлено його зменшення на 53,7 % ($p < 0,001$), яке вказує на зрушення процесів ремоделювання у бік активації резорбції кісткової тканини. Проведення профілактики сприяло збільшенню рівня мінералізуючого індексу у щелепах тварин, або його значення були нижчі, ніж у контрольних тварин.

У таблиці 4.14 наведено результати досліджень тканини стегнової кістки тварин з холестазом та після профілактики.

Таблиця 4.14

Біохімічні показники руйнування кісткової тканини стегнової кістки щурів на тлі холестазу та після профілактики

№	Групи щурів	Активність КФ, мк-кат/кг	Активність еластази, мккат/кг
1	Контроль	$1,89 \pm 0,18$	$1,91 \pm 0,12$
2	Холестаз	$3,03 \pm 0,39$ $p < 0,02$	$2,99 \pm 0,19$ $p < 0,001$
3	Холестаз + профілактика	$2,31 \pm 0,08$ $p < 0,1$ $p_1 < 0,1$	$2,12 \pm 0,10$ $p < 0,2$ $p_1 < 0,002$

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p_1 – достовірність розбіжності показників порівняно з групою холестаза

Моделювання хронічного холестаза призводило до достовірного збільшення у гомогенатах стегнової кістки обох маркерів руйнування: активності кислої фосфатази на 60,3 % ($p < 0,02$) та активності еластази на 56,5 % ($p < 0,001$), що говорить про активацію остеокластів та посилення резорбційних процесів. Профілактичне введення гепатопротектора і сорбента в деякій мірі покращувало стан кісткової тканини стегнових кісток тварин, але все ж таки активності досліджуваних маркерів були підвищені у порівнянні зі значеннями у контрольній групі тварин. Так, активності кислої фосфатази та еластази були вищі на 22,2 % та 11,0 % при $p < 0,1$ і $p < 0,2$, відповідно.

Дослідження маркерів кісткоутворення у тканині стегнових кісток щурів з холестазом та після профілактики наведено у таблиці 4.15.

Таблиця 4.15

Біохімічні показники маркерів кісткоутворення в стегновій кістці щурів на тлі холестазу та після профілактики

№	Групи щурів	Активність ЛФ, мк-кат/кг	Вміст кальцію, ммоль/кг	ЛФ/КФ
1	Контроль	8,79 ± 0,93	6,12 ± 0,32	46,5 ± 0,56
2	Холестаз	5,08 ± 0,33 p < 0,01	4,88 ± 0,41 p < 0,05	16,7 ± 0,36 p < 0,001
3	Холестаз + профілактика	6,62 ± 0,36 p < 0,05 p ₁ < 0,05	6,43 ± 0,27 p > 0,5 p ₁ < 0,01	28,7 ± 0,22 p < 0,001 p ₁ < 0,001

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p₁ – достовірність розбіжності показників порівняно з групою холестаз

Поряд із зростанням активності кислої фосфатази у стегнових кістках тварин 2-ої групи на тлі холестазу відбувалося достовірне зниження активності лужної фосфатази на 42,2 % (p < 0,01), вмісту кальцію на 20,3 % (p < 0,05) та зниження мінералізуючого індексу (ЛФ/КФ) на 64,0 %, що свідчить про активізацію процесів резорбції кісткової тканини стегнових кісток у щурів з хронічним холестазом. Після проведення профілактики активність лужної фосфатази та ЛФ/КФ дещо збільшилися (p₁ < 0,05-0,001), хоча і не досягли показників контрольної групи (p < 0,05-0,001). Незважаючи на це, вміст кальцію у тканині стегнової кістки щурів з холестазом після застосування препаратів профілактики нормалізувався (p < 0,01).

4.4 Гістологічні дослідження стегнової кістки щурів з холестазом та після профілактики

В ході дослідження було проведено загальну морфологічну та кількісну оцінку окремих гістологічних параметрів з використанням морфометричних методик.

Стегнова кістка щурів всіх досліджуваних груп мала типову гістологічну будову. Майже по всій довжині зовні вкрита окістям (періостом), за виключенням суглобових поверхонь епіфізів, які в свою чергу вкриті гіаліновим хрящем. У щурів інтактної групи діяфіз стегнової кістки ззовні вкритий періостом, який має зовнішній тонкий шар сполучнотканинних волокон і невелику кількість остеобластів під ним (рис. 4.1).

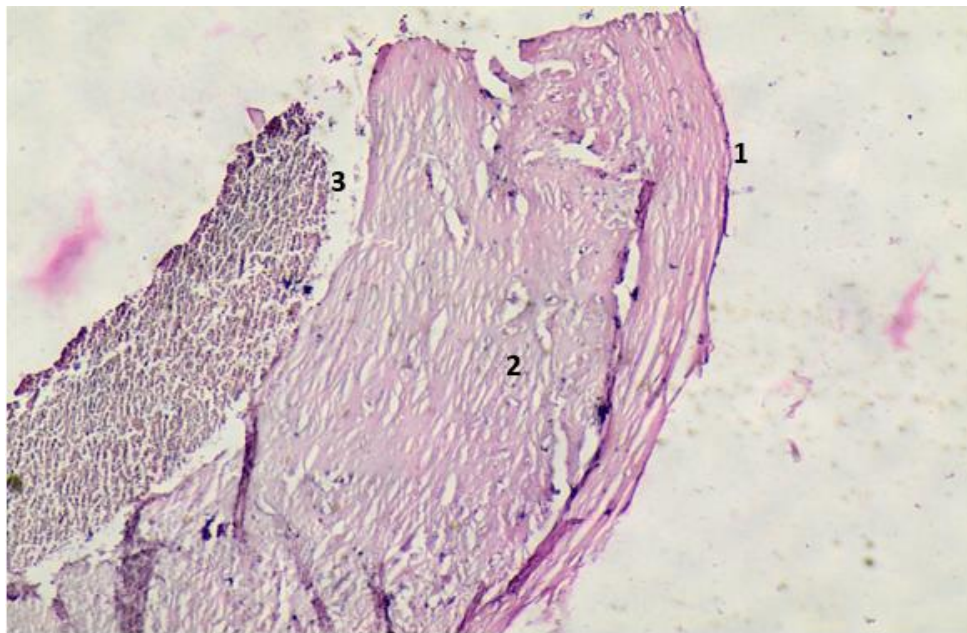


Рис. 4.1. Фрагмент діяфізу стегнової кістки щурів інтактної групи, поперечний зріз: 1 – періост, 2 – компактна кістка, 3 – кістково-мозкова порожнина. Зabarвлення гематоскиліном та еозином. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

Періост розташований на поверхні компактної речовини пластинчастої кісткової тканини, яка становить більшу частину діяфізу. На внутрішній поверхні діяфізу, яка межує з кістково-мозковою порожниною,

утворені кісткові перекладини губчастої речовини тканини.

Епіфіз стегнової кістки на суглобових поверхнях містить добре виражений гіалінових хрящ, який формує проксимальний кінець кістки (рис. 4.2). Гіаліновий хрящ, як це йому і притаманно, не містить судин. Особливістю суглобового хряща є наявність невеликої кількості клітин, оточених великою кількістю міжклітинної речовини (матрикс, представлений волокнистими компонентами та основною речовиною). В поверхневих шарах хряща хондроцити розташовані поодиночці, в той час як глибше вони утворюють ізогенні групи. Кількість хондроцитів в ізогенних групах зростає із зростанням глибини розташування групи. На межі хрящової та кісткової частин остеокласти руйнують хрящову тканину, а остеобласти формують кісткові трабекули, між якими знаходиться кістковий мозок (рис. 4.2, 4.3).

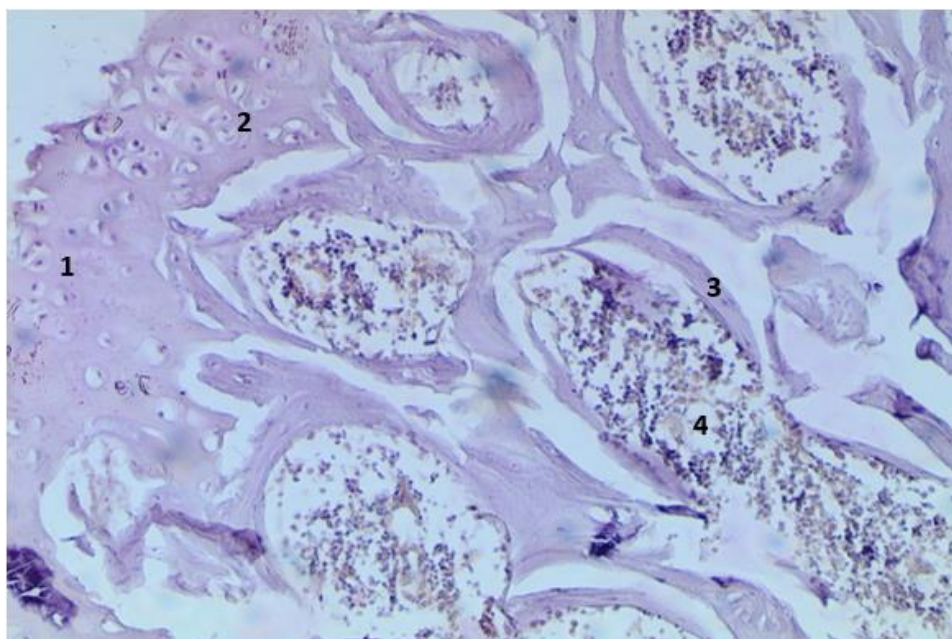


Рис. 4.2. Фрагмент епіфізу стегнової кістки тварин інтактної групи, губчаста кістка: 1 – гіаліновий хрящ суглобової поверхні, 2 – ізогенні групи гіалінового хряща, 3 – кісткові балки, 4 – червоний кістковий мозок. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

З гіаліновим хрящем контактує губчаста частина епіфізу кістки. Основна частина губчастої кісткової тканини епіфізу сформована кістковими балочками. Простір між ними заповнений червоним кістковим мозком (рис.

4.3, 4.4).

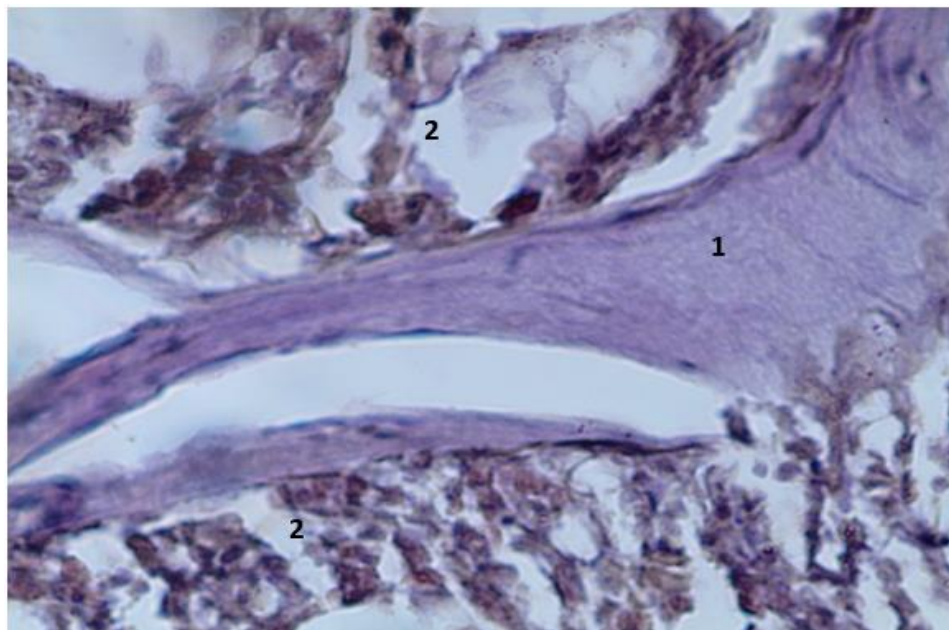


Рис. 4.3. Фрагмент епіфізу стегнової кістки тварин інтактної групи, кісткові балки: 1 – кісткова балка, 2 – червоний кістковий мозок. Забарвлення за Ван Гізоном. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

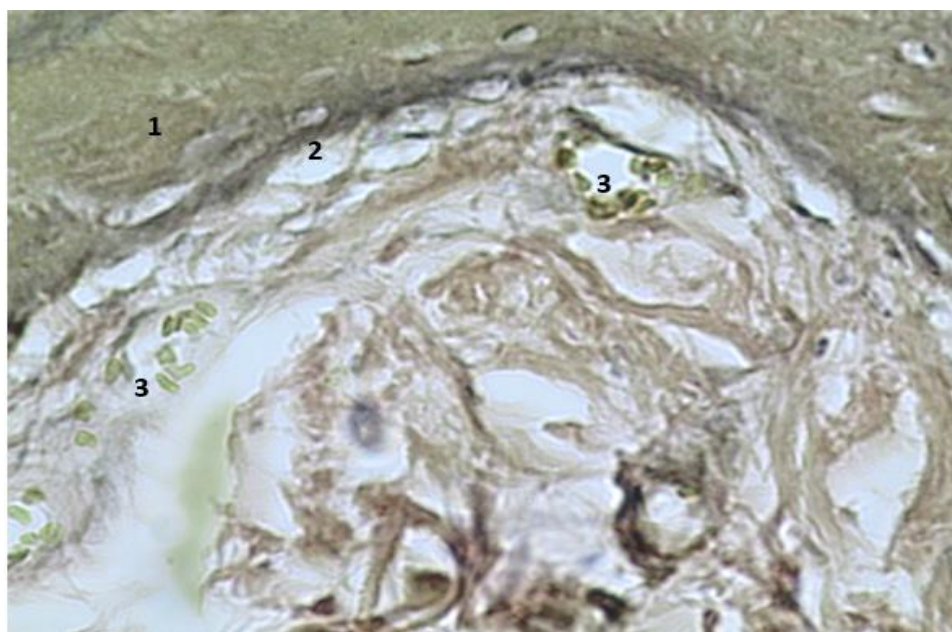


Рис. 4.4. Внутрішня поверхня кісткової трабекули щурів інтактної групи: 1 – кісткова тканина, 2 – сполучнотканинні волокна, 3 – судини кісткового мозку. Забарвлення за Ван Гізоном. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

Кістковий мозок має помірну клітинність і невелику кількість жирових клітин, яка зростає з наближенням до діяфізу.

Кісткові трабекули губчастої кісткової тканини побудовані з пластинок, які нашаровані одна на одну (рис. 4.5). Між пластинами знаходяться остеоцити, що залягають у індивідуальних лакунах. Відростки остеоцитів простираються до сусідніх клітин через каналці. На поверхні трабекул є дуже тонкий шар сполучнотканинних волокон і остеобласти.

Будова стегнової кістки тварин з холестазом зберігається взагалі тотожною до будови кісток тварин інтактної групи. Компактна кістка діяфізу та епіфізу сформована кістковими пластинками, між якими знаходяться остеоцити. Ззовні вона вкрита періостом (рис. 4.5, 4.6).

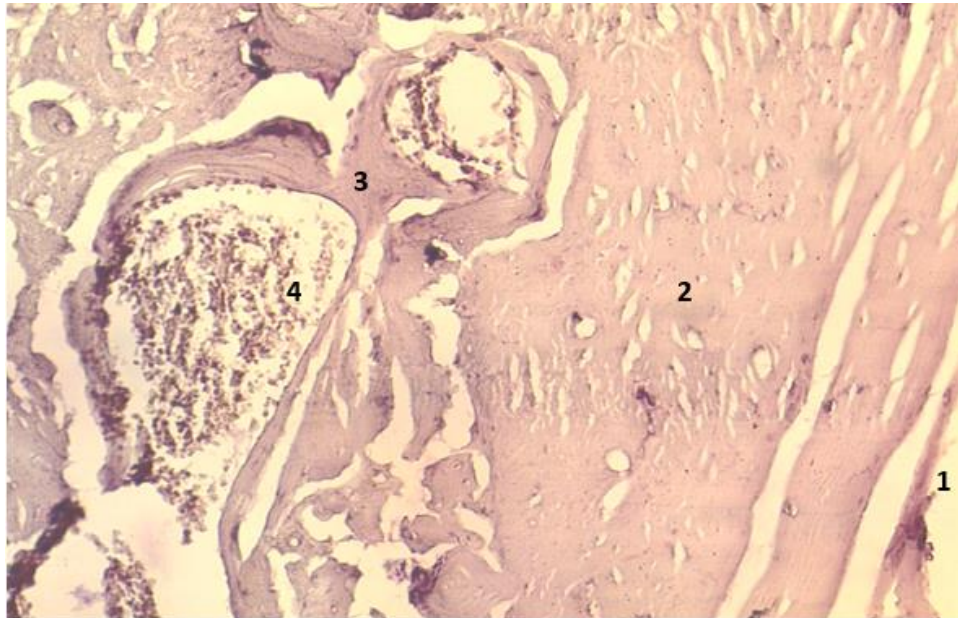


Рис. 4.5. Фрагмент діяфізу стегнової кістки щурів з холестазом, поперечний зріз: 1 – періост, 2 – компактна кістка, 3 – губчаста кістка, 4 – кістковий мозок. Забарвлення гематоксиліном та еозіном. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

На відміну від щурів інтактної групи, на препаратах діяфізу стегнової кістки щурів з холестазом помітно значне розшарування періосту (рис. 4.6). Окістя забезпечує живлення, ріст та регенерацію кістки, тому такі зміни є негативним показником стану кісткової тканини.



Рис. 4.6. Фрагмент поверхневих шарів діяфізу стегнової кістки щурів з холестазом, поздовжній зріз: 1 – розшарований періост, 2 – компактна кістка. Забарвлення за Ван Гізоном. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

Епіфіз стегнової кістки щурів з холестазом вкритий гіаліновим хрящем на суглобових поверхнях (рис. 4.7). На відміну від інтактної групи, кількість ізогенних груп зменшена, так само як і кількість хондроцитів в них.

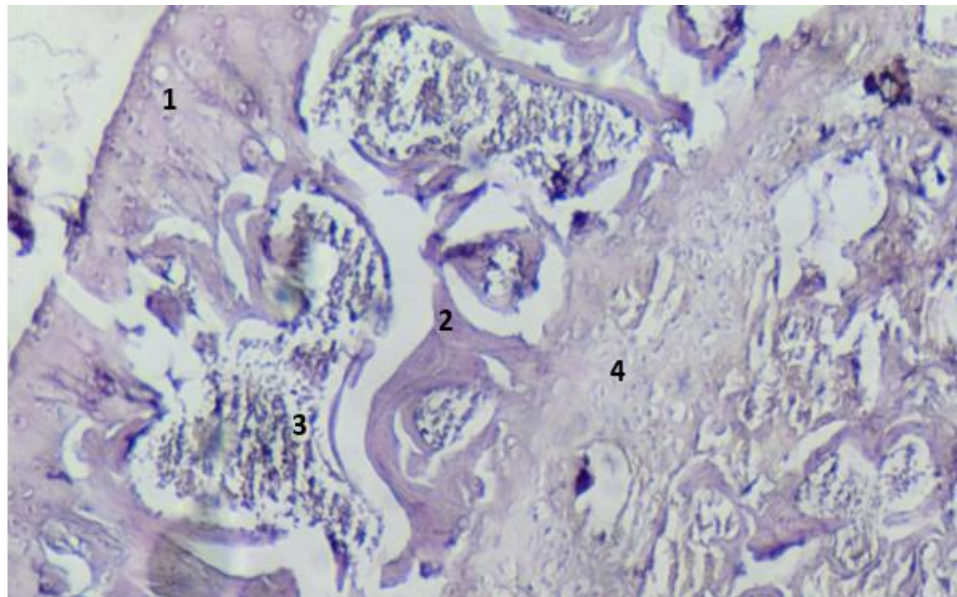


Рис. 4.7. Фрагмент епіфізу стегнової кістки щурів з холестазом, губчаста кістка: 1 – гіаліновий хрящ суглобової поверхні, 2 – кісткові балки, 3 – червоний кістковий мозок, 3 – хрящова епіфізарна пластинка. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

Остеоцити компакної кістки епіфізу розташовані в лакунах, які виглядають як маленькі овальні порожнини. В окремих ділянках відзначається запусіння лакун. Губчаста частина кістки збудована із кісткових балок (рис. 4.7, 4.8). Кісткові трабекули губчастої частини епіфізу у порівнянні з першою групою дещо тонші та містять меншу кількість остеобластів на своїй поверхні.

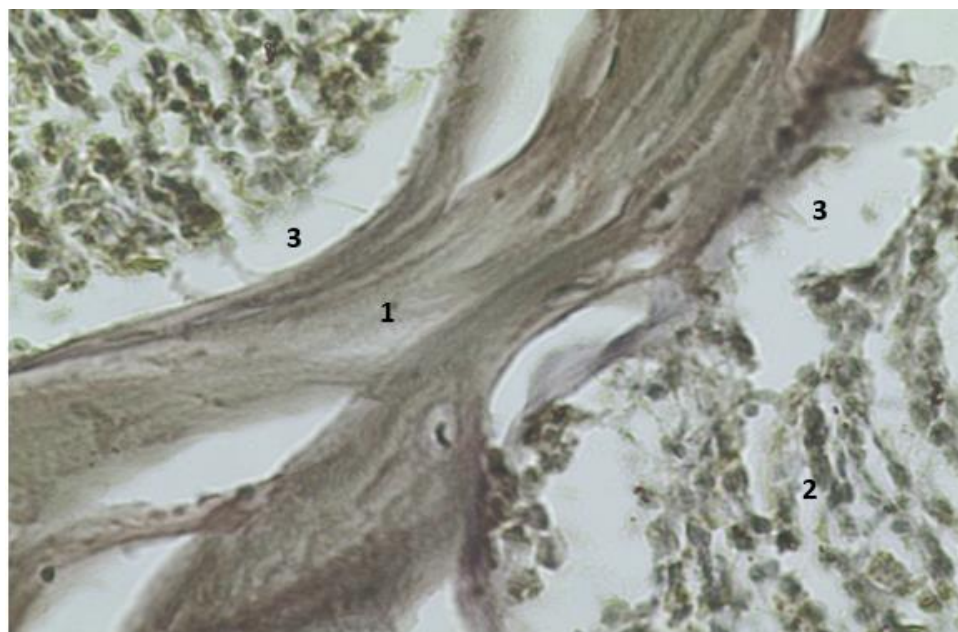


Рис. 4.8. Фрагмент губчастої частини епіфізу стегнової кістки тварин з холестазом: 1 – кісткові балки губчастої кістки, 2 – гемопоетичні клітини червоного кісткового мозку, 3 – жирові клітини «першої лінії». Забарвлення за Ван Гізоном. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

Між балками губчастої кістки знаходиться червоний кістковий мозок з невеликою кількістю жирових клітин яка незначно зростає у більш глибоких шарах. Так звана «перша лінія» жирових клітин вздовж кісткових балок місцями не утворюється. Кістковий мозок має нормальну клітинність у проміжках, які знаходяться одразу під суглобовою поверхнею (рис. 4.8). Ці проміжки останні, які утворилися за рахунок резорбції хряща і були заселені гемопоетичними клітинами. Кількість сполучнотканинних компонентів у структурах компакної та губчастої кістки залишаються тотожними до таких в інтактній групі.

Відповідно за станом періосту та хрящових поверхонь, товщиною кісткових балок і кількістю їх клітинних компонентів, можна припустити досить значний негативний вплив хронічного холестазу на морфологічні показники стегнової кістки щурів.

У тварин третьої групи (холестаз після профілактики) зберігається загальний план будови стегнової кістки, відповідний до попередніх груп. Кістка вкрита періостом, який має зовнішній фіброзний шар та внутрішній клітинний шар, що містить остеобласти (рис. 4.9). В діяфізі стегнової кістки щурів третьої групи звертає на себе увагу потовщення та збільшення щільності періосту у порівнянні зі зразками кістки щурів другої групи. Тобто на відміну від групи щурів з холестазом, в стегновій кістці щурів третьої групи можна припустити підвищену інтенсивність процесів живлення та регенерації.

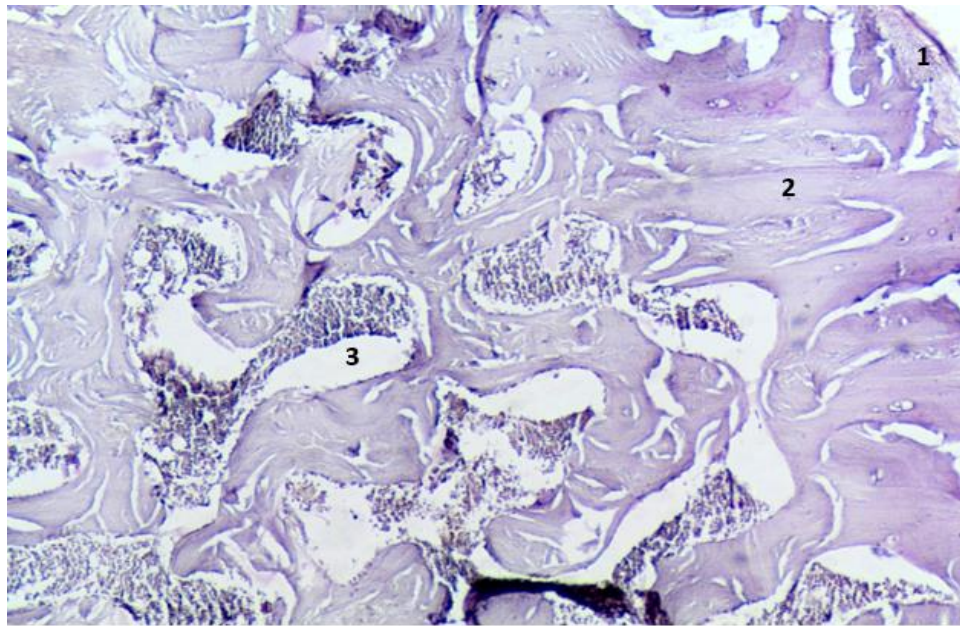


Рис. 4.9. Фрагмент діяфізу стегнової кістки щурів з холестазом після профілактики, поперечний зріз: 1. – періост, 2 – компактна кістка, 3 – кістковомозкова порожнина. Забарвлення гематоскиліном та еозином. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

Суглобова поверхня епіфізу сформована гіаліновим хрящем (рис. 4.10). Чітко виражені основна речовина, хондроцити та ізогенні групи хондроцитів. На відміну від щурів з холестазом, у даному випадку

поверхневий шар гіалінового хряща містить велику кількість хондробластів, що вказує на їх високу проліферативну активність (рис. 4.10).

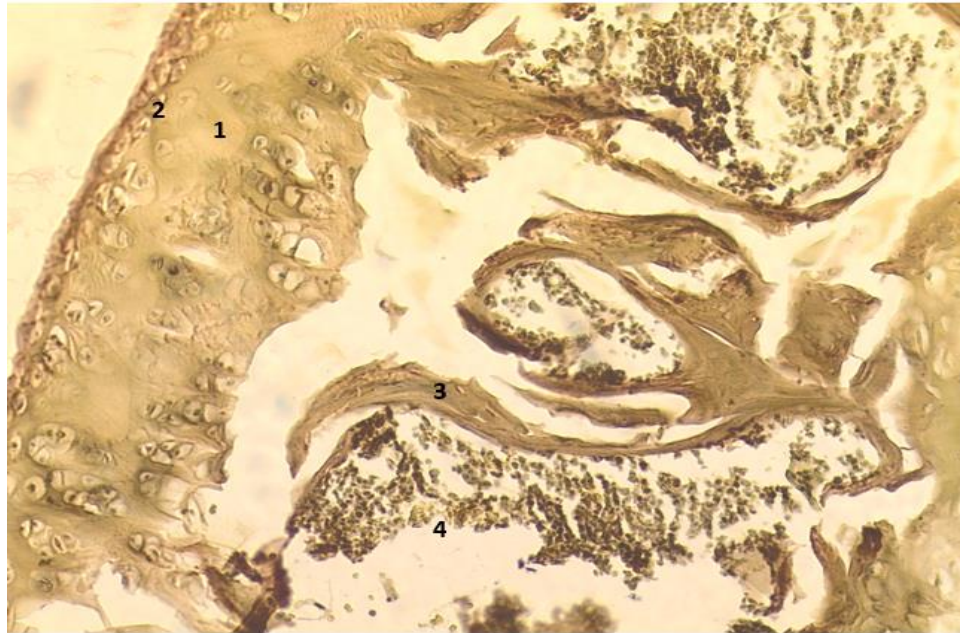


Рис. 4.10. Фрагмент епіфізу стегнової кістки щурів третьої групи, губчаста кістка: 1 – гіаліновий хрящ суглобової поверхні, 2 – активно проліферуючі хондробласти, 3 – кісткові балки, 4 – червоний кістковий мозок. Забарвлення за Ван-Гізоном. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

Забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном не виявляє розростання сполучнотканинного компоненту і збільшення його частки у кістці. Компактна частина кістки має типову будову.

Губчаста частина кістки також має характерну для неї будову, а саме систему кісткових балок, які утворюють проміжки для вмісту кісткового мозку. На відміну від щурів, яким моделювали хронічний холестаза, у тварин третьої групи, для яких додатково проводили профілактичні заходи, в епіфізі кістки помітне потовщення кісткових балок (рис. 4.11). Кожна балка має судину, яка живить клітини кістки. Ця судина на препаратах виглядає як щілина, яку вистилає один шар плоских клітин та незначна кількість колагенових волокон. На поверхні кісткових балок присутній тонкий шар сполучнотканинних волокон та остеобласти.

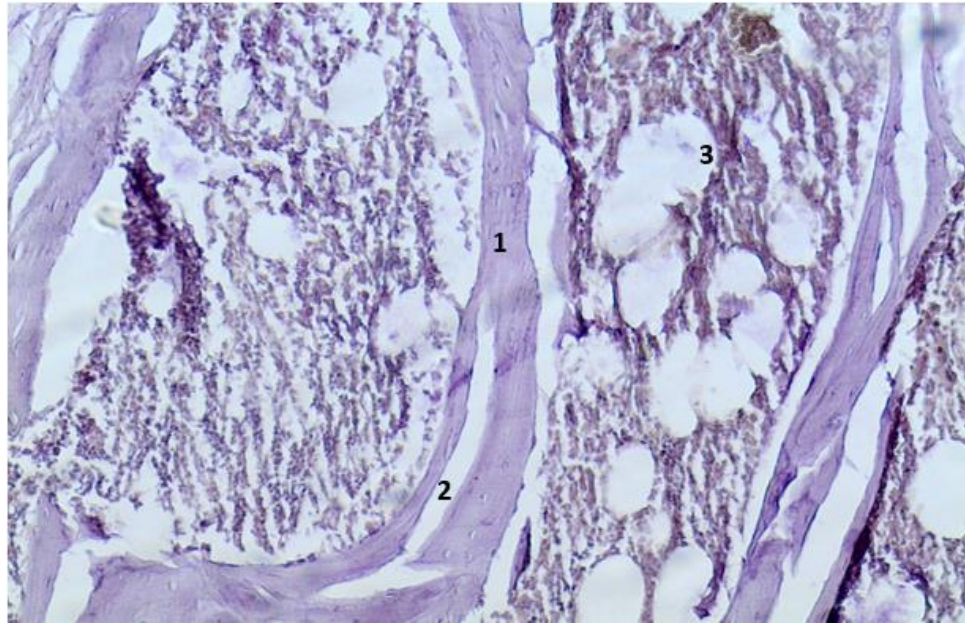


Рис. 4.11. Фрагмент губчастої частини епіфізу стегнової кістки тварин третьої експериментальної групи: 1 – кісткові балки губчастої кістки, 2 – щілини, що містять внутрішньокісткові судини, 3 – червоний кістковий мозок з жировими клітинами. Забарвлення гематоксиліном та еозіном. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

Червоний кістковий мозок заповнює проміжки між кістковими балками (рис. 4.11, 4.12).

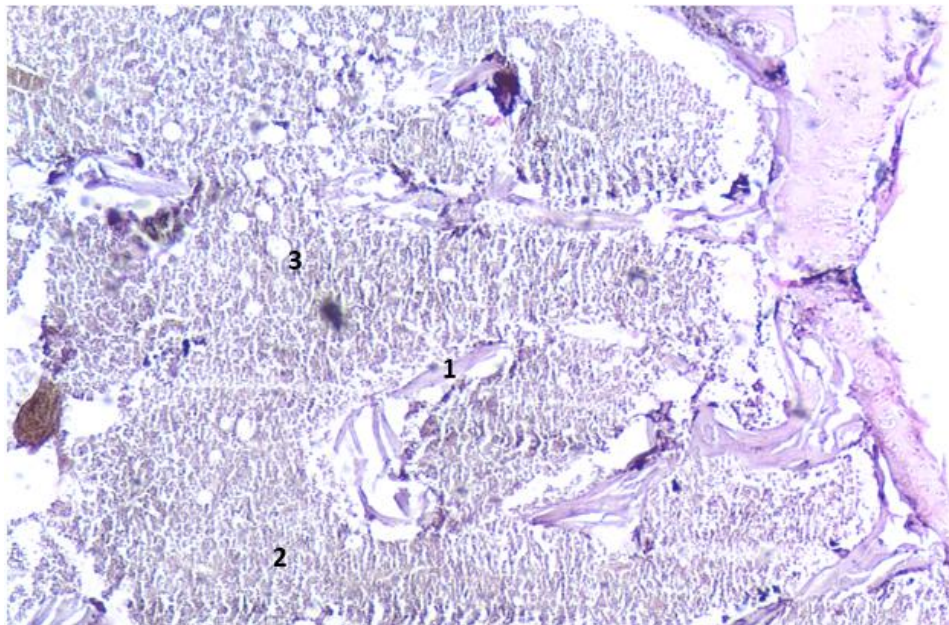


Рис. 4.12. Фрагмент губчастої частини епіфізу стегнової кістки тварин третьої експериментальної групи: 1 – кісткові балки губчастої кістки, 2 – збільшена клітинність червоного кісткового мозку, 3 – поодинокі жирові клітини. Забарвлення гематоксиліном та еозіном. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$. (фото автора)

Кількість жирових клітин у кістковому мозку місцями зменшена, вони не утворюють так звану «першу лінію», яка має прилягати до поверхні кісткових балок. Місцями кістковий мозок виглядає гіперпластичним за рахунок зменшення кількості жирових клітин або їх відсутності та збільшення гемопоетичних клітин (рис. 4.12).

Результати морфологічних досліджень підтверджують негативний вплив хронічного холестазу на стан стегнової кістки щурів. Проведення профілактичних дій з використанням гепатопротектора і сорбента дозволяє покращити стан всіх основних показників кісткової тканини.

Також проведено кількісну оцінку гістологічних змін в стегновій кістці щурів з холестазом та після профілактики (табл. 4.16). Як показано у таблиці, для епіфізу стегнової кістки щурів інтактної групи питомий об'єм кісткових балок є домінуючим над іншими елементами. На другому місці питомий об'єм кісткового мозку (32,7 % та 37,5 %, відповідно).

Таблиця 4.16

Морфометричні показники стегнової кістки щурів з холестазом та після профілактики

Морфометричні показники	Групи щурів		
	інтактна	хронічний холестаз	хронічний холестаз та профілактика
Питомий об'єм хряща суглобових поверхонь, %	29,8 ± 1,18	22,1 ± 0,71 p < 0,001	25,9 ± 1,03 p > 0,05 p ₁ < 0,01
Питомий об'єм кісткових балок, %	37,5 ± 1,12	49,9 ± 2,3 p < 0,001	34,1 ± 1,01 p > 0,05 p ₁ < 0,001
Питомий об'єм кісткового мозку, %	32,7 ± 0,90	28,0 ± 0,56 p < 0,001	40,0 ± 1,19 p < 0,001 p ₁ < 0,001
Середня кількість остеобластів кісткових балок на площі 100 мкм ²	7,1 ± 0,14	4,3 ± 0,12 p < 0,001	5,8 ± 0,12 p < 0,001 p ₁ < 0,001

Примітка. p – достовірність розбіжності показників порівняно з контрольною групою, p₁ – достовірність розбіжності показників порівняно з групою холестаз

Для стегнової кістки щурів з холестазом є притаманним переважання питомого об'єму кісткових балок (49,9 %). Слід зазначити, що в цьому випадку кісткові балки більш короткі та вузькі, в середині зустрічаються лакуни без остеобластів. Середня кількість остеобластів на балках майже в половину нижча від контрольних значень. Питомий об'єм кісткового мозку дещо нижчий у порівнянні із значеннями першої групи.

У щурів з холестазом після профілактики гепатопротектором і сорбентом спостерігаються найвищі показники питомого об'єму кісткового мозку (40,0 %). Питомий об'єм хрящових компонентів суглобових поверхонь та кісткових балок майже відповідає значенням контрольної групи. Слід звернути увагу, що в даному випадку кісткові балки найбільш товсті та видовжені, ніж у всіх попередніх випадках. Підвищена кількість остеобластів на одиницю площі кісткових балок може свідчити про активні процеси регенерації кістки.

Аналіз гістологічних даних вказує, що хронічний холестаз викликає досить виражені зміни як хрящової тканини епіфізів стегнової кістки, так і безпосередньо всіх основних компонентів кісткової тканини. Проведення профілактики гепатопротектором і сорбентом дозволяє значно покращити стан кісткової тканини за рахунок компонентів, що входять до складу: лецитину і кверцетину, які проявляють гепатопротекторні, антиоксидантні, протизапальні та жовчорозріджувальні властивості; інуліну, який володіє антидисбіотичною дією; кальцію і аскорбінової кислоти, які впливають на міцність кісткової тканини. Властивості сорбенту підтримують антитоксичну та антимікробну функцію печінки, що додатково покращує стан кісткової тканини. Профілактичний комплекс зберігав антимікробну функцію печінки, попереджував дисбіотичні та запальні процеси у слизових оболонках травного тракту, в результаті чого вдалося припинити порушення процесів ремоделювання в кістковій тканині щурів з патологією хронічного холестазу.

Слід зазначити, що всі щури були одного віку, тому зміни морфологічної та морфометричної картини кісткової тканини не пов'язані з

віковими особливостями, а є результатом дії модельованого холестазу та профілактичних засобів.

УЗАГАЛЬНЕННЯ. Моделювання хронічного холестазу у щурів призвело до виникнення таких же функціональних порушень у печінці, як і за розвитку токсичного гепатиту: запалення, посилення процесів перекисного окислення ліпідів, руйнування клітин і паренхіматозного ураження та порушення однієї з головних функцій печінки – антитоксичної. На нашу думку, саме зниження антитоксичної функції в умовах холестазу стало причиною розвитку запальних та дисбіотичних явищ у слизових оболонках порожнини рота, тонкої та товстої кишок. Крім того, встановленні розлади можуть бути пов'язані також із порушенням відтоку жовчі, яка володіє антимікробними властивостями та накопиченням токсичних жовчних кислот. Це також зумовлює розвиток запалення та посилення процесів вільнорадикального окислення, на тлі чого порушуються процеси всмоктування макро- і мікроелементів, жиророзчинних вітамінів (А, D, Е, К), які є необхідними для здійснення процесів ремоделювання кісткової тканини.

Можна припустити, що холестаза, також як і токсичний гепатит, викликав зниження всмоктування та засвоєння кальцію у слизовій оболонці тонкої кишки, а розвиток запалення та дисбіозу призвели до підвищення проникності стінки тонкої кишки. У свою чергу, дефіцит кальцію, який був підтверджений зменшенням його рівня у крові щурів з холестазом, ініціював посилення резорбції кісткової тканини, про що свідчило підвищення активності кісткової кислоти фосфатази та зниження рівня кальцію в щелепах та стегнових кістках хворих на холестаза щурів. Поряд зі руйнуванням гідроксиапатиту – мінерального компоненту кісткової тканини на тлі холестазу, посилювався гідроліз органічної частки кісткової тканини тварин за участю кісткової еластази, активність якої була збільшена в кістковій тканині обох досліджуваних кісток.

Гістологічний аналіз підтверджує, що хронічний холестаза викликає виражені зміни як хрящової тканині епіфізів стегнової кістки (зменшує питомий об'єм хряща суглобових поверхонь), так і основних компонентів кісткової тканини (знижує питомий об'єм кісткового мозку та кількість остеобластів на тлі збільшення питомого об'єму кісткових балок).

Результати дослідження, які наведено у цьому розділі, підтверджують, що додатковим механізмом патогенезу печінкової остеодистрофії, крім відомих факторів, є розвиток дисбіотичних та запальних явищ у травному тракті, а саме у тонкій кишці, які були індуковані утрудненням відтоку жовчі, пошкодженням печінки та зниженням її антитоксичної функції при холестазі.

Застосування гепатопротектора і сорбента ефективно усувало встановлені порушення у печінці, слизових оболонках травного тракту та кістковій тканині щурів на тлі розвитку патології холестазу. Ефективність даного комплексу проявилася завдяки його компонентам: лецитину і кверцетину, які володіють гепатопротекторними, антиоксидантними, протизапальними та жовчорозріджувальними властивостями, антидисбіотичною дією інуліну, позитивним ефектам кальцію та аскорбінової кислоти на кісткову тканину, що у поєднанні з сорбентом дозволило зберегти антитоксичну функцію печінки та підтримати її метаболічні функції в межах норми, в результаті – попередити дисбіотичні та запальні процеси у слизових оболонках травного тракту, і, як наслідок, нормалізувати процеси ремоделювання в кістковій тканині тварин з холестазом. Проведені дослідження можуть слугувати рекомендацією до застосування запропонованого профілактичного комплексу у клініці профілактики холестазу та його негативних наслідків у слизових оболонках травного тракту і кістковій тканині.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

На сьогодні патологія гепатобіліарної системи (ГБС) залишається досить серйозною соціально-економічною проблемою охорони здоров'я в усьому світі та посідає значне місце в структурі загальносоматичної патології. В Україні та світі відзначається неухильне зростання випадків захворювань печінки та жовчного міхура: кількість хворих із різними проблемами гепатобіліарної системи перевищує 2 млрд осіб. У наш час серед хвороб ГБС хронічні гепатити та захворювання біліарного тракту посідають одне з провідних місць в усьому світі [75, 96, 104].

Останнім часом увага приділяється впливу патології гепатобіліарної системи на процеси регенерації в кістковій тканині. Це пов'язане перш за все з важливістю того, що печінка виконує безліч функцій і визначає стан усіх органів і систем, у тому числі і кісткової системи [128]. В умовах хронічної патології печінки або жовчного міхура порушується стан кісткової системи, що спричиняє розвиток печінкової остеодистрофії, на яку хворіє 40-75 % пацієнтів. Печінка забезпечує нормальне функціонування організму завдяки підтриманню захисних систем на належному рівні та впливу на метаболізм кісткової тканини [107, 150].

Хоча у патогенезі розвитку печінкової остеодистрофії виділяють безліч факторів ризику, механізм розвитку метаболічних порушень у кістковій системі в умовах патології печінки і жовчного міхура до кінця не з'ясований. Наразі розвиток порушень у кістковій системі при патології ГБС пов'язують із декількома факторами: перш за все, це мальабсорбція кальцію і вітаміну D, дефіцит вітаміну K₂, шкідливий вплив гіпербілірубінемії, дисбаланс продукції цитокінів. Вагоме значення має і жовч, адже зниження виділення у кишечник жовчних кислот призводить до недостатнього надходження в організм макро- і мікроелементів, білків, жиророзчинних вітамінів (A, D, E, K) та інших речовин, які необхідні для будови та регенерації кісткової

системи [122, 166]. Також існують відомості про взаємозв'язок між порушенням антимікробної функції печінки та розвитком дисбіозу у кишечнику [48, 88, 184].

Ці відомості дають підставу припустити, що розвиток запалення та посилення мікробної контамінації у тонкій кишці, де головним чином відбувається всмоктування поживних речовин, при наявності патології печінки і жовчного міхура, призведе до порушення всмокування макро- і мікроелементів, жиророзчинних вітамінів (А, D, Е, К), дефіцит яких спричинить дистрофію кісткової тканини. Більш точне знання патогенезу печінкової остеодистрофії дозволить обґрунтувати склад лікувально-профілактичних засобів, які будуть здатні впливати на різні патогенетичні ланки формування хвороб ГБС та ефективно усувати розлади в травній та кістковій системах.

Тому метою роботи стало експериментальне дослідження ролі дисбіозу у розвитку остеодистрофії у лабораторних щурів з гепатобіліарною патологією та обґрунтування патогенетичної схеми профілактики встановлених порушень.

Для реалізації мети і виконання завдань дослідження було проведено три серії експериментів на лабораторних щурах. Під час досліджень щурів утримували згідно правил роботи з експериментальними тваринами.

Завданням першого етапу роботи, на якому моделювали токсичний гепатит у щурів шляхом введення гідразинсульфату у дозі 50 мг/кг два рази на тиждень протягом місяця, було з'ясування впливу порушень функції печінки на стан слизовій оболонки тонкої кишки за показниками запалення, контамінації умовно-патогенними бактеріями, антимікробного фактора та ступеня дисбіозу.

Введення щурам гідразинсульфату протягом місяця призвело до формування у них токсичного гепатиту, що підтвердилось зростанням у печінці активності еластази на 31,9 % та кислої фосфатази у 2,8 рази, а також достовірним підвищенням рівня досліджуваних «печінкових» маркерів у

сироватці крові: активності аланінамінотрансферази – на 85,0 %, вмісту білірубіна – на 40,0 % та активності лужної фосфатази – у 4 рази.

Токсичний гепатит спричинив розвиток запалення у слизовій оболонці тонкої кишки щурів: зростання активності еластази на 38,6 % та кислій фосфатази на 36,4 %, активацію перекисного окиснення ліпідів (зростання місту малонового діальдегіду на 31,1 %), зменшення неспецифічного антимікробного захисту (зниження активності лізоциму на 27,6 %). Результатом цих порушень, на нашу думку, стало підвищення активності уреазі на 43,0 % та ступеня дисбіозу– удвічі в цьому відділі травного тракту.

Встановлені на першому етапі порушення у печінці та тонкій кишці щурів вказують на те, що під впливом гепатотоксиканта гідразина відбувається зниження антимікробної функції печінки, наслідком чого стало підвищення контамінації умовно-патогенною мікробіотою та розвиток дисбіозу у слизовій оболонці тонкої кишки.

Отримані нами результати підтверджують дослідження інших авторів щодо взаємозв'язку між якісним складом кишкової мікробіоти і захворюваннями печінки. Так, зокрема дослідження А. Sobhonslidsuk з співавт. показали надлишковий ріст чисельності умовно-патогенної кишкової мікробіоти у групі пацієнтів з неалкогольним стеатогепатитом [195]. В іншій роботі встановлено, що у 59,2 % хворих на хронічний гепатит С в наявності спостерігається дисбіоз кишечника [112].

Внаслідок виникнення запалення та дисбіозу у тонкій кишці буде погіршуватися гідроліз та всмоктування поживних речовин, дефіцит яких може призвести до дистрофічних змін у тканинах організму, зокрема у кістковій. Тому завданням наступного етапу роботи було проведення ретельніших досліджень у травному тракті та кістковій тканині щурів з токсичним гепатитом: всмоктування кальцію та амінокислот, ступеня засвоєння кальцію, проникності епітелію стінки тонкої кишки, маркерів запалення та дисбіозу у слизових оболонках порожнини рота, тонкої та товстої кишки, морфометричних і біохімічних показників кісток.

Патологію хронічного токсичного гепатиту у щурів відтворювали введенням гідразинсульфату у дозі 50 мг/кг двічі на тиждень протягом трьох місяців. Тривалість цієї серії досліджень було збільшено до трьох місяців, оскільки повний цикл ремоделювання кісткової тканини у щурів складає у середньому 30-35 днів, в залежності від віку та якості кісткової тканини [116]. Тому зміни у структурі кісткової тканини можна зареєструвати через три повних цикли ремоделювання. Дослідження другої серії провели на самцях і самках щурів.

Аналіз периферичної крові тварин виявив негативний вплив гепатиту на показники її клітинного складу як у групі самців, так і у групі самок. Так, розвиток хронічного токсичного гепатиту знижував кількість еритроцитів, тромбоцитів та рівень гемоглобіну, що може свідчити про порушення кровотворної та згортаючої функції печінки, а також підвищував кількість лейкоцитів, що вказує на ознаки запалення. Причиною таких порушень у периферичній крові імовірно є хронічне отруєння гідрaziном.

Біохімічні дослідження сироватки крові щурів з токсичним гепатитом встановили наявність запалення та пошкодження печінки. Так, у групі самців з хронічним токсичним гепатитом було виявлено зростання активності аланінамінотрансферази на 31,1 %, лужної фосфатази на 66,7 %, еластази на 37,5 %, рівня білірубину на 18,3 %, тоді як у групі самок активність аланінамінотрансферази зростала на 22,4 %, лужної фосфатази на 93,7 %, еластази на 53,8 % та рівня білірубину 14,7 %. На тлі хронічного токсичного гепатиту нами також було встановлено зниження у сироватці крові вмісту кальція: у групі самців щурів – на 15,6 %, та на 13,1 % у групі самок. Так, проведені аналізи сироватки крові переконливо довели наявність паренхіматозного пошкодження печінки, тобто хронічного токсичного гепатиту у щурів після введення протягом трьох місяців гідразинсульфату.

Визначення стану печінки щурів із хронічним гепатитом за біохімічними показниками підтвердили наявність запалення (за активністю еластази та кислої фосфатази), активації перекисного окиснення ліпідів (за

вмістом МДА), а також зниження антитоксичної функції печінки за збільшенням активності уреаз. Ступінь прояву запалення, перекисних процесів та інтоксикації у печінці був більш вираженим у самців з гепатитом, що демонструє рисунок 5.1.

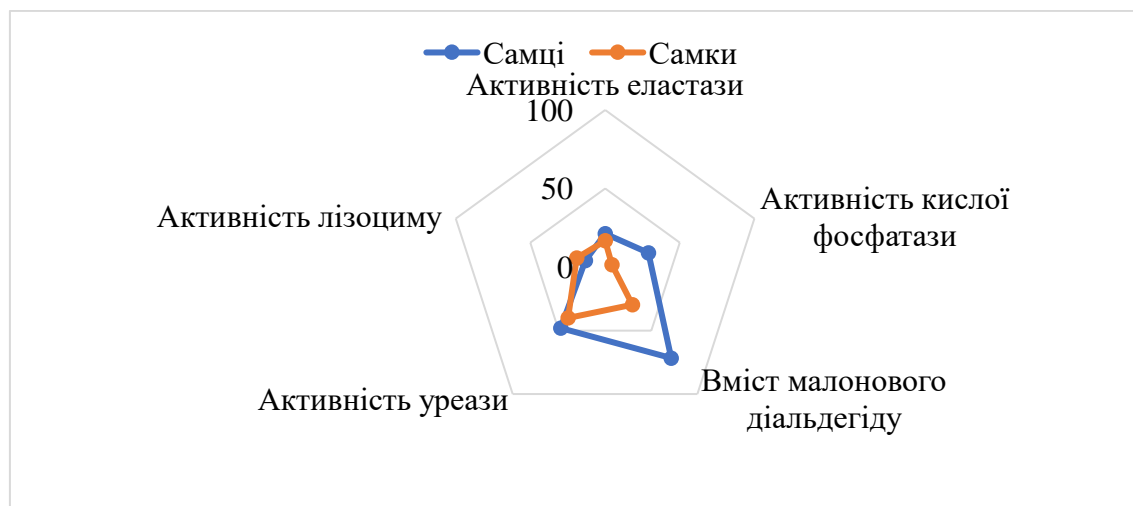


Рис. 5.1. Зміни показників печінки самців та самок щурів з хронічним токсичним гепатитом, % від норми

Менш значне пошкодження печінки самок щурів, ймовірно, відбувалась за рахунок захисної дії естрогенів. Відомо про вплив естрогенів на метаболічні, транспортні, секреторні процеси в організмі, що реалізуються через ядерні рецептори двох типів – ESR1 (α) та ESR2 (β), які експресуються, зокрема, у печінці [177]. Доведено, що стероїдні гормони є інгібіторами ПОЛ, причому естрогени, на відміну від андрогенів, володіють вираженою антиокислювальною активністю [83].

Дослідження [135] показали, що оваріоектомія, а значить і дефіцит естрогенів, у щурів з фіброзом печінки призводила до посилення запального процесу і окисного стресу у сироватці та печінці тварин. Про антиоксидантний механізм захисту естрогену свідчать також дослідження [51], які доводять виражену захисну реакцію антиоксидантної системи у самиць препубертантного періоду.

У інших роботах [130, 131] було відмічено, що естрадіол та його похідні є сильними ендогенними антиоксидантами, які знижують рівень

перекисів ліпідів у печінці і сироватці крові щурів, пригнічують утворення активних форм кисню, а також втрату активності супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази гепатоцитів щурів, імовірно, за рахунок індукції антиоксидантних ферментів. I. Shimizu et al. [144].також вказують на захисний вплив естрогенів в умовах хронічного гепатиту В.

Моделювання хронічного токсичного гепатиту викликало розвиток запалення у тканинах ясен щурів, що підтвердили зростанням активності еластази (у самців на 25,8 %, у самок на 21,9 %), активності кислої фосфатази (у самців на 45,7 %, у самок на 47,0 %), а також інтенсифікацією процесів перекисного окиснення ліпідів, про що свідчило зростання рівня малонового діальдегіду у самців на 45,3 % та у самок на 48,0 %. Тобто ці параметри змінювалися при гепатиті у яснах тварин однаково у самців та самок (рис. 5.2).

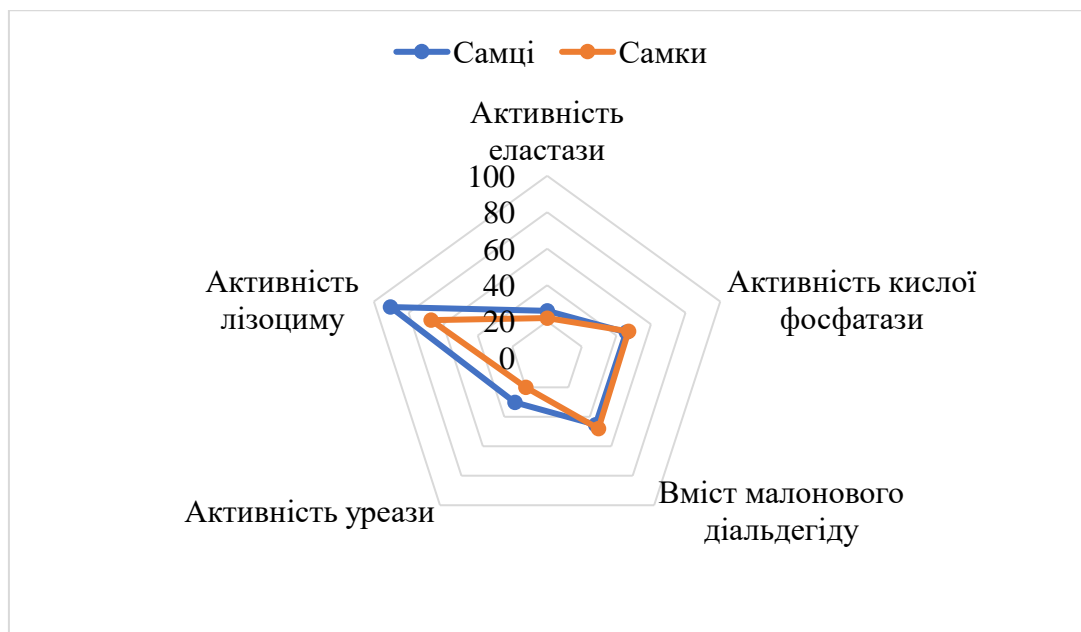


Рис. 5.2. Зміни показників ясен самців та самок щурів з хронічним токсичним гепатитом, % від норми

При цьому активність лізоциму та уреазы у яснах тварин з гепатитом більш суттєво змінювалася у самців. Так, антимікробний фактор (активність лізоциму) зменшився у яснах самців на 90,4 %, а в яснах самок – на 67,0 %. Підвищення активності уреазы склало 30,2 % у самців і 20,0 % у самок (рис. 5.2). У результаті ступінь дисбіозу в тканинах ясен за розвитку гепатиту досить високо зростав у самців – у 10,5 раза, тоді як у самок лише у 3,6 раза.

Отже, стан ясен щурів з хронічним токсичним гепатитом вказує на розвиток запалення та посилення перекисного окиснення ліпідів, однакових за інтенсивністю у самців та самок. Але розвиток дисбіозу у порожнині рота тварин з гепатитом більш значно було виражено у самців.

У слизовій оболонці тонкої кишки щурів хронічний токсичний гепатит призвів до запалення та посилення перекисного окиснення ліпідів, яке було більш виражене у самців: активність еластази, кислотої фосфатази і вміст малонового діальдегіду зростали на 39,0 %, 29,0 % і 41,8 %, відповідно, тоді як у тонкій кишці хворих самок активність еластази зросла на 27,6 %, вміст малонового діальдегіду на 27,8 %, а активність кислотої фосфатази на 1,7 % (рис. 5.3).

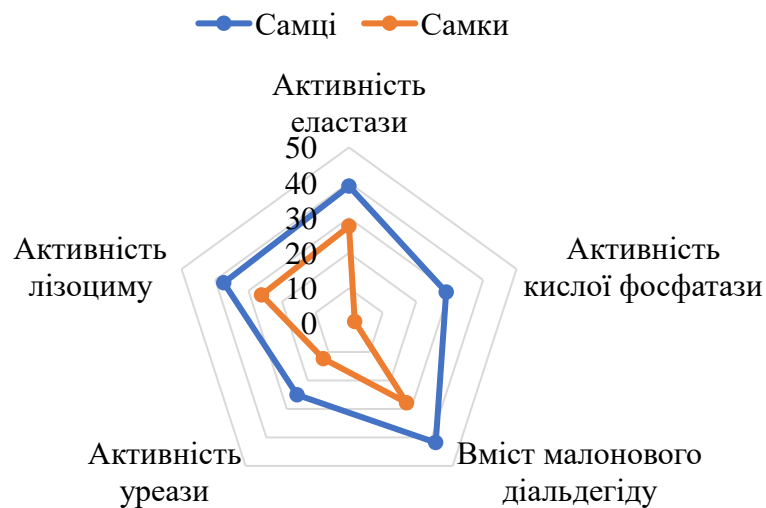


Рис. 5.3 Зміни показників слизової оболонки тонкої кишки щурів з хронічним токсичним гепатитом, % від норми

Зростання активності уреазу на тлі зменшення активності лізоциму у слизовій оболонці тонкої кишки щурів з хронічним гепатитом також більш значне відбувалося у самців. Внаслідок ступінь дисбіозу у тонкій кишці самців з гепатитом зростав у 2 рази, тоді як у самок у 1,4 рази (рис. 5.3).

Результатом запальних та дисбіотичних явищ у слизовій оболонці тонкої кишки щурів з гепатитом, на нашу думку, стало збільшення у 2,4-3,5 рази проникності епітелію стінки тонкої кишки, більш виражене у самців.

Крім того, порушення у цьому відділі травного тракту щурів призвели до зниження всмоктування кальцію на 34,5 %, хоча і не впливали на абсорбцію амінокислот. Незважаючи на те, що у щурів з гепатитом компенсаторно знижувалась екскреція кальцію з сечею у 1,8 раза, а його виведення з калом зростало у 1,5 раза, загальне засвоєння кальцію в умовах хронічного токсичного гепатиту у щурів було знижене на 24,2 %. Наслідком гальмування абсорбції кальцію у тонкій кишці та зниження його засвоєння у щурів з токсичним гепатитом стало зменшення рівня цього елемента у крові з $2,24 \pm 0,10$ до $1,91 \pm 0,05$ ммоль/л.

Хронічний токсичний гепатит спричиняв порушення у слизовій оболонці товстої кишки аналогічні тим, що відбувались у тонкій кишці. Розвиток запалення (активність кислої фосфатази та вміст малонового діальдегіду), зниження антимікробного захисту (активність лізоциму), посилення контамінації умовно-патогенною мікробіотою (активність уреаз), збільшення ступеня дисбіозу товстої кишки в умовах гепатиту більш значно були виражені у самців (рис.5.4).

Окремо необхідно звернути увагу на різну вираженість розвитку ступеню дисбіозу у слизових оболонках травного тракту самок і самців щурів з хронічним токсичним гепатитом. Як вказано на рис. 5.5, більш суттєвий дисбіоз в умовах гепатиту розвивався у порожнині рота, тонкій та товстій кишці самців.

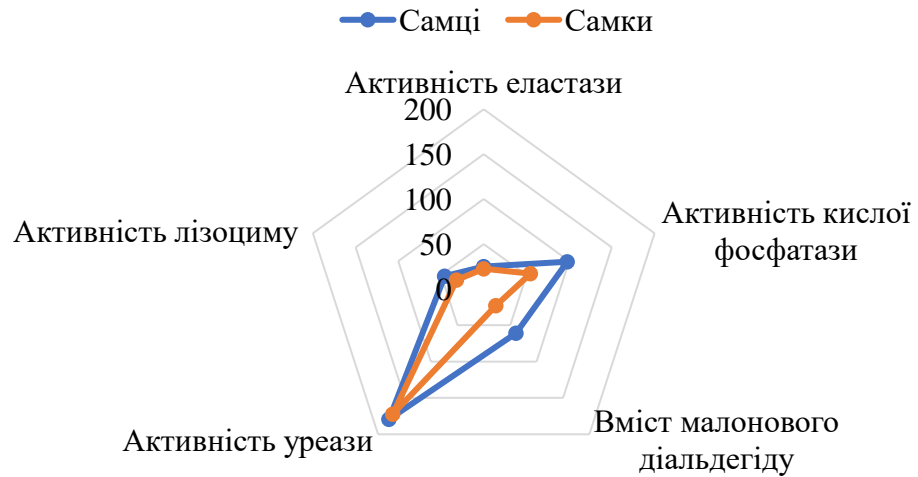


Рис. 5.4 Зміни показників слизової оболонки товстої кишки у щурів з хронічним токсичним гепатитом, % від норми

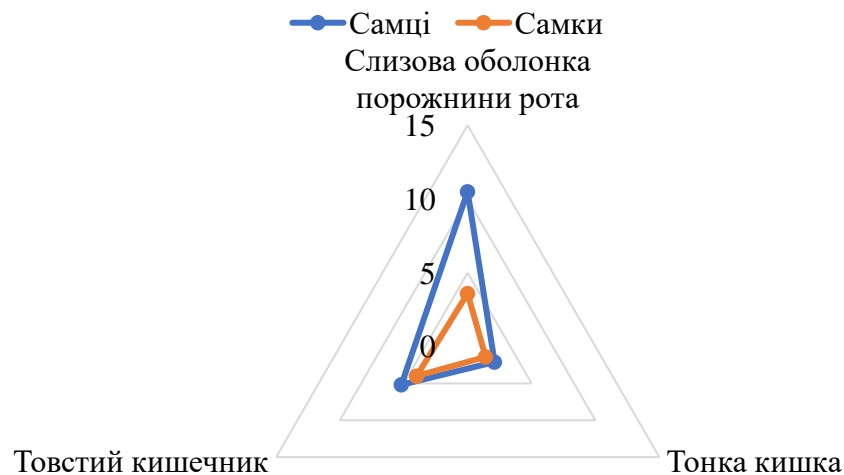


Рис. 5.5 Збільшення ступеню дисбіозу у травному тракті самок і самців щурів з хронічним токсичним гепатитом, рази

Хронічний токсичний гепатит викликав різноспрямовані порушення у кістках самок і самців за морфометричними та біохімічними показниками. Моделювання патології не впливало на каріозний процес у тварин обох статей. При цьому у самців встановлено посилення резорбції кісткової

тканини різних кісток. Так, зареєстровано збільшення ступеню атрофії альвеолярного відростку щелеп на 24,7 %, а також тенденція до зменшення щільності поперекових хребців і зниження щільності стінки діафізу їх стегнових кісток завдяки зменшенню мінеральної частки кісткової тканини. Біохімічний аналіз кісткової тканини самців з гепатитом підтвердив руйнування гідроксиапатиту під впливом кісткової кислої фосфатази, активність якої збільшувалась на 93,7 % в альвеолярній кістці та на 88,3 % у стегновій. У результаті активації кісткової кислої фосфатази та зменшення індексу ЛФ/КФ, вміст кальцію у кістках самців з гепатитом був знижений у альвеолярному відростку – на 18,3 %, а в стегновій кістці – на 16,9 %. Активність еластази, а значить і гідроліз білкової матриці кістки, у зазначених кістках істотно не змінювалися. Таким чином, у самців в умовах хронічного токсичного гепатиту більш виражене руйнування мінеральної частки (гідроксиапатиту) кісткової тканини.

Моделювання патології у самок призвело до протилежних змін у їх кістковій тканині. Стан щелеп самок з гепатитом не змінився, а щільність поперекових хребців, великих гомілкових, стегнових кісток та їх епіфізу збільшилась завдяки зростанню мінеральної на тлі зменшення органічної частки кісткової тканини. Збільшення щільності кісток у самок можна пояснити підвищенням активності кісткової лужної фосфатази (маркеру остеобластів) та мінералізуючого індексу (у альвеолярному відростку на 22,1 % та у стегновій кістці на 29,3 %). При цьому у кістковій тканині самок з патологією встановлено інтенсивне руйнування органічної матриці під впливом кісткової еластази, яка зростала у альвеолярній кістці на 39,8 %, а у стегновій – на 31,2 %.

Взагалі можна вважати, що хронічний токсичний гепатит у самок викликає інтенсивне руйнування органічної матриці кісткової тканини під впливом кісткової еластази, компенсаторне підвищення остеогенезу за участю кісткової лужної фосфатази, чим можна пояснити підвищення щільності хребців у цієї статі при патології. А у самців гепатит призводить до

руйнування гідроксиапатиту під впливом кісткової кислої фосфатази, зниження вмісту кальцію, результатом чого стало збільшення атрофії альвеолярної кістки щелеп, а також деякого зниження мінеральної частки кісткової тканини і щільності всіх кісток. Встановлені закономірності дозволяють стверджувати про негативний вплив гепатиту на стан кісткової тканини щурів з компенсаторною участю естрогенів, які, як відомо, уповільнюють швидкість ремоделювання кісткової тканини і запобігають патологічній резорбції [69].

Численні дослідження повідомляють про захисний вплив естрогенів на кісткову тканину за рахунок їх прямої дії через специфічні рецептори (альфа і бета), зв'язуючись з якими естрогени пригнічують кісткову резорбцію. Тому в умовах дефіциту естрогенів кісткова резорбція посилюється [141]. Т. Nakamura et al. [136] на мишах-самицях довели остеопротекторний ефект естрогенів завдяки присутнім у кістковій тканині альфа-рецепторам естрогена. Делеція рецепторів, зокрема бета-рецептору у самок і самців мишей призводить до зниження метаболізму кісткової тканини і збільшенню об'єму трабекулярної кістки саме у самок, а не у самців [127]. Деякі дослідження [145] також підтверджують, що самки мишей з відсутнім альфа-рецептором естрогена в остеобластах втрачають кісткову масу і міцність кісток. Y. Imai et al [139] на мишах з видаленим геном естрогенового рецептора альфа, специфічного для остеокластів, довели, що естрогени *in vivo* напряду регулюють тривалість життя зрілих остеокластів, індукуючи експресію проапоптичного ліганда FasL. Інгібуючу дію естрогенів на функцію остеокластів автори доказали і *in vitro*.

Крім того, дефіцит естрогенів знижує активність остеобластів, підвищує чутливість кісткових клітин до дії паратиреоїдного гормону та прорезорбтивних інтерлейкінів (ІЛ): ІЛ-1, ІЛ-6 і ІЛ-11, що спричинює прискорення процесів кісткового ремоделювання [9, 165].

В літературі описані також і непрямі ефекти естрогену на кісткову тканину, такі як модуляція продукції цитокінів імунними клітинами та

підвищена індукція гормонів гіпофіза. Дослідження *in vitro* і *in vivo* показують, що естроген пригнічує вироблення RANKL остеобластами, Т- і В-клітинами, а також збільшує вироблення рецептора-приманки для RANKL, остеопротегерина (OPG) [137, 183].

Опосередковано естрогени впливають на кісткову тканину через кальцієвий гомеостаз шляхом зниження чутливості кісткової тканини до дії паратиреоїдного гормону, а також стимуляції синтезу кальцитоніну і кальцитріолу [70, 160].

Таким чином, отримані результати другого етапу дослідження підтверджують наше припущення, що зниження антимікробної функції печінки при гепатиті веде до розвитку дисбіотичних явищ, запалення, інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів у слизових оболонках травного тракту, зокрема тонкої кишки тварин. У результаті цих патологічних змін спостерігається підвищення проникності епітелію стінок тонкої кишки, зниження всмоктування кальцію, недостатність його засвоєння у травному тракті та суттєве зменшення у крові. Останнє викликає активацію резорбції кісткової тканини у щурів з гепатитом, що підтвердилося підвищенням активності кісткової кислої фосфатази та зниженням рівня кальцію в кістковій тканині. Більш значно процес резорбції був виражений у самців: збільшення резорбції альвеолярної кістки щелеп, тенденція до зниження мінеральної частки кісткової тканини і щільності стегнових, великих гомілкових кісток, поперекових хребців, а також епіфізу та діафізу стегнових кісток.

Взагалі, більш активні процеси запалення та дисбіозу у травній системі самців, а саме у тонкій кишці, викликають інтенсифікацію руйнування гідроксиапатиту та порушують мінералізацію кісткової тканини. Менший ступень розвитку дисбіозу у травному тракті самок з гепатитом, завдяки компенсаторній ролі естрогенів у процесах ремоделювання кісткової тканини, ведуть до підвищення її мінералізації на тлі руйнування органічної частки (рис. 5.6).

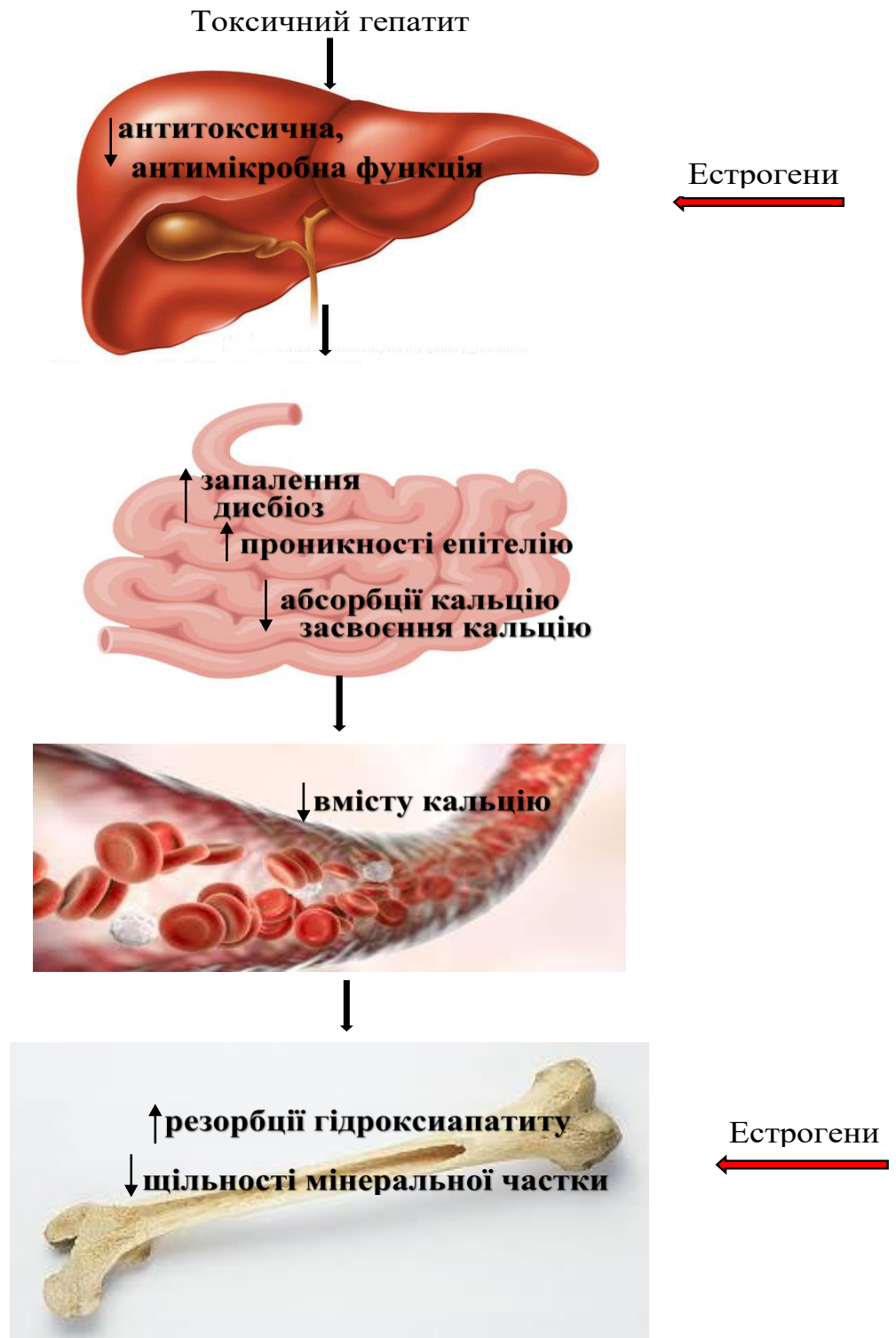


Рис. 5.6 Роль дисбіозу у розвитку печінкової остеодистрофії та захисна дія естрогенів

Метою третього етапу роботи було дослідження ефективності профілактики порушень у кістковій та травній системі щурів із патологією

хронічного холестазу, яка негативно впливає на стан печінки та має дуже широке розповсюдження серед населення. Склад профілактичного комплексу обґрунтований встановленими у попередньому експерименті порушеннями у щурів з гепатитом. Основою комплексу був гепатопротектор, який завдяки його компонентам (лецитину, кверцетину, інуліну, кальцію, аскорбінової кислоти) має виражені гепатопротекторні, антидисбіотичні і протизапальні властивості [58]. Крім того, порушення антитоксичної та антимікробної функції печінки при пошкодженні гепатоцитів диктує необхідність застосування сорбентів. Тому до профілактичного комплексу додали сорбент. Моделювання патології холестазу було проведено на самцях щурів шляхом перев'язки жовчної протоки. Профілактичний комплекс вводили щурам щоденно перорально з 3-ого дня моделювання патології протягом 4 місяців.

Тривалий холестаз чинив негативний вплив на стан печінки. Так, встановлено збільшення органного індексу печінки у щурів на 23,5 %. У сироватці крові щурів з холестазом зареєстровано зменшення активності аланінамінотрансферази на 30,8 %, збільшення активності еластази на 42,0 % та лужної фосфатази на 43,6 %, а також зростання вмісту тригліцеридів на 62,5 %, зменшення вмісту холестерина на 18,2 % та вмісту кальція на 6,9 %. Перев'язка жовчної протоки індукувала у тканині печінки щурів розвиток запалення (підвищення активності еластази на 24,5 %, кислої фосфатази на 29,8 %), перекисного окиснення ліпідів (зростання рівня МДА на 36,8 %, зниження антиоксидантно-прооксидантного індексу у 3 рази), зниження антитоксичної функції (збільшення більше ніж у два рази активності уреаз). Отримані результати вказують на суттєве ушкодження гепатоцитів, наявність холестазу, запалення та набряк печінки внаслідок тривалої обтурації жовчної протоки.

Наявні порушення у печінці щурів з хронічним холестазом знижували її антитоксичну та антимікробну функцію, що чинило негативний вплив на стан слизових оболонок травного тракту дослідних тварин. Так, холестаз

призводив до розвитку запалення у травному тракті щурів: зростання активності кислої фосфатази на 19,5 % у СОПР, на 19,3 % у тонкій кишці і на 45,6 % у товстій кишці та активності еластази на 28,4 %, 41,1 % і 33,0 %, відповідно. Встановлено також зниження антиоксидантного захисту: зменшення активності каталази у СОПР на 7,8 %, у тонкій кишці на 32,1 %, у товстій кишці на 6,5 % та посилення перекисного окиснення ліпідів (зростання вмісту МДА на 55,8 %, 63,4 % і 127,1 %, відповідно).

Хронічний холестаза викликав зниження антимікробного захисту та посилення контамінації умовно-патогеними бактеріями слизових оболонок травного тракту: зростання активності уреазу у СОПР на 58,2 %, у тонкій кишці на 92,3 % та у товстої кишці у 1,4 раза на тлі зниження активності лізоциму у СОПР на 70,6 %, у тонкій кишці на 44,5 % та товстій кишці на 55,2 %. Ступінь дисбіозу збільшився в СОПР у 5,5 раза, у тонкій та товстій кишці у 3,4 і 3,2 раза, відповідно.

У кістковій тканині альвеолярного відростку і стегновій кістці щурів хронічний холестаза призвів також до суттєвих порушень: руйнування білкової матриці за активацією еластази на 37,0 % у альвеолярному відростку і на 56,5 % у стегновій кістці, посилення гідролізу гідроксиapatиту за дією кислої фосфатази, активність якої збільшувалася на 58,4 % у альвеолярному відростку і на 60,3 % у стегновій кістці, порушення кісткоутворення – зниження маркеру остеогенезу (активності лужної фосфатази у альвеолярному відростку на 26,5 % та у стегновій кістці на 42,2 %), а також зменшення вмісту кальцію на 42,6 % у альвеолярному відростку і на 20,2 % у стегновій кістці. Про зрушення процесів ремоделювання у бік активації резорбції кісткової тканини у щурів з хронічним холестазом свідчило і зменшення мінералізуючого індексу (ЛФ/КФ) у альвеолярному відростку на 53,7 % та у стегновій кістці – на 64,0 %.

Гістологічний аналіз підтвердив зміни як хрящової тканини епіфізів стегнової кістки (зменшення питомого об'єму хряща суглобових поверхонь на 25,8 %), так і основних компонентів кісткової тканини (зниження

питомого об'єму кісткового мозку на 14,4 % та кількості остеобластів на 39,4 % на тлі збільшення питомого об'єму кісткових балок на 33,1 %) у щурів з хронічним холестазом.

Таким чином, отримані результати показали, що патологія тривалого холестазу викликає такі ж зміни у печінці, слизових оболонках травного тракту і, як наслідок, у кістковій тканині тварин, як і при токсичному пошкодженні печінки.

Введення профілактичного комплексу гепатопротектора і сорбента ефективно попереджувало прояви запалення та активації пероксидації ліпідів, сприяло зберіганню показників антимікробного захисту та контамінації умовно-патогенними бактеріями у слизових оболонках всіх досліджуваних відділів травного тракту на рівні значень у контрольних тварин. Ефективність даного профілактичного комплексу проявилася завдяки компонентам, що входять до його складу: лецитину і кверцетину, які проявляють гепатопротекторні, антиоксидантні, протизапальні та жовчорозріджувальні властивості, інуліну, який володіє антидисбіотичною дією, кальцію і аскорбінової кислоти, які позитивно впливали на кісткову тканину та завдяки властивостям сорбенту. Профілактичний комплекс зберігав антимікробну функцію печінки, попереджав дисбіотичні та запальні процеси у слизових оболонках травного тракту, в результаті чого вдалося припинити порушення процесів ремоделювання в кістковій тканині щурів з патологією хронічного холестазу.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено експериментальне обґрунтування та науково-практичне вирішення актуального завдання сучасної медико-біологічної проблеми, яке пов'язане з поглибленням знань про патогенез печінкової остеодистрофії, а саме доповненням ролі розвитку дисбіозу у тонкій кишці при патології печінки, та розробкою схеми профілактики порушень у кістковій та травній системах при гепатобіліарній патології.

1. Токсичний гепатит, у щурів призвів до порушень у слизовій оболонці тонкої кишки щурів: зростання активності еластази на 38,6 %, кислої фосфатази на 36,4 % і вмісту малонового діальдегіду на 31,1 %, а також зниження активності лізоциму на 27,6 %, зростання активності уреаз на 43,0 % та збільшення ступіня дисбіозу вдвічі.
2. Моделювання хронічного токсичного гепатиту у щурів підтверджено зростанням активності аланінамінотрансферази на 22,4-31,1 %, лужної фосфатази на 66,7-93,7 %, еластази на 37,5-53,8 %, вмісту білірубину на 14,7-18,3 % у сироватці крові тварин. У печінці зареєстровано зростання активності еластази на 16,7-21,1 %, кислої фосфатази на 4,5-29,01 %, уреаз на 40,1-48,1 %, вмісту малонового діальдегіду на 29,6-71,7 % поряд із зниженням активності лізоциму на 13,3-18,9 %.
3. Хронічний токсичний гепатит у щурів викликав збільшення проникності епітелію стінок тонкої кишки у 2,4-3,5 рази, зниження всмоктування у тонкій кишці кальцію на 34,5 % та його загальне засвоєння на 24,2 %. Зменшення вмісту кальцію у сироватці крові тварин з гепатитом складало 13,1-15,6 %. У слизових оболонках порожнини рота, тонкої і товстої кишок щурів з хронічним токсичним гепатитом встановлено розвиток запалення (зростання активності еластази на 21,9-39,0 %, кислої фосфатази на 1,7-97,9 %, вмісту малонового діальдегіду на 22,8-60,9 %) та дисбіозу (збільшення активності уреаз на 12,4-179,4 %, ступіня дисбіозу у 2,2-10,5 рази на тлі зменшення активності лізоциму на 26,1-90,4 %). Встановлені

порушення були більш виражені у самців з хронічним токсичним гепатитом.

4. Хронічний токсичний гепатит викликав різноспрямовані зміни у кістках самок і самців. У самців збільшився ступінь атрофії альвеолярної кістки щелеп на 24,7 %, знизилася щільність стінки діафізу стегнових кісток та мала місце тенденція до зменшення щільності поперекових хребців за рахунок зменшення мінеральної частки, збільшилася активність кислої фосфатази на 88,3-93,7 % та вміст кальцію на 16,9-18,3 %. У самок хронічний гепатит призводив до протилежних змін: збільшення щільності епіфізу стегнової кістки, великих гомілкових кісток та поперекових хребців за рахунок підвищення мінеральної складової кісткової тканини та компенсаторного підвищення активності лужної фосфатази на 61,7- 67,3 % на тлі руйнування органічної матриці під впливом кісткової еластази, активність якої зростала на 31,2-39,8 %.
5. Моделювання хронічного холестазу у щурів викликало порушення у печінці тварин. У сироватці крові встановили: зростання активності еластази на 42,0 %, лужної фосфатази на 43,6 %, підвищення вмісту тригліцеридів на 62,5 %, зниження активності аланінамінотрансферази на 30,8 %, вмісту холестерину – на 18,2 % та кальція – на 6,9 %. У печінці зареєстровано: зростання органного індексу на 23,5 %, підвищення активності кислої фосфатази на 29,8 %, еластази на 24,5 %, вмісту малонового діальдегіду на 36,8 % та активності уреазу у 2 рази. У слизових оболонках травного тракту щурів холестаз сприяв підвищенню активності кислої фосфатази на 19,3-45,6 %, еластази на 28,4-41,1 %, уреазу на 40,7-92,3 %, ступеня дисбіозу у 3,2-5,5 рази, зростання вмісту малонового діальдегіду на 55,8-127,1 % на тлі зменшення активності лізоциму на 44,5-70,6 %, активності каталази на 6,5-32,1 % та антиоксидантно-прооксидантного індексу на 41,0-59,0 %.
6. У альвеолярному відростку та стегновій кістці щурів з холестазом зареєстровано зростання активності кислої фосфатази на 58,4-60,3 %,

еластази на 37,0-56,5 %, зниження активності лужної фосфатази на 26,5-42,2 %, зниження вмісту кальцію на 20,2-42,6 %, зменшення індексу ЛФ/КФ на 53,7-64,0 %. Гістологічний аналіз у щурів з хронічним холестазом показав зменшення питомого об'єму хряща суглобових поверхонь епіфізів стегнової кістки на 25,8 %, зниження питомого об'єму кісткового мозку на 14,4 % та кількості остеобластів на 39,4 % на тлі збільшення питомого об'єму кісткових балок на 33,1 % у стегнових кістках тварин.

7. Профілактика комплексом із гепатопротектора і сорбента ефективно попереджала порушення у печінці, слизових оболонках травного тракту та кістковій тканині щурів з хронічним холестазом. Значна більшість досліджуваних показників у тканинах травного тракту, альвеолярного відростку і стегнової кістки відповідала нормальним значенням. Гепатопротектор і сорбент чинили гепатопротекторну, протизапальну, антидисбіотичну, антиоксидантну та остеотропну дію у тканинах щурів на тлі патології холестазу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абрагамович О., Дробінська Н. Особливості частоти випадків наявності лабораторних синдромів цитолізу, холестазу і їх констеляцій у хворих на цироз печінки з остеопорозом, стохастичного зв'язку між ознакою і хворобою. *International scientific journal «Grail of Science»*. 2022. № 12, Т.13. С. 637-640.
2. Активність катепсинів В, L, Н у плазмі крові пацієнтів із хронічними дифузними захворюваннями печінки / Г. В. Долгіх та ін. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 1. С. 23-35.
3. Атаман О. В. Патологічна фізіологія в запитаннях і відповідях. Вид. 4-е, Вінниця: Нова Книга, 2010. С. 119.
4. Біологічна хімія: підручник / Губський Ю. І. та ін. Київ: Нова книга, 2021. 648 с.
5. Біохімія печінки: навч. посіб. для студентів / упоряд.: Ростока Л. М., Сіткар А. Д., Рейті Г. Е., Бернада В. В. Ужгород, 2022. 59 с.
6. Боднар П. Я., Лісничук Н. Є. Оцінка біохімічних показників і стану згортальної системи крові щурів за умов хронічної неопластичної інтоксикації. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21, № 4. С. 83-88. doi: 10.11603/mcch.2410-681X.2019.v.i4.10843.
7. Бойко Т. В. Особливості метаболізму кістково-хрящової тканини у хворих із коморбідною патологією органів травлення. *Вісник наукових досліджень*. 2017. № 2. С. 29-32. DOI 10.11603/2415-8798.2017.2.7856.
8. Борисенко Л. В, Стародубцев Е. Г. Формула здоров'я: Киев, 2015. 56 с.
9. Бугрим Т. В., Фуштей І. М. Постменопаузальний остеопороз. *Запорізь. медичн. журнал*. 2012. № 4. С. 5-8.
10. Варенюк І. М., Держинський М. Е. Методи цито-гістологічної діагностики: навчальний посібник. Київ: Інтенсервіс, 2019. 256 с.
11. Взаємний вплив стану клітинної ланки імунітету, цитокінової регуляції та порушень кишкової мікробіоти на процеси фіброзування при

хронічних дифузних захворюваннях печінки / В. І. Діденко та ін. *Гастроентерологія*. 2021. Т. 55, № 1. С. 26-31.

12. Взаємозв'язок дефіциту вітаміну D з метаболічними порушеннями / О. І. Цирюк та ін. *International Journal of Endocrinology*. 2023. Vol. 19, №1. P. 45-52. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.19.1.2023.1241>

13. Вплив гепатотропної та метабіотичної корекції на спектр вільних жирних кислот при експериментальному токсичному ураженні печінки / В. І. Діденко та ін. *Гастроентерологія*. 2022. № 56 (2). С. 82-88.

14. Гаврилюк О. М., Гаврилюк І. М., Чикайло І. П. Морфологічні прояви пошкодження та загоєння при хронічному токсичному ураженні печінки в експерименті. *Патологія*. 2010. Т. 7, № 2. С. 90-93.

15. Гідразин і його похідні: токсикологічна характеристика / П. А. Бугаєв та ін. *Сучасні проблеми науки і освіти*. 2017. № 4. С. 124-127.

16. Глобальна стратегія сектора здравоохранения по вирусному гепатиту. 2016-2021. На пути к ликвидации вирусного гепатита. ВОЗ, Женева, Швейцария. 2016. 56 с.

17. Говоруха О. Ю., Шнайдерман О. Ю. Значення взаємодії перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантних систем в розвитку патологічних процесів. *Теоретична і експериментальна медицина*. 2016. № 4 (73). С. 10-14.

18. Головач І. Ю. Сучасні стратегії профілактики та лікування остеопорозу: роль кальцію і вітаміну D. *Сімейна медицина*. 2020. № 4 (90). С. 28-31.

19. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології: навч. посіб. Житомир: «Полісся», 2015. 286 с.

20. Горчаг Д. М., Холодкова О. Л., Перепелюк М. М. Патогенез фіброзу печінки та можливості його корекції. *Journal of education, Health and Sport*. 2016. Т. 6 (10). С. 586-600. DOI: 10.5281/zenodo.179432.

21. Дисфункція ендотелію та дисбіоз кишечника у хворих на неалкогольний стеатогепатит та цукровий діабет 2 типу / Є. С. Сірчак та ін. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2020. Т.5, № 1 (23). С. 192-198.
22. Діордіца Я. В. Антиоксидантна система печінки щурів за умов гострого гепатиту під час корекції комплексами антиоксидантів. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2019. Вип. 81. С. 12-20.
23. Діордіца Я. В. Вплив комплексів антиоксидантів на біохімічні показники сироватки крові щурів за умов гострого гепатиту. *Вісник ОНУ. Біологія*. 2019. Т. 24, вип. 1 (44). С. 21-29.
24. Довганюк І. Е., Гиренко К. В., Довганюк О. Я. «Епоха мікробіоти» для здоров'я суспільства. *Здоров'я суспільства*. 2020. Т. 9, № 4. С. 155-160.
25. Дробінська Н. В., Абрагамович О. О., Фармага М. Л. Особливості кальцієво-фосфорного обміну і стану кісток у хворих на цироз печінки: діагностика та принципи диференційованого лікування. *Львівський клінічний вісник*. 2018. № 1-2. С. 46-56.
26. Екологічний стан мікробіоти порожнини товстої кишки хворих на хронічний вірусний гепатит С / Л. І. Сидорчук та ін. *Лікар. справа*. 2018. № 7-8. С. 50-54. DOI 10.31640/JVD.7-8.2018(8).
27. Експериментальне визначення хронічного впливу солей кадмію на гепатогенез щурів / О. О. Нефьодова та ін. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. Вип. 1 (159). С. 230-235.
28. Епідеміологічні аспекти соціально значущих інфекцій / Т. А. Сергеева та ін. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2016. № 4 (93). С. 18-28.
29. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986р.:Верховна Рада України, офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи). Електронний ресурс. Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua>

30. Євсейчик Я. О., Янченко О. В. Оцінка токсикологічних показників деяких основ шиффа 2-гідразино-6-метил-піримідин-4-олу для біологічних об'єктів // Хімічна та екологічна освіта: стан і перспективи розвитку. Вінниця: ТОВ «Нілан-ЛТД», 2017. С. 153-156.
31. Ждан В. М., Іваницький І. В., Іщейкіна Ю. А. Визначення показників мінеральної щільності кісток у пацієнтів із фіброзними змінами паренхіми печінки. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2021. Т. 6, № 5 (33). С. 158-162. DOI: 10.26693/jmbs06.05.158.
32. Ждан В. М., Іваницький І. В., Шилкіна Л. М. Вираженість остеопенічних змін в залежності від ступеню фіброзу печінки. *Молодий вчений*. 2018. № 10 (2). С. 470-472.
33. Журавльова Л. В., Огнева А. К., Журавльова А. К. Основи діагностики, лікування та профілактики неалкогольної жирової хвороби печінки: навчальний посібник для лікарів-інтернів терапевтів та лікарів загальної практики. Харків: ХНМУ, 2018. 105 с.
34. Загальна характеристика токсичних речовин, діагностика і лікування за гострих отруєнь / О. І. Панасенко та ін. Запоріжжя: Карат, 2011. 432 с.
35. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Відомості Верховної Ради України. Офіц. вид. 2006. № 27. С. 990, ст. 230. (Бібліотека офіційних видань).
36. Використання цитрата кальцію для профілактики остеопорозу у хворих з раннім ревматоїдним артритом, приймаючих глюкокортикостероїди / О. Е. Кравчук та ін. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2014. Т. 2, № 2. С. 108-110.
37. Іваницький І. В., Іваницька А. Т. Особливості визначення показників еластичності тканини печінки за допомогою зсувнохвильової еластографії у пацієнтів молодого віку в залежності від наявності стеатогепатозу та синдрому доброякісної гіпермобільності суглобів. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2017. Т. 17, Вип. 4 (60), Ч. 2. С. 150-154.

38. Канзюба А. І., Штробля В. В. Патогенетичні та фармакологічні проблеми кісткового гомеостазу при остеопорозі. *Лікарська справа*. 2022. № 3-4. С. 5-14. [https://doi.org/10.31640/2706-8803-2022-\(3-4\)-01](https://doi.org/10.31640/2706-8803-2022-(3-4)-01).
39. Качур О. І., Фіра Л. С., Лихацький П. Г. Ендогенна інтоксикація в щурів з експериментальним канцерогенезом після застосування цитостатика на тлі сорбційної терапії. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 2. С. 39-46.
40. Качур О. І., Фіра Л. С., Лихацький П. Г. Оцінка рівня запальних процесів у щурів при експериментальному канцерогенезі та вплив на них ентеросорбції. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21, № 2. С. 24-29.
41. Квіт Х. Б., Харченко Н. В. Роль інуліну у лікуванні неалкогольної жирової хвороби печінки та змін мікробіому кишківника. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2022. Т. 21, № 4 (82). С. 23-29.
42. Клінічна лабораторна діагностика: підручник / Л. Є.Лаповець та ін.; за ред. Л. Є.Лаповець. Київ: ВСВ «Медицина», 2019. 472 с.
43. Климовицький Ф. В., Климовицький В. Г., Дедух Н. В. Вплив альфакальцидолу на регенерацію кістки у щурів старечого віку. *Біль. Суглоби. Хребет*. 2022. Т.12, № 4. С. 182-188.
44. Кошурба І. В., Гладких Ф. В., Чиж М. О. Вплив гормонального статусу на гепатотропну дію езомепразолу, кларитроміцину та метронідазолу при хронічному ураженні печінки і введенні кріоекстракту плаценти. *Гастроентерологія*. 2023. № 57 (2). С. 78-84.
45. Кубарєва І. В., Волкова, А. В., Ноздріна А. А. Аналіз структури та динаміки соціально-медичних показників хронічного вірусного гепатиту С в Україні. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 2. С.87-93.
46. Лабуш Ю. З., Марков А. В. Взаємозв'язок між захворюваннями слизової оболонки порожнини рота та паталогією шлунково-кишкового тракту. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2023. 23 (2.2). С. 140-144.

47. Левицкий А. П. Инулин – пища для бактерий, лекарство для людей. Одесса: КП ОГТ. 2003. 28 с.
48. Левицкий А. П., Демьяненко С. А., Цисельский Ю. В. Антимикробная функция печени. Одесса: КП ОГТ, 2011. 141 с.
49. Левицький А. П., Макаренко О. А., Селиванська І. А. Структура, властивості і застосування біофлавоноїдних гепатопротекторів. *Вісник стоматології*. 2016. № 9 (96). С. 30-36.
50. Левон М. М. Антраль, як засіб лікування супутньої патології гепатобіліарної системи у хворих на остеоартроз. *Actual problems of modern science: The 4th International scientific and practical conference.*, Jan. 31 – Feb. 3, 2023. Boston, USA. International Science Group. 2023. 492 p.
51. Лихолат Т. Ю., Лихолат О. А. Вплив синтетичних естрогенів на показники прооксидантно-антиоксидантної системи органів щурів різного віку в досліджах *in vitro*. *Біологічні системи*. 2016. Т. 8 (1). С. 8-14.
52. Літовка І. Г. Роль метаболічних змін у розвитку остеопенічного синдрому. *Фізіол. журн*. 2021. Т. 67, № 2. С. 67-75.
53. Мартинович Т. Л., Зінченко В. В., Біла І. І. Структурно-функціональний стан кісткової тканини у хворих на хронічні вірусні гепатити В, С залежно від стану сполучної тканини. *Вісник ортопедії, травматології та протезування*. 2012. № 4. С. 53-57.
54. Методи дослідження стану кишечника та кісток у лабораторних щурів. Довідник / О. А. Макаренко та ін. Одеса: Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2022. 81 с.
55. Мікробіота кишечника в дітей з ожирінням і неалкогольною жировою хворобою печінки залежно від функції жовчного міхура. / Ю. М. Степанов та ін. *Запорізький медичний журнал*. 2022. Т. 24, № 2. С. 181-186.
56. Міщенко О. Я., Юрченко К. Ю., Кириченко І. В. Аналіз експериментальних моделей холестазу та механізми їх розвитку. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня*

- фармакологічна корекція*: тези доп. І наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 18 жовт. 2018 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 158-159.
57. Морфофункціональні зміни паренхіми печінки щурів при введенні L-триптофану. Янко Р. В. та ін. *Фізіологічний журнал*. 2022. Т. 68, № 3. С. 78-85.
58. Мукозопротекторна дія на кишечник щурів фітопрепарата «Леквін» при неалкогольному стеатогепатиті / А. П. Левицький та ін. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 1. С. 30-33.
59. Нагорна А. М. Стан загального та професійного здоров'я населення в глобальному тягарі хвороб в Україні та світі. *Журнал Національної академії медичних наук України*. 2023. 29 (1-2). С. 86-99.
60. Недашківський С. М. Медикаментозно зумовлені ураження печінки: принципи діагностики, патологічні зміни й підходи до лікування. *Медицина невідкладних станів*. 2019. № 2 (97). С. 63-70.
61. Никифорок А. Я., Фіра Л. С., Лихацький П. Г. Дослідження антиоксидантних властивостей екстракту зі шпинату городнього листя на моделі тетрахлорметанового ураження печінки. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 4. С. 36-43.
62. Олійник Ю. М. Механізми ушкодження та регенерації тканини печінки і нирок щурів в умовах хронічного токсичного ураження тетрахлорметаном і етанолом, шляхи корекції : дис. ... д-ра філософії : 222 / Вінниц. нац. мед. ун-т ім. М. І. Пирогова. Вінниця, 2023. 178 с.
63. Особливості стійкості до антибіотиків мікроорганізмів у складі мікрофлори шлунково-кишкового тракту у хворих на гепатит В / Т. В. Скляр та ін. *Вісник проблем біології і медицини*. 2018. Вип. 3 (145). С. 256-259. DOI 10.29254/2077-4214-2018-3-145-256-259.
64. Осьодло Г. В., Бойчак М. П., Федорова О. О. Раціональний вибір гепатопротекторів при медикаментозно-індукованих ураженнях печінки. *Гастроентерологія*. 2022. Т. 56, № 3. С. 179-189.

65. Оцінка стану мікрофлори товстого кишечника у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки з імунною відповіддю на SARS-CoV-2 / Ю. М. Степанов та ін. *Gastroenterologia*. 2023. Т. 57, № 1. С. 23-35.
66. Оцінка стану тканин пародонта у хворих із соматичною патологією / А. І. Фурдичко та ін. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2023. Т. 8, № 1. (41). С. 180-194.
67. Паньків В. І., Ткач С. М., Паньків І. В. Сучасні погляди на метаболізм та біологічні ефекти вітаміну D. *International Journal of Endocrinology*. 2022. Т. 18, № 2. С. 109-117.
68. Пародонтопротекторна ефективність антидисбіотичного гепатопротектора «Леквін» у хворих на гепатобіліарну патологію / В. М. Зубачик та ін. *Вісник стоматології*. 2017. № 4 (101). С. 26-29.
69. Пилипчук І. С. Остеопоротичні зміни кісткової та хрящової тканини у жінок з гіпофункцією яєчників. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2021. Т.25, № 4. С. 657-662.
70. Пилипчук І. С., Флуд В. В., Петришин З. Я. Ендокринні зміни в клімактерії та їх вплив на функціональний стан кісткової системи. *Вісник стоматології*. 2021. Т. 115 (2). С. 100-105.
71. Плакса В. М. Сучасні маркери остеодисметаболического синдрому. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2023. Т. 23, № (2.1). С. 67-73.
72. Поворознюк В. В., Мусієнко А. С. Вплив тестостерону на якість і мінеральну щільність кісткової тканини у чоловіків. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2018. Т.14, № (2). С. 119-125.
73. Поворознюк В. В., Іваник О. С. Рівень 25(OH)D, 10-річна ймовірність основних остеопоротичних переломів, мінеральна щільність та якість кісткової тканини, жирова та знежирена маса в жінок у період пре- та постменопаузи. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2020. Т.16, № 3. С. 194-203.

74. Покращення верифікації фіброзу печінки за допомогою нових малоінвазивних маркерів у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки / Ю. М. Степанов та ін. *Медичні перспективи*. 2022. Т. 27, № 4. С. 100-114. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.4.271181>.
75. Поліщук В. С., Поліщук С. С. Особливості перебігу післяопераційного періоду хворих після дентальної імплантації на фоні патології гепатобіліарної системи. *Вісник стоматології*. 2022. № 3 (120). С. 51-56. <https://doi.org/10.35220/2078-8916-2022-45-3.9>.
76. Поліщук С. С., Давиденко І. С, Шувалов С. М. Порівняльне дослідження гістологічних змін кісткової тканини нижньої щелепи щурів у ділянці травматичного дефекту при патології гепатобіліарної системи. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2017. № 29. С. 66-73.
77. Прокопчук О. В., Господарський І. Я. Вплив комплексного лікування на прогресування фіброзу печінки у пацієнтів після поліхіміотерапії. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2023. № 2. С. 124-131.
78. Рекалов Д. Г. Остеопороз: сучасний стан проблеми. *Здоров'я України*. 2020. № 7 (476). С. 6-7.
79. Рудь М. В. Імунокомпетентні клітини печінки в патогенезі фіброзу при хімічній кастрації самців щурів. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії*. 2021. Т. 21, № 2 (74). С. 203-207.
80. Русин В. М., Капшин С. О. Можливість визначення та ефективність використання аскорбінової кислоти. *Scientific Collection «InterConf»*. 2023. № 144. С. 464-468.
81. Самогальська О. Є., Мандзій З. П. Лікування та профілактика токсичного гепатиту у хворих з лімфопроліферативними захворюваннями. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2020. № 4. С. 140-145.
82. Саранча І. С., Ляшевич А. М., Чернуха І. С. Значення жовчі в травленні // Біологічні дослідження-2019: Збірник наукових праць. Житомир, 2019. С. 225-227.

83. Сливка Я. І., Савка Ю. М. Клінічна патофізіологія ендокринної системи: навч.-метод. посіб. для практичних занять та самостійної роботи студентів 4-го курсу медичного факультету з навчальної дисципліни за вибором «Клінічна патофізіологія ендокринної системи». Ужгород, 2023. 103 с.
84. Синенький О. В. Вплив дефіциту вітаміну D на перебіг ревматоїдного артриту і шляхи його корекції. *Львівський клінічний вісник*. 2017. № 4. С.15-23.
85. Січкоріз Х. А., Слаба О. М., Мінько Л. Ю. Етіопатогенетичні механізми розвитку захворювань пародонту на тлі вірусних уражень печінки. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2021. Т. 21, № 2. С. 214-219.
86. Скиба В. Я., Шнайдер С. А. Структурно-метаболичні порушення в тканинах порожнини рота при гепатобіліарній патології та їх корекція: монографія. Одеса: КП ОГТ, 2022. 270 с.
87. Статистичні методи обробки результатів медико-біологічних досліджень: методичні вказівки з дисципліни «Медична інформатика» / упор. Левченко Т. В., Радзішевська Є. Б. Харків : ХНМУ, 2016. 39 с.
88. Степанов Ю. М., Скирда І. Ю., Петішко О. П. Хвороби органів травлення – актуальна проблема клінічної медицини. *Гастроентерологія*. 2019. Т. 53, № 1. С. 1-6.
89. Степанов Ю. М., Чалий М. В., Коненко І. С. Особливості синдрому надлишкового бактеріального росту та порушень мікрофлори кишечника у хворих з портальною гіпертензією. *Гастроентерологія*. 2016. Т. 4, № 62. С. 32-36.
90. Сумісна дія нових піразолвмісних бісфосфонатів і вітаміну D₃ за експериментального остеопорозу / М. М. Великий та ін. *Вісник Київського національного університету ім. Тараса Шевченка*. 2020. Т. 3, № 82. С. 29-35.

91. Сучасні погляди на функціональну морфологію та репаративні властивості печінки / Г. М. Мустафіна та ін. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. Вип. 2 (156). С. 43-48. DOI 10.29254/2077-4214-2020-2-156-43-48.
92. Уголев А. М., Зарипов Б. З. Методические приемы для изучения мембранного пищеварения и всасывания в тонкой кишке в условиях хронического эксперимента на крысах и некоторых других животных *Физиологический журнал СССР*. 1979. № 12. С. 1850-1854.
93. Фадєєнко Г. Д., Соломянцева Т. А. Можливості немедикаментозної корекції кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки. *Сучасна гастроентерологія*. 2020. № 5. С. 71-78.
94. Фадєєнко Г. Д., Черелюк Н. І. Співвідношення основних філотипів кишкової мікробіоти у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки на тлі ожиріння та його зв'язок зі стадією стеатозу печінки. *Сучасна гастроентерологія*. 2020. № 6 (116). С. 14-20.
95. Фейса С. В. Стан перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки та супутнім гіпотиреозом. *Фізіол. журн*. 2019. Т. 65, № 2. С. 89-96.
96. Філіппова О. Ю. Хвороби гепатобіліарної системи: фокус на раціональну гепатотропну терапію. *Gastroenterologia*. 2019. Т. 53. № 3. С. 188-195. doi:10.22141/2308-2097.53.3.2019.182866.
97. Фурдичко А. І., Скиба В. Я., Шнайдер С. А. Обґрунтування використання антидисбіотичного гепатопротектора при лікуванні хворих на запальні захворювання пародонту на тлі хронічного токсичного гепатиту. *Вісник стоматології*. 2019. Т. 31, № 1. С. 46-49.
98. Характеристика кишкового дисбіозу у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки / Г. Д. Фадєєнко та ін. *Сучасна гастроентерологія*. 2020. № 6. С. 5-13. <http://doi.org/10.30978/MG-2020-6-5>.
99. Ходаков І. В. Спосіб визначення щільності кісток лабораторних тварин. *Досягнення біології та медицини*. 2004. № 2 (4). С. 38-41.

100. Хухліна О. С., Антонів А. А. Патогенетична роль дисбіозу товстої кишки у патогенезі взаємообтяження неалкогольної жирової хвороби печінки та хронічної хвороби нирок. *Укр. терапевт. журн.* 2018. № 2. С. 14-20.
101. Черелюк Н. І., Курінна О. Г. Кишкова мікробіота та неалкогольна жирова хвороба печінки: нові аспекти та невирішені питання. *Медицина сьогодні і завтра.* 2020. Т. 82 (1). С. 16-22.
102. Чернова В. М. Неалкогольна жирова хвороба печінки та мікробіота кишечника: взаємовпливи та взаємозв'язки. *Сучасна гастроентерологія.* 2020. № 3. С. 73-81.
103. Шадрін О. Г., Чернега Н. Ф. Мікробіота та захворювання гепатобіліарної системи: нові можливості в лікуванні дітей раннього віку. *Здоров'я дитини.* 2015. Т. 65 (5). С. 23-29.
104. Шестопалова Є. С., Калмиков С. А., Калмикова Ю. С. Актуальні питання фізичної терапії при дисфункції біліарного тракту. *Фізична реабілітація та рекреаційно-оздоровчі технології.* 2020. Т. 5, № 1. С. 52-57.
105. Шнайдер С. А., Левицкий А. А. Экспериментальная стоматология. Часть I. Экспериментальные модели стоматологических заболеваний. Одеса: КП ОГТ, 2017. 168 с.
106. Ембутнієкс Ю. В., Дроздов В. Н., Чернишева І. В. Порухення мінеральної щільності кісткової тканини у хворих з захворюваннями органів травлення. *Експерим. і клін. гастроентерологія.* 2011. № 9. С. 95-98.
107. Acute bone damage through liver-bone axis induced by thioacetamide in rats / X. Jin et al. *BMC pharmacology & toxicology.* 2022. Vol. 23 (1). P. 29-38.
108. Activation of the gut microbiota-kynurenine-liver axis contributes to the development of nonalcoholic hepatic steatosis in nondiabetic adults / G. Sui et al. *Aging.* 2021. Vol. 13 (17). P. 21309-21324.

109. Alterations to the gut microbiome impair bone strength and tissue material properties / J. D. Guss et al. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2017. Vol. 32 (6). P. 1343-1353. <https://doi.org/10.1002/jbmr.3114>.
110. Antidisbiotic action of kvvertulin on acute cholecystitis patients / O. A. Makarenko et al. *Medica lsciences*. 2020. № 2 (54). P.38-41.
111. Arslan N. Obesity, fatty liver disease and intestinal microbiota. *World J Gastroenterol*. 2014. Vol. 20 (44). P. 16452-16463.
112. Assessment of colon microbiocenosis disorders in patients with chronic hepatitis C. / M. A. Derbak et al. *Wiad Lek*. 2022. Vol. 75 (10). P. 2334-2338. doi: 10.36740/WLek202210104.
113. Association between total bilirubin and bone mineral density level in adolescents / J. Wu et al. *BMC Musculoskelet Disord*. 2022. Vol. 23 (1). P. 639-647. doi: 10.1186/s12891-022-05592-3.
114. Association of microbial dysbiosis with gallbladder diseases identified by bile microbiome profiling / S. J. Choi et al. *Journal of Korean medical science*. 2021. Vol. 36 (28). P. 189-201.
115. Associations between serum calcium, 25(OH)D level and bone mineral density in adolescents / K. Pan et al. *Adv Rheumatol*. 2021. Vol. 61 (1). P. 16-23. doi: 10.1186/s42358-021-00174-8
116. Baron R., Tross R., Vignery A. Evidence of sequential remodeling in rat trabecular bone: morphology, dynamic histomorphometry, and changes during skeletal maturation. *The Anatomical record*. 1984. Vol. 208 (1). P. 137-145. doi: 10.1002/ar.1092080114. PMID: 6711834.
117. Baumert T. F., Jühling F., Ono A. Hepatitis C-related hepatocellular carcinoma in the era of new generation antivirals. *BMC Med*. 2017. Vol. 15 (1). P. 1-10. doi: 10.1186/s12916-017-0815-7.
118. Bile acids and bilirubin effects on osteoblastic gene profile. Implications in the pathogenesis of osteoporosis in liver diseases / S. Ruiz-Gaspa et al. *Gene*. 2020. Vol. 725. P. 144-167.

119. Bilirubin and bile acids in osteocytes and bone tissue. Potential role in the cholestatic-induced osteoporosis / S. Ruiz-Gaspa et al. *Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2020. Vol. 40 (11). P. 2767-2775.
120. Bilirubin increases viability and decreases osteoclast apoptosis contributing to osteoporosis in advanced liver diseases / S. Jurado et al. *Bone*. 2022. Vol. 162. P. 1164-1183. doi: 10.1016/j.bone.2022.116483.
121. Bone mineral densities in individuals with Gilbert's syndrome: a cross-sectional, case-control pilot study / G.Y Minuk et al. *Canadian journal of gastroenterology*. 2009. Vol. 23 (6). P. 431-436.
122. Characteristics of calcium-phosphorus metabolism and bone turnover indicators in patients with liver cirrhosis and their diagnostic value for assessing bone structures disorder / N. V. Drobinska et al. *Georgian medical news*. 2023. № 334. P. 41-48.
123. Council Directive 2010 / 63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Communities*. 2010. L 276. P. 33-79.
124. Critical role of estrogens on bone homeostasis in both male and female: from physiology to medical implications / N. E. Emmanuelle et al. *International journal of molecular sciences*. 2021. Vol. 22 (4). P. 1568-1581. <https://doi.org/10.3390/ijms22041568>.
125. Czaja A. J. Hepatic inflammation and progressive liver fibrosis in chronic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014. Vol. 20 (10). P. 2515-2532. doi: 10.3748/wjg.v20.i10.2515.
126. Diesen D. L., Kuo P. C. Nitric oxide and redox regulation in the liver: part II. Redox biology in pathologic hepatocytes and implications for intervention. *J Surg Res*. 2011. Vol. 167 (1). P. 96-112.
127. Deletion of estrogen receptors reveals a regulatory role for estrogen receptors-beta in bone remodeling in females but not in males / N. A. Sims et al. *Bone*. 2002. Vol. 30 (1). P.18-25. doi:10.1016/s8756-3282(01)00643-3.

128. Dynamics of morphometric bone changes in the site of mandibular perforation defect in rats with toxic hepatitis and use of hepatoprotector / V. Ya. Skyba et al. *World of medicine and biology*. 2020. Vol. 16, No 2 (72). P. 198-203.
129. Effect of daily calcitriol supplementation with and without calcium on disease regression in non-alcoholic fatty liver patients following an energy-restricted diet: Randomized, controlled, double-blind trial / Lorvand Amiri et al. *Clinical nutrition*. 2017. Vol. 36 (6). P. 1490-1497.
130. Effect of estrogens on serum and liver lipid peroxide levels in mice / K. Yoshino et al. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 1987. V. 3, № 3. P. 233-240.
131. Effects of idoxifene and estradiol on NF-kappaB activation in cultured rat hepatocytes undergoing oxidative stress / T. Omoya et al. *Liver*. 2001. Vol. 21 (3). P.183-191. doi:10.1034/j.1600-0676.2001.021003183.x.
132. Effects of platelet-rich plasma on liver regeneration in CCl 4-induced hepatotoxicity model / A. Mafi et al. *Platelets*. 2016. Vol. 27 (8). P. 771-776.
133. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease and risk of hepatocellular carcinoma progression / K.Thandra et al. *Clinical and experimental hepatology*. 2020. Vol. 6 (4). P. 289-294.
134. ER α signaling regulates MMP3 expression to induce FasL cleavage and osteoclast apoptosis / G. J Alejandro et al. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2013. Vol. 28, № 2. P. 283-290. doi:10.1002/jbmr.1747.
135. Estrogen deficiency potentiates thioacetamide-induced hepatic fibrosis in sprague-dawley rats / Y. H. Lee et al. *International journal of molecular sciences*. 2019. Vol. 20 (15). P. 3709-3724.
136. Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor alpha and induction of Fas ligand in osteoclasts / T. Nakamura et al. *Cell*. 2007. Vol. 130 (5). P.811-823. doi:10.1016/j.cell.2007.07.025.

137. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells / L. C. Hofbauer et al. *Endocrinology*. 1999. Vol. 140 (9). P. 4367-4370.
138. Estrogens antagonize RUNX2-mediated osteoblast-driven osteoclastogenesis through regulating RANKL membrane association / A. Martin et al. *Bone*. 2015. Vol. 75. P. 96-104.
139. Estrogens maintain bone mass by regulating expression of genes controlling function and life span in mature osteoclasts / Y. Imai et al. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2009. Vol. 1173. P. 31-39. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04954.x>.
140. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasburg: Council of Europe. 1986. V. 123. 52 p.
141. Evaluation of secondary causes that may lead to bone loss in women with osteoporosis: a retrospective study / E. Odabasi et al. *Arch. Gynecol. Obstet*. 2009. Vol. 279, № 6. P. 863-867.
142. Fatty liver disease caused by high-alcohol-producing *Klebsiella pneumoniae* / J. Yuan et. al. *Cell Metab*. 2019. Vol. 30 (4). P. 675-688.
143. Favazzo L. J., Hendsia H., Villania D. A. The gut microbiome-joint connection: implications in osteoarthritis. *Cur Opin Rheumatol*. 2020. Vol. 32 (1). P. 92-101.
144. Female hepatology: favorable role of estrogen in chronic liver disease with hepatitis B virus infection / I. Shimizu et al. *World journal of gastroenterology*. 2007. Vol. 13 (32). P. 4295-4305.
145. Female mice lacking estrogen receptor-alpha in osteoblasts have compromised bone mass and strength / K. M. Melville et al. *J Bone Miner Res*. 2014. Vol. 29 (2). P. 370-379. doi:10.1002/jbmr.2082.
146. Gundermann K. J., Drozdik M., Mohan Prasad V.G. Essential phospholipids in fatty liver: a scientific update. *Clin. Exp. Gastroenterol*. 2016. Vol. 9. P. 105-117.

147. Gut microbiota and metabolite alterations associated with reduced bone mineral density or bone metabolic indexes in postmenopausal osteoporosis / J. He et al. *Aging*. 2020. Vol. 12 (9). P. 8583-8604.
148. Gut-liver axis and microbiota in NAFLD: insight pathophysiology for novel therapeutic target / L. Miele et al. *Current pharmaceutical design*. 2013. Vol. 19 (29). P.5314-5324.
149. Hepatic Osteodystrophy: A Global (Re)View of the Problem / E. C. Barbu et al. *Acta Clin Croat*. 2017. Vol. 56 (3). P. 512-525.
150. Histological changes of bone tissue in the perforation defect site of the rat mandible when using hepatoprotector in obstructive hepatitis /S. S. Polishchuk et al. *World of medicine and biology*. 2020. Vol. 16, No 2 (72). P. 193-198.
151. Increased concentrations of conjugated bile acids are associated with osteoporosis in PSC patients / J. Stürznickel et al. *Scientific reports*. 2022. Vol. 12 (1). P. 16491-16502. doi: 10.1038/s41598-022-20351-z.
152. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease / L. Miele et al. *Hepatology*. 2009. Vol. 49. P. 1877-1887.
153. Inflammation and fibrosis in chronic liver diseases including non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C / S. Tanwar. et al. *World J Gastroenterol*. 2020. Vol. 26 (2). P. 109-133. doi: 10.3748/wjg.v26.i2.109.
154. Influence of obesity on vertebral fracture prevalence and vitamin D status in postmenopausal women / A. Maghraoui et al. *Nutr. Metab*. 2015. Vol. 12. P. 44-51. doi: 10.1186/s12986-015-0041-2.
155. Inulin with different degrees of polymerization protects against diet-induced endotoxemia and inflammation in association with gut microbiota regulation in mice / L. Li et al. *Sci Rep*. 2020. Vol.10 (1). P. 978-984.
156. Jadzic J., Djonic D. Bone loss in chronic liver diseases: Could healthy liver be a requirement for good bone health? *World J Gastroenterol*. 2023. Vol. 29, No 5. P. 825-833. doi: 10.3748/wjg.v29.i5.825.

157. Jeong H. M., Kim D. J. Bone Diseases in Patients with Chronic Liver Disease. *International journal of molecular sciences*. 2019. Vol. 20 (17). P. 4270-4279. <https://doi.org/10.3390/ijms20174270>.
158. Khanam A., Saleeb P. G., Kottillil Sh. Pathophysiology and treatment options for hepatic fibrosis: can it be completely cured? *Cells*. 2021. Vol. 10 (5). P. 1097-1114. doi: 10.3390/cells10051097.
159. Khopta N. S., Shpilchak L. Ya. Ositive influence of artichoke extract on structural and metabolic processes in bone tissue of rats conditioned upon cadmium-nitric intoxication. *World of Medicine and Biology*. 2019. Vol. 2 (68). P. 204-209. DOI:10.26724/2079-8334-2019-2-68-204-209.
160. Khosla S. Pathogenesis of osteoporosis. *Translational endocrinology metabolism*. 2010. Vol. 1 (1). P.55-86.
161. Lehninger A. Principles of Biochemistry / David L. Nelson, Michael Cox. New York: W. H. Freeman and Company, 2021. 1260 p.
162. Li. K., Liu. J., Qin. X. Research progress of gut microbiota in hepatocellular carcinoma. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2022. Vol. 36 (7). P. 24512-24527. <https://doi.org/10.1002/jcla.24512>.
163. Low 25-OH-vitamin D levels reflect hepatic dysfunction and are associated with mortality in patients with liver cirrhosis / R. Paternostro et al. *Wien Klin Wochenschr*. 2017. Vol. 129 (1-2). P. 8-15.
164. Low vitamin D serum concentration is associated with high levels of hepatitis B virus replication in chronically infected patients / H. Farnik et al. *Hepatology*. 2013. Vol. 58 (4). P. 1270-1276. doi: 10.1002/hep.26488.
165. Mehrotra R. N., Ranjan A., Lath R. Postmenopausal osteoporosis: Our experience. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2012. Vol. 16 (2). P. 421-422.
166. Natesan. V., Kim. S. J. Metabolic bone diseases and new drug developments. *Biomolecules therapeutics*. 2022. Vol. 30 (4). P. 309-319.

167. Neutrophil elastase induces inflammation and pain in mouse knee joints via activation of proteinase-activated receptor-2 / M. M Muley et al. *Br J Pharmacol.* 2016. Vol. 173 (4). P. 766-777. doi: 10.1111/bph.13237.
168. Neutrophil elastase: From mechanisms to therapeutic potential / W Zeng et al. *J Pharm Anal.* 2023. Vol. 13 (4). P. 355-366.
169. Nonalcoholic steatohepatitis is associated with liver-related outcomes and all-cause mortality in chronic hepatitis B / HSJ Choi et al. *Hepatology.* 2020 Vol. 71 (2). P. 539-548. doi: 10.1002/hep.30857.
170. Novel insights in the regulation and mechanism of androgen action on bone / M. Sinnesael et al. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity.* 2013. Vol. 20, No 3. P. 240-244.
171. Osteoporosis across chronic liver disease / M. Guarino et al. *Osteoporos Int.* 2016 Vol. 27 (6). P. 1967-1977.
172. Osteoporosis in liver disease: pathogenesis and management / Handzlik-Orlik et al. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism.* 2016. Vol. 7 (3). P. 128-135. doi:10.1177/2042018816641351.
173. Osteosarcopenia in autoimmune cholestatic liver diseases: Causes, management, and challenges / N. Pugliese et al. *World journal of gastroenterology.* 2022.Vol. 28(14). P. 1430-1443.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i14.1430>.
174. Oxidative stress, a trigger of hepatitis C and B virus-induced liver carcinogenesis / A. V. Ivanov et al. *Oncotarget.* 2017. Vol. 8 (3). P. 3895-3932. doi: 10.18632/oncotarget.13904.
175. Phosphocalcic metabolism and the role of vitamin D, vitamin K2, and natto kinase supplementation / A. Gasmi et al. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2022. Vol. 62 (25). P. 7062-7071. doi: 10.1080/10408398.2021.1910481.
176. Postmenopausal osteoporosis: Our experience. / R. N. Mehrotra et al. *Indian J. Endocrinol. Metab.* 2012. Vol. 16 (2). P. 421-422.

177. Prossnitz E. R., Arterburn J. B., Sklar L. A. GPR30: A G protein-coupled receptor for estrogen. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2007. V. 265 (266). P. 138-142.
178. Quantifying dietary vitamin K and its link to cardiovascular health: a narrative review/ C. R. Palmer et al. *Food Funct*. 2020. Vol. 11 (4). P. 2826-2837. doi: 10.1039/c9fo02321f.
179. Ralston S. H., Fraser J. Diagnosis and management of osteoporosis. *Practitioner*. 2015. Vol. 259 (1788). P. 15-19.
180. Ray M., Autieri M. V. Regulation of pro-and anti-atherogenic cytokines. *Cytokine*. 2019. Vol. 122. P. 154-175.
181. Risk factors and diagnostic biomarkers for nonalcoholic fatty liver disease-associated hepatocellular carcinoma: Current evidence and future perspectives / M. Ueno et al. *World journal of gastroenterology*. 2022. Vol. 28 (27). P. 3410-3421. <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i27.341>.
182. Role of osteoprotegerin / receptor activator of nuclear factor kappa B receptor activator of nuclear factor kappa B ligand axis in nonalcoholic fatty liver disease / L. Pacifico et al. *World journal of gastroenterology*. 2018. Vol. 24 (19). P. 2073-2082. doi: 10.3748/wjg.v24.i19.2073.
183. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women / G. Eghbali-Fatourehchi et al. *J Clin Invest*. 2003. Vol. 111 (8). P. 1221-1230. doi:10.1172/JCI17215.
184. Roles of gut microbiome in bone homeostasis and its relationship with bone-related diseases / N. Zemanova et al. *Biology*. 2022. Vol. 11 (10). P. 1402-1417.
185. Rolvien T., Amling M. Disuse Osteoporosis: Clinical and Mechanistic Insights. *Calcified tissue international*. 2022. Vol. 110 (5). P. 592-604. doi:10.1007/s00223-021-00836-1.
186. Ruigrok R. A., Weersma R. K., Vich Vila A. The emerging role of the small intestinal microbiota in human health and disease. *Gut Microbes*. 2023. Vol. 15 (1). P. 2201-2205. doi: 10.1080/19490976.2023.2201155.

187. Schwalfenberg G. K. Vitamins K₁ and K₂: the emerging group of vitamins required for human health. *Journal of Nutrition and Metabolism*. 2017. Vol. 2017. P. 1-6. doi: 10.1155/2017/6254836.
188. Secondary osteoporosis and metabolic bone diseases / M. M. Sobh et al. *J Clin Med*. 2022. Vol. 11 (9). P. 2382-2418.
189. Shearer M. J., Fu X., Booth S. L. Vitamin K nutrition, metabolism and requirements: current concepts and future research. *Advances in nutrition*. 2012. Vol. 3 (2). P. 182-195.
190. Siddiqui J. A., Partridge N. C. Physiological bone remodeling: systemic regulation and growth factor involvement. *Physiology*. 2016. Vol 31. P. 233-245. DOI:10.1152/physiol.00061.201.
191. Something more to say about calcium homeostasis: the role of vitamin K₂ in vascular calcification and osteoporosis/ R. Flore et al. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2013. Vol. 17 (18). P. 2433-2440.
192. Stock M., Schett G. Vitamin K-dependent proteins in skeletal development and disease. *International journal of molecular sciences*. 2021. Vol. 22 (17). P. 9328-9346. <https://doi.org/10.3390/ijms22179328>.
193. Sunkara T., Rawla P., Ofosu A. Fecal microbiota transplant – a new frontier in inflammatory bowel disease. *Journal of inflammation research*. 2018. Vol. 11. P. 321-328.
194. Systematic influence of circulating bilirubin levels on osteoporosis / J Zhao et al. *Frontiers in endocrinology*. 2021. Vol. 12. P. 1-6.
195. The association of gut microbiota with nonalcoholic steatohepatitis in thais / A. Sobhonslidsuk et al. *BioMed research international*. 2018. Vol. 2018. P. 934-942. doi:10.1155/2018/9340316.
196. The role of intestinal fungi and their metabolites in chronic liver diseases / N.You et al. *Gut and liver*. 2020. Vol. 14. P. 291-296.
197. The role of vitamin K in CKD-MBD / M. Fusaro et al. *Curr Osteoporos Rep*. 2022. Vol. 20 (1). P. 65-77. doi: 10.1007/s11914-022-00716-z.

198. Unsal V., Cicek M., Sabancilar İ. Toxicity of carbon tetrachloride, free radicals and role of antioxidants. *Rev Environ Health*. 2020. Vol. 36 (2). P. 279-295. doi: 10.1515/reveh-2020-0048.
199. Voynow J. A., Shinbashi M. Neutrophil elastase and chronic lung disease. *Biomolecules*. 2021. Vol. 11 (8). P. 1065-1073.
200. Wang C. C., Cheng P. N., Kao J. H. Systematic review: chronic viral hepatitis and metabolic derangement. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020. Vol. 51 (2). P. 216-230. doi: 10.1111/apt.15575.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Результати дослідження дають підставу рекомендувати використання компонентів профілактичного комплексу у клінічній практиці для осіб з гепатобіліарною патологією для попередження розвитку печінкової остеодистрофії. Препарати комплексу Леквін і Мінерол дозволено для використання як дієтичні добавки (Додаток А). Виробники пропонують таку схему:

Леквін: 2 табл. 3 рази на добу через 1-1,5 години після прийому їжі.

Мінерол: 1 чайну ложку додати до 150-200 мл води, розмішати і відстояти 3-5 секунд. Приймати надосадовий розчин за 30 хвилин до прийому їжі 1-2 рази на добу.

Курс прийому препаратів – 2 місяці, перерва 2 місяці, три курси на рік.



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ

вул. Б. Грінченка, 1, м. Київ, 01001, тел. 279-12-70, 279-75-38, факс: 279-48-83, e-mail: info@dps.gov.ua

ЗАТВЕРДЖУЮ

Голова Держпродспожслужба

Слободянов В.В.

М.П.

М.П.

М.П.

ВИСНОВОК

державної санітарно-епідеміологічної експертизи

від 18.11.2020 р.

№ 1677-18-2/

Наймисувачем об'єкта експертизи: ТУ У 10.8-21540172-003:2020 "Добавки дієчні на основі природних мінералів. Технічні умови"

Код за ДКШ 10.89.19-09.90

Сфера застосування та реалізації об'єкта експертизи: нормативний документ для виробництва добавок дієчних

Розробник: Науково-виробниче мале підприємство у формі ТОВ "ГОБОР", Україна, 28292, Київська обл., м. Буча, бульвар Б. Хмельницького, 4/220, код за ЄДРПОУ 21540172

Вашиник експертизи: Науково-виробниче мале підприємство у формі ТОВ "ГОБОР", Україна, 28292, Київська обл., м. Буча, бульвар Б. Хмельницького, 4/220, код за ЄДРПОУ 21540172

За результатами державної санітарно-епідеміологічної експертизи ТУ У 10.8-21540172-003:2020 "Добавки дієчні на основі природних мінералів. Технічні умови" відповідає вимогам безпеки для здоров'я і життя людини, може бути використано за призначенням в харчовій промисловості для нормативних документів і може бути розповсюджено (затверджено).

Висновок дійсний протягом терміну дії ТУ У 10.8-21540172-003:2020 "Добавки дієчні на основі природних мінералів. Технічні умови"

При внесенні змін до нормативного документу щодо сфери застосування, умов застосування об'єкту експертизи даний висновок втрачає силу.

Комісія з питань державної санітарно-епідеміологічної експертизи ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О. М. Маршеска НАМНУ»

02094, м. Київ, вул. Попудренка, 50, тел. (044) 292-02-93

Телефонний, факсний, електронний зв'язок

Протокол експертизи № 1677 від 18.11.2020 року

Голова експертної комісії

Полька Н.С.

(прізвище, ім'я, по батькові)





**ЗГІДНО З
ОРИГІНАЛОМ**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА САНІТАРНО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА СЛУЖБА**

ЗА ВЕРДЖУЮ

ДЕРЖАВНА САНІТАРНО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА
СЛУЖБА УКРАЇНИ

(назва установи)

вул.Грушевського, 7, м.Київ, 01601

(місцезнаходження)

253-94-84, 559-29-88

Заступник головного державного
санітарного лікаря України



С.В. Протас

Висновок державної санітарно-епідеміологічної експертизи

від 21.03 2016р.

№ 05.03.02-06/8400

ТУ У 10.8-37420386-003:2016 «Добавка дієтична «Леквін»

(об'єкта експертизи, виготовлений у відповідності ТУ, ДСТУ, ГОСТ)

код за ДКПП: 10.89.19

(код за ДКПП, артикул)

НД для харчової промисловості

(сфера застосування та реалізації об'єкта експертизи)

ТОВ "Біохілтех", Україна, 65006, м. Одеса, вул.Ширшова, 15, тел.: (048) 728-24-61, 728-24-63, т/ф (048) 728-24-61. E-mail: pavan@mail.ru, код ЄДРПОУ: 37420386

(країна, розробник, адреса, місцезнаходження, телефон, факс, E-mail, WWW)

ТОВ "Біохілтех", Україна, 65006, м. Одеса, вул.Ширшова, 15, тел.: (048) 728-24-61, 728-24-63, т/ф (048) 728-24-61. E-mail: pavan@mail.ru, код ЄДРПОУ: 37420386

(заявник експертизи, адреса, місцезнаходження, телефон, факс, E-mail, WWW)

За результатами державної санітарно-епідеміологічної експертизи ТУ У 10.8-37420386-003:2016 «Добавка дієтична «Леквін» відповідає вимогам діючого санітарного законодавства України і може бути погоджений (затверджений)

Висновок дійсний до: на термін дії ТУ У 10.8-37420386-003:2016 «Добавка дієтична «Леквін»

При внесенні змін до нормативного документа щодо сфери застосування, умов застосування об'єкта експертизи даний висновок втрачає силу.

Державна установа "Інститут громадського
здоров'я ім. О.М.Марзєєва НАМН України"

02660, м.Київ, вул.Попудренка, 50, тел.: (044)
559-16-81

(найменування, місцезнаходження, телефон, факс, E-mail, WWW)

Протокол експертизи

№ 194 від 24.02.2016р.

(№ протоколу, дата його затвердження)

Голова експертної комісії

Полька Н.С.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ***Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації***

1. Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Порівняльна ефективність препаратів біофлавоноїдів при експериментальному гепатиті. *Вісник ОНУ. Біологія*. 2019. Т. 24, № 2 (45). С.129-135.

[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2019.2\(45\).185649](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2019.2(45).185649)

2. Макаренко О. А., Могилевська Т. В., Гладкій Т. В. Морфометричні та метаболічні порушення у кістковій тканині лабораторних щурів з хронічним токсичним гепатитом. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sport*. 2021. Vol. 6 (3). P. 347-352. <https://doi.org/10.26693/jmbs06.03.347>

3. Olga Makarenko., Tatiana Mogilevskaya., Larissa Khromagina. Peculiarities of suction, extraction and assignment of calcium in experimental chronic hepatitis in rats. *Scientific Journal «ScienceRise: Biological Science»*. 2022. № 2 (31). P.4-7. <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2022.258790>

4. Макаренко О. А., Могилевська Т. В., Борисенко Л. М. Гепатопротекторна ефективність комплексу Мінерол і Леквін у щурів з хронічним холестазом. *Вісник ОНУ. Біологія*. 2022. Т. 27, вип. 1 (50). С. 115-124. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.1\(50\).259837](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2022.1(50).259837)

5. Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Стан слизових оболонок травного тракту щурів на тлі хронічного холестазу та профілактики препаратами Мінерол і Леквін. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2022. № 2 (68). С. 120-127. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.6814978%20>

6. Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Корекція порушень у травному тракті щурів з хронічним холестазом комплексом Леквін і Мінерол. *Вісник ОНУ. Біологія*. 2023. Т. 28, вип. 1 (52). С. 147-158.

[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.1\(52\).284693](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.1(52).284693)

Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Ходаков І. В., Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Морфометричні показники кісток щурів при експериментальному гепатиті. *Медико-біологічні аспекти та мультидисциплінарна інтеграція в концепції здоров'я людини: матеріали Всеук. наук-практ. конф. з міжнар. уч., м. Тернопіль, 9-11 квітн. 2020 р. Тернопіль: ТНМУ, 2020. С. 207-209.*

2. Могилевська Т. В., Макаренко О. А. Особливості поведінкової активності щурів на тлі хронічного гідразинового гепатиту. *Медицина транспорту – 2020: тези доп. IV міжнар. конгресу., м. Одеса, 16-18 вересн. 2020 р. Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2020. С. 21-22.*

3. Могилевська Т. В., Сьомік Л. І. Порухення складу периферичної крові лабораторних щурів при хронічній гідразинової інтоксикації. *Актуальні питання судової ветеринарії, морфології та патоморфології: тези доп. міжн. наук-практ. інт-конф., м. Одеса, 17-18 черв. 2021 р. Одеса: ОДАУ, ФВМ, 2021. С. 79-81.*

4. Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Морфометричні та метаболічні порушення у кістковій тканині лабораторних щурів з хронічним токсичним гепатитом. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доп. IV наук-практ. інт-конф. з міжнар. уч., м. Харків, 18 лист. 2021 р. Харків: НфаУ, 2021. С. 197-200.*

5. Макаренко О. А., Могилевська Т. В. Морфометричні та метаболічні порушення у кістковій тканині лабораторних щурів з хронічним токсичним гепатитом. *42 Наукові читання імені О. О. Богомольця: матеріали наук-практ. конф. з міжнар. уч., присвяченій 140-річчю з дня народження академіка О. О. Богомольця., м. Київ, 24 травн. 2021 р. Київ: НМУ імені О. О. Богомольця, 2021. С. 112-113.*

6. Могилевська Т. В., Макаренко О. А. Профілактика порушень у травному тракті щурів при хронічному холестази. *XXI-і читання В. В. Підвисоцького: бюлетень матеріалів наук конф., м. Одеса, 23-24 червня. 2022 р. Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2022. С. 68-70.*

7. Могилевська Т. В., Макаренко О. А. Стан слизових оболонок травного тракту щурів з холестазом та після профілактики комплексом Мінерол і Леквін. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації*: матеріали V наук-практ. конф. студ. та мол. вчен. з міжнар. уч., м. Харків, 18 травн. 2023 р. Харків: НфаУ, 2023. С. 221-224.

8. Методи дослідження стану кишечника та кісток у лабораторних щурів: довідник / О. А. Макаренко, Л. М. Хромагіна, І. В. Ходаков, Г. В. Майкова, Л. М. Мудрик, В. В. Кіка, Т. В. Могилевська. Одеса: ОНУ імені І. І. Мечникова, 2022. 81 с.