

**Міністерство освіти і науки України
Київський національний університет імені Тараса Шевченка**

ЛЯШЕВИЧ АЛЬОНА МИХАЙЛІВНА

УДК 612.35:612.357.1+316.4.063

**ВПЛИВ СОЦІАЛЬНОГО СТРЕСУ І ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ
НА ЖОВЧНОСЕКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ ПЕЧІНКИ
ПРИ ЗАСТОСУВАННІ КОРВІТИНУ**

03.00.13 – фізіологія людини і тварин

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2020

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі фізіології людини і тварин ННЦ «Інституту біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України.

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор,
академік АНВШ України,
МАКАРЧУК Микола Юхимович,
Київський національний університет
імені Тараса Шевченка МОН України,
ННЦ «Інститут біології та медицини»,
завідувач кафедри фізіології людини і тварин

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор,
МАНЬКО Володимир Васильович,
Львівський національний університет
імені І.Я. Франка МОН України,
завідувач кафедри фізіології людини і тварин

доктор біологічних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України,
ЯНЧІЙ Роман Іванович,
Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України,
завідувач відділу імунофізіології

Захист відбудеться "26" лютого 2020 року о 16 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38 ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, пр. академіка Глушкова, 2, ННЦ «Інститут біології та медицини», ауд. 434.

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», спеціалізована вчена рада 26.001.38.

З дисертацією можна ознайомитись у Науковій бібліотеці імені М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України за адресою: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 58, зала 12.

Автореферат розісланий " _____ " _____ 2020 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38,
доктор біологічних наук



К.О. Дворченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Життя в умовах сучасного суспільства часто наражає людину на небезпеку зазнати впливу хронічного соціального стресу, причиною якого можуть бути різні стрес-фактори соціального походження. Хронічний соціальний стрес здатний змінювати як стан свідомості людини, так і порушувати функціонування різноманітних систем організму. В основі розвитку порушень в діяльності організму, викликаних соціальним стресом, лежать патологічні зміни функціонування центральних регуляторних механізмів, передовсім гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи [Барабой В. та ін., 2013; Reznikov A. et al., 2018].

Серед виявлених патологічних ефектів хронічного соціального стресу вирізняються порушення ліпідного обміну, які обумовлюють зміни співвідношень ліпідів і ліпопротеїнів крові, аномалії синтезу і рецептор-опосередкованого транспорту холестеролу, синтезу й окиснення жирних кислот та вмісту холестеролу й тригліцеридів у клітинах печінки [Liu Y. et al., 2014; Шкурашівська С. та ін., 2015; Gautam A. et al., 2015; Giudetti A. et al., 2019; Liu Y. et al., 2019]. Зрештою, саме порушення обміну ліпідів є критично важливою ланкою у патогенезі різних стрес-індукованих захворювань [Scott K. et al., 2012; Liu Y. et al., 2014; Faylon M. et al., 2015; Gautam A. et al., 2015; Han J. et al., 2016]. Відомо, що основні процеси ліпідного обміну відбуваються у клітинах печінки.

Функціонування печінки підлягає складній нейрогуморальній регуляції і будь-які викликані стресом зрушення нервових і гуморальних регуляторних механізмів виявляють прямий або опосередкований вплив на здійснення печінкою її численних функцій [Boyer J., 2013; Jensen M. et al., 2013; Silvennoinen R. et al., 2015].

Ферментативні системи гепатоцитів забезпечують синтез холестеролу й утворення з нього жовчних кислот, котрі є єдиними його кінцевими метаболітами, що виводяться з організму та які мають широкий спектр фізіологічних ефектів (необхідні для нормального перебігу травних процесів, залучені до регуляції величезної кількості внутрішньопечінкових і системних метаболічних процесів) [Zhou H. et al., 2014; Pierre J. et al., 2016; Taoka H. et al., 2016; Chiang J., 2017; Yan L. et al., 2018].

Слід відзначити, що ключовим фактором у розвитку патологічних станів, спряжених із розладами обміну холестеролу та жовчних кислот у печінці, а відтак і високо специфічним маркером уражень печінки, виявляються порушення фізіологічних співвідношень різних фракцій жовчних кислот як у жовчі, так і у плазмі крові [Lina L. et al., 2018]. Такі патологічні зміни пов'язані з розладами не тільки синтезу холатів у гепатоцитах, а і з порушеннями їх транспорту, біотрансформації, рециркуляції при перебуванні організму в умовах стресу [Silvennoinen R. et al., 2015]. Однак, саме ці аспекти дії соціального стресу на

метаболічні перетворення холестеролу та його похідних – холатів лишаються не виправдано мало дослідженими.

Зростає актуальність створення універсально-ефективних та безпечних коректорів порушень жовчносекреторної функції печінки [Кулянда О., 2015; Ференц Н., 2016; Недельська С. та ін., 2017]. Пошук препаратів, які ефективно і без обмежуючої побічної дії корегували б рівень холестеролу в крові та його обмін у печінці – актуальна наукова задача. До речовин, що істотно впливають на функціонування печінки належать біофлавоноїди, зокрема кверцетин. Незважаючи на різноманітні дослідження кверцетину як корегуючого засобу при різних патологіях вісцеральних систем організму, ефективність його водорозчинної форми – корвітину (ПАО НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», Україна) при стрес-індукованих порушеннях жовчносекреторної функції печінки мало відома і потребує детальних експериментальних досліджень.

Обрання тематики роботи обґрунтоване зростаючою значимістю стрес-індукованих, перед усім викликаних соціальним стресом, порушень функціонування гепато-біліарної системи та нагальною необхідністю пошуку ефективних препаратів для корекції обумовлених стресом патологій печінки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно плану науково-дослідної роботи ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України у рамках науково-дослідної теми: № 11БФ036-01 "Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій" (2011-2015 рр., № держреєстрації 0111U004648) та науково-дослідної теми кафедри фізіології людини і тварин ННЦ «Інститут біології та медицини» № 16КФ036-04 "Механізми функціонування мозку та вісцеральних систем за умов гострого і хронічного стресу" (2016-2018 рр., № держреєстрації 0116U006379).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було з'ясування впливу соціального стресу і гіперхолестеринемії на жовчносекреторну функцію печінки при застосуванні корвітину як корегуючого фактору.

Відповідно до мети дисертаційного дослідження поставлено наступні *завдання*:

1. Виявити ефекти соціального стресу на жовчносекреторну функцію печінки щурів.
2. Проаналізувати жовчнокислотний і ліпідний склад жовчі щурів в умовах соціального стресу.
3. Дослідити жовчносекреторну функцію печінки щурів в умовах експериментальної гіперхолестеринемії.
4. З'ясувати можливість застосування корвітину для корекції стрес-індукованих порушень жовчносекреторної функції.

Об'єкт дослідження: регуляція зовнішньосекреторної функції печінки.

Предмет дослідження: регуляція холесекреції та органічного складу жовчі в умовах соціального стресу та індукованої гіперхолестеринемії.

Методи дослідження. У роботі використані фізіологічні (когнітивний тест, гострі досліди на щурах, об'ємна швидкість секреції жовчі), біохімічні (спектрофотометричні, хроматографічні) та методи математичної статистики (для оцінки статистичної значущості результатів досліджень). Об'ємну швидкість секреції жовчі визначали у гострих дослідах на самцях щурів; холестерол крові визначали, використовуючи набір Human (Human GmbH, Німеччина) [Corso G. et al., 2015]; визначення жовчних кислот і ліпідів у жовчі щурів здійснювали за допомогою тонкошарової хроматографії методом у модифікації Весельського С.П. та ін. [Патент 99031324; №33564], статистичну обробку проводили з використанням пакету програм Statistica 5.0 (Stat-Soft, США).

Наукова новизна одержаних результатів. У роботі на рівні цілісного організму вперше досліджено вплив соціального стресу та гіперхолестеринемії на жовчосекреторну функцію печінки щурів при застосуванні водорозчинної форми кверцетину – корвітину.

За допомогою методу тонкошарової хроматографії вперше встановлено, що у жовчі стресованих щурів зростає вміст вільних дигідроксихоланових хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот та виявляються вторинні моногідроксихоланові літохолева і тауролітохолева кислоти що вказує на те, що соціальний стрес суттєво порушує синтез, перетворення і транспорт жовчних кислот у жовч.

Встановлено, що соціальний стрес порушує обмін холестеролу в печінці наслідком чого є те, що в жовчі стресованих тварин знижується концентрація вільного холестеролу. При цьому в жовчі стресованих щурів також зменшується вміст фосфоліпідів та вільних жирних кислот, що може вказувати на їхнє посилене використання в організмі за умов соціального стресу.

Соціальний стрес знижує сольобілізаційні властивості жовчі та підвищує ризик утворення жовчних каменів як одразу після впливу соціального стресу, так і через місяць після його завершення.

Вперше показано, що соціальний стрес справляє довготривалий вплив на жовчосекреторну функцію печінки, оскільки зумовлені стресом зміни жовчосекреторної функції печінки чітко виявлялися і через місяць після закінчення стресування.

Встановлено, що в умовах доксициклін-індукованої гіперхолестеринемії у печінці самців щурів пригнічується кон'югація холатів і зменшується рівень таурота глікохолевої кислот, фосфоліпідів і холестеролу в жовчі.

Доведено, що водорозчинна форма кверцетину – корвітин здатний нормалізувати жовчосекреторну функцію печінки як за умов соціального стресу, так і при експериментальній гіперхолестеринемії.

Практичне значення одержаних результатів. З огляду на зростання кількості патологій органів гепато-біліарної системи серед населення України і у світі в цілому, врахування результатів дисертаційної роботи вкрай важливе при

формуванні стратегії лікування захворювань, викликаних стресом, та при розробці відповідних корекційних засобів і процедур.

Встановлена автором дія корвітину на секрецію і склад жовчі обов'язково має враховуватися при його використанні як лікарського засобу при лікуванні серцево-судинної та інших систем, а також є підґрунтям для дослідження можливого розширення спектру застосування цього препарату в клінічній практиці при захворюваннях гепато-біліарної системи.

Результати роботи, їх узагальнення і висновки можуть використовуватися при викладанні відповідних спеціальних курсів (фізіологія людини і тварин, гепатологія, фізіологія гепато-біліарної системи, фізіологія травлення) студентам медико-біологічного профілю.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем особисто отримано більшість експериментальних даних, що представлені в дисертації. Автор самостійно здійснила обробку та первинний аналіз одержаних результатів, аналіз наукової літератури за темою дисертації. Формування теми роботи, планування експериментів та інтерпретацію отриманих результатів, підготовка та написання наукових статей було здійснено спільно з науковим керівником, д.б.н., проф. М.Ю. Макарчуком. Частина експериментів виконано спільно з іншими співавторами публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Шевченківська весна» (Київ, 2016), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» (Київ, 2016), XV міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених «Шевченківська весна: досягнення біологічної науки/BioScience Advances», XVI міжнародній науково-практичній конференції професорсько-викладацького складу, аспірантів і студентів «Актуальні проблеми ветеринарної медицини» (Київ, 2017), II інтернет-конференції з міжнародною участю «Системна організація психофізіологічних та вегетативних функцій (медико-біологічні аспекти)» (Луцьк, 2017).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 10 наукових праць, з яких 5 статей у фахових періодичних виданнях, рекомендованих Департаментом акредитації кадрів України, з них 1 стаття Web of Science та 5 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових конференцій та з'їздів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень та їх обговорення, узагальнення отриманих результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, який складається з 190 найменувань, в тому числі 117 англomовних. Робота викладена на 154 сторінках, ілюстрована 17 рисунками і містить 36 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи досліджень

Дослідження на тваринах проведені з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей та затверджені комісією з питань біоетики (розпорядження №16 від 22 жовтня 2014 року). Вибір моделі соціального стресу базувався на наступних критеріях: можливість набути субординантного статусу, тривалість впливу достатня для формування відповідного поведінкового стереотипу. Зазначеним критеріям відповідає модифікована для білих безпородних лабораторних щурів-самців (маса тіла 200–300 г) модель соціальної поразки, у якій стрес спричиняє повторний досвід соціальних поразок у щоденних міжсамцевих конфронтаціях [Kudryavtseva N., 1991]. Тварини утримувалися в акредитованому віварії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України згідно «Стандартних правил по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)». Отримані в експерименті відео-матеріали аналізувалися дослідником [Пахольченко В. та ін., 2010].

Когнітивний тест ґрунтується на схильності тварин надавати перевагу взаємодії із новим об'єктом. Тест відтворювався з використанням різних модифікацій дизайну установки та модельних об'єктів, уникаючи аверсивних стимулів. Процедура тесту включала три етапи: звикання, дослідження, вибору [Sinclair J. et al., 1988]. Реєструвалася тривалість дослідження об'єктів на етапі дослідження та на етапі вибору. Рівень дослідницької активності визначали за сумарною тривалістю дослідження об'єктів на кожному етапі. Стан пам'яті визначався за коефіцієнтом дискримінації – відношенням тривалості дослідження нового об'єкту до тривалості дослідження обох об'єктів [Irwin S. et al., 1951; Sinclair J. et al., 1988; Carlini V., 2011].

Схема проведення досліду включала моделювання гіперхолестеринемії шляхом інтрагастрального введення тваринам розчину доксицикліну (ПАО НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», Україна) в дозі 540 мг/кг маси тіла тварини, щоденно, протягом 5 днів [Аманова Г. та ін., 2008]. Також у роботі було досліджено вплив водорозчинної форми – корвітину на спектр жовчних кислот та ліпідів у жовчі самців щурів в умовах моделювання хронічного соціального стресу та експериментальної доксициклін-індукованої гіперхолестеринемії. Корвітин вводили перорально у дозі 1 мг/кг маси тіла тварини, щоденно, протягом 7 днів [Вовкун Т. та ін., 2016].

Дослідження жовчосекреторної функції проведені в умовах гострого експерименту. Експериментальні підходи включали декілька етапів. Перший – полягав у харчовій депривації із вільним доступом до води упродовж доби перед дослідом та наркотизації тварини тіопенталом натрію (ВАТ «Київмедпрепарат»,

Україна) у дозі 60 мг/кг маси тіла, що вводився внутрішньоочеревинно. На другому етапі проводилися оперативні втручання з канюлюванням жовчної протоки і забором жовчі. Реєстрували рівень жовчовиділення, збираючи 10-хвилинні порції жовчі протягом 180 хвилин досліду. За одиницю, що характеризує секреторну функцію печінки, вважали середню об'ємну швидкість секреції жовчі, розраховану як об'єм жовчі (мкл), секретований за 1 хв 1 г печінки. Третій етап полягав у аналізі вільних і кон'югованих жовчних кислот та ліпідів, які містилися у жовчі попередньо отриманій у гострих дослідах. Визначення жовчних кислот та ліпідів проводили за запропонованою Весельським С.П. та співавторами методикою [Патент 99031324; №33564].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакету програм Statistica 5.0 (Stat-Soft, США). Результати досліджень мали нормальний розподіл при перевірці їх за тестом Шапіро-Вілка, тому для оцінки вірогідних відмінностей між залежними вибірками використовувався критерій Стьюдента. Результати представлені у вигляді $M \pm m$ (середнє значення \pm середньоквадратичне відхилення). Відмінності між групами вважали вірогідними при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Дослідження стану пам'яті та рівня дослідницької активності у тесті розпізнавання об'єктів. Когнітивний тест широко використовується для оцінки функцій гіпокамп-опосередкованої пам'яті у гризунів. Його використовують для оцінки функцій пам'яті та навчання при дослідженні ефектів фармакологічних агентів, ураження специфічних ділянок мозку, зміни його нейрохімії, старіння та розвитку, тощо [Bhatia S. et al., 1996; Antunes M. et al., 2012].

Стан пам'яті та навчання щурів після хронічного соціального стресу у фазі вибору коефіцієнта дискримінації обох груп достовірно відрізнявся як від очікуваного рівня 0,5 (який би означав відсутність переваги одного з об'єктів) так і від значень коефіцієнта дискримінації, отриманих у фазу дослідження. Виявлено пригнічення здатності до запам'ятовування у щурів, які зазнали соціального стресу, що відобразилося у зменшенні коефіцієнта дискримінації через зниження рівня розпізнавальної пам'яті у цих тварин. У стресованих тварин порівняно з контрольними тваринами у фазу дослідження зростав рівень їх дослідницької активності, що може бути пояснене певною загальною активованістю таких тварин самою процедурою стресування. Однак у фазу вибору вказаний показник статистично не відрізнявся між групою контрольних та стресованих тварин.

Таким чином, соціальний стрес призводить до збільшення рівня загальної активності тварин, але достовірно погіршує процеси розпізнавання та запам'ятовування. Отримані результати когнітивного стресу переконливо свідчать, що при використанні обраного у роботі методу експериментальної соціальної поразки призводить до формування хронічного соціального стресу в щурів, при якому змінюються їх базові когнітивні функції.

Холати жовчі щурів при експериментальному соціальному стресі. Встановлено, що концентрація кон'югованих холатів у печінковому секреті щурів через добу після завершення впливу хронічного соціального стресу значно нижча, ніж у тварин контрольної групи. Вміст таурохолевої кислоти в двох останніх зразках жовчі самців-інтродерів був на 23,4–23,6 % ($p < 0,05$) менший від контролю, а дигідроксихоланових таурокон'югатів у трьох останніх пробах – на 18,9–23,14 % ($p < 0,05$; $p < 0,001$; Таблиця 1).

За умов хронічного соціального стресу у самців щурів ще більше пригнічувалися процеси, які забезпечували надходження з гепатоцитів до жовчних каналікул глікокон'югатів жовчних кислот. Концентрація глікохолевої кислоти у жовчі самців-інтродерів була нижчою на 32,9–51,3 % ($p < 0,001$) від контрольних значень, а концентрація глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої кислот – на 33,8–55,7 % ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$; Таблиця 1).

Таким чином, оскільки концентрація глікохолатів виявляється нижчою від контролю вже у першій півгодинній пробі жовчі, можемо вважати, що утворення і секреція цієї фракції кон'югованих жовчних кислот гепатоцитами істотно пригнічується в умовах хронічного соціального стресу. Натомість у стресованих самців щурів концентрація таурокон'югатів у зразках жовчі, зібраних на початку гострого дослідження, статистично значимо не відрізняється від контролю і лише наприкінці експерименту істотно знижується. Тобто, печінка тварин, що зазнали хронічного стресування, не здатна протягом усього гострого дослідження підтримувати властивий для щурів в таких умовах вміст таурохолатів.

Таблиця 1

Концентрація кон'югованих жовчних кислот у жовчі контрольних самців щурів ($n=8$) та самців щурів після соціального стресу ($n=9$), $M \pm m$, мг %

проби жовчі, час дослідження, хв	групи щурів (серія)	таурохолева кислота	таурохенодезоксихолева і тауродезоксихолева кислоти	тауролітохолева кислота	глікохолева кислота	глікохенодезоксихолева і глікодезоксихолева кислоти
1 (30)	контроль	180,83±11,88	103,09±8,28	0	141,77±13,82	23,57±6,23
	стрес	184,42±21,98	100,91±11,57	22,03±7,97***	95,06±34,74***	10,43±4,91***
2 (60)	контроль	178,99±10,18	104,46±8,49	0	143,99±8,42	21,94±4,54
	стрес	182,16±23,53	100,91±12,10	21,87±7,40***	91,34±32,63***	10,14±3,42***
3 (90)	контроль	175,66±9,72	99,77±8,50	0	137,20±9,16	20,79±5,01
	стрес	168,19±25,84	91,89±9,96	16,99±6,20***	82,45±29,43***	12,21±4,78***
4 (120)	контроль	173,03±10,03	95,86±10,37	0	132,49±11,64	20,44±4,19
	стрес	139,27±42,80	77,74±19,37*	15,32±5,78***	72,79±26,49***	11,94±4,33***
5 (150)	контроль	166,00±10,79	92,79±9,64	0	122,73±16,12	19,13±4,09
	стрес	127,22±44,84*	74,71±15,99*	11,65±7,24**	65,81±21,90***	12,56±5,04**
6 (180)	контроль	160,17±11,47	89,75±7,97	0	122,13±16,06	17,42±3,70
	стрес	122,30±40,93*	68,98±13,81***	9,55±5,76***	59,51±19,19***	11,54±5,11*

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ статистично значимі відмінності порівняно з контролем.

Наявність у жовчі стресованих тварин тауролітохолату свідчить про те, що така форма гепатоцитарної детоксикації як кон'югація потенційно токсичної сполуки з таурином лишається відносно стабільною в умовах експериментального соціального стресу. Жовчні кислоти, пул яких змінюється під впливом індукованих стресом регуляторних факторів, надалі самі можуть виступати як регулятори і модулятори його фізіологічних і патологічних наслідків. Ми припускаємо, що у патогенезі метаболічних розладів при хронічному соціальному стресі не останню роль відіграють порушення утворення і транспорту жовчних кислот в гепатоцитах. На сьогодні це припущення вимагає подальших ґрунтовних досліджень.

Найбільш значною відмінністю у жовчнокислотному спектрі жовчі самців щурів через добу після завершення впливу хронічного соціального стресу стала поява у їх печінковому секреті літохолової кислоти та її таурокон'югованої форми (Таблиці 1; 2). Як бачимо, в умовах хронічного соціального стресу процеси біотрансформації вторинної літохолової кислоти гальмуються.

Таблиця 2

Концентрація вільних жовчних кислот у жовчі контрольних самців щурів (n=8) та самців щурів після соціального стресу (n=9), $M \pm m$, мг %

проби жовчі, час досліджу, хв	групи щурів (серія)	холева кислота	хенодезоксихолева і дезоксихолева кислоти	літохолева кислота
1 (30)	контроль	19,87±4,77	8,34±1,98	0
	стрес	13,06±2,58**	9,51±1,51	4,20±1,10**
2 (60)	контроль	19,84±4,27	7,89±1,32	0
	стрес	13,15±2,59**	9,86±1,62*	4,08±0,84**
3 (90)	контроль	18,89±4,45	7,54±1,19	0
	стрес	12,24±1,44**	9,03±1,38*	3,74±0,64**
4 (120)	контроль	18,49±4,19	7,37±1,09	0
	стрес	10,49±2,15**	7,95±1,41	2,74±0,79**
5 (150)	контроль	18,71±3,84	7,41±0,85	0
	стрес	10,49±2,15**	7,59±1,67	2,74±0,81**
6 (180)	контроль	18,33±3,24	7,40±0,83	0
	стрес	9,49±1,79**	7,16±1,46	2,33±0,76**

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ статистично значимі відмінності порівняно з контролем.

Концентрація вільної тригідроксихоланової холевой кислоти самців щурів після завершення впливу хронічного соціального стресу виявилася нижчою від контрольних значень – на 33–48 % ($p < 0,01$; Таблиця 2). Холева кислота належить до так званих первинних жовчних кислот, що безпосередньо синтезуються ферментативними системами гепатоцитів з холестеролу [Cai Z. et al., 2015; Sluis R. et al., 2015; Chiang J., 2017]. Відтак, її концентрація відображає інтенсивність перебігу синтетичних енергозалежних процесів у клітинах печінки. Отже, виходячи з результатів досліджень, можемо припустити, що за умов хронічного соціального стресу синтез жовчних кислот класичним шляхом пригнічено.

Ліпіди жовчі щурів, що знаходилися в умовах експериментальної соціальної поразки. Отримані результати показали, що в умовах соціального стресу в печінці самців щурів відбуваються метаболічні процеси, які ведуть до зміни ліпідного складу жовчі тварин. Проведене одразу після завершення впливу хронічного соціального стресу дослідження жовчі самців щурів виявило зниження концентрацій вільного холестеролу, вільних жирних кислот і фосфоліпідів жовчі.

Вміст вільних жирних кислот у жовчі щурів самців при соціальному стресі був нижчий порівняно з контролем на 22,1–36,5 % ($p < 0,01$). При соціальному стресі у гепатоцитах самців щурів переважно пригнічуються процеси, які забезпечують надходження у первинні жовчні каналці стероїдних ліпідних компонентів жовчі. Спостерігалось значне зниження концентрації холестеролу порівняно з контрольними показниками в усіх зразках жовчі тварин одразу після моделювання соціального стресу на 25,7–30,5 % ($p < 0,01$). Рівень етерів холестеролу у жовчі щурів самців при хронічному соціальному стресі був вищий від контрольної групи на 16,6–25,5 % ($p < 0,05$). У самців щурів через місяць після завершення впливу хронічного соціального стресу вміст вільного холестеролу в жовчі був меншим від контролю на 13,9–18,7 % ($p < 0,05$).

Фізико-хімічні властивості жовчі, зокрема, її колоїдна стабільність і літогенність можуть бути успішно оцінені за відповідними співвідношеннями різних ліпідних компонентів. У самців щурів через місяць після завершення впливу хронічного соціального стресу холато-холестероловий коефіцієнт жовчі вищий від контролю на 25,1–26,5 % ($p < 0,05$). Натомість у тварин через добу після впливу хронічного соціального стресу цей же коефіцієнт був меншим від контролю на 20,4–28,1 % ($p < 0,05$). Отже, за розрахунками холато-холестеролового співвідношення бачимо, що літогенні властивості жовчі (зростання ймовірності утворення холестеролових жовчних каменів) виявляються через місяць по тому як тварини зазнали соціального стресу.

Коефіцієнт етерифікації жовчі щурів через місяць після завершення впливу соціального стресу менший від контролю на 30,7–44,2 % ($p < 0,01$). А у тварин через добу після завершення впливу хронічного соціального стресу – також менший від контролю на 30,6–33,8 % ($p < 0,01$). Зменшення коефіцієнта етерифікації вказує на посилення процесів етерифікації холестеролу в клітинах печінки в умовах стресу.

Співвідношення фосфоліпідів і холестеролу жовчі щурів самців через місяць після завершення впливу хронічного соціального стресу було більше від контролю на 28,6–37,3 % ($p < 0,05$). Також через добу після хронічного стресування дане співвідношення було більше від контролю на 18–21,3 % ($p < 0,05$).

Жовчосекреторна функція печінки щурів в умовах експериментальної гіперхолестеринемії. При моделюванні доксициклін-індукованої гіперхолестеринемії вміст загального холестеролу в крові щурів виявився на 85,9 % ($p < 0,05$) вищим від контрольних значень, зокрема складав $2,6 \pm 0,6$ ммоль/л порівняно з $1,4 \pm 0,3$ ммоль/л у контрольній групі тварин (Рис. 1). Концентрація

вільного холестеролу у жовчі щурів, які зазнавали впливу доксицикліну статистично значимо зменшувалася (Рис. 1 II). Однак, слід відзначити істотне збільшення концентрації ефірів холестеролу в жовчі щурів, які зазнали впливу доксицикліну (Рис. 1 III).

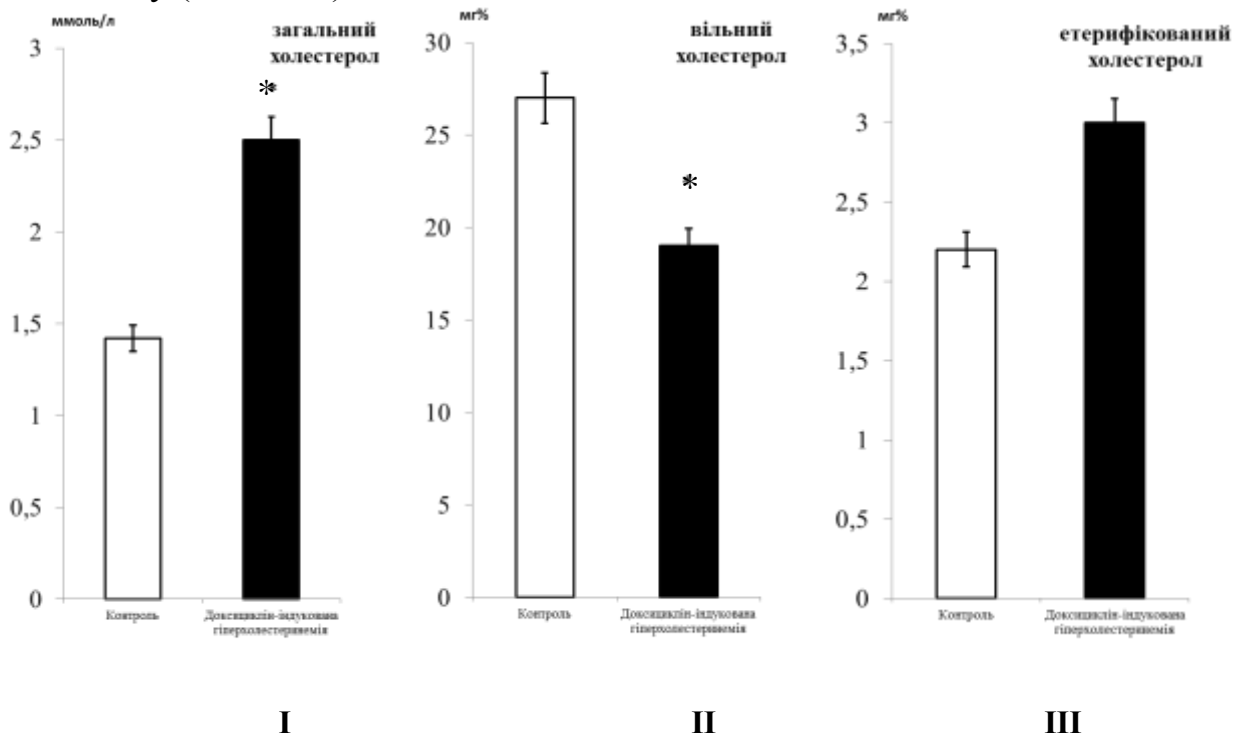


Рис. 1. Вміст загального холестеролу в крові (I) та вільного (II) і етерифікованого (III) холестеролу у жовчі самців щурів контрольної групи (n=8) та при моделюванні доксициклін-індукованої гіперхолестеринемії (n=9), $M \pm m$; * $p < 0,05$.

Жовчні кислоти жовчі щурів з експериментальною доксицикліновою гіперхолестеринемією. При моделюванні доксициклін-індукованої гіперхолестеринемії виявлено, що концентрація таурохолевої кислоти у жовчі щурів нижча на 18,7–21,9 % ($p < 0,01$) порівняно з контрольними зразками жовчі. Найістотніше зменшення вмісту таурохолату у печінковому секреті щурів з доксицикліновою гіперхолестеринемією спостерігається в п'ятій пробі на 31,8 % ($p < 0,001$) порівняно з контролем. Концентрація глікохолевої кислоти у жовчі щурів з доксицикліновою гіперхолестеринемією нижча на 35–37 % ($p < 0,01$), ніж у контролі. Рівень сумішей таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої кислот у жовчі щурів з доксицикліновою гіперхолестеринемією виявився нижчий порівняно з контролем на 31,7–33,6 % ($p < 0,001$).

Кон'югація забезпечує розчинність жовчних кислот навіть при низьких рН, робить їх стійкими до утворення солей кальцію та знижує можливість їх проникнення через клітинні мембрани. Крім того, утворення кон'югатів, яке полягає у зв'язуванні субстрату із високополярними сполуками, є одним із основних способів біологічної трансформації та усунення агресивності ендо- і екзогенних речовин [Scott K. et al., 2012]. Тому зміни коефіцієнта кон'югації

жовчних кислот можуть опосередковано свідчити про хід реакцій дезінтоксикації у тканині печінки. Коефіцієнт кон'югації жовчних кислот жовчі щурів в умовах експериментальної гіперхолестеринемії був нижчий від контрольних показників на 25–28 % ($p < 0,05$).

Ліпіди жовчі щурів з експериментальною доксицикліновою гіперхолестеринемією. Під впливом доксициклінового навантаження у самців щурів зменшується вміст фосфоліпідів у жовчі на 20,5–26,2 % ($p < 0,05$), ніж у контролі. Натомість рівень вільних жирних кислот у жовчі щурів з доксицикліновою гіперхолестеринемією виявився вищим, ніж у тварин контрольної групи на 45,3–85,1 % ($p < 0,001$). Вміст холестеролу у жовчі щурів самців з доксицикліновою гіперхолестеринемією виявився нижчим від контролю на 18,9–28,3 % ($p < 0,01$). Зростання вмісту в жовчі вільних жирних кислот може бути пов'язане з порушенням їх утилізації у відповідних «жирових депо» в умовах доксициклінового навантаження. Фосфоліпіди у жовчі відіграють важливу фізіологічну роль, оскільки разом із жовчними кислотами забезпечують утримання холестеролу в змішаних жовчних міцелах, тобто сприяють його сольобілізації. Також фосфоліпіди захищають апікальну мембрану клітин печінки від детергентної дії жовчних кислот [Morita S. et al., 2014]. Оскільки доксициклін у великих дозах має прооксидантні властивості і сприяє накопиченню в тканині печінки альдегідів, кетонів, гідроперекисів, то під його впливом посилюється перекисне окислення ліпідів, змінюється структура і проникність клітинних мембран і, як наслідок, порушуються транспортні процеси, які складають основу жовчоутворення [Tang D. et al., 2015].

Можливі корекційні заходи при порушеннях жовчносекреторних процесів в умовах соціального стресу. Концентрація таурохолевої кислоти у жовчі при застосуванні корвітину в умовах моделювання хронічного соціального стресу самців щурів була вищою від контролю на 8,1–9,2 % ($p < 0,05$). А вміст дигідроксихоланових таурохолатів був нижчий порівняно з контролем на 14,7 % ($p < 0,05$). Рівень глікохолатів у жовчі при застосуванні корвітину в умовах моделювання хронічного соціального стресу самців щурів був вищим від контролю на 31,7–40,3 % ($p < 0,05$; Таблиця 3).

Тауролітохолева кислота виявлена у жовчі стресованих самців щурів, які отримували корвітин. Отже, застосування корвітину не запобігало появі вторинної жовчної кислоти – літохолату у печінковому секреті. Нагадаємо, у щурів контрольної групи ні тауролітохолату, ні літохолату не виявлено (Таблиця 3).

Концентрації холевої кислоти у жовчі самців щурів при застосуванні корвітину в умовах моделювання хронічного соціального стресу у порівнянні з контрольними показниками були нижчі на 20–46 % ($p < 0,05$), вміст вільних жирних кислот виявився вищим від контролю на 49,4–65,8 % ($p < 0,1$), рівень тригліцеридів був вищим від контролю на 41–51 % ($p < 0,05$).

Таблиця 3

Концентрація кон'югованих жовчних кислот у жовчі контрольних самців щурів (n=8) та самців щурів після соціального стресу при застосуванні корвітину (n=9), М±m, мг %

проби жовчі, час досліду, хв	групи щурів (серія)	таурохолева кислота	таурохенодезоксихолева і тауродезоксихолева кислоти	тауролітохолева кислота	глікохолева кислота	глікохенодезоксихолева і глікодезоксихолева кислоти
1 (30)	контроль	180,83±11,88	103,09±8,28	0	141,77±13,82	23,57±6,23
	стрес+ корвітин	183,28±13,40	90,62±15,3	4,16±5,15**	139,72±14,23	28,74±4,81
2 (60)	контроль	178,99±10,18	104,46±8,49	0	143,99±8,42	21,94±4,54
	стрес+ корвітин	191,76±14,05	93,66±11,95	3,17±4,34**	138,70±10,63	28,90±3,31*
3 (90)	контроль	175,66±9,72	99,77±8,50	0	137,20±9,16	20,79±5,01
	стрес+ корвітин	191,76±11,02*	90,80±10,56	2,18±2,81**	140,46±7,64	29,18±4,82*
4 (120)	контроль	173,03±10,03	95,86±10,37	0	132,49±11,64	20,44±4,19
	стрес+ корвітин	186,98±5,35*	88,94±7,28	0,89±1,19**	127,32±7,39	26,66±4,36*
5 (150)	контроль	166,00±10,79	92,79±9,64	0	122,73±16,12	19,13±4,09
	стрес+ корвітин	167,88±12,73	81,46±7,77	0,44±2,18**	111,62±6,77	24,14±2,35*
6 (180)	контроль	160,17±11,47	89,75±7,97	0	122,13±16,06	17,42±3,70
	стрес+ корвітин	150,70±11,47	76,54±7,35*	0	89,52±12,7*	17,30±1,42

Примітка: * p<0,05; ** p<0,01; статистично значимі відмінності порівняно з контролем.

Холато-холестероловий коефіцієнт жовчі при застосуванні корвітину в умовах моделювання хронічного соціального стресу самців щурів був менший від контролю на 18,8–44,2 % (p<0,01).

При моделюванні доксициклін-індукованої гіперхолестеринемії, після якої вводили корвітин виявлено, що вміст таурохолату у жовчі щурів самців був меншим від контролю на 15,5–16,5 % (p<0,01). Таким чином, корвітин в апробованій дозі не усуває повністю пригнічуючого впливу доксицикліну на надходження до жовчі таурохолевої кислоти.

У разі застосування корвітину, пригнічуючий вплив доксицикліну на утворення і надходження до жовчі глікохолату усувається. Зокрема, у жовчі щурів, яким вводили корвітин після доксициклінового навантаження вміст глікохолевої кислоти виявився вищий на 39,2–42,2 % (p<0,05), ніж у жовчі тварин з доксицикліновою гіперхолестеринемією.

У жовчі щурів, яким вводили корвітин на тлі доксицикліну, порівняно з тваринами, які отримували лише доксициклін концентрація таурохенодезоксихолевої і тауродезоксихолевої кислот зросла на 25,9–33,8 % (p<0,05), а глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої кислот збільшилася на 37,2–46,9 % (p<0,05).

У щурів, які отримували після доксицикліну корвітин – концентрація вільної тригідроксихоланової холевої кислоти зменшувалася на 26–30,3 % ($p < 0,01$) порівняно з контролем. Ймовірно таке зменшення концентрації холату у жовчі щурів, що зазнали впливу доксицикліну і корвітину може бути викликане посиленням процесів кон'югації цієї вільної жовчної кислоти з гліцином із утворенням глікохолату, вміст якого у жовчі тварин цієї групи зростає порівняно із щурами, яким вводили лише доксициклін.

У жовчі тварин, яким вводили корвітин на тлі доксицикліну концентрація вільних дигідроксихоланових хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот зростала порівняно з контролем на 59,5–84,3 % ($p < 0,05$). Отже, корвітин виявив стабілізуючий вплив на вміст у жовчі самців щурів з доксицикліновою гіперхолестеринемією більшості кон'югованих холатів, за виключенням таурохолевої кислоти.

Також корвітин викликав у щурів з доксицикліновою гіперхолестеринемією зниження концентрації у жовчі вільної холевої кислоти та значне збільшення вмісту в печінковому секреті хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот.

Коефіцієнт етерифікації жовчі при застосуванні корвітину в умовах моделювання хронічного соціального стресу самців щурів був нижчий від контролю на 43,8–48,1 % ($p < 0,05$).

Застосування корвітину у щурів, що зазнали попереднього доксициклінового навантаження, веде до нормалізації вмісту фосфоліпідів у їх жовчі. Так, у четвертій пробі після доксициклінового навантаження спостерігалось зменшення концентрації фосфоліпідів порівняно з контрольними показниками на 23,8 % ($p < 0,01$), а після введення корвітину на тлі доксицикліну їх вміст був на 4,3 % ($p < 0,05$) менший від контрольних значень. Натомість рівень вільних жирних кислот у жовчі щурів самців з доксицикліновою гіперхолестеринемією при дії корвітину виявився вищим, ніж у тварин контрольної групи на 28–49,2 % ($p < 0,01$).

Концентрація холестеролу у жовчі щурів самців з доксицикліновою гіперхолестеринемією при дії корвітину була нижчою, ніж у тварин контрольної групи на 17,5–19 % ($p < 0,05$). Вміст етерів холестеролу після введення корвітину на тлі доксициклінового навантаження був вищий від контрольних показників на 25,8–29,7 % ($p < 0,05$).

Також слід відзначити, що під впливом доксицикліну зменшувалося співвідношення глікокон'югатів жовчних кислот відносно до таурокон'югатів. У разі ж застосування корвітину після доксициклінового навантаження кількість глікокон'югатів у жовчі щурів зростала порівняно з контролем на 10,2–14,5 % ($p < 0,01$).

Також виявлено, що співвідношення три- та дигідроксихоланових кислот суттєво змінювалося у жовчі щурів, які зазнавали впливу і доксицикліну, і корвітину. Так, коефіцієнт гідроксилування жовчних кислот жовчі щурів під впливом корвітину в умовах доксициклін-індукованої гіперхолестеринемії був менший від контрольних

показників на 11–14,5 % ($p < 0,05$). Під впливом корвітину у щурів з доксициклін-індукованою гіперхолестеринемією стимулюється утворення дигідроксихоланових жовчних кислот із залученням мітохондріальних ферментів гепатоцитів.

У самців щурів, при застосуванні корвітину в умовах моделювання хронічного соціального стресу, змінюється склад холатів жовчі порівняно з показниками стресованих тварин (Таблиця 4).

Концентрація тауролітохолової кислоти у першому – п'ятому зразках жовчі самців, які отримували корвітин при хронічному соціальному стресі була меншою від вмісту цієї жовчної кислоти у жовчі тварин стресованої групи на 81,7–95 % ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$), а в шостій пробі жовчі тварин цієї кислоти не виявлено взагалі (Таблиця 4).

Таблиця 4

Концентрація кон'югованих жовчних кислот у жовчі самців щурів після соціального стресу при застосуванні корвітину ($n=9$) та без застосування корвітину ($n=9$), $M \pm m$, мг %

проби жовчі, час дослід, хв	групи щурів (серія)	таурохолева кислота	таурохенодезоксихолева і тауродезоксихолева кислоти	тауролітохолева кислота	глікохолева кислота	глікохенодезоксихолева і глікодезоксихолева кислоти
1 (30)	стрес	184,42±21,98	100,91±11,57	22,04±7,97	95,06±34,74	10,43±4,91
	стрес+корвітин	183,28±13,41	90,62±15,3	4,03±1,33**	139,72±14,23**	28,74±4,82*
2 (60)	стрес	182,16±23,53	100,91±12,10	21,87±7,40	91,34±32,63	10,14±3,42
	стрес+корвітин	191,92±14,05	93,66±11,95	3,30±1,39**	139,72±14,23*	28,90±3,31*
3 (90)	стрес	168,19±25,84	91,89±9,96	16,99±6,20	82,45±29,43	12,21±4,78
	стрес+корвітин	191,76±11,02	93,32±9,00	2,52±1,35*	140,46±7,64**	29,18±4,82*
4 (120)	стрес	139,27±42,79	77,74±19,37	11,48±8,61	72,79±26,49	11,94±4,33
	стрес+корвітин	186,98±5,35**	88,94±7,28	1,49±1,30**	127,32±7,39*	26,66±4,36*
5 (150)	стрес	127,22±44,84	74,71±15,99	8,74±8,16	65,81±21,90	12,56±5,03
	стрес+корвітин	167,88±12,73	81,46±7,77	0,44±0,97***	111,62±6,77*	24,14±2,35*
6 (180)	стрес	126,42±44,98	68,98±13,81	9,55±5,76	59,51±19,18	11,54±5,11
	стрес+корвітин	150,70±11,19	76,54±7,36	0	89,52±12,7*	17,30±1,42*

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ статистично значимі відмінності порівняно зі щурами після соціального стресу без застосування корвітину.

Вміст глікохолевої кислоти у жовчі тварин після застосування корвітину в умовах моделювання хронічного соціального стресу вищий від такого у щурів стресованої групи на 47–75 % ($p < 0,05$; $p < 0,01$). А концентрація

глікохенодезоксихолевої і глікодезоксихолевої кислот зросла на 50–92,2 % ($p < 0,05$) порівняно з групою стресованих тварин (Таблиця 4).

Кон'югація холатів із таурином і гліцином це один із механізмів детоксикації, а з отриманих результатів бачимо, що корвітин стимулює процеси кон'югації у гепатоцитах стресованих щурів.

У жовчі тварин, яким вводили корвітин на тлі стресу, порівняно зі стресованими тваринами, концентрація холевої кислоти зросла на 30–69,8 % ($p < 0,05$; $p < 0,01$).

Особливо слід відзначити, що у самців щурів в умовах моделювання хронічного соціального стресу при застосуванні корвітину зменшений вміст літохолевої кислоти у жовчі порівняно зі стресованою групою на 83,2–97 % ($p < 0,05$; $p < 0,01$; Таблиця 5).

Таблиця 5

Концентрація вільних жовчних кислот у жовчі самців щурів після соціального стресу при застосуванні корвітину ($n=9$) та без застосування корвітину ($n=8$), $M \pm m$, мг %

проби жовчі, час досліду, хв	групи щурів (серія)	холева кислота	хенодезоксихолева і дезоксихолева кислоти	літохолева кислота
1 (30)	стрес	13,06±2,58	9,51±1,51	4,20±1,10
	стрес+корвітин	17,66±4,25*	10,18±2,12	0,17±0,12*
2 (60)	стрес	13,15±2,59	9,86±1,61	4,08±0,84
	стрес+корвітин	17,10±3,09*	10,28±2,88	0,19±0,08*
3 (90)	стрес	12,24±1,44	9,02±1,38	3,74±0,64
	стрес+корвітин	18,92±3,94**	9,56±2,52	0,26±0,08*
4 (120)	стрес	10,39±1,97	7,95±1,41	2,74±0,79
	стрес+корвітин	17,64±2,72*	8,60±1,77	0,35±0,11**
5 (150)	стрес	10,49±2,15	7,59±1,67	2,74±0,81
	стрес+корвітин	14,88±2,97*	7,70±1,32	0,46±0,13*
6 (180)	стрес	9,49±1,79	7,16±1,46	2,33±0,76
	стрес+корвітин	9,80±1,50	5,56±1,43	0,27±0,16*

Примітка; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ статистично значимі відмінності порівняно зі щурами після соціального стресу без застосування корвітину.

Літохолева кислота належить до так званих вторинних жовчних кислот і має значно більш виражені детергентні, а відтак, пошкоджуючі властивості, ніж ди- та тригідроксихоланові первинні жовчні кислоти. У щурів, які не піддавалися хронічному соціальному стресуванню не виявлено ні тауролітохолату, ні літохолату взагалі.

Застосування корвітину істотно зменшує вміст токсичної вторинної жовчної кислоти – літохолату у печінковому секреті стресованих тварин. Це вказує на можливі гепатопротективні властивості корвітину в умовах хронічного соціального стресу у щурів.

ВИСНОВКИ

У дисертації, відповідно до мети, вирішене актуальне наукове завдання, яке стосується впливу соціального стресу і гіперхолестеринемії на жовчносекреторну функцію печінки при застосуванні корвітину, та зроблені наступні висновки:

1. Соціальний стрес істотно пригнічує процеси, які забезпечують синтез, біотрансформацію і транспорт жовчних кислот у жовч, внаслідок чого у печінковому секреті стресованих щурів зростає вміст вільних дигідроксихоланових хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот на 20–25 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем та у значній кількості виявляються вторинні моногідроксихоланові літохолева і тауролітохолева кислоти, які відсутні у печінковому секреті тварин контрольної групи.

2. Соціальний стрес викликає порушення процесів обміну холестеролу в печінці, що викликає зниження концентрації вільного холестеролу в жовчі тварин на 21,7–30,9 % ($p < 0,01$) порівняно з контролем та посилення його естерифікації в гепатоцитах. При цьому у жовчі зменшується вміст фосфоліпідів на 11,7 % ($p < 0,01$) та вільних жирних кислот на 15,4–36,5 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою, що може бути пов'язане з їх посиленням використанням в організмі стресованих тварин. Наслідки соціального стресу на жовчосекреторну функцію печінки чітко виявляються і через місяць після стресування.

3. Соціальний стрес викликає зміни жовчоутворення, які призводять до зниження солюбілізаційних властивостей жовчі та підвищує ризик літогенезу одразу після завершення впливу стресу, так і через місяць після нього.

4. В клітинах печінки щурів експериментальна гіперхолестеринемія пригнічує процеси утворення, гідроксилування, кон'югації і транспорту холатів – унікальних компонентів жовчі, які визначають її основні фізико-хімічні властивості як травного секрету та порушує нормальне співвідношення ліпідних компонентів жовчі.

5. Застосування корвітину в умовах експериментального соціального стресу стимулює детоксикаційні процеси в гепатоцитах; призводить до зменшення вмісту вільного холестеролу на 18,5–26,9 % ($p < 0,05$) та збільшення кількості його естерів у жовчі самців щурів на 26,5–58,2 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем; забезпечує підтримання нормальної концентрації фосфоліпідів та сприяє загальній інтенсифікації ліпідного обміну, що вказує на високі потенційні можливості використання корвітину як корегуючого фактору за умов хронічного соціального стресу.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях:

1. Ляшевич А.М. Вплив корвітину на біотрансформацію жовчних кислот у печінці щурів з експериментальною гіперхолестеринемією / А.М. Ляшевич,

Є.М. Решетнік, І.М. Сечина, С.П. Весельський, К.В. Гарник // Науково-практичний часопис «Фітотерапія». – 2016. – №4. – С. 12-16. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження та аналіз отриманих результатів).*

2. Ляшевич А.М. Вплив корвітину на вміст жовчних кислот у жовчі щурів з викликаною доксицикліном гіперхолестеринемією / **А.М. Ляшевич**, Є.М. Решетнік, В.М. Колбасинська, С.П. Весельський, М.Ю. Макаруч // Вісник Черкаського університету. Серія «Біологічні науки». – 2016. – №2. – С. 73-79. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження та аналіз отриманих результатів).*

3. Ляшевич А.М. Вплив корвітину на ліпідний спектр жовчі щурів з експериментальною гіперхолестеринемією / **А.М. Ляшевич**, Є.М. Решетнік, В.М. Колбасинська, С.П. Весельський, М.Ю. Макаруч // Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. Серія «Біологічні науки». – 2017. – №7. – С. 169-173. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження та аналіз отриманих результатів).*

4. Ляшевич А.М. Вплив хронічного соціального стресу на склад холатів жовчі самців щурів / **А.М. Ляшевич**, І.І. Тубальцева, Є.М. Решетнік, О.В. Бондаренко, С.П. Весельський, М.Ю. Макаруч // Фізіологічний журнал. – 2017. – №4(63). – С. 24-29. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження та аналіз отриманих результатів).*

5. Ляшевич А.М. Ліпіди жовчі самців щурів в умовах хронічного соціального стресу / **А.М. Ляшевич**, І.І. Тубальцева, Є.М. Решетнік, С.П. Весельський, О.В. Бондаренко, М.Ю. Макаруч // Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2017. – №8(3). – С. 356-362. (Web of Science) *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження та аналіз отриманих результатів).*

Тези наукових доповідей:

1. Співвідношення холатів у жовчі щурів з експериментальною гіперхолестеринемією / В.О. Борисевич, **А.М. Ляшевич**, Є.М. Решетнік, М.Ю. Макаруч // XIV Міжнародна наукова конференція студентів, аспірантів та молодих вчених. «Шевченківська весна 2016: Біологія». Київ. – 2016. – С. 47-48.

2. Вплив корвітину на жовчнокислотний склад жовчі щурів із доксициклін-індукованою гіперхолестеринемією / **А.М. Ляшевич**, Є.М. Решетнік, В.М. Колбасинська, К.В. Гарник, С.П. Весельський, М.Ю. Макаруч // Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини». Київ. – 2016. – С. 90-91.

3. Вплив корвітину на жовчнокислотний склад жовчі самців щурів в умовах хронічного соціального стресу / В.О. Борисевич, **А.М. Ляшевич**, Є.М. Решетнік, І.І. Тубальцева, С.П. Весельський // XV Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених «Шевченківська весна: досягнення біологічної науки/BioScience Advances». Київ. – 2017. – С. 175-176.

4. Вплив хронічного соціального стресу на спектр жовчних кислот жовчі самців щурів / **А.М. Ляшевич**, І.І. Тубальцева, Є.М. Решетнік, С.П. Весельський,

М.Ю. Макарчук // XVI Міжнародна науково-практична конференція професорсько-викладацького складу, аспірантів і студентів «Актуальні проблеми ветеринарної медицини». Київ. – 2017. – С. 67-68.

5. Вплив корвітину на спектр жовчних кислот жовчі щурів з доксицикліновою гіперхолестеринемією / А.М. Ляшевич, Є.М. Решетнік, С.П. Весельський, М.Ю. Макарчук // II Інтернет-конференція з міжнародною участю «Системна організація психофізіологічних та вегетативних функцій (медико-біологічні аспекти)». Луцьк. – 2017. – С. 18.

АНОТАЦІЯ

Ляшевич А.М. Вплив соціального стресу і гіперхолестеринемії на жовчносекреторну функцію печінки при застосуванні корвітину. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – «Фізіологія людини і тварин» – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2019.

Дисертація присвячена вивченню впливу соціального стресу і гіперхолестеринемії на жовчносекреторну функцію печінки при застосуванні корвітину. Показано, що у щурів, яких піддавали соціальному стресу істотно змінюється склад холатів жовчі порівняно з тваринами контрольної групи. Виявлено, що в умовах соціального стресу в печінці самців щурів відбуваються метаболічні процеси, які призводять до зміни ліпідного складу жовчі тварин. У гепатоцитах самців щурів переважно пригнічуються процеси, які забезпечують надходження у первинні жовчні каналці стероїдних ліпідних компонентів жовчі. Результати вказують на те, що соціальний стрес істотно пригнічує процеси, які забезпечують синтез, біотрансформацію і транспорт жовчних кислот у жовч, внаслідок чого у печінковому секреті стресованих щурів зростає вміст вільних дигідроксихоланових хенодезоксихолевої і дезоксихолевої кислот та у значній кількості виявляються вторинні моногідроксихоланові літохолева і тауролітохолева кислоти.

Ключові слова: соціальний стрес, печінка, жовч, жовчні кислоти, ліпіди жовчі, холестерол жовчі, фосфоліпіди жовчі, жирні кислоти жовчі, корвітин, доксициклін-індукована гіперхолестеринемія.

АННОТАЦИЯ

Ляшевич А.М. Влияние социального стресса и гиперхолестеринемии на желчносекреторную функцию печени при применении корвитина. – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 – «Физиология человека и животных» – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка МОН Украины, Киев, 2019.

Диссертация посвящена изучению влияния социального стресса и гиперхолестеринемии на желчносекреторную функцию печени при применении корвитина. Показано, что у крыс, которых подвергали социальному стрессу существенно меняется состав холатов желчи по сравнению с животными контрольной группы. Обнаружено, что в условиях социального стресса в печени самцов крыс происходят метаболические процессы, которые ведут к изменению липидного состава желчи животных. В гепатоцитах самцов крыс преимущественно подавляются процессы, которые обеспечивают поступление в первичные желчные каналы стероидных липидных компонентов желчи. Результаты указывают на то, что социальный стресс существенно тормозит процессы, которые обеспечивают синтез, биотрансформацию и транспорт желчных кислот в желчь, в результате чего в печеночном секрете стрессированных крыс возрастает содержание свободных дигидроксихолановых хенодезоксихолево́й и дезоксихолево́й кислот и в большом количестве обнаруживаются вторичные моногидроксихолановые литохолевая и тауролитохолевая кислоты.

Ключевые слова: социальный стресс, печень, желчь, желчные кислоты, липиды желчи, холестерол желчи, фосфолипиды желчи, жирные кислоты желчи, корвитин, доксициклин-индуцированная гиперхолестеринемия.

ANNOTATION

Liashevych A.M. The effects of corvitin on the liver's bile secretion function under chronic social stress and hypercholesterolemia. – Manuscript copyright.

Thesis for Ph.D degree in Biology, specialty 03.00.13 – Human and Animal Physiology – Taras Shevchenko National University of Kyiv Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2019.

The dissertation is devoted to the study of the effect of social stress and hypercholesterolemia on the bile secretion function of the liver when using corvetone. Carrying out the chronic social stress can change mental state of a person and disturb the different system's functioning as well. Pathological alteration of central regulatory mechanisms is the underlying cause of stress-induced functional diseases. Since liver functioning itself undergoes difficult neurohumoral regulation any stress-induced disturbance in neural and humoral regulation mechanisms can produce direct or mediated action on its functioning. It was revealed that chronic social stress during two weeks reliably reduced memory state and level of recognition of a new object in Novel Object Recognition behavioral test. Animals exposed to chronic stress also shows advanced investigative behavior level which can be explained by some total activation in rats in the issue of stressing procedure. Thus chronic social stress leads to certain increase of the

rats activation level but reliably suppresses the recognition and memorizing processes. Chromatographic analysis of bile's organic composition revealed that in rats subjected to chronic social stress bile acids compound considerably changed compare to control animals. Regarding our data we can suggest that chronic social stress provokes depression of the classical way of bile acids synthesis and inhibition of a secondary lithocholic acid biotransformation. Bile acids changed by stress-induced regulatory factors can later be regulators themselves and modulate physiological and pathological consequences of the stress. We suggest that disturbance of a bile's synthesis, transformation and transport in hepatocytes plays a significant role in the metabolic disease's pathogenesis. Obtained data shows that chronic social stress caused specific metabolite processes in male-rats liver which leads to changes in the bile's lipid content as long as it depressed the processes providing bile's steroid components input in the primary bile ducts. By calculating of a cholat-cholesterol ratio it revealed that bile's lithogenic capacities (rise of the probability of cholesterol gallstone formation) appears in a month after chronic social stress experience. In the condition of doxycyclin-induced hypercholesterolemia bile secretion apparatus unable to realize its cholesterol-elimination function. It was shown that in the rats exposed to chronic social stress, the composition of the cholates of bile significantly changes compared with the animals of the control group. It was found that under conditions of chronic social stress in the liver of male rats there occur metabolic processes that lead to a change in the lipid composition of bile animals, in hepatocytes of male rats, the processes suppressing the inflow into the primary bile ducts of the steroid lipid components of the bile are predominantly suppressed. According to the calculations of the cholato-cholesterol ratio, it was found that the lithogenic properties of bile manifest within a month after the animals were subjected to social stress. It was shown that the use of corveton in rats exposed to the previous doxycycline loading, contributes to the normalization of the processes of conjugation of free cholates in hepatocytes and their introduction into bile, and also leads to the normalization of the content of phospholipids in their bile. The results indicate that social stress significantly inhibits the processes that ensure the synthesis, biotransformation and transport of bile acids into bile, resulting in the increased liver secretion of stressed rats of free dihydroxycholate xenodeoxycholic and deoxycholic acids and a significant amount of secondary monohydroxycholan lithocholar and tauroolithole acids that are absent in the liver secretion of animals in the control group. Social stress disturbs the processes of cholesterol metabolism in the liver, causing a decrease in the concentration of free cholesterol in the bile and increasing its etherification in hepatocytes. The use of corvetane in conditions of experimental social stress stimulates detoxification processes in hepatocytes; leads to a decrease in the content of free cholesterol and an increase in the number of its ethers in bile.

Key words: social stress, liver, bile, bile acids, bile lipids, bile cholesterol, bile phospholipids, bile fatty acids, corvitin, doxycyclin-induces hypercholesterolemia.