

УДК 612.35+617.015.02

М.Ю. Левків, І.І. Стойков, С.П. Весельський

ЖОВЧНІ КИСЛОТИ КРОВІ СОБАК ПІСЛЯ ЇХ ГОДІВЛІ

Вивчався вміст жовчних кислот у крові собак до та після їх годівлі. Методом тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol за допомогою охолодженої суміші ацетону з етанолом були фракціоновані жовчні кислоти які екстрагували з крові тварин.. Кількісну оцінку цих метаболітів здійснювали методом прямої денситометрії у відображеному світлі (λ - 620 нм) (ДО-1) безпосередньо на хроматографах після фарбування їх фосфорномолібденовим модифікованим реактивом з виявленням п'ятен окремих жовчних кислот в термостаті при температурі 58-65⁰ С. Виявлено, що загальний рівень жовчних кислот у крові собак після годівлі суттєво підвищувався (на 58,7%) ($p < 0,05$) до 5,11±0,27мг% при 3,22±0,14мг% у крові собак до годівлі. Однак, зростання сумарного рівня жовчних кислот забезпечувалося не рівномірно пропорційно різними фракціями відповідних жовчних кислот. Зокрема, кон'югати жовчних кислот з сірчаною кислотою зросли лише на 27,8%, тоді як вміст таурохолевої кислоти збільшився у крові годуваних собак більше ніж в два рази (на 105,4%, ($p < 0,01$)). Рівень вільної холевої кислоти у цих тварин був вищим на 49,3% ($p < 0,05$) ніж у крові собак до годівлі. Невелику частку у збільшення загального рівня жовчних кислот у крові годуваних собак внесли як вільні, так і кон'юговані дигідроксихоланові кислоти. Встановлені зміни є відображенням природного фізіологічного циклу в процесі травлення, включаючи обмін жовчних кислот при засвоєнні поживних інгредієнтів корму організмом тварин.

Ключові слова: кров, жовчні кислоти, собаки, годівля.

Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій. Роль жовчних кислот в організмі людини та тварин розглядається в двох аспектах – як компоненти жовчі і як поверхневоактивні речовини, що постійно циркулюють у крові, знаходяться у лімфі та тканинах. Висока поверхнева активність жовчних кислот зумовлена дифільною будовою їх молекул: наявністю гідрофобного стероїдного ядра та гідрофільних груп (гідроксильної та карбоксильної), а в кон'югованих жовчних кислотах присутністю іще аміної групи в пептидному зв'язку та наявністю сірковмісних сполук. Завдяки такій будові молекулам жовчних кислот властива адсорбція на міжфазних поверхнях та здатність до утворення поверхневих мономолекулярних шарів (1).

Варто зазначити, що при досягненні певної концентрації жовчні кислоти здатні до утворення міцел. За рахунок утворення ковалентних, іонних та водневих зв'язків, з одночасним залученням гідрофобних взаємодій, жовчні кислоти здатні утворювати комплекси, які сприяють розчинності труднорозчинних речовин (холестерин, жирні кислоти, тригліцериди та солі кальцію) (2). Завдяки таким властивостям жовчні кислоти відіграють провідну роль в забезпеченні колоїдності жовчі і протидіють утворенню в жовчних шляхах та жовчному міхурі конкрементів (3).

Жовчні кислоти, поряд з іншими поверхневоактивними компонентами жовчі, включаючи фосфоліпіди, забезпечують емульгування та солюбілізацію холестерину і жирів в кишечнику та полегшують їх всмоктування. Утворення комплексних сполук жирних та жовчних кислот сприяє всмоктуванню іонів кальцію (4). За відсутності жовчних кислот порушується всмоктування жиророзчинних вітамінів А, Д, Є, Е. Жовчні кислоти беруть участь в регуляції моторноевакуаторної функції шлунковокишкового тракту (5).

Для забезпечення фізіологічних процесів важливою є взаємодія жовчних кислот з молекулами ліпідів та білків – основними компонентами мембран клітин. Під впливом цих сполук змінюється активність ферментів як на поверхні слизової оболонки, так і в

порожнині кишечника. Встановлено, що жовчні кислоти є інгібіторами пепсину. Вони активують ферменти панкреатичного соку (трипсин, амілаза, ліпаза) та стимулюють секреторну функцію підшлункової залози. Відомо, що при споживанні їжі організмом тварин та людини спостерігається рефлекторне виділення жовчі у дванадцятипалу кишку з жовчного міхура (6). Однак, існує обмаль інформації стосовно зміни рівня концентрації жовчних кислот у крові після приймання їжі.

Мета статті - вивчення динаміки вмісту вільних та кон'югованих жовчних кислот у крові собак після їх годівлі.

Методика

Досліди проведені з використанням семи собак в яких відбирали кров з яремної вени за допомогою одноразових шприців за годину до годівлі тварин та через годину після їх годівлі. В кожній відібраній пробі крові визначали концентрацію жовчних кислот за методикою, розробленою в нашому Інституті (7). Екстрагування жовчних кислот із крові здійснювали сумішшю ацетон:етанол в об'ємному співвідношенні 3:1 при температурі 4°C. Жовчні кислоти розділяли за допомогою тонкошарової хроматографії на пластинках силікагелю Silufol в системі розчинників – аміловий ефір оцтової кислоти : бутанол : толуол : оцтова кислота : вода в об'ємному співвідношенні – 3:1:1:3:1. Ідентифікацію та кількісне визначення жовчних кислот здійснювали на хроматографах після активації їх флуоресценції в ультрафіолетовому діапазоні світла (260-320 нм) сірчаною кислотою та подальшою візуалізацією за допомогою фосфорномолібденової кислоти та денситометрією у відображеному світлі з використанням прилада ДО-1М.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою аналітичного пакета «Statistika 5.0», використовуючи t критерій Стьюдента для даних, які мали нормальний розподіл згідно критерію Шапіро-Уїлка (8).

Результати та їх обговорення

Для печінки собак є характерним домінуючий біосинтез кон'югованих з таурином жовчних кислот, котрі в печінковій та міхуровій жовчі можуть складати відповідно більше ніж 74% та 92,%. Проте, в ході еволюції даного виду тварин була втрачена ланка ферментів (чи вірніше, відповідних генів, що кодують ці ферменти), які забезпечують кон'югацію вільних жовчних кислот з гліцином, наявність якого в крові та у тканині печінки собак близька до інших видів тварин. В невеликій кількості в жовчі собак присутні також кон'югати жовчних кислот з сірчаною кислотою, проте їх рівень значно вищий ніж у жовчі шурів та людей.

Результати наших досліджень, представлені в таблиці №1, вказують на присутність у крові собак як вільних, так і кон'югованих з таурином та сірчаною кислотою жовчних кислот. Слід наголосити також, що у крові всіх досліджуваних нами собак мало місце зростання рівня виявлених жовчних кислот після їх годівлі порівняно з їх концентрацією у крові до споживання корму. Зокрема, загальний рівень жовчних кислот у крові собак збільшився на 58,7% ($p < 0,05$) і складав $5,11 \pm 0,27 \text{ мг\%}$ при $3,22 \pm 0,14 \text{ мг\%}$ у крові собак до їх годівлі. Проте, зростання сумарного рівня жовчних кислот забезпечувалося не рівномірно пропорційно різними фракціями відповідних жовчних кислот. Так, кон'югати жовчних кислот з сірчаною кислотою зросли лише на 27,8%, тоді як вміст таурохолевої кислоти збільшився у крові годованих собак більше ніж в два рази (на 105,4%, ($p < 0,01$)). Рівень вільної холевої кислоти у цих тварин був вищим на 49,3% ($p < 0,05$) ніж у крові собак до годівлі. Невелику частку у збільшенні загального рівня жовчних кислот у крові годованих собак внесли як вільні, так і кон'юговані дигідроксихоланові кислоти.

Слід відмітити, що кров у двох обстежуваних собак відбирали через підозру на наявність аномалії в системі венозного кровообігу печінки, що при споживанні високобілкового корму може сприяти значному зростанню загального рівня жовчних кислот у крові. І дійсно, в однієї із собак мало місце значне зростання концентрації жовчних кислот у крові. Зокрема, рівень таурохолевої кислоти перевищив контрольні показники втричі (на 217%). Останнє може змінювати функціональний стан збудливих структур центральної нервової системи, впливати на діяльність залоз внутрішньої секреції, а також призводити до зміни активності мембранних ферментів, проникності мембран та метаболізму в клітинах у цілому. В результаті це може сприяти розвитку певної патології в організмі хворої собаки (9).

Таблиця 1

Концентрація жовчних кислот у крові собак до та після їх годівлі (мг%)

Умови досліджу	Ст	СКЖК	ТХК	ТХДХК +ТДХК	ХК	ХДХК +ДХК
До годівлі	М	0,18	0,92	0,38	1,46	0,29
	m	0,006	0,034	0,023	0,054	0,014
Після годівлі	М	0,23	1,89	0,45	2,18	0,38
	m	0,008	0,056*	0,031	0,063*	0,017

Примітка: n=6; *-p<0,01; *-p<0,05. ТХК-таурохолева кислота; ТДХК-тауродезоксихолева кислота; ТХДХК- таурохенодесоксихолева кислота; ХК- холева кислота; ДХК- дезоксихолева кислота; ХДХК- хенодесоксихолева кислота; СКЖК-сульфокон'югати жовчних кислот.

Необхідно мати на увазі, що частина продуктів розщеплення харчових інгредієнтів можливо ще при всмоктуванні в кишківнику, а також при подальшому розподіленні у печінці, частково входять в організм безпосередньо з лімфотоком. Не виключено, що переважна більшість цих метаболітів разом з жовчними кислотами безпосередньо включаються в загальне кров'яне русло, відіграючи ключову роль в засвоєнні речовин ліпідної природи.

Отримані нами результати вказують на те, що за нормального функціонування організму собак спостерігається тимчасове зростання загального рівня жовчних кислот у крові після їх годівлі. Скоріш за все, це обумовлено тим, що при споживанні їжі рефлекторно у дванадцятипалу кишку виділяється основна надзвичайно висококонцентрована порція жовчі із міхура, котра сприяє розщепленню харчових інгредієнтів. Основною часткою з них є речовини ліпідної природи, котрі всмоктуються в кишечнику спільно із жовчними кислотами та частково перерозподіляються в печінці і в більшості своїй переносяться з лімфотоком, потрапляючи в основне коло кровообігу без попередньої диференціації по складових.

Таким чином, виявлений факт певного підвищення рівня жовчних кислот у крові собак після їх годівлі є відображенням природного фізіологічного циклу в процесі травлення та засвоєння поживних інгредієнтів корму організмом тварин.

Література

1. Синельник О.Д. Детергентні властивості жовчних кислот та їх дія на секрецію жовчі / Синельник О.Д., Карпезо Н.О., Весельський С.П., Синельник Т.Б. // Фізіол.журн. НАН України. - 1999. - Т.45, № 3. - С.18-27.
2. Бадайнова Е.Н. Липиды, желчные и жирные кислоты в желчи кроликов при гиперхолестеремии / Бадайнова Е.Н., Левалев М.М., Бачура Ю.А. // Вопросы мед химии. - 1988. - № 1. - С.95 - 104.
3. Ганиткевич Я.В., Карбач Я.И. Исследование желчи. Биохимические и биофизические методы. - К.: Вища школа, 1985. - 136 с.
4. Дегтярова И.И. Заболевания органов пищеварения. - К.: Демос, 1999. - 312 с.
5. Иванченкова Р.А. Некоторые аспекты желчеобразования // Клиническая медицина. - 1999. - № 7. - С.18-22.
6. Лященко П.С. Про роль холінорецепторів у гіпоталамічній регуляції жовчоутворення в собак // Вісник Київського університету „Проблеми регуляції фізіологічних функцій”. - 1999. - Вип.4. - С.7-11.
7. Способ определения желчных кислот в биологической жидкости: А.с. 4411066/14 СССР, МБИ G 01 N 33/50 / С.П.Весельский, П.С.Лященко, И.А.Лукьяненко (СССР). - № 1624322; Заявлено 25.01.1988; Опубл.30.01.1991, Бюл.№ 4.
8. Минцер О.П., Угаров Б.Н., Власов В.В. Методы обработки медицинской информации. - К.: Вища школа, 1991. - 271 с.
9. Свистунов О.И. Желчные кислоты крови: патобиохимия и диагностическое значение / Свистунов О.И. Титов В.Н. // Клиническая лабораторная диагностика. - 1994. - № 1. - С.15-19.

Аннотация. *Левкив М.Ю., Стойков И.И., Весельський С.П. Желчные кислоты крови собак после их кормления. Изучалось содержание желчных кислот в крови собак до и после их кормления. Методом тонкослойной хроматографии на пластинках Silufol с помощью охлажденной смеси ацетона с этанолом фракционировали желчные кислоты, которые экстрагировали из крови животных. Количественную оценку этих метаболитов осуществляли методом прямой денситометрии в отраженном свете (λ - 620 нм) (ДО-1) непосредственно на хроматографах после окрашивания их фосфорномолибденовым модифицированным реактивом с выявлением пятен отдельных желчных кислот в термостате при температуре 58-65° С. Выявлено, что общий уровень желчных кислот в крови собак после кормления существенно повышался (на 58,7%) ($p < 0,05$) к $5,11 \pm 0,27 \text{ mg}\%$ при $3,22 \pm 0,14 \text{ mg}\%$ в крови собак до кормления. Однако, рост суммарного уровня желчных кислот обеспечивался не равномерно пропорционально разными фракциями соответствующих желчных кислот. В частности, конъюгаты желчных кислот с серной кислотой выросли лишь на 27,8%, тогда как содержание таурохолевой кислоты увеличилось в крови кормленных собак больше чем в два раза (на 105,4%) ($p < 0,01$). Уровень свободной холевой кислоты у этих животных был выше на 49,3% ($p < 0,05$) чем в крови собак до кормления. Небольшую часть в увеличение общего уровня желчных кислот в крови кормленных собак внесли как свободные, так и конъюгированные дегидроксихолановые кислоты. Установленные изменения являются отображением естественного физиологического цикла в процессе пищеварения, включая обмен желчных кислот при усвоении питательных ингредиентов корма организмом животных.*

Ключевые слова: *кровь, желчные кислоты, собаки, кормление.*

Summary. *Levkiv M.Yu., Stoikov I.I., Veselskyi S.P. Bile acids of dogs' blood after their feeding. The content of blood acid in dogs' blood before and after their feeding was investigated. Bile acids extracted from animals' blood were fractionated by means of thin-layer chromatography on Silufol plate. The quantitative evaluation of these metabolites was achieved by means of direct densitometry in reflected light (λ - 620 nm) directly on chromatographs after painting by phosphorus-molybdenum modified reagent with the identification of individual spots of bile acids in an incubator at a temperature of 58-65° C. The general level of bile acids in dogs' blood after feeding was found to increase sufficiently (by 58,7%) ($p < 0,05$) to $5,11 \pm 0,27 \text{ mg}\%$ with $3,22 \pm 0,14 \text{ mg}\%$ in dogs' blood before feeding. However, the increase of summary level of bile acids was provided with irregular intervals proportionally to different fractions of corresponding bile acids. In particular, the bile acid conjugates with sulfuric acid increased by only 27.8%, while the content of taurocholic acid increased by more than twice in the blood of fed dogs (by 105,4%, ($p < 0,01$)). The level of free cholic acid of these animals*

was higher by 49,3% ($p < 0,05$) than in dogs' blood before feeding. The small fraction of increasing the general level of bile acid in the blood of fed dogs was contributed by both free and conjugated dihydroxycholan acid. The obtained changes is the reflection of natural physiological cycle in digestion process including the metabolism of bile acids while digesting nutritional ingredients of fodder by animal's organism.

Key words: blood, bile acids, dogs, feed.

**НДІ фізіології імені акад. Петра Богача, ННЦ "Інститут біології"
Київського національного університету імені Тараса Шевченка**

Одержано редакцією 22.12.2012
Прийнято до публікації 9.01.2013

УДК 612.82/.83; 612.821

Т.Е. Мавроматі, Н.Б. Філімонова

ЕЛЕКТРИЧНА АКТИВНІСТЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЖІНОК ПРИ ДОСЛІДЖЕННІ АСОЦІАТИВНОЇ ПАМ'ЯТІ

В дослідженні як обстежувані взяли участь 10 жінок, правші, віком 21 ± 3 рік, студентки 1-5 курсів Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Кожна з обстежуваних проходила 2 комп'ютерні субтести: "Реакція вибору" (РВ) та субтест "Асоціативна пам'ять за схожістю" (АПС). В усіх обстежуваних реєстрували електроенцефалограму (ЕЕГ) до початку обстеження (по 3 хв. фоновий запис з заплющеними та відкритими очима) та під час проведення тестування. В кожному відведенні для частотних діапазонів ЕЕГ - дельта (0,5-3,9 Гц), тета (4,0-7,9 Гц), альфа1 (8,0-9,4 Гц), альфа2 (9,5-10,5 Гц) та альфа3 (10,6-12,9 Гц) обчислювались тонічна та фазична складові спектру ЕЕГ. З метою уніфікувати початковий стан обстежуваних спочатку пред'являвся субтест РВ, впродовж якого пригнічувались дефолтні мережі та активувалась зовнішня увага. Оскільки при проходженні субтесту АПС у обстежуваних активувались не тільки зони мозку, які відповідали за асоціативне запам'ятовування, але і за сприйняття зорових стимулів та моторику реалізації відповіді ми аналізували зміни електричної активності мозку обстежуваних при проходженні субтесту АПС порівняно з РВ, виключаючи таким чином з аналізу вплив рухової активності та сприйняття зорових стимулів. В результаті проведеного дослідження було виявлено, що запам'ятовування асоціацій за схожістю у жінок відбулося із залученням слухової пам'яті та вербального аналізу зорової інформації при активації процесу уваги та когнітивного контролю. При цьому підвищувалась межрегіональна взаємодія та, відповідно знижувалась спеціалізація процесів обробки інформації в правій скроневій, тім'яній та правій потиличній зонах.

Ключові слова: асоціативна пам'ять за схожістю, ЕЕГ, вербальні стимули, жінки

Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій. Асоціації лежать в основі будь-якої когнітивної діяльності людини. Асоціація завжди слугувала основною теоретичною концепцією впродовж всіх намагань визначити таку властивість мозку людини, як пам'ять. Людська пам'ять є по-суті асоціативною, тобто наші спогади є деяким зв'язком між певними подіями, предметами, фактами або явищами, які, при відображенні у свідомості, закріплюються в пам'яті. Асоціацію не можна спостерігати, вона скоріше означає певну тенденцію одного окремого об'єкту викликати інший. Залежно від умов, необхідних для їх утворення, асоціації поділяють на різні типи, причому базовими є асоціації за схожістю. Асоціація за схожістю спостерігається тоді, коли в мозку відображуються зв'язки між предметами, схожими у певному відношенні.