

6. Cook D., Lawler C., Calvin L., Green D.—Am. J. Physiol., 1952, 171, 62.
7. Jamada S.—J. Japan. Soc. Food. and Nutr., 1960, 12, 6, 391.
8. Lengemann F., Dobbins J.—J. Nutrition, 1958, 1, 66.
9. Минами—J. Japan Biochem. Soc., 1955, 27, 5, 269.
10. Sperber I.—Pharmacol. Rev., 1959, 11, 109.
11. Wheeler H., Ramos O., Whitlock R.—Circulation, 1960, XXI, 5, 2, 988.
12. Webling D., Holdsworth E.—Biochem. J., 1966, 100, 3, 652.

Надійшла до редакції
30.XII 1968 р.

СПЕКТР ЖОВЧНИХ КИСЛОТ СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЖОВТЯНИЦІ І БІЛІАРНОМУ ЦИРОЗІ

В. С. Неборачко

Експериментально-лабораторний відділ Київського інституту інфекційних захворювань

Центральне місце у підтриманні фізіологічного рівня і співвідношення жовчних кислот в організмі належить печінці, яка виконує функції синтезу жовчних кислот, кон'югації їх з глікоколом або таурином і виділенню з жовчю. При ураженні печінки (механічній жовтяниці, цирозі та ряді інших патологічних станів) відбувається зміна жовчних кислот як у кількісному, так і в якісному відношенні.

При збільшенні вмісту жовчних кислот у сироватці крові, а також при порушенні їх спектра як у людей, так і у тварин виникає цілий ряд патологічних змін в організмі. Жовчні кислоти можуть спричинити токсичний вплив на центральну [1, 4, 5] і вегетативну [5] нервові системи, на серцево-судинну систему [6—8], можуть викликати пригнічення дихання [7, 8], впливати на скоротливість і втрату кальцію гладким м'язом [14], а також викликати цироз печінки [11, 12].

Загальний вміст жовчних кислот у плазмі крові при експериментальній механічній жовтяниці у щурів визначали Фрідман та ін. [10]. Лише останнім часом створюються методичні передумови до вивчення спектра жовчних кислот.

Саме тому метою наших досліджень було вивчення спектра вільних і кон'югованих жовчних кислот при деяких патологічних станах, супроводжуваних холемією: при механічній жовтяниці і біліарному цирозі.

Методика досліджень

Досліди провадилися на білих щурах. Експериментальну жовтяницю і біліарний цироз викликали перев'язкою і перерізкою загальної жовчної протоки. Перед оперативним втручанням тварин утримували в звичайних умовах у виварії на повноцінній дієті протягом двох тижнів. Оперували тварин в асептичних умовах під загальним наркозом (гексеналовим). Загальну жовчну протоку перев'язували і перерізували між двома лігатурами біля місця впадіння її в дванадцятипалу кишку. Дослідження провадили в різні строки після перев'язки і перерізки загальної жовчної протоки. Через одну годину — у дев'яти тварин, через дві години — у 23, через чотири години — у 21, через шість годин — у 11, через вісім годин — у 20, через одну добу — у 22, через дві доби — у дев'яти, через сім діб — у 12, через 14 діб — у восьми, через 30 діб (як показали морфологічні дослідження, у тварин цієї групи розвивається біліарний цироз) — у дев'яти.

Контролем служили тварини, у яких під тим же наркозом здійснювали лапаротомію — 30 тварин, і без будь-яких втручань — 42 тварини. Усього досліджено 216 білих щурів. Перед дослідженням кров одержували при обезголовленні тварин.

У сироватці крові білих щурів флуорометричним методом визначали жовчні кислоти з використанням паперової хроматографії за розробленою в нашій лабораторії методикою. Визначення жовчних кислот ґрунтується на здатності їх флуоресцювати

в сірчаній кислоті в ультрафіолеті; за ступенем флуоресценції судять про кількість кислот, елюйованих з різних ділянок хроматограм, що відповідають розташуванню окремих жовчних кислот. Метод включає три етапи: очистку сироватки від речовин, що перешкоджають визначенню жовчних кислот; хроматографічний їх розподіл з наступною елюцією; флуорометрію. Досліджували вільні (хольову і дезоксихольову) та зв'язані (таурохольову, глікохольову, глікохенодезоксихольову і глікодезоксихольову) жовчні кислоти. Водночас визначали активність ферментів аланін- і аспартат-амінотрансфераз, як дуже чутливих тестів, що характеризують наявність патологічного процесу в печінці та рівень білірубінемії. Активність амінотрансфераз визначали методом Раймана і Френкеля [13], рівень білірубінемії — за ван ден Бергом фотоелектроколориметрично [2].

Результати досліджень

Проведені дослідження показали, що активність аланін- і аспартат-амінотрансфераз у сироватці крові і печінці у здорових тварин та після лапаротомії майже не відрізняється (рис. 1).

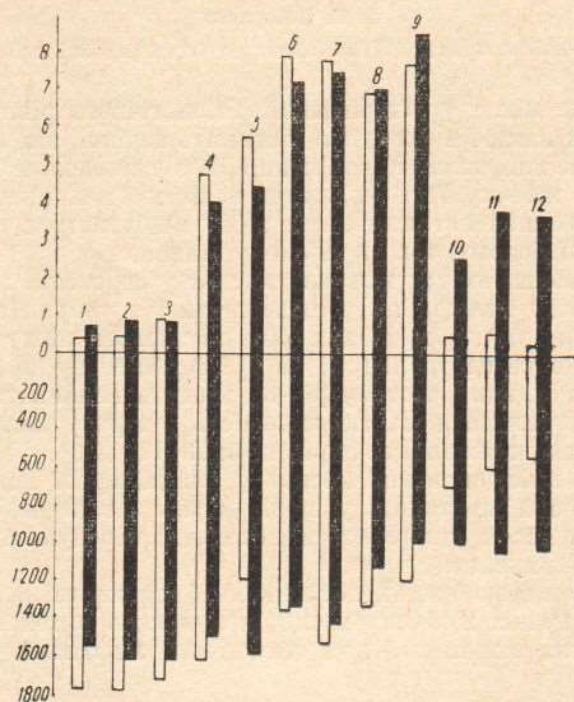


Рис. 1. Активність амінотрансфераз у сироватці крові і в печінці за різних умов експерименту у білих щурів.

Білі стовпці — активність аланін-амінотрансферази; чорні — активність аспартат-амінотрансферази. Цифри на вертикалі — групи тварин: 1 — здорові, 2 — лапаротомовані, 3 — одностороння механічна жовтяниця, 4 — двостороння, 5 — чотиригодинна, 6 — шестигодина, 7 — восьмигодинна, 8 — одностороння, 9 — двостороння, 10 — семидобова, 11 — 14-добова, 12 — біліарний цирроз.

По вертикалі — активність амінотрансфераз (мкМ); по горизонталі — в сироватці (вгорі), у печінці (внизу).

Як видно з рис. 1, активність амінотрансфераз у сироватці крові вже через 2 год після виникнення механічної жовтяниці різко підвищується і зберігається на високому рівні до двох діб; потім активність аланін-амінотрансферази різко знижується, а активність аспартат-амінотрансферази зберігається на досить високому рівні. В міру розвитку біліарного цирозу печінки активність обох ферментів у печінці прогресивно зростає.

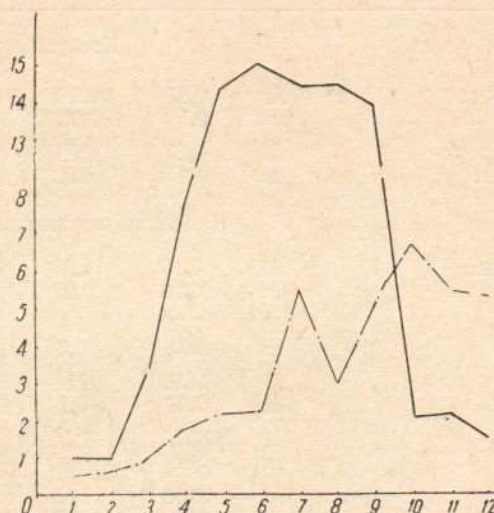
сивно знижується. При біліарному цирозі зміни активності аланін- і аспартат-аміотрансферази у сироватці крові і в печінці набувають типової картини змін, характерних для цирозів печінки.

При аналізі взаємовідношень у сироватці крові при механічній жовтяниці і біліарному цирозі у тварин виявляється певна закономірність (рис. 2).

Як видно з рис. 2, у ранні строки (до двох днів) механічної жовтяниці у білих щурів вміст жовчних кислот превалює над рівнем білірубінемії. Але вже при семидобовій механічній жовтяниці при наявності

Рис. 2. Взаємовідношення між вмістом жовчних кислот і концентрацією білірубіну в сироватці крові при експериментальній механічній жовтяниці і біліарному цирозі.

Суцільна лінія — загальний вміст жовчних кислот, переривчаста — концентрація білірубіну. По горизонталі — групи тварин: 1 — здорові тварини, 2 — лапаротомовані, 3 — одностодина механічна жовтяниця, 4 — двостодина, 5 — чотиригодинна, 6 — шестигодина, 7 — восьмигодинна, 8 — одностодина, 9 — двостодина, 10 — семидобова, 11 — 14-добова, 12 — 30-добова. По вертикалі — вміст жовчних кислот і білірубіну (мг%).



вираженої білірубінемії загальний вміст жовчних кислот становив лише $1,78 \pm 3$ мг%, аналогічна картина спостерігається і в більш пізні строки після перев'язки і перерізки спільної жовчної протоки.

Істотної різниці між показниками концентрації жовчних кислот у сироватці крові здорових та лапаротомованих тварин не виявлено. Сума окремих жовчних кислот в обох групах у середньому становить $0,87 \pm 0,1$ мг%; окремі жовчні кислоти в обох групах також не відрізнялись у кількісному відношенні (див. таблицю).

У таблиці наведені дані, оброблені методами варіаційної статистики. При порівнянні з контрольними тваринами груп з механічною жовтяницею і біліарним цирозом одержані результати виявились статистично достовірними, за винятком показників загального вмісту жовчних кислот ($p = 0,32$), таурохольової ($p = 0,23$), глікохенодезоксихольової в сумі з глікодезоксихольовою ($p = 0,92$) і хольовою ($p = 0,92$) кислотами при біліарному цирозі; глікохольової ($p = 0,37$) і хольової ($p = 0,06$) кислот при семидобовій механічній жовтяниці.

При механічній жовтяниці максимальне збільшення хольової кислоти в сироватці крові спостерігається при одностодовій механічній жовтяниці — $0,4 \pm 0,05$ мг%. В порівнянні із здоровими тваринами збільшення вмісту хольової кислоти в сироватці крові при одно-, дво-, чотири-, шести-, восьмигодинній і при одно-, дво-, семи-, 14-добовій механічній жовтяниці здійснюється відповідно в 1,8; 2,4 3,1; 3,5; 2,7 та 4,1; 2,1; 2,3 і 2,6 раз.

Концентрація дезоксихольової кислоти в різні строки механічної жовтяниці у сироватці крові білих щурів помітно підвищується, причому максимальне підвищення спостерігалось при чотири-, шести-, восьмигодинній і одно-, дводобовій жовтяниці і досягає $1,42 \pm 0,16$ мг%.

Збільшення вмісту дезоксихольової кислоти в сироватці крові щодо здорових тварин при чотири-, шести-, восьмигодинній і одно-, дводобовій механічній жовтяниці здійснюється відповідно у 3,9; 3,4; 3,2 і 4,2 і 3 рази.

Вміст жовчних кислот у сироватці крові білих щурів у різних умовах експерименту

Групи тварин		Статистичні показники	Загальний вміст жовчних кислот	Жовчні кислоти (мг %)				
				Таурохо-льова	Глікохо-льова	Глікогено-дезоксихо-льова+ГД*	Хольова	Дезоксихо-льова
Контроль								
Здорові	<i>M</i>	0,87	0,18	0,18	0,056	0,1	0,35	
	<i>m</i>	0,1	0,02	0,02	0,02	0,01	0,03	
Лапарото-мовані	<i>M</i>	0,87	0,21	0,17	0,047	0,08	0,37	
	<i>m</i>	0,1	0,02	0,02	0,02	0,01	0,03	
Механічна жовтяниця								
Години	1	<i>M</i>	3,13	1,66	0,33	0,17	0,17	0,8
		<i>m</i>	0,24	0,09	0,02	0,03	0,03	0,07
	2	<i>M</i>	7,33	5,8	0,4	0,15	0,24	0,74
		<i>m</i>	0,46	0,3	0,02	0,05	0,03	0,06
	4	<i>M</i>	14,09	11,8	0,4	0,18	0,31	1,4
		<i>m</i>	0,28	0,13	0,02	0,02	0,03	0,08
	6	<i>M</i>	14,75	12,5	0,45	0,22	0,34	1,24
		<i>m</i>	0,36	0,2	0,036	0,04	0,05	0,03
	8	<i>M</i>	13,63	11,6	0,38	0,18	0,26	1,21
		<i>m</i>	0,83	0,7	0,04	0,03	0,04	0,02
Дні	1	<i>M</i>	13,65	10,8	0,76	0,27	0,4	1,42
		<i>m</i>	0,85	0,47	0,15	0,02	0,05	0,16
	2	<i>M</i>	13,28	10,9	0,9	0,2	0,18	1,1
		<i>m</i>	0,61	0,3	0,2	0,02	0,05	0,04
	7	<i>M</i>	1,78	0,57	0,2	0,15	0,2	0,66
		<i>m</i>	0,3	0,1	0,01	0,04	0,05	0,1
	14	<i>M</i>	1,91	0,45	0,34	0,15	0,23	0,74
		<i>m</i>	0,3	0,07	0,05	0,04	0,06	0,08
Біліарний цироз								
	30	<i>M</i>	1,19	0,25	0,06	0,05	0,11	0,72
		<i>m</i>	0,27	0,05	0,03	0,04	0,05	0,1

* Глікодезоксихольова.

Концентрація таурохолювої кислоти при механічній жовтяниці підвищується дуже різко при зіставленні з контрольними групами тварин. Так при чотири-, шести-, восьмигодинній та одно- і дводобовій механічній жовтяниці спостерігається максимальне підвищення рівня таурохолювої кислоти в сироватці крові, яке досягає $12,5 \pm 0,2$ мг%. Якщо вміст таурохолювої кислоти в сироватці крові здорових тварин прийняти за 100%, то при механічній жовтяниці він становитиме у тварин деяких груп понад 5000%. При дво-, чотири-, шести-, восьмигодинній і одно-, дводобовій механічній жовтяниці вміст таурохолювої кислоти збільшується відповідно у 30,5; 59,6; 63,5; 61,5 і 56,3; 56 раз.

Вміст глікохолювої кислоти досягає максимуму при дводобовій механічній жовтяниці ($0,9 \pm 0,2$ мг%). Вже через годину після перев'язки і перерізки спільної жовчної протоки вміст глікохолювої кисло-

ти в сироватці крові білих щурів збільшується в 1,75 рази, поступово підвищуючись, і досягає максимуму при дводобовій механічній жовтяниці (збільшується у 55 раз).

Пов'язані з глікоколом діоксихоланові кислоти (глікохенодезоксигольова в сумі з глікодезоксигольовою) при механічній жовтяниці

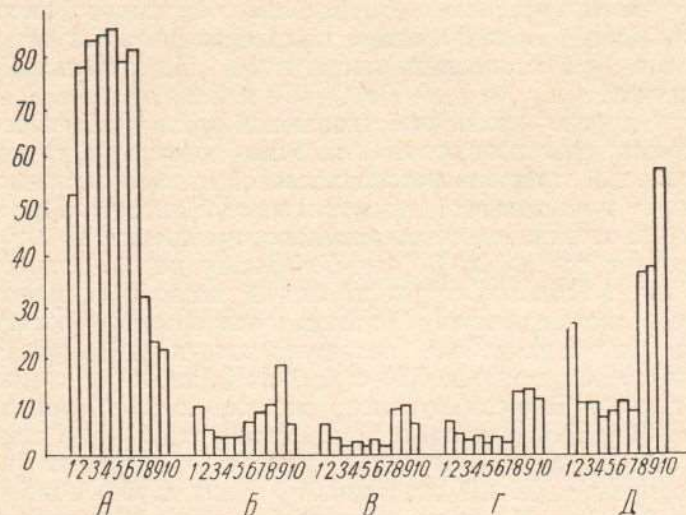


Рис. 3. Концентрація жовчних кислот (по вертикалі) у сироватці крові в різні строки після виникнення холестазу у білих щурів (у процентах до загального вмісту).

Фракції жовчних кислот: А — таурохольова, Б — глікохольова, В — глікохенодезоксигольова в сумі з глікодезоксигольовою, Г — хольова; Д — дезоксигольова.

Цифри по горизонталі — групи тварин: 1 — одностодня механічна жовтяниця, 2 — двостодня, 3 — чотирьостодня, 4 — шестистодня, 5 — восьмистодня, 6 — одностодня, 7 — двостодня, 8 — семистодня, 9 — 14-додня, 10 — біліарний цирроз.

перебувають на підвищеному рівні в порівнянні із здоровими тваринами. Згадані жовчні кислоти збільшені (щодо нормального їх вмісту) до 3,6 раз.

Концентрація хольової кислоти в різні строки експериментальної механічної жовтяниці у процентному відношенні до загального вмісту жовчних кислот відповідної групи тварин при дво-, чотири-, шести-, восьмистодній і одностодній, двостодній механічній жовтяниці коливається в межах від 2 до 3%. У більш пізні строки механічної жовтяниці (сьома і 14-а доби) хольова кислота становить відповідно 12 і 13% (рис. 3).

Як видно з рис. 3, найбільшу частину від загального вмісту жовчних кислот відповідної групи тварин (при механічній жовтяниці) дезоксигольова кислота становить при семи- і 14-додній жовтяниці — 36 і 37%. Концентрація таурохольової кислоти при дво-, чотири-, шести-, восьмистодній і одностодній, двостодній механічній жовтяниці становить значно більше половини суми всіх жовчних кислот (від 78 до 85%). Глікохольова кислота при чотири-, шести-, восьмистодній жовтяниці становить найменшу частину від загальної кількості жовчних кислот. Глікохенодезоксигольова в сумі з глікодезоксигольовою кислотою становить невеликий процент від загального вмісту жовчних кислот тварин відповідних груп: при дво-, чотири-, шести-, восьмистодній і одностодній, двостодній — 2,6; 1,4; 1,6; 1,5% і 2; 1,6%, досягаючи максимуму при 14-додній жовтяниці 9,5%.

Великий інтерес становить склад жовчних кислот при біліарному цирозі (через місяць після перев'язки і перерізки спільної жовчної протоки). Загальний вміст жовчних кислот становить $1,19 \pm 0,27$ мг%. Дезоксихольова кислота становить 56,2% від загального вмісту жовчних кислот (рис. 3). З рис. 3 видно, що дезоксихольова кислота становить більше половини від загальної кількості жовчних кислот.

Значну частину становить таурохольова і хольова кислоти (20,6 і 11% відповідно); глікохольова і глікохенодезоксихольова, глікодезоксихольова в сумі становлять лише 12,2% від загальної кількості жовчних кислот.

У ранні строки механічної жовтяниці у тварин спостерігається різке переважання кон'югированих жовчних кислот (сума таурохольової, глікохольової, глікохенодезоксихольової і дезоксихольової кислот) над вільними (сума хольової і дезоксихольової кислот). При семидобовій механічній жовтяниці спостерігається зменшення вмісту зв'язаних жовчних кислот до 1,07 мг%, при біліарному цирозі вони становлять лише 0,48 мг%. Глікокон'югировані жовчні кислоти (сума глікохольової, глікохенодезоксихольової і глікодезоксихольової) досягають максимуму при одно- і дводобовій механічній жовтяниці, а при біліарному цирозі їх вміст обмежується $0,11 \pm 0,07$ мг%, тобто менше, ніж у контрольних групах. Таурозв'язувальна жовчна кислота при механічній жовтяниці і біліарному цирозі явно превалює над глікозв'язаними. Відношення гліко-/таурозв'язані жовчні кислоти у здорових тварин становить 1,4; при механічній жовтяниці у білих щурів воно різко знижується до 0,05, при біліарному цирозі — до 0,6. У ранній стадії експериментальної механічної жовтяниці (до двох діб після перев'язки і перерізки спільної жовчної протоки) відношення гліко-/таурокон'югировані жовчні кислоти більш низьке.

Вміст триоксихоланових (сума хольової, глікохольової і таурохольової) і діоксихоланових (сума дезоксихольової, глікохенодезоксихольової і глікодезоксихольової) кислот при механічній жовтяниці і біліарному цирозі має ряд особливостей. Так, у гострому періоді механічної жовтяниці триоксихоланові кислоти переважають за кількістю в багато разів діоксихоланові. Проте, при біліарному цирозі в сироватці крові у тварин діоксихоланові кислоти переважають. Відношення три-/діоксихоланові кислоти у ранні строки механічної жовтяниці більше шести. Проте, при біліарному цирозі відношення три-/діоксихоланові кислоти становить 0,6.

Обговорення результатів досліджень

Застосування розробленої в нашій лабораторії методики флуориметричного визначення окремих жовчних кислот у сироватці крові дозволило прослідкувати спектр жовчних кислот у білих щурів за різних умов експерименту.

Різке збільшення кількості жовчних кислот у ранні строки механічної жовтяниці пояснюється тим, що в умовах холестази наявні в тонкому кишечнику жовчні кислоти потрапляють у печінку, яка до того ж продовжує сама їх синтезувати, а з гепатоциту жовч із значним вмістом жовчних кислот потрапляє через лімфатичні шляхи і синусоїди у кров [3, 9]. Так виникає холемія. При холестазі навіть у ранні строки трапляються значні гістологічні зміни в печінці під впливом підвищеного тиску жовчі у жовчних ходах, а також внаслідок токсичної дії жовчних кислот на паренхіму печінки [9].

Цим, можливо, пояснюється той факт, що навіть у ранні строки механічної жовтяниці порушується нормальний спектр жовчних кис-