

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ
ВПЛИВУ РОСЛИННОГО ЗАСОБУ
НА СТАН БІЛКОВОГО ОБМІНУ В УМОВАХ
ГОСТРОГО ТЕТРАХЛОРЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ**

Р.Ф. Єрмоєнко, А.Г. Кононенко

Національний фармацевтичний університет (Харків)

Вступ

Відомо, що без участі печінки в метаболізмі білка організм може обходитися не більше декількох днів. Участь печінки в білковому обміні характеризується тим, що в ній активно протікають синтез і розпад білків, що мають важливе значення для організму. У печінці синтезується за добу близько 13-18 г білків. З них альбумін, фібриноген, протромбін утворюються лише у печінці. Крім того, тут синтезується до 90% альфа-глобулінів і близько 50% гамма-глобулінів організму. Клітини печінки володіють повним набором ферментів, необхідних для перетворень амінокислот, їх розщеплення, модифікації і синтезу нових азотистих сполук. Якраз в печінці з простих попередників утворюються «замінні» амінокислоти і азотисті основи нуклеїнових кислот, що сприяє утворенню білкового резерву для організму при обмеженому його надходженні ззовні [1-3, 7, 8].

Отже, порушення білкового обміну можуть призвести не лише до втрати активності клітин, а й усього організму в цілому. Щоб запобігти цьому, потрібне своєчасне надходження до організму структурних компонентів для синтезу нових білків. З метою відновлення функціонування білкового обміну необхідне своєчасне надходження до організму ззовні структурних компонентів – амінокислот і інших біологічно активних речовин – коректорів білкового обміну [8]. В якості джерела вказаних речовин може бути використані таблетки «Медикабол», розроблені на основі екстракту з трави люцерни посівної, що містить в своєму складі білки, амінокислоти (8 незамінних), ферменти, що приймають участь в розщепленні білків та сприяють їх засвоєнню. Також, до фітохімічного складу рослинного засобу «Медикабол» входять біологічно активні речовини з антиоксидантними, мембраностабілізуювальними, орга-

нопротекторними, протизапальними та іншими властивостями [5, 6], що пояснює доцільність вивчення його впливу на функціональний стан гепатоцитів у щурів на тлі гострого ураження печінки, викликаного тетрахлорметаном [2, 3].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана у рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці» (№ держ. реєстрації 0103U000478).

Мета роботи – вивчити вплив Медикаболу та препаратів порівняння калію оротату і силібору на стан білкового обміну в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту у щурів.

Матеріали та методи дослідження

Вплив таблеток «Медикабол» на функціональний стан білкового обміну вивчали на 40 білих безпородних щурах масою 180-200 г на моделі гострого ураження печінки з дотриманням вимог комісії з біоетики НФаУ та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), що узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) [4]. Експериментальні тварини були рандомізовані на 5 груп: 1 – інтактний контроль (ІК); 2 – контрольна патологія (КП); 3 – дослідна, що отримували «Медикабол» в дозі 25 мг/кг; 4 – дослідна, що отримували препарат порівняння – калія оротат в дозі 180 мг/кг; 5 – дослідна, що отримували препарат порівняння силібор в дозі 25 мг/кг. Гострий токсичний гепатит викликали внутрішньошлунковим введенням тетрахлорметану у вигляді 50% олійного розчину в дозі 0,8 мл/100 г протягом двох діб. Досліджувані речовини вводили дослідним групам протягом 2-х тижнів до і через 2 години після введення гепатотоксину [4], групи інтактного контролю і контрольної патології отримували розчинник. На третю добу тварин виводили з експерименту дислокацією шийних хребців в умовах барбамілового наркозу.

Функціональний стан гепатоцитів і білкового обміну у щурів оцінювали за відсотком виживаності експериментальних тварин, масовому коефіцієнту печінки (МКП), біохімічним показникам в сироватці крові [4]: рівень загального білка, молекул середньої маси (МСМ), альбуміну, сечовини, показники окислювальної модифікації білків

(ОМБ) [4], активність цитолітичних ферментів аланінамінотрансферази (АлАТ), аспаргатамінотрансферази (АсАТ) [1], γ -глутамілтрансферази (ГГТ) [1]. Інтенсивність процесів ПОЛ і стан антиоксидантного захисту оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів, каталази і відновленого глутатіону (G-SH) в гомогенаті печінки [4].

Отримані експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакету статистичних програм «Statistica 6,0». Для отримання статистичних висновків застосовували параметричні методи (метод Н'юмана-Кейлса). При порівнянні статистичних вибірок був прийнятий рівень значущості $p < 0,05$.

Отримані результати та їх обговорення

Експериментальні дані, наведені в таблицях 1-2 і рисунках 1-3, свідчать про розвиток метаболічних та структурних порушень, спричинених введенням гепатотоксину тетрахлорметану. Про посилення переокисних катаболічних перетворень свідчить вірогідне підвищення рівня продуктів переокисної деструкції компонентів мембран гепатоцитів – ТБК-активних продуктів в 1,4 рази в порівнянні з їх рівнем в інтактного контролю. Наслідком посилення процесів ПОЛ стало зменшення внутріклітинного вмісту GSH і активності каталази на 22,36% і 21,9%, відповідно. Вірогідне підвищення МКП в 1,4 рази свідчить про важку інтоксикацію, порушення гемодинамики та розвиток запального процесу (рис. 1).

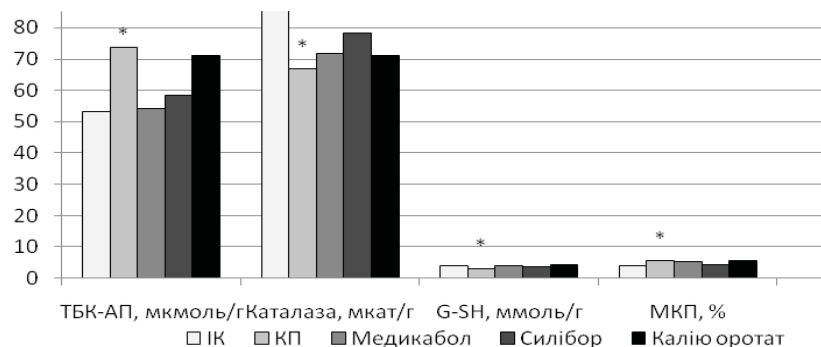


Рис. 1. Вплив таблеток «Медикабол» на біохімічні показники функціонального стану печінки щурів в гомогенаті в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту

Примітки: * – відхилення показника достовірно по відношенню до групи інтактного контролю, $P \leq 0,05$.

Наслідком прямої мембранотоксичної дії тетрахлорметану виступало формування виразного біохімічного цитолітичного синдрому, про що свідчило підвищення активності маркерних ферментів цитолізу – АлАТ, АсАТ і γ -ГГТ. Так, активність АлАТ в сироватці крові експериментальних тварин підвищилась в 1,7 рази, АсАТ – в 1,75 рази, γ -ГГТ – в 1,3 рази, в порівнянні з групою інтактного контролю (рис. 2).

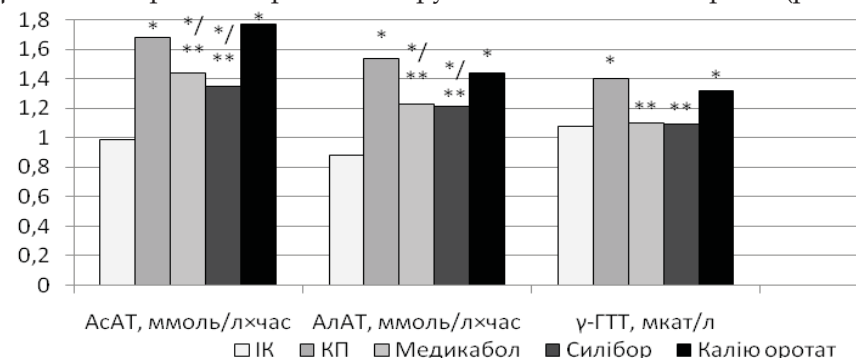


Рис. 2. Вплив таблеток «Медикабол» на біохімічні показники функціонального стану печінки щурів в сироватці крові в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту.

Примітки: * – відхилення показника достовірно по відношенню до групи інтактного контролю, $P \leq 0,05$; ** – відхилення показника достовірно по відношенню до групи контрольної патології, $P \leq 0,05$.

Внаслідок деструкції мембран і білкових компонентів гепатоцитів, спричинених введенням гепатотоксину, спостерігались вагомні зміни показників білкового обміну – загального білка, МСМ, сечовини, білкових фракцій. Так, вміст загального білка в сироватці крові збільшився, а в тканині печінки – зменшився в 1,2 рази, в сироватці крові підвищився рівень МСМ – в 1,3 рази, сечовини – в 1,2 рази (табл. 1), α -глобулінової фракції білків – в 1,5 рази, спостерігалась тенденція до зменшення альбумінової і β -глобулінової фракції білків в 1,2 і 1,1 разу, відповідно, і збільшилася γ -глобулінова – в 1,1 рази порівняно з групою інтактного контролю (рис. 3).

Введення експериментальним тваринам таблеток «Медикабол» в дозі 25 мг/кг і референс-препаратів калію оротату в дозі 180 мг/кг та силібору в дозі 25 мг/кг в лікувально-профілактичному режимі на тлі токсичного ураження печінки призвело до позитивних змін, що підтверджується відповідними змінами з боку головних функціонально-біохімічних показників (табл. 1, рис. 1-3).

Вплив таблеток «Медикабол» на стан білкового обміну у щурів в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту (n=8)

Показник	Умови експерименту				
	ІК	КП	Медикабол, 25 мг/кг	Силібор, 25 мг/кг	Калію оротат, 180 мг/кг
Загальний білок, г/л	62,49±1,77	69,95±2,20	62,52±3,45	69,57±3,26	70,49±3,13
Білок за Лоурі, г/100 мг	0,090±0,004	0,078±0,003*	0,096±0,01	0,085±0,003**	0,099±0,003**
МСМ, ум. од.	0,234±0,008	0,311±0,007*	0,270±0,007	0,298±0,004	0,275±0,009
Альбумін, г/л	36,19±0,89	39,61±0,68	40,93±1,16	37,44±2,51	39,76±2,54
Сечовина, ммоль/л	4,37±0,26	5,28±0,31	5,27±0,29	5,14±0,78	6,18±0,69

Примітки: * – відхилення показника достовірно по відношенню до групи інтактного контролю, $P \leq 0,05$; ** – відхилення показника достовірно по відношенню до групи контрольної патології, $P \leq 0,05$.

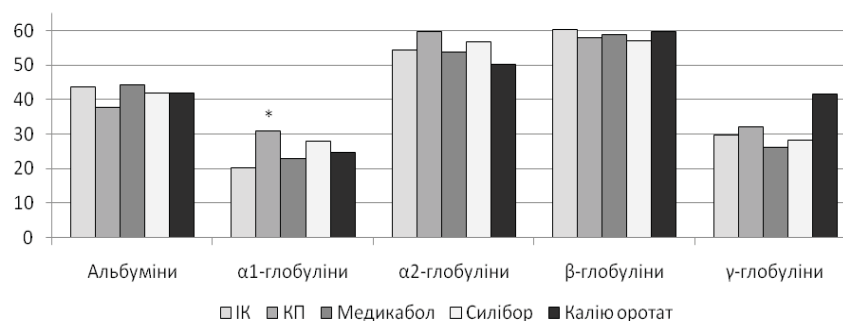


Рис. 3. Розподіл білкових фракцій сироватки крові під впливом таблеток «Медикабол» в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту.

Примітки: * – відхилення показника достовірно по відношенню до групи інтактного контролю, $P < 0,05$.

Так, застосування досліджуваного засобу та препаратів порівняння сприяло зниженню виразності некротичних і дистрофічних змін в паренхімі печінки, що обумовлено пригніченням перебігу деструктивних процесів. Введення дослідним тваринам «Медикаболу» сприяло

зменшенню вмісту первинних продуктів ПОЛ ТБК-АП в тканині печінки щурів в 1,3 рази в порівнянні з рівнем такого в групі контрольної патології, на відміну від референс-препарату калію оротату (рис. 1).

Пригнічення процесів ліпопероксидації при застосуванні таблеток «Медикабол» виражалось в тенденції порівняно з групою КП до відновлення функціональної потужності АОС і АОЗ – рівень GSH і активність каталази в гомогенаті печінки зростали на 19,18 і 20,60%, і 9,73 і 6,85%, відповідно (рис. 1). Введення «Медикаболу» в дозі 25 мг/кг призводило до зниження вираженості цитолітичного синдрому на рівні з препаратом порівняння силібором в дозі 25 мг/кг, що виявилось достовірним зниженням в сироватці крові порівняно з групою КП активності маркерних ферментів цитолізу АлАТ і АсАТ в 1,3 і 1,2 рази, відповідно. Достовірне порівняно з групою КП зниження в сироватці крові рівня ГГТ в 1,3 рази свідчить про мембраностабілізуючі властивості досліджуваних засобів. Препарат порівняння калію оротат в дозі 180 мг/кг не надавав істотного впливу на описані показники (рис. 2).

Застосування рослинного засобу «Медикабол» в дозі 25 мг/кг в лікувально-профілактичному режимі на відміну від референт-препаратів калію оротату в дозі 180 мг/кг та силібору в дозі 25 мг/кг сприяло відновленню процесів білкового обміну і попереджало деструкцію мембранних і клітинних білків в умовах тетрахлорметанового ураження гепатоцитів. Так, всі досліджувані засоби достовірно відносно групи КП збільшували вміст білка в тканині печінки до рівня інтактного контролю і не змінювали рівень загального білка в сироватці крові, виявили тенденцію до зменшення кількості МСМ в 1,2 рази і не впливали на рівень альбуміну і сечовини (табл. 1). Аналіз білкових фракцій показав, що «Медикабол», калію оротат та силібор порівняно з групою КП підвищували вміст альбуміну в 1,2; 1,2 і 1,1 рази, відповідно, що може свідчити про відновлення кількості транспортних білків і їх функції, знижували до рівня інтактного контролю α-глобулінові фракції білків, що говорить про протизапальні властивості досліджуваних речовин. «Медикабол» виявив деяку імунопротекторну активність, про що свідчить кількість зниження вмісту γ-глобулінових білків на 18,13%, тоді як калію оротат виявив протилежний ефект – достовірно збільшував їх кількість в 1,4 разу відносно групи ІК і КП, що вказує на напружену імунну систему і можливі алергізуючі властивості калію оротату (рис. 3).

Висновки

1. Встановлено, що гостре токсичне ураження печінки щурів, індуковане тетрахлорметаном, призводить до порушення структурної і функціональної активності гепатоцитів.

2. Застосування таблеток «Медикабол» в дозі 25 мг/кг на основі екстракту з трави люцерни посівної в лікувально-профілактичному режимі відновлює процеси білкового обміну і запобігає деструкції білкових молекул за рахунок вмісту великої кількості білка, амінокислот та інших біологічно активних речовин, які визначають його антиоксидантні, мембраностабілізуючі, органопротекторні і протизапальні властивості.

3. Виявлено, що за рівнем фармакологічної активності досліджуваний рослинний засіб майже в 2 рази перевищує референт-препарат калію оротат в дозі 180 мг/кг.

Література

1. Биохимические показатели крови, их референсные значения, причины изменения уровня в сыворотке крови: [Электронный ресурс] / В.В. Андрушкевич. – Новосибирск, 2006. – Режим доступа: http://www.labdiagnostic.ru/docs/specialists/bioxim_poka-zat.shtml
2. Гринштейн С.В. Структурно-функциональные особенности мембранных белков / С.В. Гринштейн, О.А. Кост // Успехи биологической химии. – 2001. – Т.41. – С. 77-104.
3. Губский Ю.И. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) / Ю.И. Губский, И.Ф. Беленичев, Е.Л. Левицкий, [та ін.] // Сучасні проблеми токсикології. – 2005. – № 3. – С. 20-26.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова – К.: Авіцена. – 2001. – 528 с.
5. Ковальов С.В. Дослідження фенольного комплексу із трави люцерни посівної / С.В. Ковальов, А.М. Ковальова, Р.Ф. Єрьоменко [та ін.] // Фармацевтичний часопис. – 2008. – № 2 (6). – С. 27 – 30.
6. Єрьоменко Р.Ф. Дослідження впливу екстракту з трави люцерни посівної на стан мембранных білків та мембран в умовах гемолізу еритроцитів / Р.Ф. Єрьоменко // Український біофармацевтичний журнал. – 2011. – № 6 (17). – С. 22-26.
7. Медико-демографічна ситуація та організація медичної допомоги населенню у 2010 році: підсумки діяльності системи охорони здоров'я та реалізація Програми економічних реформ на 2010-2014 роки «Заможне суспільство, конкурентоспроможна економіка, ефективна держава». – К.: МОЗ України, 2011. – 104 с.

8. Патология белкового обмена [учебно-методическое пособие] / [М.М. Миннебаев, Ф.И. Мухутдинова, С.В. Бойчук и др.]. – Казань, 2006. – 20 с.

Резюме

Єрьоменко Р.Ф., Кононенко А.Г. Експериментальне вивчення впливу рослинного засобу на стан білкового обміну в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту.

Проведено експериментальне вивчення впливу таблеток «Медикабол» на основі екстракту з трави люцерни посівної в умовах гострого токсичного ураження печінки, індукованого тетрахлорметаном. Встановлено, що в умовах модельної патології досліджуваний засіб сприяє відновленню процесів білкового обміну та попереджає деструкцію мембранных та структурних білкових молекул. Застосування таблеток «Медикабол» сприяло зниженню виразності некротичних і дистрофічних змін в паренхімі печінки, що обумовлено пригніченням процесів перекисного окиснення ліпідів.

Ключові слова: білковий обмін, таблетки «Медикабол», гострий тетрахлорметановий гепатит, коректор білкового обміну.

Резюме

Єрьоменко Р.Ф., Кононенко А.Г. Экспериментальное изучение влияния растительного средства на состояние белкового обмена в условиях острого тетрахлорметанового гепатита.

Проведено експериментальне изучение влияния таблеток «Медикабол» на основе экстракта травы люцерны посевной в условиях острого токсического поражения печени, индуцированного тетрахлорметаном. Установлено, что в условиях модельной патологии, исследуемое средство способствует восстановлению процессов белкового обмена и предупреждает деструкцию мембранных и структурных белковых молекул. Применение таблеток «Медикабол» способствовало снижению выраженности некротических и дистрофических изменений в паренхиме печени, что обусловлено угнетением процессов перекисного окисления липидов.

Ключевые слова: белковый обмен, таблетки «Медикабол», острый тетрахлорметановый гепатит, корректор белкового обмена.

Summary

Yeriyomenko R.F., Kononenko A.G. Experimental study of the effect of herbal remedy on the state of protein metabolism under acute CCl_4 hepatitis.

An experimental study of the influence of tablets «Medikabol» based on an extract of *Medicago sativa* sowing grass under acute hepatotoxicity induced by CCl_4 is held. It is found that in terms of hepatitis pathology, the experimental remedy promotes restoring processes of protein metabolism and prevents the destruction of membrane structure and protein molecules. The use of tablets «Medikabol» helped to reduce the intensity of necrotic and dystrophic changes in the liver parenchyma which is determined by inhibition of lipid peroxidation.

Key words: the protein metabolism, tablets «Medikabol», acute CCl_4 hepatitis, correction of protein metabolism.

Рецензент: д.біол.н., проф. В.М. Кравченко