Conclusions. Thus, under experimental indomethacin gastric ulcer in white rats, extract from blueberry leaves had an anti-ulcer effect which is similar in expressiveness to the effect of quercetin.

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ІНГІБІТОРІВ JNK У КОРЕКЦІЇ ТОКСИЧНИХ УРАЖЕНЬ ПЕЧІНКИ

Красільнікова О.А.
Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
krasilnikovaoksana16@gmail.com

Вступ. Ураження печінки, які індуковані лікарськими речовинами (DILI) в останні часи об’єднують у певну групу захворювань. Ці ураження повинні виникати внаслідок вживання фармацевтичних препаратів, харчових добавок або інших ксенобіотиків, що призводять до порушення окремих функції печінки та можуть бути діагностовані за допомогою печінкових тестів. До розвитку DILI можуть призводити мітохондріальні дисфункції, формування ушкоджуючих комплексів з білками та шляхом ініціювання системної гіперчутливості. Ключовим етапом, що передує ушкодженню клітин є розвиток оксидативного стресу та активація сигнальних протеїнкіназ зокрема сімейства MAP кіназ. Розвиток оксидативного стресу, яке супроводжується утворенням активних форм кисню (АФК), призводить до активації JNK, яка транслокується до мітохондрії, зв’язується з білком Sab, що призводить до ушкодження мітохондрій та ушкодження та загибелі клітин. Таким чином, активація JNK є перспективною терапевтичною ланкою у фармацевтичної корекції DILI.

В цьому дослідженні токсичне ураження клітин печінки моделювали шляхом інкубації ізольованих гепатоцитів у присутності ацетамінофену. Оцінювали ураження клітин за окраскою трипановим синім, визначали інтенсивність процесів перекисного окиснення за утворенням первинних та кінцевих продуктів ПОЛ. Функціональний стан клітин оцінювали за внутрішньоклітинним рівнем ТАГ та позаклітинним утворення ЛПДНГ.

Мета дослідження. Метою цього дослідження було вивчення можливості використання інгібітору JNK SP600125 у корекції DILI на моделі токсичного ураження клітин печінки, індукованого ацетамінофеном у щурів.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на самках щурів масою 190±15 г, які утримувались у стандартних умовах у віварію НФаУ. Гепатоцити виділяли з інтактних щурів методом Сеглена та інкубували у середовищі Eagle протягом 3 годин при 37°C у присутності 10 мкмоль активатора JNK ацетамінофену (APAP). У деяких випадках за 10 хвилин до додавання APAP гепатоцити інкубували з інгібітором JNK SP600125 (10 мкмоль). Життєздатність клітин оцінювали за фарбуванням 0,8% трипановим синім. Життєздатними

вважалися клітини, де відсоток живих складав 95% та вище. Інтенсивність перекисного окислення ліпідів оцінювали за рівнем утворення ТБК-реактивних продуктів та дієнових кон'югатів (ДК). Ліпіди екстрагували методами Блайя та Дайера та розділяли тонкошаровою хроматографією у розчинниках гептан: діетиловий ефір: оцтова кислота (40:10:1, (v/v)). Триацилгліцерини (ТАГ) ідентифікували на платівці порівнянням зі стандартами, загальну кількість визначали за методом Марча та Венстайна. Рівень ЛПДНГ визначали за допомогою турбідиметричного методу. Отримані дані оброблялися статистично.

Результати та обговорення. Інкубація клітин у присутності APAP суттєво, на 27% знижувала життєздатність клітин. Попередня інкубація з SP600125 повністю відміняла негативний ефект APAP на клітини Було показано, що додавання інгібітора JNK SP600125 до середовища для інкубації гепатоцитів не змінює вміст ТБК-реактивних продуктів та ДК. Отримані результати свідчать про те, що ця сполука не володіє антиоксидантною активністю. Інкубація гепатоцитів з APAP призводила підвищення рівень ДК у 1,7 рази та рівень ТБК-реактивних продукті у 2,1 рази. Попередня інкубація клітин з SP600125 зменшила накопичення ТБК-реактивних продуктів та ДК. APAP частково метаболізується цитохромом P450 у високореактивний проміжний метаболіт N-ацетил-п-бензохінонімін, який стимулює вироблення H_2O_2 та фосфорилювання JNK (pJNK) та активацію. pJNK переміщується в мітохондрії і викликає його дисфункцію та вивільнення АФК. Ці АФК продовжують фосфорилювати та активувати JNK. Це призводить до утворення патологічної петлі. Попередня інкубація клітин з SP600125 зменшила накопичення ТБК-реактивних продукті та ДК. Активація JNK є ключовим етапом ушкодження печінки, спричиненої APAP. Ми виявили, що додавання APAP в ізольовані гепатоцитні середовища первинної культури супроводжується накопиченням ТАГ у клітинах та зниженням рівня ЛПДНГ у культуральному середовищі. Отримані дані можуть вказувати на те, що основною причиною накопичення ТАГ є дисбаланс між накопиченням ліпідів та їх екскрецією з клітин через утворення ліпопротеїнів. Попередня інкубація клітин з інгібітором JNK SP600125 запобігає накопиченню APAP індукованого ТАГ та збільшує вивільнення ЛПДНГ у культуральне середовище.

Висновки. Отримані дані свідчать, що тривала інкубація ізольованих гепатоцитів з APAP індукує істотні ушкодження клітин, так, зокрема, спостерігається активація ПОЛ, що супроводжується накопиченням ТАГ та порушенням їх екскреції з клітин у вигляді ЛПДНГ. Ключовим етапом цього процесу є активація JNK. Використання SP600125 призводило до гальмування процесів ПОЛ, нівелювало накопичення ТАГ. Таким чином, отримані дані свідчать про перспективність використання інгібіторів JNK у попередженні та розвитку токсичних уражень печінки.