

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ВИНОГРАДУ НА ПОКАЗНИКИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ У МИШЕЙ ТА ЩУРІВ НА ФОНІ ДІЇ ХЛОРИДУ КАДМІЮ

А.Л.Загайко, Л.М.Вороніна, О.І.Набока, В.С.Кисличенко, В.Ю.Кузнецова

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: перекисне окислення ліпідів; оксидативний стрес; флавоноїди; антиоксидантний захист; біологічно активні речовини рослинного походження

*Сьогодні перед біологічними науками та медициною дуже гостро постали проблеми дослідження нових форм патологій, розвиток яких пов'язаний з дією на організм екстремальних чинників, та пошуку шляхів корекції цих патологій. Серед речовин з антиоксидантними властивостями привертають увагу насамперед субстанції природного, зокрема, рослинного походження. В нашій роботі вивчений оксидантний стан ліпопротеїнів сироватки крові та цитозолу печінки щурів *in vitro*, сироватки крові мишей *in vivo* при введенні хлориду кадмію та вплив додавання сумарного комплексу з листя винограду сорту Дабугі на ці показники. Отримані результати свідчать про те, що за умов розвитку оксидативного стресу попереднє введення сумарного комплексу з листя винограду сорту Дабугі істотно покращує оксидантний стан досліджених об'єктів. Рівень продуктів перекисного окислення ліпідів при цьому істотно знижується, вміст ізольованих подвійних зв'язків підвищується порівняно з впливом хлориду кадмію. Встановлено, що *in vitro* екстракт листя винограду Дабугі також захищає ліпопротеїни сироватки крові та цитозолу печінки від перекисного пошкодження. Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про високий рівень антиоксидантної активності сумарного комплексу з листя винограду сорту Дабугі, що вказує на доцільність подальшого вивчення цієї субстанції.*

За умов сучасності перед біологічними науками та медициною дуже гостро постали проблеми дослідження нових форм патологій, розвиток яких пов'язаний з дією на організм екстремальних чинників, та пошуку шляхів корекції цих патологій. Стрімко накопичуються дані, які свідчать про те, що багато з стресорних факторів, таких як отруєння ксенобіотиками, емоційні навантаження, надходження до організму есенціальних мікроелементів у кількостях, які перевищують фізіологічні, викликають зсув балансу в системі прооксиданти↔антиоксиданти і розвиток оксидативного стресу [11-14]. Такою властивістю володіють, зокрема, іони кадмію [13, 16], введення тваринам сублетальних доз яких є моделлю оксидативного стресу. У відповідь формується ряд захисних реакцій, спрямованих на гальмування віль-

норадикального окислення та підтримання функціональної активності клітини [11, 14, 16].

Проте, як було показано в наших попередніх роботах [5, 6], оксидативний стрес викликає істотне та довгострокове підвищення рівня ліпопротеїнів (ЛП) крові та небезпечні зміни в їх складі. Тому дуже важливою проблемою було вивчення впливу різних субстанцій, які можуть володіти антиоксидантними властивостями, на досліджувані показники. На жаль, більшість синтезованих речовин є ксенобіотиками, які можуть активувати процеси утворення вільних радикалів. Тому привертають увагу насамперед субстанції природного, зокрема, рослинного походження. Однією з таких субстанцій є одержаний на кафедрі фармакогнозії НФаУ сумарний комплекс з листя винограду (*Vitis vinifera*). Серед речо-

вин, які входять до складу цього комплексу, є значна кількість різних флавоноїдів [1], зокрема, кверцетину, антиоксидантна дія якого добре відома [10, 15].

Матеріали та методи

Перед проведенням експерименту були здійснені досліди *in vitro* з метою перевірки антиоксидантних властивостей сумарного комплексу з листя винограду сорту Дабугі. Для цього використовували сироватку крові та цитозолу печінки білих щурів-самців лінії Wistar тримісячного віку вагою 180-220 г, які утримувались у стандартних умовах віварію Харківського національного університету. Сироватку крові та цитозоль печінки інкубували протягом 30 хв при 37°C у трьох варіантах: без жодних додатків, з додаванням розчину хлориду кадмію (з розрахунку 280 мкг/мл сироватки або 2,8 мг/мл цитозолу) та з додаванням хлориду кадмію (така ж доза) та сумарного

Таблиця 1

Вплив хлориду кадмію та екстракту листя винограду сорту Дабугі на показники перекисного окислення ліпопротеїнів сироватки крові та цитозолу печінки шурів *in vitro*, $M \pm m$, $n=5-6$

Фракції	Показники	Контроль	Холоста	CdCl ₂	CdCl ₂ +екстракт винограду
Сироватка крові					
ЛПВГ	ІПЗ, ΔЕ/мл	5,88±0,53	3,70±0,30*	1,40±0,20*	2,52±0,12***
	ДК, нмоль/мл	13,20±0,91	15,84±0,44	33,59±1,61*	19,89±0,35***
	КД+СТ, ΔЕ/мл	0,91±0,09	1,10±0,07	1,90±0,11*	1,33±0,06***
	ЗГП, нмоль/мл	43,99±4,38	49,14±2,35	117,01±4,71*	75,50±2,50***
Апо-В-ЛП	ІПЗ, ΔЕ/мл	3,66±0,15	2,77±0,34*	1,40±0,20*	2,32±0,12**
	ДК, нмоль/мл	18,66±1,59	24,64±0,92	49,63±2,21*	23,94±2,46**
	ЗГП, нмоль/мл	81,13±6,35	121,68±6,24*	310,75±4,99*	134,78±8,73**
Цитозоль печінки					
Апо-В-ЛП	ІПЗ, ΔЕ/мл	2,44±0,24	1,57±0,23*	1,54±0,06	0,92±0,09***
	ДК, нмоль/мл	23,32±1,33	29,48±1,32	47,87±3,17*	29,22±1,06***
	КД+СТ, ΔЕ/мл	2,28±0,10	3,15±0,03	8,35±0,40*	5,65±0,35***
	ЗГП, нмоль/мл	49,82±1,72	56,16±1,58*	140,92±2,75*	109,72±5,36***

Примітки:

- 1) * — вірогідні зміни ($p \leq 0,05$ до контролю);
2) ** — вірогідні зміни ($p \leq 0,05$ до CdCl₂).

комплексу з листя винограду сорту Дабугі (з розрахунку 1 мг/мл сироватки або 10 мг/мл цитозолу).

В експериментах *in vivo* використовували безпородних білих мишей обох статей вагою 20-25 г. Об'єктом дослідження виступали цитозоль печінки та сироватка крові.

Мишам хлорид кадмію вводили одноразово внутрішньоочеревинно в дозі 1,96 мг на 100 г маси тіла [13]. За 3 доби до ін'єкції тваринам CdCl₂ (частині тварин) вводили одноразово внутрішньоочеревинно сумарний комплекс з листя винограду сорту Дабугі в діючих дозах (1500, 2000 або 3000 мг/кг маси тіла; дози попередньо були підібрані). Іншій частині тварин за 2 години до введення хлориду кадмію вводили перорально сумарний комплекс з листя винограду сорту Дабугі в дозі 50 мг/кг. Вивчали окисланий стан цитозолу печінки та сироватки крові.

Після декапітації анестезованої хлоралозоуретановим наркозом [8] тварини печінку перфузували холодним середовищем виділення та гомогенізували у гомо-

генізаторі Поттера на льоду. Цитозоль печінки одержували шляхом диференційного центрифугування гомогенатів у центрифугу VAC-601 [7].

Фракції ЛП високої густини та ЛП низької+дуже низької густини (ЛПВГ та ЛПНГ+ЛПДНГ) розділяли центрифугуванням сироватки крові та цитозолу печінки, до яких попередньо додавали розчини гепарину та CaCl₂ в присутності EDTA [7]. Вимірювали оптичну густину гептан-ізопропанольних екстрактів вказаних фракцій при довжині хвилі 220 нм (для ізольованих подвійних зв'язків), 232 нм (для дієнових кон'югатів) та 278 нм (для кетодієнів та сполучених трієнів) [2]. Вміст загальних гідроперекисів вимірювали реакцією з тіоціанатом амонію [9].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням Х-критерію Ван-дер-Бардена.

Результати та їх обговорення

Як видно з даних табл. 1, інкубація сироватки крові та цитозолу печінки в присутності хлори-

ду кадмію викликає накопичення продуктів ПОЛ. Так, в ліпопротеїнах високої густини різко знижується вміст ізольованих подвійних зв'язків (ІПЗ), підвищуються рівні дієнових кон'югатів (ДК), кетодієнів та сполучених трієнів (КД+СТ), а вміст загальних гідроперекисів (ЗГП) зростає в 2,5 рази порівняно з холостою інкубацією. Схожа картина спостерігається і в апо-В-вмісних ліпопротеїнах, хоча рівень вторинних продуктів ПОЛ в них і залишається на рівні контролю. Останній факт ще раз підтверджує вивчену нами раніше [4] більшу окислюваність ЛПВГ у порівнянні з іншими класами ліпопротеїнів, що може мати адаптивне значення, оскільки саме з цими ліпопротеїнами асоційований такий важливий антиоксидантний фермент, як параоксоназа [6]. Як і очікувалося, ліпопротеїни печінки окислюються дещо слабше (табл. 1), що пов'язано з наявністю в гепатоцитах значної кількості антиоксидантів — як ферментних, так і неферментних. Проте все ж ступінь окислення ліпопротеїнів печінки при інкубації з кадмієм до-

Таблиця 2

Вплив екстракту листя винограду сорту Дабугі на показники перекисного окислення сироватки крові мишей при оксидативному стресі, $M \pm m$, $n=5-6$

Показники	Групи				
	інтактні	екстракт винограду, 4 год	CdCl ₂ , 2 год	екстракт винограду (4 год) +CdCl ₂ , год · ч	екстракт винограду (3 доби)+CdCl ₂ , 2 год
ІПЗ, ΔЕ/мл	3,23±0,03	3,13±0,22	0,76±0,05*	2,74±0,31**	2,56±0,18***
ДК, нмоль/мл	42,97±0,05	42,92±0,07	81,05±5,14*	56,47±3,18***	58,12±4,26***
КД+СТ, ΔЕ/мл	11,97±0,05	11,90±0,10	23,07±3,47*	15,77±0,34***	17,83±0,37***

Примітки:

1) * — вірогідні зміни ($p \leq 0,05$ до контролю);

2) ** — вірогідні зміни ($p \leq 0,05$ до CdCl₂).

сить значний (кількість загальних перекисів підвищується майже в 3 рази).

Додавання до інкубаційного середовища екстракту листя винограду, як видно з даних табл. 1, виражено покращує оксидантний стан ліпопротеїнів: так, показники апо-В-ліпопротеїнів крові, вже окислених на рівні контролю, первинних та вторинних продуктів ПОЛ в ЛПВГ, вірогідно нижчі за такі при інкубації з кадмієм. Проте треба відзначити, що ЛПВГ все-таки залишаються досить істотно окисленими. Це нашттовхує на думку про те, що апо-В-ЛП, окислення яких є більш небезпечним для організму (окислені апо-В-ЛП цитотоксичні, їх накопичення є однією з ланок атерогенезу [6]), мають і швидше повертатися до нормального рівня окислення. Апо-В-ЛП цитозолу печінки при додаванні екстракту винограду хоча й стають менш

окисленими порівняно з такими при інкубації з кадмієм, але все ж рівні продуктів ПОЛ в них за цих умов істотно вищі за норму. Таким чином, в експериментах *in vitro* ми спостерігали досить істотну, але не повну захисну дію екстракту листя винограду сорту Дабугі на стан ПОЛ. Це дало підстави продовжити дослідження.

У наступній серії експериментів ми вивчали дію екстракту листя винограду сорту Дабугі на показники ПОЛ *in vivo*. Результати проведених досліджень наведені в табл. 2. Як видно з цієї таблиці, введення мишам сублетальних доз хлориду кадмію викликає картину, типову для оксидативного стресу: через 2 год після ін'єкції рівень ІПЗ падає більш ніж в 4 рази, вміст продуктів ПОЛ зростає приблизно в 2 рази.

При цьому введення тваринам екстракту листя винограду не впливало на показники ПОЛ (табл. 2).

Профілактичне введення тваринам екстракту листя винограду при дії хлориду кадмію значно знижувало кількість продуктів ПОЛ, хоча і не до норми (табл. 2). При цьому слід зважати на те, що введення сублетальних доз хлориду кадмію — це надто сильний стрес, з яким у природних умовах тварини (як і люди) майже не стикаються — за винятком гострих отруєнь. Навіть при такому екстремальному впливові екстракт листя винограду сорту Дабугі проявив себе відмінним антиоксидантним комплексом, що робить його цінним об'єктом для подальших досліджень.

ВИСНОВОК

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про високий рівень антиоксидантної активності сумарного комплексу з листя винограду сорту Дабугі, що вказує на доцільність подальшого вивчення цієї субстанції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бакльков Л.И. Виноград и здоровье. — Краснодар, 1990. — 96 с.
2. Волчегорский И.Ф., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. // *Вопр. мед. химии.* — 1989. — №1. — С. 127-131.
3. Калиман П.А., Шаламов Р.В., Загайко А.Л. // *Биохимия.* — 1997. — Т. 62. — С. 850-857.
4. Калиман П.А., Загайко А.Л. // *Биол. вестник.* — 1999. — Т. 3, №1-2. — С. 26-32.
5. Калиман П.А., Загайко А.Л., Шаламов Р.В. и др. // *Укр. биохим. журн.* — 1997. — Т. 69, №5. — С. 138-148.
6. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. *Липиды, липопротеиды и атеросклероз.* — С.-Пб.: Питер пресс, 1995. — 304 с.
7. Колб В.Г., Камышников В.С. // *Лабор. дело.* — 1979. — №1. — С. 42-44.
8. Сидоряк Н.Г. *Изменения транспорта кислорода в организме при гемической гипоксии: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук.* — К., 1985. — 20 с.

9. Строев Е.А., Макарова В.Г. *Практикум по биологической химии.* — М.: Высш. шк., 1986. — 231 с.
10. Erden I.M., Kahraman A. // *Toxicology.* — 2000. — Vol. 154. — P. 21-29.
11. Llesuy S.F., Tomaro M.L. // *Biochim. et Biophys. Acta.* — 1994. — Vol. 1223. — P. 9-14.
12. Maines M.P., Kappas A. // *Science.* — 1977. — Vol. 198, №4323. — P. 1225-1221.
13. Sarkar S., Yadav P., Trivedi R. et al. // *J. Trace Elem. Med. Biol.* — 1995. — Oct. 9 (3). — P. 144-149.
14. Sunderman F.W. // *Acta Pharmacol. Toxicol.* — 1986. — Vol. 59. — P. 248-255.
15. Yamamoto N., Moons J.M., Tsushida T. et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1999. — Vol. 372, №2. — P. 347-354.
16. Zikic R.V., Stajn A.S., Ognjanovic B.I. et al. // *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* — 1998. — Vol. 17, №3-4. — P. 259-264.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 53. Тел. (0572) 43-18-20.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 30.01.2003 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду Державного фармакологічного центру МОЗ України

Про побічну дію препарату **“Гентаміцину сульфат”** (4% р-н д/і в амп. по 1,0 мл) виробництва ДП “Львівдіалік” (м. Львів)

У хворого 39 років на реактивний поліартрит призначення в комплексній фармакотерапії (одночасно пацієнт отримувач ортофен) гентаміцину сульфату була проведена підшкірна проба (1,0 мл). При підшкірному введенні місцево діаметром 15 см виникла гіперемія, яка супроводжувалась свербінням. Препарат був відмінений. Зазначені явища зникли без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому не відомі.

Інформація надійшла від Тернопільського регіонального відділення ДФЦ МОЗ України.

Про побічну дію препарату **“Аспаркам”** (табл. 175 мг+175 мг) виробництва ЗАТ “Галичфарм” (м. Львів)

У хворого 53 років на гіпертонічну хворобу III ст., НК II Б, антацидний гастрит призначення в комплексній фармакотерапії (одночасно пацієнт отримувач атенолол, фуросемід, рибоксин) аспаркаму (перорально по 1 табл. 3 рази на добу) через 7 днів після першого прийому призвело до появи неприємного відчуття в епігастрії. Дозу препарату не корегували. Зазначені явища зникли без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому не відомі.

Інформація надійшла від Тернопільського регіонального відділення ДФЦ МОЗ України.