

Рекомендована д.м.н., професором А.І.Березняковою

УДК 616.003.725:577.151.042-125.33

ПРОЦЕСИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ПРИ ОТРУЄННІ ТА ДІЇ ПРИРОДНИХ АНТИОКСИДАНТІВ

Л.М.Малоштан, Н.П.Субота, П.П.Пашинський, А.Г.Кононенко

Національний фармацевтичний університет

Проведено порівняльне експериментальне дослідження дії *in vivo* антиоксидантних речовин рослинного походження препаратів “СВЕЛК” та “Силібор” на біохімічні показники крові щурів при отруєнні CCl_4 за даними активності процесів перекисного окиснення ліпідів. Показано, що препарат “СВЕЛК” володіє більш вираженою відновлювальною та регулюючою дією на печінку, ніж силібор, що дозволяє розглядати його як перспективний гепатопротектор.

Дослідження останніх років показали, що накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) може привести до цілого ряду патологічних змін організму, до структурної перебудови мембран і зміни метаболічних процесів, які відіграють велику роль у патогенезі багатьох хвороб. Каскад біохімічних реакцій, які призводять до загибелі клітин, багато в чому носить подібний характер при ушкодженнях різної етіології [1-3].

Саме тому пошук ефективних антиоксидантів (АО), у першу чергу, природного походження, є актуальною проблемою сучасної фармакології.

Антиоксиданти широко застосовуються в гепатології, особливо при лікуванні захворювань, що супроводжуються гострою печінковою недостатністю, летальність якої, незважаючи на розвиток методів інтенсивної терапії, вкрай велика.

Метою нашої роботи було порівняльне дослідження антиоксидантної дії препаратів рослинного походження — відомого препарату “Силібор” та сумарного водного екстракту листя кукурудзи (СВЕЛК) на біохімічні показники крові щурів при отруєнні CCl_4 .

Матеріали та методи

Для виконання роботи були використані білі безпородні щури масою 150-200 г ($n=50$).

Тварин утримували в стандартних умовах вівтарю (температура повітря — 18-22°C, відносна вологість повітря — 55-60%) при відповідному освітленні та годуванні *ad libitum* (натуруальні корми з урахуванням норм харчування лабораторних щурів).

Дослідження проводилися відповідно до національних “Загальних етичних принципів експе-

риментів на тваринах” (Україна, 2001), що узгоджуються з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985).

Усі стресові процедури виконували під легким ефірним наркозом. Тварин виводили з експерименту декапітацією.

Гострі токсичні ураження печінки викликали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням CCl_4 у дозі 0,3 мл/100 г маси тіла у вигляді олійного 50% розчину.

Контрольні групі тварин вводили аналогічний об’єм стерильної рослинної олії внутрішньоочеревинно.

Забій тварин здійснювали через 24, 48, 72 год після введення CCl_4 .

Препарати АО дії рослинного походження “Силібор” і “СВЕЛК” уводили перорально у вигляді суспензій один раз на добу перед ранковим годуванням тварин (силібор — 25 мг/кг, СВЕЛК — 40 мг/кг). Препарати починали вводити за 4 доби до моделювання експериментального отруєння.

Дози і шляхи введення були відпрацьовані згідно зі схемами, рекомендованими Фармкомітетом при вивченні гепатозахисних речовин.

Інтенсивність процесів ПОЛ контролювали за біохімічними параметрами у крові тварин (накопичення ТБК-продуктів за рівнем малонового діальдегіду (МДА) та первинних продуктів окиснення за рівнем дієнових кон’югатів (ДК)) [4]. Рівень відновленого глутатіону (GSH) визначали за методом [4].

Результати та їх обговорення

CCl_4 відносять до числа гепатотропних агентів, які володіють прямою цитотоксичністю, тобто його метаболіти, з’єднувшись з “критичними молекулами” в клітинах печінки, можуть їх пошкоджувати [5]. Завдяки своїй ліпофільноті CCl_4 легко проникає через плазматичну мембрну гепатоцитів. Утворення активних метаболітів CCl_4 починається вже на ранніх етапах, тому спостерігається швидкий розвиток пошкоджень [6].

Експериментальні дані, отримані при дослідженні плазми крові щурів, представлені у табл.

Таблиця

Вплив рослинних антиоксидантів силібору та СВЕЛК на детоксикаційні процеси у печінці щурів за біохімічними показниками крові при гострому гепатиті, n=12

Час, год	МДА, мкмоль/л	ДК, мкмоль/л	GSH, мг %
Інтактні тварини (контроль)			
0	0,54±0,036	0,54±0,01	13,68±1,33
Тварини з отруєнням CCl₄			
24	20,06±0,51*	0,65±0,01*	91,46±3,35*
48	20,21±0,41*	0,65±0,01*	91,46±3,98*
72	20,02±0,45*	0,65±0,01*	88,39±4,40*
Силібор			
24	16,35±0,45*	0,54±0,04	62,14±3,98*
48	16,43±0,25*	0,59±0,036	66,08±4,19*
72	16,35±0,37*	0,56±0,03	65,86±4,19*
СВЕЛК			
24	15,90±0,31*	0,49±0,03	17,78±1,03*
48	15,92±0,25*	0,52±0,04	28,44±2,09*
72	30,68±0,31*	0,47±0,02	25,52±3,04*

Примітка: * — відхилення показника достовірне стосовно групи контролю ($P<0,05$).

Показано, що після розвитку гострого гепатиту (ГГ) спостерігається пригнічення антиоксидантної активності (за рівнем GSH), різке збільшення показників вмісту як первинних, так і вторинних продуктів ПОЛ.

Кількість продуктів первинного окиснення, дієнових кон'югатів, вже через 24 год, порівняно з контролем, збільшилася на 20,4% і утримувалася на такому рівні і через 48, і через 72 год.

Кількість продуктів МДА — кінцевого ланцюга процесів ПОЛ через 24 год після отруєння збільшилась на 28,5%. Максимальне підвищення спостерігалось через 48 год на 29,6%, практично не змінюючись через 72 год: підвищення на 28,3%.

Таким чином, отруєння експериментальних тварин CCl₄ викликає інтенсивні метаболічні розлади. При цьому порушення розвиваються послідовно, вони прогресують і підсумовуються.

Нами було показано, що активація ПОЛ проходить у перші години після отруєння. Спостерігається накопичення як первинних, так і вторинних продуктів ПОЛ, різке пригнічення вмісту глутатіону (табл.).

Регуляція процесів ПОЛ у нормі здійснюється багатокомпонентною антиоксидантною системою (АОС). Вона забезпечує зв'язування і модифікацію вільних радикалів, попередження утворення і руйнування перекисів. Знеслення і зрив різних ланок АОС багато в чому визначає характер і інтенсивність розвитку того чи іншого пато-

логічного процесу. Як швидко настане це знеслення залежить, з одного боку, від сили і тривалості дії пошкоджуючого фактора, а з іншого — від стану АОС, її резервів.

Застосування антиоксидантів дозволяє попередити дестабілізуючу дію CCl₄ на печінку, має пряме відношення до молекулярних механізмів неспецифічної резистентності організму до стресових випадків та патологічних станів організму.

З метою оцінки ефективності антиокисної дії нами проведено порівняльне дослідження впливу відомого у фармакології гепатопротекторного препарату “Силібор” та “СВЕЛК”.

Введення щурам з ГГ силібору показало, що через 24 год порівняно з контролем не спостерігалось ніяких змін вмісту ДК. Максимальне збільшення цього показника у порівнянні з контролем було відмічено через 48 год і становило майже 10%, а через 72 год цей показник дещо зменшився.

Рівень МДА у сироватці крові щурів з ГГ, яким вводили силібор, мав іншу динаміку. Максимальне збільшення вимірюваного показника у порівнянні з контролем було відмічено через 24 год і трималося на цьому рівні до кінцевого терміну дослідження.

Отже, можна сказати, що застосування препарата антиоксидантної дії силібору при ГГ дозволяє значно зменшити інтенсивність процесів ПОЛ у печінці та підвищити захист органа в цілому.

Застосування СВЕЛК дозволяло стабілізувати рівень ДК та навіть зменшити інтенсивність процесів ПОЛ протягом усього терміну спостереження. При цьому максимальне зменшення вимірюваних показників спостерігалось через 72 год і становило 13%.

Введення СВЕЛК супроводжувалось також зменшенням рівня МДА у отруєних тварин.

Максимальне зменшення, порівнюючи з ГГ, було відмічено через 72 год — на 21,6%, а мінімальне через 24 год — на 20,7%, через 48 год зменшення становило 21,2%.

Слід визнати, що загальний механізм дії рослинних антиоксидантів був схожим і полягав у зменшенні вмісту ТБК-активних продуктів вже на першу добу після отруєння експериментальних тварин та залишався практично на тому ж рівні впродовж усього часу проведення експерименту (табл.).

Максимальне зменшення первинних продуктів окиснення (рівень ДК) спостерігалось через 72 год і становило 19,1%, а мінімальне зменшення через 24 год спостерігалось всього на 10,2% від показників, отриманих при використанні силібору. Вміст кінцевих ТБК-продуктів був найменший, порівнюючи з силібором, також через 72 год.

Нами також була досліджена робота ферментативної (глутатіон-залежної) АО системи, яка бере участь у нерадикальній деструкції перекисів ліпідів.

Основним компонентом цієї системи є відновлений глутатіон (GSH), який інгібує активні форми кисню, перешкоджає окиснювальній модифікації тіолових груп білків і бере участь у нейтралізації ксенобіотиків. Рівень відновленого глутатіону при дії різних стресових агентів, незалежно від їх природи, у більшості випадків знижується в перші години після дії [7], причому причиною цього може бути як безпосередня взаємодія глутатіону з вільними радикалами, так і його участь у реакціях, які каталізуються ферментами глутатіонового циклу. Зниження рівня GSH в цих органоїдах призводить до розвитку внутрішньоклітинного оксидативного стресу і порушення енергетичного статусу клітини [1, 7].

Рівень GSH у плазмі крові при ГГ збільшувався вже через 24 год майже у сім разів порівняно з контролем. Застосування препаратів АО дії дозволяло значно зменшити цей показник (при використанні СВЕЛК у 5 разів, сілібр — майже у 1,5 рази).

Порівняння ефективності АО дії препаратів свідчить, що СВЕЛК володіє більш вираженою відновлювальною та регулюючою дією на печінку,

ніж силібор, що дозволяє розглядати його як перспективний гепатопротекторний препарат.

Таким чином, отримані результати свідчать також про перспективність вивчення природних антиоксидантів як потенційних лікарських препаратів при різних патологічних станах організму людини.

ВИСНОВКИ

1. Введення АО препаратів тваринам з ГГ супроводжується гальмуванням перекисних процесів: зменшенням МДА-продукції та рівня ДК.

2. Гепатопротекторний ефект рослинних антиоксидантів спостерігався у першу добу після отруєння експериментальних тварин та залишався практично на тому ж рівні протягом усього часу проведення експерименту.

3. СВЕЛК володіє більш вираженою відновлювальною та регулюючою дією на печінку, ніж силібор, що дозволяє розглядати його як перспективний гепатопротектор. Експериментальні дані щодо біологічної дії СВЕЛК на антиокисну систему при отруєнні можуть бути взяті за основу для подальших розробок його експериментального і клінічного використання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. / Под общ. ред. Ю.А. Зозули Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии — К.: Наукова думка, 1997. — 420 с.
2. Бондаренко Л.Б., Бышовец Т.Ф., Сайфетдинова Г.А. // Биополимеры и клетка. — 1999. — Т. 15, №1. — С. 12-17.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М.: Наука, 1972. — 252 с.
4. Гонский Я.И., Корда М.М., Клищ И.М. // Патол. физiol. эксп. тер. — 1996. — №2. — С. 43-45.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. В 2-х т. Т. 2. — Мин: Беларусь, 2000. — 463 с.
6. Клищ И.М. // Укр. біохім. журн. — 1998. — Т. 70, №6. — С. 23-30.
7. Скакун Н.П., Писько Г.Т., Мосейчук И.П. Поражение печени четыреххлористым углеродом. — М.: НИИТЭХИМ, 1989. — 107 с.
8. Чиркін А.А. // Іммунол. інфектол. аллергол. — 2000. — №1. — С. 5-12.
9. Arosio B., Santambrogio D., Gagliano N. et al. // Pharmacol. Toxicol. — 1997. — Vol. 81, №4. — P. 164-168.
10. Ali B.N., Basher A.K. // Gen. Pharmacol. — 1996. — Vol. 27, №2. — P. 349-353.
11. Bentler E.D., Duron Q., Kelly B.M. // J. Laboratories Clin. Med. — 1963. — Vol. 61, №5. — P. 882.
12. Fantone J.C., Ward P.A. // Amer. J. Pathol. — 1992. — Vol. 107. — P. 397-418.
13. Ferguson L.R. // Mutat. Res. — 2001. — №475. — P. 89-111.
14. Fried R. // Biochemie. — 1975. — Vol. 57, №3. — P. 657-660.
15. Fridovich I. // J. Biol. Chem. — 1972. — Vol. 247, №10. — P. 3170-3175.
16. Grandmaison J., Benhanson N., Furlan V., Visser S. // Biol. Cell. — 1988. — Vol. 63, №1. — P. 89-100.
17. Nashikimi N., Appajik R., Jagi K. // Biochem. and Biophys. Res. Commununs. — 1972. — Vol. 46, №2. — P. 849-854.
18. Richard O.Recknagel, Eric A. Glende, Jr. James et al. // Pharmacol. Ther. — 1989. — Vol. 43. — P. 139-154.
19. Tomasi A., Albano E., Banni S. et al. // Biochem. J. — 1987. — Vol. 246. — P. 313-317.
20. Ungemach F.R. // Chem. Phys. Lipids. — 1987. — Vol. 45. — P. 171-205.

УДК 616.003.725:577.151.042-125.33

ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ И ДЕЙСТВИИ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ
Л.Н.Малощтан, Н.П.Суббота, П.П.Пашинский, А.Г.Кононенко
Проведено сравнительное экспериментальное исследование воздействия *in vivo* антиоксидантов растительного происхождения препараторов "СВЭЛК" и "Силибор" на биохимические показатели крови крыс при отравлении CCl_4 по данным активности процессов ПОЛ. Показано, что препарат "СВЭЛК" обладает более выраженным восстанавливающим и регулирующим действием на печень, чем силибор, что позволяет рассматривать его в качестве перспективного гепатопротектора.

UDC 616.003.725:577.151.042-125.33

THE LIPID PEROXIDATION PROCESSES IN THE EXPERIMENTAL ANIMALS IN POISONING AND THE ACTION OF THE NATURAL ANTIOXIDANTS
L.N.Maloshtan, N.P.Subbota, P.P.Pashinsky, A.G.Kononenko
The comparative experimental research of the effect of antioxidants of plant origin such as TAECL and silibor *in vivo* on the biochemical parameters of the rat's blood in poisoning by CCl_4 have been carried out according to the data of the LPO processes activity. TAECL drug has been shown to possess more marked restoring and regulating action on liver than silibor and it allows considering this drug as a promising hepatoprotector.