

ЗАСТОСУВАННЯ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО КОМБІНОВАНОГО ГЕПАТИТУ В ЩУРИВ

В експерименті на тваринах з модельованим комбінованим хронічним гепатитом встановлено антиоксидантні, мембранопротекторні та гепатопротекторні властивості густого екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної, що підтверджується зниженням в ураженому організмі вмісту ТБК-реагуючих продуктів, молекул середньої маси, активності АлАТ і проникності плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: чоловічі бруньки обліпихи крушиноподібної, густий екстракт, хронічний гепатит, антиоксидантні та гепатопротекторні властивості.

ВСТУП. Частота захворювань печінки в людей різного віку за останні десятиліття різко зросла, що є результатом впливу агресивних чинників як екзогенного, так і ендогенного походження, зокрема алкоголю, лікарських засобів і токсичних відходів від виготовлення продуктів сільського господарства.

У загальній структурі захворювань печінки провідна роль належить хронічним гепатитам різної етіології, внаслідок яких порушуються структура та функція гепатоцитів [1, 4, 5]. Для лікування таких захворювань використовують різні гепатопротектори та антиоксиданти як синтетичного, так і рослинного походження [2].

Актуальним є пошук нової лікарської рослинної сировини, БАР якої проявляли б позитивний вплив на організм в умовах хронічних гепатитів. Звідси стає доцільним впровадження в медичну практику нових лікарських засобів на її основі. Однією з перспективних рослин в цьому напрямку є обліпиха крушиноподібна, зокрема чоловічі бруньки *Hippophae rhamnoides L.* та густий екстракт на їх основі.

Метою даної роботи було дослідження антиоксидантних, мембранопротекторних та гепатопротекторних властивостей густого екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної на моделі хронічного комбінованого гепатиту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Інтоксикацію тварин викликали шляхом введення CCl_4 в дозі 0,2 мл/кг олійного розчину внутрішньочерев-

© В.П. Пида, 2011.

но два рази на тиждень протягом чотирьох тижнів із заміною питної води 5 % розчином етанолу [7].

Досліджували гомогенат печінки, кров та сироватку крові.

Усі експерименти на тваринах проводили згідно з Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках [3].

Тварин було поділено на такі групи: 1-ша – інтактні щури; 2-га – тварини, отруєні тетрахлорметаном та етанолом (контрольна група); 3-тя – уражені тварини, яким щоденно протягом 30 днів вводили густий екстракт з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної в дозі 100 мг/кг; 4-та – уражені тварини, яким щоденно протягом 7 днів після моделювання хронічного комбінованого гепатиту для корекції порушень вводили густий екстракт з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної в дозі 100 мг/кг, як препарат порівняння використовували силібор в дозі 50 мг/кг маси тварин. Для оцінки антиоксидантних, мембранопротекторних та гепатопротекторних властивостей досліджуваної лікарської форми у піддослідних тварин вивчали вміст ТБК-реагуючих продуктів [6], еритроцитарний індекс інтоксикації [1], активність АлАТ [8] та вміст молекул середньої маси (МСМ) [6].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати досліджень показали, що ураження організму тварин CCl_4 та етиловим спиртом призводить до суттєвого зростання вмісту ТБК-реагуючих продуктів, причому максимальним він був на 37-му добу після отруєння даними гепатотоксинами (табл. 1).

Таблиця 1 – Вміст ТБК-реагуючих продуктів у сироватці крові (мкмоль/л) та печінці уражених тварин (мкмоль/кг) після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної і силібору ($M \pm m$; $n=6$)

Група тварин	ТБК-реагуючі продукти			
	сироватка крові		печінка	
	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба
Інтактні	2,85±0,07		0,90±0,03	
Уражені	9,04±0,13*	10,06±0,29*	1,67±0,07*	2,67±0,12*
Ліковані густим екстрактом з обліпихи	7,00±0,10**	5,94±0,11**	1,23±0,05**	1,59±0,01**
Ліковані силібором	6,80±0,13**	5,99±0,12**	1,24±0,06**	1,61±0,01**

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – достовірні зміни між інтактними та ураженими тваринами ($p < 0,05$); ** – достовірні зміни між ураженими та лікованими тваринами ($p_1 < 0,05$).

У цей період вміст ТБК-реагуючих продуктів зріс у сироватці крові та печінці ($p < 0,05$) в 3,5 і 3 рази відповідно. На 30-ту добу дослідження даний показник збільшився у сироватці крові в 3,2, печінці ($p < 0,05$) – у 2 рази. Можливо, на 30-ту і 37-му доби дослідження максимально проявилась дія ксенобіотиків і активація процесів ПОЛ досягла свого найвищого значення.

Після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної вміст ТБК-реагуючих продуктів у сироватці крові знизився в 1,3 раза на 30-му добу експерименту і в 1,7 раза на 37-му добу дослідження відносно уражених ($p < 0,05$) тварин.

Введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної призвело до зниження продуктів ліпопероксидації в печінці

уражених тварин на 49 % на 30-ту добу експерименту та на 120 % на 37-му добу дослідження. Достовірні зміни відмічено у всі терміни дослідження даного показника ($p_1 < 0,05$). Застосування силібору позитивно вплинуло на досліджувані показники протягом всіх термінів експерименту.

Про гепатопротекторні властивості лікарської форми можна судити за активністю амінотрансфераз, які є органоспецифічними внутрішньоклітинними ферментами печінки. Підвищення їх у сироватці крові вказує на цитоліз та зміну проникності плазматичних мембран гепатоцитів.

Як видно з таблиці 2, введення тетрахлорметану та етилового спирту в організм тварин призводить до суттєвого зростання активності АлАТ в сироватці крові.

Таблиця 2 – Еритроцитарний індекс інтоксикації (%) та активність АлАТ у сироватці крові (мкмоль/л·год) і печінці (мкмоль/кг·год) уражених тварин після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної та силібору ($M \pm m$; $n=6$)

Група тварин	Показник					
	АлАТ				ЕІІ	
	сироватка крові		печінка		кров	
	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба
Інтактні	0,26±0,01		0,68±0,013		72,70±0,40	
Уражені	0,37±0,02*	0,43±0,02*	0,70±0,01	0,85±0,01*	80,60±0,61*	78,30±0,31*
Ліковані густим екстрактом з обліпихи	0,30±0,01**	0,27±0,01**	0,69±0,01	0,75±0,01**	74,70±0,30**	75,00±0,55**
Ліковані силібором	0,31±0,01**	0,29±0,01**	0,69±0,02	0,77±0,01**	75,50±0,25**	75,90±0,45**

На 30-ту добу експерименту активність АлАТ зросла в сироватці крові в 1,4 раза ($p < 0,05$), на 37-му добу дослідження в 1,7 раза ($p < 0,05$).

У печінці піддослідних щурів на 30-ту і 37-му доби активність АлАТ збільшувалась на 3 та 25 % відповідно порівняно з інтактними тваринами. Відмічене зростання активності даного ферменту в сироватці крові перевищувало його

активність у печінці. Це пов'язано, ймовірно, з токсичним впливом на печінку тетрахлорметану та етилового спирту, що призводить до виходу внутрішньоклітинних компонентів у кров.

Після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної активність АлАТ у сироватці крові уражених тварин знизилася

на 27 % на 30-ту добу експерименту та на 60 % на 37-му добу. Зміни були вірогідні в обидві доби дослідження ($p_1 < 0,05$). У печінці зниження активності АлАТ у лікованих тварин відносно уражених було достовірним на 37-му добу дослідження.

Аналогічна тенденція до зниження активності АлАТ спостерігалась після застосування силібору. Щоправда, густий екстракт з обліпихи крушиноподібної проявив більш виражений вплив на даний показник, ніж силібор.

Нами досліджено проникність еритроцитарних мембран у тварин після ураження тетрахлорметаном та етанолом. Результати вивчення ЕІІ наведено в таблиці 2. На 30-ту добу від початку дії токсинів відмічали достовірне збільшення ЕІІ, тобто підвищилась проникність еритроцитарної мембрани для різних речовин. Проникність еритроцитарної мембрани збільшувалась до кінця експерименту (на 30-ту

добу – на 11 %, а на 37-му – на 8 % перевищувала таку в здорових тварин).

Екстракт з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної викликав достовірні зміни проникності еритроцитарних мембран на 30-ту і 37-му доби експерименту. На 30-ту добу дослідження ЕІІ знизився на 8 %, а на 37-му добу – на 5 % від рівня уражених тварин.

Активация процесів вільнорадикального окиснення і токсичні продукти, які при цьому утворюються, спричиняють деструктивний вплив на мембрани клітин, чим поглиблюють інтоксикацію організму, про ступінь якої судять за вмістом у сироватці крові МСМ.

На 30-ту добу дослідження (табл. 3) в сироватці крові уражених щурів зростав вміст $СМ_1$ (переважали ланцюгові амінокислоти) та $СМ_2$ (переважали ароматичні амінокислоти) і становив 217 та 225 % відповідно від рівня інтактних тварин.

Таблиця 3 – Вміст МСМ у сироватці крові (ум. од./л) та печінці уражених тварин (ум. од./кг) після введення екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної і силібору ($M \pm m$; $n=6$)

Група тварин	Показник							
	$СМ_1$				$СМ_2$			
	сироватка крові		печінка		сироватка крові		печінка	
	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба	30-та доба	37-ма доба
Інтактні	0,240±0,012		2,470±0,013		0,240±0,010		2,520±0,011	
Уражені	0,520±0,011*	0,680±0,016*	2,530±0,012*	3,350±0,079*	0,540±0,012*	0,540±0,012*	2,590±0,015*	2,830±0,013*
Ліковані густим екстрактом з обліпихи	0,420±0,020**	0,540±0,012**	2,470±0,014**	2,800±0,071**	0,450±0,008**	0,480±0,013**	2,560±0,007	2,550±0,040**
Ліковані силібором	0,460±0,010**	0,560±0,011**	2,490±0,011**	3,050±0,061**	0,440±0,010**	0,490±0,012**	2,570±0,007	2,650±0,040**

На 37-му добу дослідження вміст даних продуктів у сироватці крові зростав ще більше (для $СМ_1$ – в 2,83 раза, для $СМ_2$ – в 2,25 раза) порівняно з інтактними тваринами.

Нами відмічено достовірне підвищення фракцій $СМ_1$ та $СМ_2$ у печінці піддослідних щурів протягом всього експерименту. Причому зростання $СМ_1$ та $СМ_2$ на 30-ту добу було незначним. На 37-му добу експерименту вміст $СМ_1$ в уражених тварин на 36 % перевищував його в інтактних, вміст $СМ_2$ виявився на 12 % більшим норми ($p_1 < 0,05$).

Вірогідні зміни щодо зниження вмісту фракцій $СМ_1$ та $СМ_2$ в сироватці крові лікованих тварин відносно уражених спостерігали на 30-ту (на 42 та 38 % відповідно) і 37-му доби дослідження (на 58 та 25 % відповідно) ($p_1 < 0,05$).

Встановлено, що в печінці уражених тварин введення обидвох коригувальних чин-

ників знижувало вміст МСМ протягом всього експерименту. При вивченні цього показника ефективнішим виявилось застосування густого екстракту з обліпихи.

ВИСНОВОК. На моделі комбінованого хронічного гепатиту нами встановлено антиоксидантні та гепатопротекторні властивості густого екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиноподібної, що проявляється пригніченням процесів перекисного окиснення ліпідів, стабілізацією проникності плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів і зниженням ендогенної інтоксикації організму. Це дозволяє використати екстракт як лікарську форму для лікування хронічних гепатитів, а також створити на його основі нові лікарські засоби з метою впровадження в клініку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Атаманюк О. Ю. Значення сорбційної здатності еритроцитів у диференціальній діагностиці гострого апендициту / О. Ю. Атаманюк // Лаб. діагностика. – 2008. – № 2 (44). – С. 32–34.
2. Губский Ю. И. Коррекция химического поражения печени / Ю. И. Губский. – К. : Здоров'я, 1989. – 168 с.
3. Етика лікаря та права людини : положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експерим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.
4. Ивашкин В. Т. Алкогольно-вирусные заболевания печени / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская. – М. : Литтерра, 2007. – 160 с.
5. Калинин А. В. Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение / под ред. А. В. Калинина, А. И. Хазанова. – М. : Миклош, 2007. – 602 с.
6. Методы биохимических исследований / под ред. М. И. Прохоровой. – Л. : Издательство Ленинград. ун-та, 1982. – 272 с.
7. Effects of dithiocarb and (+)cyanidanol-3 on the CCL₄ alcohol induced fibrosis of rat liver / C. P. Siegers, V. Voipel, G. Schel, M. Jounes // Connective Tissue Norn. and Fibrotis. Hum. Liver. Stuttgart. – New-York, 1982. – P. 244–245.
8. Reitman S., Frankel S. // Am. J. Clin. Pathol. – 1957. – 28. – P. 56.

В.П. Пыда

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПРИМЕНЕНИЕ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА С ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО КОМБИНИРОВАННОГО ГЕПАТИТА У КРЫС

Резюме

В эксперименте на животных с моделированным комбинированным хроническим гепатитом установлены антиоксидантные, мембранопротекторные и гепатопротекторные свойства густого экстракта с мужских почек облепихи крушиновидной, что подтверждается снижением в пораженном организме содержания ТБК-реагирующих продуктов, МСМ, активности АлАТ и проницаемости плазматических мембран гепатоцитов и эритроцитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мужские почки облепихи крушиновидной, густой экстракт, хронический гепатит, антиоксидантные и гепатопротекторные свойства.

V.P. Pyda

I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

USAGE OF THE THICK SEA-BUCKTHORN EXTRACT IN THE CONDITIONS OF CHRONIC COMBINED HEPATITIS IN RATS

Summary

In the experiment on rats with the designed combined chronic hepatitis there were set antioxydative, membranoprotective and hepatoprotective properties of the thick sea-buckthorn extract. It was confirmed by decreasing of aldehyde level, decreasing of middle weight molecules level, decreasing of ALAT activity and decreasing of permeability of hepatocyte and erythrocyte membranes.

KEY WORDS: the buds of sea buckthorn, thick extracts, chronic hepatitis, antioxydative and hepatoprotective properties.

Отримано 08.12.10

Адреса для листування: В.П. Пыда, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.