

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТУ

З ЛИСТЯ ХРІНУ ЗВИЧАЙНОГО В УМОВАХ ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО ГЕПАТИТУ

Ужгородський національний університет (м. Ужгород)

Робота виконувалась в розрізі планової наукової теми кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського» «Фармакогностичне вивчення деяких видів лікарських рослин», № держ. реєстрації 0105U004109.

Вступ. Найбільш частою причиною хімічних пошкоджень печінки є лікарські засоби, а серед них вирізняється парацетамол, який застосовується мільйонами людей [8,19]. Незважаючи на існуюче переконання лікарів та пересічних людей у безпечності такого популярного анальгетика/антипіретика, ураження печінки, які він може спричинити при використанні не лише у великих, але й у середньотерапевтичних дозах, нерідко стають фатальними [17].

Відомо, що гостре ураження печінки парацетамолом супроводжується активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів, зменшенням резервів антиоксидантної системи, наростанням активності трансаміназ та показників синдрому ендогенної інтоксикації [1,18].

Патогенетично обґрунтованим у фармакотерапії токсичних гепатитів є використання гепатозахисних лікарських засобів, які б виявляли антиоксидантну дію, коригували порушення метаболічних процесів та підвищували антиоксидантні властивості печінки [4,5].

Останнім часом велика увага приділяється пошуку та розробці високоефективних гепатопротекторів серед лікарської рослинної сировини. Для фітопрепаратів, важливими особливостями є широкий діапазон терапевтичних доз, здатність активно впливати на уражені мембранно-клітинні структури та метаболічні процеси, висока біодоступність, м'яка дія на організм та фізіологічна корекція порушених функцій, низькі токсичність та алергенність, і у багатьох випадках, – ціна [2,14,16].

Враховуючи вищезазначене, **метою даної роботи** було дослідити антиоксидантні властивості густого екстракту з надземної частини хрину звичайного в умовах парацетамолового ушкодження печінки.

Надземну частину хрину звичайного було вибрано як перспективну сировину, що містить поліфенольні сполуки, вітаміни та інші біологічно активні речовини, які забезпечують антиоксидантну дію [12].

Об'єкт і методи дослідження. Досліди проведени на білих безпородних щурах-самцях масою тіла 150 – 170 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію. Тварини були розділені на 4 групи: 1

– контрольні тварини; 2-а – тварини, отруєні парацетамолом в дозі 1250 мг/кг маси тіла (щоденно протягом двох днів, шлях введення – інтрагастрально) [3]; 3-я група – щури, яким через 2 год після ураження парацетамолом щоденно протягом двох днів вводили 10% екстракт з надземної частини хрину звичайного в дозі 150 мг/кг маси тіла.

Всі експерименти виконували згідно із загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна 2001) та Закону України «Про захист тварин від жорстокої поведінки» (2006) [7].

На третій та десятій день від початку ураження тварин піддавали евтаназії з використанням тіопенталу натрію.

Для досліджень обрали сироватку крові та печінку тварин, де визначали вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [11], продуктів окиснювальної модифікації білків (ОМБ) 2,4-динітрофенілгідразонів (2,4-ДНФГ) за методом [6], активність каталази (КТ) в реакції з молібдатом амонію [9], вміст церулоплазміну – за методом [13]. Активність СОД визначали за відомим методом у модифікації [15].

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за допомогою методу «Statistika 6,0» з використанням критерію Стюдента [10].

Результати досліджень та їх обговорення. З наведених у таблиці 1 результатів видно, що після ураження щурів парацетамолом збільшується вміст ТБК-АП у сироватці крові протягом всього періоду дослідження.

Використаний нами екстракт з надземної частини хрину викликав вірогідне зниження даного показника в сироватці крові уже на 3-ій день від початку експерименту і становив 144% в порівнянні з 238% в уражених щурах, хоча рівня контролю в цей період ще не досяг. Очевидно, це пов'язано з недовготривалим введенням коригуючого чинника і невеликим терміном дослідження розвитку медикаментозного гепатиту.

На 10-ий день з моменту потрапляння парацетамолу в організм тварин та введення їм екстракту з надземної частини хрину вміст ТБК-АП знизився на 100% і на 19% перевищував такий у контрольних тварин.

Активнація процесів вільнорадикального окиснення призводить до дії АФК та токсичних продуктів метаболізму на білкові компоненти мембран та інші

Таблиця 1

Вміст ТБК-АП продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів у сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрину ($M \pm m$; $n = 6$)

Групи тварин	ТБК-АП, мкмоль/л		2,4-ДНФГ (370 нм), ммоль/г білка		2,4-ДНФГ (430 нм), ммоль/г білка	
	Терміни дослідження, доби					
	3-я	10-а	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	2,60 ± 0,05		0,20 ± 0,03		0,24 ± 0,01	
Уражені парацетамолом	6,20 ± 0,07*	5,70 ± 0,04*	0,30 ± 0,02*	0,27 ± 0,015	0,29 ± 0,02*	0,27 ± 0,011
Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	3,75 ± 0,06**	3,10 ± 0,03**	0,25 ± 0,02	0,22 ± 0,011	0,25 ± 0,03	0,24 ± 0,012

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p < 0,05$); ** – вірогідні зміни між ураженими та лікованими тваринами ($p < 0,05$).

білки організму, що викликає їх деградацію та зміни у структурі.

Дослідження показників ОМБ показало, що у сироватці крові щурів після ураження їх парацетамолом проходить збільшення вмісту 2,4-ДНФГ нейтрального (370 нм) та основного характеру (430 нм) у всі терміни дослідження. Застосування екстракту з листя хрину призвело до зниження вмісту 2,4-ДНФГ нейтрального та основного характеру в сироватці крові уражених парацетамолом тварин, хоча зміни не виявились вірогідними.

Протягом 10 днів після ураження у печінці тварин збільшувався вміст ТБК-АП, причому як на 3-ю, так і на 10-у доби дослідження він був практично на одному рівні. Після введення тваринам екстракту з надземної частини хрину спостерігалось

Таблиця 2

Вміст ТБК-АП продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів у печінці щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрину ($M \pm m$; $n = 6$)

Групи тварин	ТБК-АП, мкмоль/кг		2,4-ДНФГ (370 нм), ммоль/г білка		2,4-ДНФГ (430 нм), ммоль/г білка	
	Терміни дослідження, доби					
	3-я	10-а	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	0,75 ± 0,03		0,46 ± 0,02		0,60 ± 0,025	
Уражені парацетамолом	1,90 ± 0,04*	1,80 ± 0,07*	0,60 ± 0,03*	0,56 ± 0,04*	0,67 ± 0,015	0,65 ± 0,03
Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	1,50 ± 0,03**	1,50 ± 0,05**	0,52 ± 0,03	0,46 ± 0,02**	0,65 ± 0,04	0,62 ± 0,03

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p < 0,05$); ** – вірогідні зміни між ураженими та лікованими тваринами ($p < 0,05$).

достовірне його зниження уже на 3-ю добу від початку дослідження. Зниження виявилось вірогідним ($p < 0,05$), проте вміст ТБК-АП ще у 2 рази був вище контролю (табл. 2).

Нами відмічено збільшення вмісту 2,4-ДНФГ у печінці після введення до організму тварин парацетамолу. Це збільшення зареєстровано протягом 10 днів спостереження. Введення в уражений парацетамолом організм екстракту з надземної частини хрину призвело до вірогідного зниження вмісту продуктів ОМБ у печінці уражених тварин, до кінця експерименту він виявився на рівні інтактних щурів.

Екстракт з надземної частини хрину проявив позитивний вплив на показники антиоксидантної системи (рис.). При його введенні в уражений організм ми спостерігали підвищення активності каталази на 18% в сироватці крові щурів уже на 3-ю добу дослідження.

На 10-у добу експерименту введення екстракту з хрину призвело до підвищення активності каталази на 19% у порівнянні з ураженими тваринами і всього на 7% відрізнявся цей показник від рівня контролю.

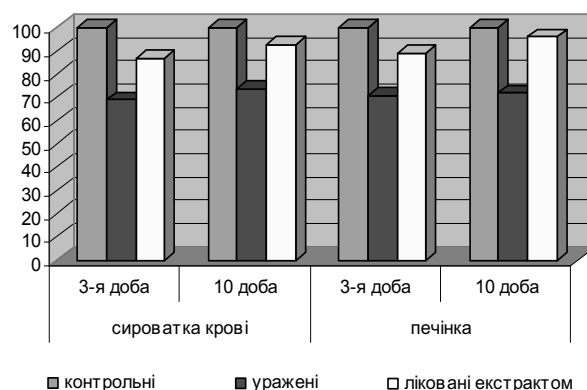


Рис. Активність каталази в сироватці крові та печінці щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрину звичайного, % .

Після застосування екстракту активність каталази у печінці уражених тварин знаходилась майже на рівні контролю в кінці дослідження.

Інтоксикація тварин парацетамолом призвела до значного підвищення в сироватці крові вмісту церулоплазміну (табл. 3) – ферменту, який нейтралізує супероксидні та гідроксильні радикали (O_2^- та OH^\cdot), тобто проявляє дію аналогічну внутрішньоклітинній дисмутазі. Застосування екстракту з надземної частини хрину наблизило вміст церулоплазміну до рівня контрольних тварин вже на початку експерименту. На 10-у добу дослідження вміст ЦП після застосування екстракту був на 47% нижчим, ніж в уражених тварин.

При дослідженні СОД відмічалось збільшення її активності у сироватці крові тварин, що отримували екстракт, у порівнянні з ураженими в 1,2 рази на 3-ю добу від початку експерименту. На 10-у добу дослідження застосування екстракту також виявилось ефективним для даного показника.

Таблиця 3
Активність СОД (мкмоль/л) та вміст ЦП (мг/л) у сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрину (M ± m; n = 6)

Групи тварин	СОД		ЦП	
	Терміни дослідження, доби		Терміни дослідження, доби	
	3-я	10-та	3-я	10-та
Контрольні	52,5 ± 1,2		10,4 ± 0,2	
Уражені парацетамолом	36,4 ± 1,3 *	37,6 ± 1,4 *	15,8 ± 0,3*	17,2 ± 0,4*
Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	42,5 ± 1,7**	48,4 ± 1,5	12,0 ± 0,5**	12,3 ± 0,7**

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами (p < 0,05); ** – вірогідні зміни між ураженими та лікованими тваринами (p < 0,05).

Висновок. Встановлено виражену антиоксидантну активність екстракту з надземної частини хрину звичайного, яка зумовлена наявністю в даному

фармакологічному препараті фенольних сполук, вітамінів та органічних кислот [12]. Застосування екстракту з листя хрину в експерименті на моделі парацетамолового гепатиту проявило позитивний вплив на окиснювальні процеси, що підтверджується зменшенням вмісту ТБК-активних продуктів та продуктів окиснювальної модифікації білків. Екстракт з листя хрину проявив ефективний вплив на показники антиоксидантної системи, підвищуючи їх, що вказує на відновлення захисно-компенсаторних сил організму за умов медикаментозного ураження печінки.

Перспективи подальших досліджень. Враховуючи отримані результати з дослідження антиоксидантних властивостей екстракту з надземної частини хрину звичайного, необхідним в подальшому вивчити його гепатозахисні властивості на різних моделях токсичного ураження печінки з метою подальшого проведення клінічних досліджень даного фармакологічного препарату та перспективою запровадження для лікування захворювань, що супроводжуються активацією окиснювальних процесів.

Література

- Гріднев О. Є. Перекисне окиснення ліпідів і печінка / О. Є. Гріднев // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – Т. 25, № 5. – С. 80-83.
- Громовая В. Ф. Антиоксидантные свойства лекарственных растений / В. Ф. Громовая, Г. С. Шаповал, И. Е. Миронюк, Н. В. Нестюк // Химико-фармацевтический журнал. – 2008. – Т. 42, № 1. – С. 26-29.
- Доклинические исследования лекарственных средств : методические рекомендации / Под. ред. А. В. Стефанова. – К.: Авиценна, 2002. – 568 с.
- Доркина Е. Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений / Е. Г. Доркина // Экспериментальная клиническая фармакология. – 2004. – Т. 67, № 6. – С. 41-44.
- Дрогвоз С. М. Современные подходы к терапии заболеваний гепатобилиарной системы / С. М. Дрогвоз, Е. Г. Щекина, А. Ушакова // Провизор. – 2008. – № 8. – С. 19-22.
- Дубініна О. Ю. Окислювальний стрес і окислювальна модифікація білків / О. Ю. Дубініна // Медична хімія. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 5-12.
- Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте (методические рекомендации) ; под редакцией проф., академика РАМН П. И. Сидорова. – Архангельск. – 2002. – 84 с.
- Кинзирская Ю. А. Гепатотоксическое действие лекарственных препаратов некоторых фармакологических групп / Ю. А. Кинзирская, Т. А. Богущ, Н. В. Остапчук // Клиническая медицина. – 2003. – Т. 81, № 10. – С. 11-16.
- Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарева // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
- Лапач С. Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
- Лушак В. І. Показники оксидативного стресу. 1. Тіобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків / В. І. Лушак, Т. В. Багнокова, О. В. Лушак // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 76, № 3. – С. 136-141.
- Мельник Л. В. Вивчення хімічного складу надземної частини хрону звичайного / Л. В. Мельник, Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра [та ін.] // Фарм. часопис. – 2009. – № 1. – С. 10 – 12.
- Мжельская Т. И. Биологические функции церулоплазмينا и их дефицит при мутации генов, регулирующих обмен меди и железа / Т. И. Мжельская // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – № 8. – С. 124-133.
- Сур С. Проблеми та перспективи розробки і впровадження сучасних лікарських засобів рослинного походження / С. Сур, О. Гриценко // Ліки України. – 2002. – № 4. – С. 47-49.
- Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.
- Чернов Ю. Н. Полифенольные соединения структура, свойства и прикладные аспекты применения / Ю. Н. Чернов, А. В. Бузлама, Ю. М. Дронова // Фарматека. – 2004. – № 8. – С. 43-48.
- Cranswick N. Paracetamol efficacy and children – the first 40 years / N. Cranswick., D. Cghlan // Am. J. Ther. – 2000. – Vol. 7, № 2. – P. 135-141
- James L. P. Acetaminophen toxicity in mice lacking NADPH oxidase activity: role of peroxynitrite formation and mitochondrial oxidant stress / L. P. James, S. S. McCullough, T. R. Knight [et al.] // Free Radic. Res. – 2003. – Vol. 37, № 12. – P. 1289-1297.
- Prescott L. F. Paracetamol: past, present and future / L. F. Prescott // Am. J. Ther. – 2000. – Vol. 7, № 2. – P. 143-147.

УДК 616-096+615.75+616.36:615.25+66.061.54

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ХРІНУ ЗВИЧАЙНОГО В УМОВАХ ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО ГЕПАТИТУ

Вашкеба-Бітлер Е. М.

Резюме. В експерименті на моделі парацетамолового ураження печінки щурів встановлено антиоксидантні властивості густого екстракту з листя хрину звичайного. Доведено, що застосування екстракту знижує у сироватці крові та печінці уражених тварин вміст ТБК-активних продуктів, 2,4-динітрофенілгідрозонів та сприяє відновленню активності антиоксидантної системи, на що вказує підвищення активності каталази, супероксиддисмутази та зниження вмісту церулоплазміну протягом 10 діб розвитку парацетамолового гепатиту.

Ключові слова: парацетамоловий гепатит, процеси ліпопероксидації, окиснювальна модифікація білків, антиоксидантна система.

УДК 616-096+615.75+616.36:615.25+66.061.54

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ХРЕНА ОБЫКНОВЕННОГО В УСЛОВИЯХ ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО ГЕПАТИТА

Вашкеба-Битлер Э. М.

Резюме. В эксперименте на модели парацетамолового поражения печени крыс установлены антиоксидантные свойства густого экстракта с листьев хрена обыкновенного. Доведено, что использование экстракта снижает в сыворотке крови и печени пораженных животных содержание ТБК-активных продуктов, 2,4-динитрофенилгидразонов и способствует восстановлению активности антиоксидантной системы, на что указывает повышение активности каталазы, супероксиддисмутази и снижение содержания церулоплазмينا на протяжении 10 суток развития парацетамолового гепатита.

Ключевые слова: парацетамоловый гепатит, процессы липопероксидации, окислительная модификация белков, антиоксидантная система

UDC 616-096+615.75+616.36:615.25+66.061.54

Research on Antioxidative Properties of Horseradish Leaves Extract under Conditions of Paracetamol Hepatitis

Vashkeba-Bitler E. M.

Abstract. Introduction. The most common cause of chemical liver damage is the use of medications. Among them there is paracetamol, which is taken by millions of people. It is known that acute liver damage caused by paracetamol is accompanied by the activation of lipid peroxidation processes, a decrease in antioxidant system reserves, an increase in transaminase activity, as well as an increase in endogenous intoxication syndrome index. The use of hepatoprotective drugs with the antioxidant effect in the drug treatment of toxic hepatitis is pathogenetically justified. Much attention has been recently paid to the search and development of highly efficient hepatoprotectors amongst medicinal plants.

The purpose of this study was to investigate the antioxidant properties of a thick extract of the aerial parts of horseradish under conditions of paracetamol liver damage.

Materials and methods. The experiments were performed on white outbred male rats weighing 150-170g. One group of animals was poisoned with paracetamol in a dose of 1250 mg / kg of body weight (daily for two days, route of administration: intragastric). The other group was administered 10% extract of the aerial parts of horseradish in a dose of 150 mg / kg of body weight 2 hours after the paracetamol poisoning for two days.

On the third and tenth day from the beginning of involvement the animals were subjected to euthanasia using thio-pental sodium.

Results and discussion. It was defined that after the paracetamol poisoning of the rats the content of TBARS in blood serum increases throughout the research period. The extract of the aerial parts of horseradish caused a possible decrease of this index in serum on the 3rd day of the experiment. Examination of indices of protein oxidative modification demonstrated that there is an increase of the content of TBARS in blood serum of rats after the paracetamol poisoning throughout the research periods. The use of the extract of the leaves of horseradish caused a decrease in the content of 2,4-DNPH in the blood serum of the animals affected with paracetamol, although the changes didn't appeared to be significant. Within 10 days after the lesion the content of TBARS and 2,4-DNPH in the liver of animals had been increasing. The administration of the extract of the horseradish aerial parts to the affected with paracetamol organism caused the definite decrease in the content of products of lipid peroxidation and oxidative modification of proteins in the liver of affected animals; by the end of the experiment these indices were at the level of the indices of intact rats.

The extract of the horseradish aerial parts has demonstrated positive effects on the antioxidant system indices. While administrating it to the affected organism, we observed the increased activity of catalase and superoxide dismutase, as well as reducing of the amount of ceruloplasmin in blood serum. The activity of catalase in the liver after the use of the analyzed extract by the end of the experiment appeared to be almost at the level of control animals.

A strong antioxidant activity of the extract of the horseradish aerial parts was established. The use of this pharmaceutical drug in the experiment under conditions of paracetamol hepatitis has demonstrated positive effects on oxidative processes, as evidenced by the decrease in the content TBARS of and products of oxidative modification of proteins in the blood serum and the liver of rats. The extract has influenced efficiently the antioxidant system indices by raising them, which indicates the recovery of compensatory and protective functions of the organism under conditions of liver damage caused by medications.

Keywords: paracetamol hepatitis, lipid peroxidation processes, protein oxidative modification, antioxidant system.

Рецензент – проф. Дев'яткіна Т. О.

Стаття надійшла 17. 09. 2014 р.