

© Поготова Г. А.

УДК 615. 2-724+615. 244+615. 244

**Поготова Г. А.**

## **ВПЛИВ МЕТАБОЛІТОТРОПНИХ ЗАСОБІВ СИНТЕТИЧНОГО І ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ НА ОСМОТИЧНУ РЕЗИСТЕНТНІСТЬ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ В КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ДИХЛОРЕТАНОВОМУ ГЕПАТИТІ**

**Національний медичний університет імені О. О. Богомольця (м. Київ)**

Дана робота є фрагментом НДР «Експериментальне обґрунтування комбінованого застосування кардіотропних препаратів», № держ. реєстрації 0111U009417.

**Вступ.** За даними літератури та власних досліджень встановлено, що такі препарати як селеназа, епадол-нео, адеметіонін, детоксил (базовий засіб – екстракт артишоку), лівонорм (базовий засіб – екстракт розторопші плямистої) володіють антиоксидантними властивостями [3, 4, 6, 8, 9, 25, 30, 31, 34-38]. Ця дія проявлялася стосовно показників прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в печінці і міокарді, а у селенази та адеметіоніну також в тканинах головного мозку [13, 14]. Результати проведених досліджень опосередковано вказують на наявність у досліджуваних речовин мембранопротекторної дії, тому слід оцінити їх вплив на структурну цілісність клітин. Структура і проникність біологічних мембран взаємопов'язана з метаболізмом і функцією життєво важливих органів [21].

Стан мембран клітин висвітлює регуляцію гомеостазу. Інтегральним показником мембранних процесів є осмотична резистентність мембран еритроцитів (ОРМЕ), а зміни їх проникності узгоджуються зі змінами в цілому в організмі [5, 7, 10, 15].

В зв'язку з вищезазначеним, **метою роботи** стало дослідження впливу епадолу-нео, селенази, адеметіоніну, детоксилу і лівонорму на осмотичну резистентність мембран еритроцитів периферійної крові щурів при дихлоретановому гепатиті.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експериментальні дослідження проведені на 49 нелінійних білих щурах-самцях, масою 180-200 г, отриманих з ПП «Біомодельсервіс», м. Київ. Утримання тварин та спостереження за ними проводили згідно Методичних рекомендацій ДЕЦ МОЗ України [19], та відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Моделювання токсичного гепатиту проводили із застосуванням дихлоретану, який вводили щурам внутрішньокровою за допомогою металевого зонду 1 раз на добу в дозі 500 мг/кг протягом 4 днів в суміші з оливковою олією (1:1). В експерименті визначено, що

дихлоретановий гепатит супроводжується розвитком окислювального стресу [11]. На 5 день експерименту введення дихлоретану припинили і протягом 10 днів тваринам вводили внутрішньокровою селеназу в дозі 50 мг/кг, а інші препарати – адеметіонін, епадол-нео, лівонорм, детоксил в дозі 100 мг/кг. Препарати, що погано розчинні в воді, вводили у вигляді суспензії, стабілізованої Твіном-80. Інтактна і контрольна група отримували внутрішньокровою в аналогічному обсязі воду з Твіном-80. Дослідження по визначенню впливу препаратів на осмотичну резистентність еритроцитів проводили на 20-й день експерименту, коли тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) і швидко забирали кров. Ефективність лікування оцінювали за змінами показників ОРМЕ. Еритроцити є найбільш чутливими індикаторами функціонального стану організму та одними з перших змінюють свої фізико-хімічні характеристики під впливом різних несприятливих чинників. Клітинна мембрана еритроцитів здатна відображати особливості функціонального стану мембран інших тканин, особливо тих, що поєднані ембріологічним походженням. Тому дані про зміни проникності мембран еритроцитів можна розглядати як ретроспективний показник загальної клітинної проникності та стану організму в цілому. Відсутність в еритроцитах міжклітинних з'єднань, внутрішньоклітинних компонентів полегшує інтерпретацію отриманих результатів [12]. Проникність клітинних мембран еритроцитів можливо проаналізувати за допомогою інтегрального показника осмотичної резистентності еритроцитів. Цей параметр широко використовується для оцінки функціонального стану клітини і є інформативним тестом для виявлення навіть незначних початкових порушень в організмі [20]. ОРМЕ визначали за рівнем гемолізу еритроцитів у серії забуферених гіпотонічних розчинів натрію хлориду концентрацією від 0,5% до 0,1% при рН 7,4 [2]. Найменш стійкі клітини лізуються у 0,5-0,45% розчинах NaCl, а найстійкіші у 0,35%-0,1% розчинах. Найбільш показовим є 0,4% розчин NaCl, в якому гемолізуються стійкі форми еритроцитів. Ступінь гемолізу досліджували в надосадовій рідині після центрифугування на фотоелектрокалориметрі ФЕК-2 при зеленому світлофільтрі (540 нм) виражали в відсотках. Ця методика досить точна, об'єктивна, легка у виконанні, а також дозволяє судити не тільки про мінімальну та максимальну резистентність клітин, а й про

Таблиця

**Вплив епадолу-нео, селенази, адеметіоніну, детоксилу, лівонорму на осмотичну резистентність еритроцитів у щурів з дихлоретановим гепатитом (n = 7)**

Групи тварин	Концентрація розчину NaCl (%)				
	0,5	0,45	0,4	0,35	0,1
	Відсоток гемолізу еритроцитів (%)				
Нормотензивні щури	0	0	27,7±2,8 <sup>x</sup>	73,2±3,8 <sup>x</sup>	100±0
Дихлоретановий гепатит	13,8±3,4 <sup>x</sup>	28,8±2,4 <sup>x</sup>	81,2±5,8 <sup>x</sup>	90,2±4,3 <sup>x</sup>	100±0
Дихлоретановий гепатит+епадол-нео	1,2±0,8 <sup>xx</sup>	12,2±1,7 <sup>xx</sup>	55,7±2,8 <sup>xx</sup>	78,8±6,6 <sup>xx</sup>	100±0
Дихлоретановий гепатит+селеназа	0	0	36,2±3,7 <sup>xx</sup>	70,4±4,2 <sup>xx</sup>	100±0
Дихлоретановий гепатит+адеметіонін	0	0	38,2±5,6 <sup>xx</sup>	71,4±4,1 <sup>xx</sup>	100±0
Дихлоретановий гепатит+детоксил	2,1±1,4 <sup>xx</sup>	14,5±2,6 <sup>xx</sup>	58,8±3,9 <sup>xx</sup>	81,1±4,8 <sup>xx</sup>	100±0
Дихлоретановий гепатит+лівонорм	2,4±1,3 <sup>xx</sup>	15,8±2,7 <sup>xx</sup>	60,1±3,7 <sup>xx</sup>	82,3±6,1 <sup>xx</sup>	100±0

**Примітка:** \* P ≤ 0,05 порівняно з інтактними тваринами; \*\* P ≤ 0,05 порівняно з групою контролю.

динаміку гемолізу. Аналіз нормальності розподілу оцінювали за критеріями Колмогорова-Смирнова (D) і Lilliefors, а також Shapiro-Wilk (W), якому віддавали перевагу. Дані представлені у вигляді середнього і стандартної помилки репрезентативності вибіркового середнього значення. Результати дослідження оброблені з застосуванням статистичного пакета ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Для всієї видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при p < 0,05.

**Результати досліджень та їх обговорення.**

Відомо, що токсичний гепатит може викликати зміни функціонального стану мембран, їх проникності, текучості та здатності до деформації [22, 23]. Встановлено, що у щурів з дихлоретановим гепатитом проявляються зміни з боку OPE. Гемоліз еритроцитів спостерігається в 0,5% та 0,45% розчинах NaCl (13,8±3,4% та 26,8±2,4%) відповідно. Еритроцити здорових щурів за даних умов не лізуються. Ще більший гемоліз еритроцитів спостерігається у 0,4% розчині NaCl (81,2±5,8% проти 27,7±2,8% у контролі), а також у 0,35% розчині (92,2±4,3% проти 73,2±3,8% у контролі). Тобто у щурів при дихлоретановому гепатиті підвищення частки гемолізованих еритроцитів відмічається у всіх досліджуваних концентраціях NaCl та виходить далеко за межі нормальних значень (**табл.**).

Це може свідчити про суттєві порушення нормального функціонування клітин мембрани, в першу чергу її проникності та здатності до розтягування. Основою будь якої клітинної мембрани є подвійний шар ліпідів. Від його цілісності залежать бар'єрні та механічні властивості клітинних мембран, що обумовлює їх стабільність та проникність. Форма та здатність еритроцитів до деформації, обумовлені фосfolіпідами, гліколіпідами, глікопротеїдами, холестерином, що входять до складу мембрани та білками цитоскелету [1, 29].

Взаємодія білків цитоскелету з ліпідним шаром мембрани забезпечує стабільність структури еритроцитів і надає йому властивості пружного твердого тіла [1, 33].

При потраплянні еритроцитів у гіпотонічне середовище у клітину в першу чергу проникає вода (коефіцієнт проникності мембрани для води приблизно на 10 порядків вище, ніж для електролітів), щоб урівняти осмотичний тиск в середині та зовні клітини. Спочатку при набуханні еритроцита площа мембрани не змінюється, збільшується тільки об'єм клітини. При досягненні сферичної форми подальше збільшення об'єму без збільшення площі поверхні цитоплазматичної мембрани стає неможливим – мембрана ізотропно

розтягується. При певному пороговому рівні натягу енергетично вигідним стає виникнення в мембрані гідрофільних пор. Ці пори принципово відрізняються від білкових каналів своєю будовою та винятковою динамічністю. Гемолітичні пори на відміну від каналів не мають вибіркової, цей параметр залежить лише від розміру пори. Фізико-математичні розрахунки виявили, що на ліпідну пору діє одночасно дві антагоністичні сили: крайовий лінійний натяг параметра пори (сприяє росту пори), поверхневий натяг біслою фосfolіпідів (викає стиснення пори) [1]. Крізь гемолітичну пору, що утворюється ізотропно-розтягнутій мембрані еритроциту, відбувається викид частини внутрішньоклітинного вмісту (спочатку іони калію, пізніше гемоглобін) з клітини назовні під дією залишкового перепаду гідростатичного тиску. При цьому тиск всередині клітини швидко падає до критичного значення і відносний об'єм клітин зменшується. Якщо радіус кривизни пори менший від критичного радіуса – пора закривається, оскільки, її існування стає термодинамічно не вигідним. Якщо ж радіус кривизни пори більший критичного радіуса – буде відбуватись розкриття мембрани в результаті необмеженого росту [27].

При вивченні стану еритроцитарних мембран при дихлоретановому гепатиті встановлені суттєві порушення їх функцій, насамперед проникності та здатності до розтягнення. Про це свідчить значне підвищення частки візованих еритроцитів у всіх досліджуваних концентраціях гіпотонічного розчину NaCl, включаючи стійкі і найстійкіші еритроцити, що може бути пов'язано з утворенням ліпідних радикалів під впливом активних форм кисню.

При застосуванні епадолу-нео OPEM підвищується у всіх досліджуваних розчинах NaCl. В порівнянні з тваринами без застосування препарату відсоток гемолізу еритроцитів у 0,4% розчині зменшується з 81,2±5,8% до 55,7±2,8%, хоча цей показник не досягає контрольних величин нормотензивних щурів.

У 35% розчині гемоліз еритроцитів також вірогідно не відрізнявся від гемолізу у нормотензивних щурів. Селеназа призводить до суттєвого покращення ОРЕ. Так, у 0,5% і 0,45% розчинах NaCl гемоліз еритроцитів не спостерігається, що відповідає величинам у контрольних щурів без дихлоретанового гепатиту. У 0,4% розчин NaCl рівень гемолізу еритроцитів зменшується з  $81,2 \pm 5,8\%$  до  $36,2 \pm 3,7\%$  в порівнянні з щурами з дихлоретановим гепатитом, а у 0,35% розчині вірогідно не відрізняється від нормотензивних тварин ( $70,4 \pm 4,2\%$  проти  $73,2 \pm 3,8\%$ ). Адеметіонін має подібну спрямованість дії. У 0,5% і 0,45% розчинах NaCl гемоліз еритроцитів не спостерігається. У 0,4% розчині рівень гемолізу еритроцитів, як і у випадку з селеназою, зменшується з  $81,2 \pm 5,8\%$  до  $38,2 \pm 5,5\%$ . Менша ефективність показників гемолізу еритроцитів спостерігалася у детоксилу та лівоноорму. Препарати не так суттєво, як при застосуванні селенази, адеметіоніну, навіть епадолу-нео, також змешують гемоліз еритроцитів. Так, в концентрації 0,4% детоксил зменшує гемоліз еритроцитів з  $81,2 \pm 5,8\%$  до  $58,8 \pm 3,9\%$ , а лівоноорм з  $81,2 \pm 5,8\%$  до  $60,1 \pm 3,7\%$ . Отже, всі препарати, які вивчалися, а саме епадол-нео, селеназа, адеметіонін, детоксил, лівоноорм здатні зменшувати проникність мембран еритроцитів, підвищуючи їх осмотичну резистентність. Більш виражені мембранопротекторні властивості встановлені у селенази і адеметіоніну, що узгоджується з попередніми даними щодо більшого впливу селенази і адеметіоніну на показники ліпідної пероксидації [17, 18, 22, 26, 28, 32]. Епадол-нео, детоксил, лівоноорм нормалізують проникність мембран еритроцитів, проте цей параметр не досягає нормальних величин, в той час як селеназа та адеметіонін володіють вираженими мембранопротекторними властивостями. Більш виражений вплив селенази та адеметіоніну пов'язаний з їх більшими антиоксидантними властивостями [13, 14], здатністю зменшувати рівень маркерів цитолізу, це, мабуть, сприяє їх здатності блокувати надмірне надходження кальцію до клітини та попереджати фосфорилювання білків цитоскелету еритроцитів. Не можна виключати прямого впливу цих засобів на фізико-хімічні властивості мембрани, зміну текучості завдяки

проникненню шляхом пасивної дифузії. Можливо, що препарати можуть безпосередньо стимулювати репарації мембранних ліпідних пор, що виникають на ранніх стадіях гіпотонічного гемолізу [36]. Мембранопротекторні властивості селенази та адеметіоніну пояснюються їх антирадикальними ефектами, можливою інактивацією неферментних каталізаторів (двовалентних іонів заліза), гальмівним впливом на ксантиноксидази, здатністю захищати ферментну ланку антиоксидантної системи (каталазу, глутатіонпероксидазу). Всі препарати володіють певною гідрофобністю, що сприяє безпосередньому впливу на структурно-динамічний стан клітинних мембран, дає змогу селеназі і адеметіоніну функціонувати як сканджери активних форм кисню та переривати реакції вільнорадикального окислення безпосередньо в мембранах [24].

Наявність різниці при застосуванні препаратів на інтенсивність лізису еритроцитів в гіпотонічних умовах, можливо, пояснюється тим, що багато сполук різної хімічної будови можуть проявляти протекторний вплив при гіпотонічному гемолізі еритроцитів шляхом неспецифічної взаємодії з ліпідними та білковими компонентами гемолітичних пор [36].

### Висновки.

1. У щурів з дихлоретановим гепатитом гемоліз еритроцитів значно зростає ступінь гемолізу стійких еритроцитів у 0,4% розчині NaCl та найстійкіших у 0,35% розчині.

2. Епадол-нео, в меншому ступеню детоксил і лівоноорм підвищують ОРМЕ щурів з токсичним гепатитом в усіх досліджуваних розчинах NaCl, проте цей показник не досягає величин, характерних для нормотензивних щурів.

3. Селеназа та адеметіонін у щурів з дихлоретановим гепатитом повністю відновлюють функціональний стан еритроцитарних мембран.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому планується провести квантово-хімічні дослідження, які підтверджують мембранотропні властивості препаратів розторопші, артишоку, селену, адеметіоніну і епадолу-нео.

### Література

1. Антонов В. Ф. Липидные поры: стабильность и проницаемость мембран / В. Ф. Антонов // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 10. – С. 10–17.
2. Базарнова М. А. Клінічна лабораторна діагностика: практичні заняття з клінічної біохімії / М. А. Базарнова. – К.: Вища школа, 1994. – 432 с.
3. Барнаулов О. Д. Детоксикационная фитотерапия, или противоядные свойства лекарственных растений / О. Д. Барнаулов. – Политехника, 2007. – 409 с.
4. Болотов А. Т. О лекарственных травах / А. Т. Болотов, В. Ф. Корсун, Е. В. Корсун, О. В. Понкрашова. – М.: Институт фитотерапии, 2010. – 334 с.
5. Борисов Ю. А. Резистентность эритроцитов мембран: механизмы, тесты, оценка / Ю. А. Борисов, В. Н. Спиридонов, Е. Д. Суглобова // Клини. лаб. диагностика. – 2007. – № 12. – С. 36–40.
6. Гарник Т. П. Деякі аспекти застосування лікарських рослин в медицині / Т. П. Гарник, Ф. А. Мітченко, Т. К. Шураєва // Фітотерапія. Часопис. – 2002. – № 1-2. – С. 70–72.
7. Губський Ю. І. Вивчення біохімічних і структурно-динамічних параметрів мембран еритроцитів за умов гострого болювого синдрому та дії кеторолаку і альфа-токоферолу ацетату / Ю. І. Губський, Т. А. Бухтіарова, Г. Г. Горгошко [та ін.] // Медична хімія. – 2012. – Т. 14, №4. – С. 5–11.
8. Корсун В. Ф. Руководство по клинической фитотерапии. Лекарственные растения в гастроэнтерологии / В. Ф. Корсун, К. А. Пупыкина, Е. В. Корсун. – Практическая Медицина, 2008. – 464 с.
9. Мазнев Н. И. Высокоэффективные лекарственные растения. Большая энциклопедия / Н. И. Мазнев. – Эксмо, 2012. – 656 с.

10. Моисеенко В. А. Показатель проницаемости эритроцитарных мембран в оценке функционального состояния организма / В. А. Моисеенко, Л. И. Антоненко, Л. Л. Аршинникова [и др.] // Крымский терапевт. журнал. – 2007. – Т. 2, № 2. – С. 103–106.
11. Мышкин А. В. Окислительный стресс и повреждение печени при химических воздействиях / А. В. Мышкин, А. Б. Бакиров. – Уфа, 2001. – 171 с.
12. Парфенов А. С. Анализ реологических свойств крови / А. С. Парфенов, А. В. Пешков А. В., Н. А. Добровольский. – М.: 1994. – 15 с.
13. Поготова Г. А. Вплив ліворорму та детоксилу на енергетичний обмін, прооксидантно-антиоксидантну систему в печінці, міокарді та головному мозку щурів при дихлоретановому гепатиті / Г. А. Поготова, Н. О. Горчакова, І. Ф. Беленічев, І. С. Чекман // Вісн. проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 3, Вип. 3. – С. 187–191.
14. Поготова Г. А. Дія селенази на показники енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантної системи в органах щурів при токсичному гепатиті / Г. А. Поготова, Н. О. Горчакова, І. Ф. Беленічев, І. С. Чекман // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 2, Вип. 3. – С. 216–220.
15. Постнов Ю. В. Нарушение проницаемости клеточных мембран при спонтанной генетической гипертензии крыс / Ю. В. Постнов, С. Н. Орлов, А. С. Шевченко // Кардиология. – Т. 15, № 10. – С. 88–91.
16. Потапенко А. Я. Осмотическая устойчивость эритроцитов / А. Я. Потапенко, А. А. Кятова, А. М. Тихомиров. – М., 2006. – 16 с.
17. Раделов С. Энциклопедия лекарственных растений / С. Раделов. – СЗКЭО, 2010. – 208 с.
18. Санина И. Л. Полный справочник лекарственных растений / И. Л. Санина. – Х.: Аргумент Принт, 2012. – 560 с.
19. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств / А. В. Стефанов. – Киев : Вицента, 2002. – 568 с.
20. Факиров Д. Ф. Исследование кислотной и осмотической резистентности эритроцитов у рабочих нефтехимического производства / Д. Ф. Факиров, В. М. Самсонов, В. П. Кудрявцев [и др.] // Клини. лаб. диагностика. – 2003. – № 7. – С. 21–23.
21. Шайтан К. В. Сравнительное изучение молекулярной динамики, диффузии и проницаемости по отношению к лигандам для биологических мембран с различным липидным составом / К. В. Шайтан, М. Ю. Антонов, Е. В. Турлей // Биологические мембраны. – 2008. – Т. 25, № 1. – С. 66–85.
22. Au A. Y. Hepatoprotective effects of S-adenosylmethionine and silybin on canine hepatocytes in vitro / A. Y. Au, J. M. Hasenwinkel, C. G. Frondoza // J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl). – 2013. – Vol. 97, № 2. – P. 331–341.
23. Beier J. I. Mechanisms and cell signaling in alcoholic liver disease / J. I. Beier, C. J. McClain // Biol. Chem. – 2010. – Vol. 391, № 11. – P. 1249–1264.
24. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance / L. Bravo // Nutr. Rev. – 1998. – Vol. 56, № 11. – P. 317–333.
25. Сбмара-Lemmarroy C. R. Comparative effects of triflusal, S-adenosylmethionine, and dextromethorphan over intestinal ischemia/reperfusion injury / C. R. Сбмара-Lemmarroy, F. J. Guzmán-de la Garza, P. Cordero-Pérez // Scientific World Journal. – 2011. – Vol. 11. – P. 1886–1892.
26. Cao J. Effects of dietary Selenomethionine supplementation on growth performance, antioxidant status, plasma selenium concentration, and immune function in weaning pigs / J. Cao, F. Guo, L. Zhang [et al.] // J. Anim. Sci. Biotechnol. – 2014. – Vol. 5, № 1. – P. 46.
27. Gordienko E. A. The physico-mathematical theory of human erythrocyte hypotonic hemolysis phenomenon / E. A. Gordienko, Y. E. Gordienko, O. I. Gordienko // Cryo Letters. – 2003. – Vol. 24, № 4. – P. 229–244.
28. Guo Z. Abscisic acid, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and nitric oxide interactions mediated cold-induced S-adenosylmethionine synthetase in *Medicago sativa* subsp. *falcata* that confers cold tolerance through up-regulating polyamine oxidation / Z. Guo, J. Tan, C. Zhuo [et al.] // Plant. Biotechnol. J. – 2014. – Vol. 12, № 5. – P. 601–612.
29. Lang K. S. Cation channels trigger apoptotic death of erythrocytes / K. S. Lang, C. Duranton, H. Poehlmann [et al.] // Cell Death Differ. – 2003. – Vol. 10. – P. 249–256.
30. Lehmann Ch. Clinical data on the use of selenase in sepsis / Ch. Lehmann // Dtsch. Med. Wochenschr. – 2009. – Vol. 134, Suppl. 11. – P. 411–413.
31. Li J. Effects of B-lymphocyte dysfunction on the serum copper, selenium and zinc levels of rheumatoid arthritis patients / J. Li, Y. Liang, H. Mao [et al.] // Pak. J. Med. Sci. – 2014. – Vol. 30, № 5. – P. 1064–1067.
32. Lou Z. Selenium as a Versatile Center in Fluorescence Probe for the Redox Cycle Between HClO Oxidative Stress and H<sub>2</sub>S Repair / Z. Lou, P. Li, K. Han // Methods Mol. Biol. – 2015. – № 1208. – P. 97–110.
33. Luna E. J. Organization of the erythrocyte membrane / E. J. Luna, A. L. Hitt // Science. – 1991. – Vol. 258. – P. 955–964.
34. Mafu L. D. The simultaneous stripping of arsenic and selenium from wastewaters using hollow-fibre supported liquid membranes / L. D. Mafu, T. A. Msagati, B. B. Mamba // Environ. Monit. Assess. – 2014. – Vol. 186, № 12. – P. 8865–8874.
35. Niedzielski P. Efficacy of supplementation of selected medicinal mushrooms with inorganic selenium salts / P. Niedzielski, M. Mleczek, M. Siwulski [et al.] // J. Environ. Sci. Health. B. – 2014. – Vol. 49, № 12. – P. 929–937.
36. Rudenko S. V. Influence of some  $\beta$  blockers on erythrocyte hypotonic hemolysis / S. V. Rudenko, M. K. Said, Ye. L. Voloveiskaya // Problems of cryobiology. – 2010. – Vol. 20. – P. 7–17.
37. Testino G. Silymarin and S-adenosyl-L-methionine (SAME): two promising pharmacological agents in case of chronic alcoholic hepatopathy. A review and a point of view / G. Testino, S. Leone, F. Ansaldi, P. Borro // Minerva Gastroenterol. Dietol. – 2013. – Vol. 59, № 4. – P. 341–356.
38. Virukalpattigopalratnam M. P. Heptral (ademetionine) in patients with intrahepatic cholestasis in chronic liver disease due to non-alcoholic liver disease: results of a multicentre observational study in India / M. P. Virukalpattigopalratnam, T. Singh, A. C. Ravishankar // J. Indian. Med Assoc. – 2013. – Vol. 111, № 12. – P. 856–859.

УДК 615. 2-724+615. 244+615. 244

**ВПЛИВ МЕТАБОЛІТОТРОПНИХ ЗАСОБІВ СИНТЕТИЧНОГО І ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ НА ОСМОТИЧНУ РЕЗИСТЕНТНІСТЬ МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ В КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ДИХЛОРЕТАНОВОМУ ГЕПАТИТІ**

Поготова Г. А.

**Резюме.** При дихлоретановому гепатиті порушується проникність клітинних мембран, про що свідчить суттєвий ріст гемолізу еритроцитів в гіпотонічному середовищі (0,5%, 0,45%, 0,4%, 0,35%), що висвітлює порушення функції і метаболізму в життєво важливих органах. Гепатопротектори природного і синтетичного походження – селеназа, епадол, адеметіонін, лівонорм, детоксил при внутрішньошлунковому курсовому введенні щурам з токсичним дихлоретановим гепатитом диференційовано впливають на осмотичну резистентність мембран еритроцитів. В більшому ступені епадол-нео, в меншому – детоксил, лівонорм, здатні нормалізувати проникність мембран еритроцитів, однак цей параметр не досягає нормальних величин порівняно з нормотензивними тваринами. Селеназа, адеметіонін мають виражені антиоксидантні, мембранопротекторні властивості і відновлюють функціональний стан еритроцитарних мембран до норми.

**Ключові слова:** селеназа, епадол-нео, адеметіонін, лівонорм, детоксил, токсичний гепатит, осмотична резистентність мембран еритроцитів.

УДК 615. 2-724+615. 244+615. 244

**ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИТОТРОПНЫХ СРЕДСТВ СИНТЕТИЧЕСКОГО И ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ОСМОТИЧЕСКУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ В КРОВИ КРЫС ПРИ ДИХЛОРЕТАНОВОМ ГЕПАТИТЕ**

Поготова Г. А.

**Резюме.** При дихлоретановом гепатите нарушается проницаемость клеточных мембран, о чем свидетельствует существенный рост гемолиза эритроцитов в гипотонической среде (0,5%, 0,45%, 0,4%, 0,35%), что освещает нарушения функции и метаболизма в жизненно важных органах. Гепатопротекторы природного и синтетического происхождения – селеназа, эпадол, адеметионин, ливонорм, детоксил при внутрижелудочном курсовом введении крысам с токсическим дихлоретановым гепатитом дифференцированно влияют на осмотическую резистентность мембран эритроцитов. В большей степени эпадол-нео, в меньшем – детоксил, ливонорм, способны нормализовать проницаемость мембран эритроцитов, однако этот параметр не достигает нормальных величин по сравнению с нормотензивными животными. Селеназа, адеметионин имеют выраженные антиоксидантные мембранопротекторные свойства и восстанавливают функциональное состояние эритроцитарных мембран до нормы.

**Ключевые слова:** селеназа, эпадол-нео, адеметионин, ливонорм, детоксил, токсический гепатит, осмотическая резистентность мембран эритроцитов.

UDC 615. 2-724+615. 244+615. 244

**Influence Metabolically Means of Synthetic and Natural Origin on the Osmotic Resistance of Erythrocytes Membranes in the Blood of Rats with Hepatitis Dichlorocarbene**

Pogotova G. A.

**Abstract.** According to the literary data and our own research it was found that drugs such as selenase, the drug of omega – epadol-neo, ademethionin, detoxyl, (basic remedy – artichoke extract), livonorm (basic remedy – extract Fructus silylium) have antioxidant properties. This action is manifested in relation to indicators of prooxidant-antioxidant homeostasis in the liver and myocardium, and for selenase and ademethionin in brain tissue also. Research results indirectly indicate the presence of the membranoprotectors action in investigated substances, that why it is important to assess their impact on the structural integrity of cells. The structure and permeability of biological membranes is correlated with the metabolism and function of vital organs. The condition of the membranes of cells covers the regulation of homeostasis. Integral indicator of membrane processes is the osmotic resistance of erythrocytes membranes and changes in membrane permeability of the cells of the vital organs are coordinated with changes in the permeability of erythrocyte membranes.

*Aim of the investigation.* In connection with the foregoing, the aim of this work was to study the influence of epadol-neo, selenase, ademethionine, detoxyl and livonorm on osmotic resistance of erythrocytes membranes in peripheral blood of rats in the conditions of dichlorethane hepatitis.

*Objects and methods.* Experimental studies were performed on 49 nonlinear white rats – males weight 170-190 g. The experiments with rats was conducted according to Methodical recommendations of the SCE of the Ministry of health of Ukraine. For modeling toxic hepatitis it was used dichloroethane that administered orally to rats through the metal atraumatic probe at a dose of 500 ml/kg in a 50% solution in sunflower oil 1 time a day for 4 days. On the 5th day of the experiment, the introduction of a toxic agent was stopped, and within 10 days the rats were divided into 7 groups of 7 animals: group 1 – the intact animals, group 2 – the animals with toxic hepatitis, group 3 – the animals with toxic hepatitis and epadol, group 4 – the animals with toxic hepatitis and selenase, group 5 – the animals with toxic hepatitis and ademethionin, group 6 – the animals with toxic hepatitis and livonorm, group 7 – the animals with toxic hepatitis and detoxyl. Studies to determine the effect on osmotic resistance of erythrocytes membranes was performed on day 20 of the experiment, when animals are taken out of the experiment under thiopentalum natrii anesthesia (40 mg/kg) and quickly zabrali blood. Organoprotective activity of ademethionin, epadol, livonorm drugs has been studied on dichloroethane hepatitis experimental models in course intragastric administration in the dose of 100 mg/kg every

drug within 20 days after pathology modeling. Selenase was administered in the dose of 50 mg/kg within 20 days after pathology modeling.

*Research results and their discussion.* It is known that toxic hepatitis can cause changes in the functional state of the membrane, permeability, fluidity and the ability to strain. It was found that in rats with dichlorethane hepatitis changes of osmotic erythrocytes membranes resistens took place. Hemolysis of erythrocytes was observed in 0,5% and 0,45% NaCl solutions ( $13,8 \pm 3,4\%$  and  $26,8 \pm 2,4\%$ ), respectively. The erythrocytes of healthy rats in these conditions do not be lysed. More marked hemolysis of erythrocytes membranes was observed in 0,4% NaCl ( $81,2 \pm 5,8\%$  compared to  $27,7 \pm 2,8\%$  in the control), and in 0,35% solution ( $92,2 \pm 4,3\%$  as against  $73,2 \pm 3,8\%$  in the control).

This means that a significant disruption of normal functioning of cell membranes takes place, especially its permeability and ability to stretch ar disturbed. When epadal-neo has been administered it was shown the osmotic erythrocytes membranes resistance increase in all investigated solutions of NaCl. Compared with animals without the use of the drug, the percentage of hemolysis of red blood cells in a 0,4% solution decreases from  $81,2 \pm 5,8\%$  to  $55,7 \pm 2,8\%$ , although this meaning does not reach the control values of normotensive rats. At 35% solution hemolysis of red blood cells also did not differ significantly from hemolysis in normotensive rats. The best results have been obtained after selenase and ademethionin use. Selenase in 0,5% and 0,45% solutions of NaCl doesn't cause erythrocyte hemolysis. In 0,4% solution of NaCl hemolysis level decreases from  $81,2 \pm 5,8\%$  to  $36,2 \pm 3,7\%$  and in 0,35% solution of NaCl its influence is not differed from normal. Ademethionin in 0,4% solution of NaCl decreases hemolysis from  $81,2 \pm 5,8\%$  to  $38,2 \pm 5,6\%$ .

Lower efficiency indicators of hemolysis of erythrocytes was observed after influence of detoxyl and livonorm. So, at the concentration of 0,4% NaCl detoxyl reduces hemolysis of erythrocytes from  $81,2 \pm 5,8\%$  to  $58,8 \pm 3,9\%$  and livonorm from  $81,2 \pm 5,8\%$  to  $60,1 \pm 3,7\%$ . So, all the drugs that were studied, namely epadol-neo, selenase, detoxyl, livonorm are able to normalize the permeability of erythrocyte membranes, however, more pronounced lipoic properties set in selenase and ademethionine. It was shown that these drugs had the highest normalizing action concerning lipid peroxidation.

*Conclusion.* In rats with dichlorethane hepatitis it was found that hemolysis of erythrocytes has been found in about 0,5% of 0,45% NaCl solutions. Significantly the degree of hemolysis of resistant cells was increased in a 0,4% solution of NaCl and the most persistent cells – in 0,35% NaCl solution.

Epadol-neo and in less extent detoxyl and livonorm increase osmotic resistance of erythrocytes membranes in rats with toxic hepatitis in all investigated solutions of NaCl, however, this indicator does not reach the values characteristic of normotensive rats.

Selenase and ademethionin fully restor in rats with dichlorethane hepatitis the functional state of erythrocyte membranes.

**Keywords:** selenase, epadol-neo, ademethionine, livonorm, detoxyl, toxic hepatitis, osmotic resistance of erythrocytes membranes.

*Рецензент – проф. Непорада К. С.*

*Стаття надійшла 24. 09. 2014 р.*