

© Кузнецова В. Г., Жегунов Г. Ф.

УДК 636. 5. 09:616. 98:578. 826. 1:615. 36

Кузнецова В. Г., Жегунов Г. Ф.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТИВ З ЕМБРІОНІВ КУРЕЙ НА ПРОЦЕСИ ЦИТОЛІЗУ, ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕПАТИТУ

Харківська державна зооветеринарна академія (м. Харків)

kuznetcova84@mail.ru

Дана робота виконана в рамках теми «Експериментальне обґрунтування та розробка методів кріоконсервування клітин і тканин домашніх і сільсько-господарських тварин а також розробка методів отримання кріоекстрактів з ембріональних тканин тварин і вивчення їх біологічної активності» № державної реєстрації 0104U009818.

Вступ. Одним з основних пускових механізмів розвитку патології є ініціація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) клітинних мембрани, що супроводжується їх руйнуванням, утворенням вільних радикалів, перекисів ліпідів та активацією факторів запалення. Надлишок перекисів ліпідів порушує фізико-хімічну структуру клітинних мембрани та інгібує їх ферментні системи, інактивує цитоплазматичні ферменти. Це призводить до розвитку альтеративних та ексудативних процесів в тканинах. Вважаючи на це, для корекції таких патологій застосовують антиоксиданті, що за рахунок антиоксидантних, мембранстабілізуючих, судиноукріплюючих та протизапальних властивостей нормалізують активність процесів ПОЛ та відновлюють функцію антиоксидантної системи. Антиоксидантами являються біологічно активні речовини синтетичного, рослинного та тваринного походження. Серед препаратів тваринного походження виділяються ембріональні препарати, а саме екстракти з ембріонів курей [1]. Показано, що екстракти, отримані за допомогою методів кріодеструкції, є більш ефективними, ніж екстракти, що було отримано з цільних ембріонів [3]. Спираючись на літературні дані про здатність тканинних препаратів корегувати такі порушення [2, 4] доцільним було дослідження здатності екстрактів з ембріонів курей впливати на процеси цитолізу, ПОЛ та антиоксидантного захисту у щурів в умовах експериментального гепатиту.

Мета дослідження – визначити здатність екстрактів з ембріонів курей впливати на процеси цитолізу, ПОЛ та антиоксидантного захисту у щурів в умовах експериментального гепатиту.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 180-200 г. Тварин було розділено на 6 груп: 1 – інтактний контроль; 2 – група контрольної патології; 3 – тварини, яким внутрішньом'язово вводили Е в дозі 2 мл/кг; 4 – тварини, яким внутрішньом'язово вводили КЕ в дозі 2 мл/кг;

5 – тварини, яким внутрішньом'язово вводили Ербісол в дозі 2 мл/кг; 6 – тварини, яким вводили Карсил в дозі 25,2 мг/кг.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етических принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

У щурів моделювали гепатит введенням тетрахлорметану (CCl_4) та етанолу. Тетрахлорметан інгібує мікросомальні ферменти печінки, активує ПОЛ в гепатоцитах та є класичним мембранотоксином. Застосування етанолу посилює патологію за рахунок інгібування мікросомальних ферментів печінки, що призводить до інтоксикації організму продуктами розпаду мембрани гепатоцитів. Внаслідок метаболізму тетрахлорметану, в організмі утворюються продукти, що є індукторами ПОЛ.

Згідно з методичними рекомендаціями [7], субхронічний гепатит викликали внутрішньошлунковим введенням етанолу та тетрахлорметану щурам протягом 6 діб за наступною схемою: 1 – 50% масляний розчин тетрахлорметану в дозі 0,4 мл/100 г маси тіла; 2 – через 2 години 40% розчин етанолу в дозі 1,3 мл/100 г маси тіла. Екстракти з ембріонів курей та препарат порівняння вводили щурям через 2 години після введення етанолу протягом 6 діб [7].

Екстракти отримували з ембріонів 9 діб розвитку з використанням гомогенізації, центрифугування та фільтрації. З цільних ембріонів отримували екстракт (Е), а з ембріонів, що заморожували в рідкому азоті – кріоекстракт (КЕ) [3].

В якості препарату порівняння було обрано класичний гепатопротектор «Карсил» та ембріональний препарат «Ербісол». «Карсил» обумовлює антицитолітичну, антиоксидантну та протизапальну дію. Дозу Карсилу для щурів розраховували за Ю. Р. Риболовлевим з співавторами з використанням коефіцієнту перерахунку з добової дози Карсилу для людини [5]. Відповідно літературним даним «Ербісол» теж проявляє антиоксидантну та протизапальну дію [6]. Ербісол вводили в дозі 2 мл/кг маси тіла (рекомендована доза).

БІОЛОГІЯ

Таблиця 1

Динаміка маси тіла, виживаємість та маса печінки в умовах субхронічного гепатиту ($M \pm m$, $n=5$)

Умови експерименту	Показники				
	Маса тіла на початку експерименту, г	Маса тіла в кінці експерименту, г	Динаміка маси тіла, %	Виживаємість, %	Маса печінки, г
Інтактний контроль	193,13 ± 2,66	207,50 ± 5,17	+7,5	100	6,48 ± 0,12
Контрольна патологія	210,00 ± 1,29*	200,00 ± 2,89	-5,0	65	10,16 ± 0,48*
Е, 2 мл/кг	202,45 ± 2,37*	205,83 ± 3,25	0	90	8,65 ± 0,35**/**
КЕ, 2 мл/кг	206,14 ± 2,57*	204,73 ± 3,11	0	90	7,95 ± 0,24**/**
Ербісол, 2 мл/кг	208,33 ± 3,80*	206,41 ± 1,86*	0	75	9,73 ± 0,24**/**
Карсил, 25,2 мг/кг	186,88 ± 2,86*	182,50 ± 3,54*	0	100	7,74 ± 0,29**/**

Примітка: * – відхилення достовірне відносно групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$); ** – відхилення достовірне відносно групи контрольної патології ($p \leq 0,05$).

Функціональний стан печінки щурів оцінювали за допомогою таких показників, як виживаємість тварин, динаміка маси тіла та печінки, а також біохімічні показники, що визначали в сироватці крові та гомогенаті печінки. В сироватці крові визначали активність ферментів аланін- (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ), активність яких підвищується внаслідок цитолітичних процесів в печінці. Інтенсивність процесів ПОЛ та антиоксидантного захисту оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-реактантів та відновленого глутатіону (G-SH) в гомогенаті печінки [7].

Результати дослідження та їх обговорення. Результати дослідження свідчать про те, що у тварин в групі контрольної патології формується токсичне ураження печінки, яке обумовлено пероксидацією та мембронушкоджуючою дією тетрахлорметану і етанолу (табл. 1). Це підтверджується летальністю щурів, що склала 35%; зниженням маси тіла на 5% та збільшенням маси печінки. Зміни достовірні по відношенню до групи інтактного контролю.

Е та КЕ в дозі 2 мл/кг та препарати порівняння Карсил в дозі 25,2 мг/кг та Ербісол в дозі 2 мл/кг сприяють відновленню гемодинаміки і трофічних процесів в печінці щурів, на тлі субхронічного гепатиту, що викликаний введенням тетрахлорметану та етанолу. Маса тіла тварин на 7-у добу експерименту відповідала вихідним даним, в той час, як маса тіла щурів групи контрольної патології знизилась на 5%. Слід зазначити, що Ербісол мало знижував масу печінки, що свідчить про його незначні протизапальні властивості. Е, КЕ та Карсил достовірно знижували масу печінки щурів, що вказує на їх протизапальну активність в обраній дозі (табл. 1).

В таблиці 2 наведено дані, що свідчать про розвиток цитолізу в печінці щурів групи контрольної патології. В сироватці крові спостерігали достовірне підвищення активності АлАТ (в 2,9 рази) та АсАТ (в 2,2 рази) відповідно до групи інтактного контролю. Показано, що Е та КЕ, а також препарати порівняння Карсил та Ербісол мають антицитолітичну дію. На 7-у добу спостереження зафіксовано зниження активності

ферменту АлАТ в 1,3 рази для Е, Ербісолу і Карсилу та в 1,7 разів для КЕ. Спостерігали зниження активності АсАТ в експериментальних групах: в 1,5 разів для Е; в 1,6 разів для КЕ; в 1,1 разів для Карсилу та в 1,2 рази для Ербісолу.

Після моделювання гепатиту у щурів за допомогою тетрахлорметану та етанолу спостерігали активацію процесів ПОЛ. В гомогенаті печінки спостерігали збільшення рівня ДК в 2,02 рази та ТБК-реактантів в 1,96 рази. З цим пов'язане виснаження функцій антиоксидантної системи організму тварин. Про це свідчить зменшення запасів

G-SH в гомогенаті печінки тварини групи контрольної патології в 2,1 рази (табл. 3).

В умовах експериментального гепатиту щурів препарат порівняння Карсил не виявив антиоксидантного ефекту. Препарат порівняння Ербісол, порівняно з екстрактами з ембріонів курей, проявляв низьку антиоксидантну активність. Е та КЕ достовірно по відношенню до групи контрольної патології знижали рівень кінцевих продуктів ПОЛ та ТБК-реактантів в печінці щурів, що вказує на виражені антиоксидантні властивості екстрактів з ембріонів курей і на їх перевагу над препаратами порівняння Ербісолом та Карсилом. Також в гомогенатах печінки експериментальних тварин спостерігали зниження проміжних продуктів ПОЛ – ДК, в 1,5 та в 1,3 рази відповідно.

На відміну від Карсилу та Ербісолу, під впливом Е та КЕ в дозі 2 мл/кг спостерігали стимуляцію функції антиоксидантного захисту організму тварин, про що свідчить достовірне збільшення в гомогенатах печінки рівня головного ферменту цієї системи – відновленого глутатіону (G-SH). Вказані зміни свідчать про здатність Е та КЕ на різних рівнях обмежувати процеси

Таблиця 2

Показники активності ферментів в сироватці крові щурів в умовах субхронічного гепатиту ($M \pm m$, $n=5$)

Групи експерименту	Показники	
	АлАТ, ммоль/г×л	АлАТ, ммоль/г×л
Інтактний контроль	0,37 ± 0,02	0,38 ± 0,02
Контрольна патологія	1,05 ± 0,06*	0,82 ± 0,06*
Е, 2 мл/кг	0,78 ± 0,04**/**	0,54 ± 0,06**/**
КЕ, 2 мл/кг	0,63 ± 0,03**/**	0,51 ± 0,06**/**
Ербісол, 2 мл/кг	0,78 ± 0,04**/**	0,71 ± 0,03**/**
Карсил, 25,2 мг/кг	0,80 ± 0,04**/**	0,74 ± 0,04**/**

Примітка: * – відхилення достовірне відносно групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$); ** – відхилення достовірне відносно групи контрольної патології ($p \leq 0,05$).

БІОЛОГІЯ

Таблиця 3

Показники системи перекисне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист в гомогенаті печінки щурів в умовах субхронічного гепатиту ($M \pm m$, $n=5$)

Група експерименту	Показники		
	ДК, кмоль/г	ТБК-реактанти ммоль/г	G-SH, у. о.
Вихідні дані	3,93±0,84	92,96±10,49	26,97±1,06
Контрольна патологія	7,92±0,62*	181,63±36,91*	12,93±1,45*
E, 2 мл/кг	4,34±1,17**	119,66±21,11*/**/**	34,49±9,00*/**/**
KE, 2 мл/кг	4,12±0,96**	117,5320,49*/**/**	32,15±8,54*/**/**
Ербісол, 2 мл/кг	5,18±0,57	187,77±27,23*/**	20,57±6. 14*/**
Карсил, 25,2 мг/кг	5,79±0,88	201,94±29,24*	18,14±5,09*

Примітка: * – відхилення достовірне відносно групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$); ** – відхилення достовірне відносно групи контрольної патології ($p \leq 0,05$); *** – відхилення достовірне відносно групи тварин, яким вводили Карсил ($p \leq 0,05$).

ПОЛ і гальмувати не тільки процеси вільного радикального окиснення, але й уповільнювати каскад цитолітичних процесів (табл. 3).

Вищезазначені результати свідчать про те, що в умовах субхронічного токсичного гепатиту Е та KE в дозі 2 мл/кг та препарати порівняння Ербісол в дозі 2 мл/кг та Карсил в дозі 25,2 мг/кг проявляють цитопротекторну дію, що обумовлена антицитолітичним, антиоксидантним та мембронстабілізуючими властивостями. Отримані дані показують певну перевагу Е та KE над препаратами порівняння. Це проявляється більш значними антиоксидантними властивостями екстрактів з ембріонів курей та дає змогу припускати, що Е та KE є прямими антиоксидантами. При цьому дія KE більш виражена, ніж дія E. Це пов'язано з тим, що під час заморожування-відігріву відбувається руйнація клітинних оболонок, що призводить до більшого вивільнення біологічних субстанцій і, разом з тим, підвищується активність екстракту.

Висновки. Таким чином, на тлі експериментально-го субхронічного токсичного гепатиту, що викликали введенням тетрахлорметану та етанолу, E та KE в дозі 2 мл/кг виявляють виражену антиоксидантну, антицитолітичну та мембронстабілізуючу дію, поліпшують функціональну активність гепатицитів, зменшують

прояви цитодеструктивних процесів, гальмують процеси перекисного окиснення ліпідів.

Перспективи подальших досліджень. В роботі показано вплив екстрактів з ембріонів курей на печінку щурів в умовах токсичного гепатиту. Однак не визначеним є питання, щодо ефективності E та KE для застосування під час вірусних гепатитів та цирозу. Подальше дослідження біологічної активності екстрактів з ембріонів курей розширити уявлення про ймовірні області терапевтичного застосування препаратів, що можуть бути розробленими на основі екстрактів.

Література

1. Гладкий А. В. Применение «Эрбисола» при химиотерапии больных опухолевыми поражениями печени / А. В. Гладкий, А. Н. Nikolaenko, А. А. Литвиненко [и др.] // Экспериментальная онкология. – 1997. – Т. 19. – С. 75-76.
2. Дегтяренко Т. В. Биогенные стимуляторы и иммунореактивность / Т. В. Дегтяренко, Р. Ф. Макулькин. – В 2х т. – Одесса : Маяк. – 1997. – 342 с.
3. Кузнецова В. Г. Изучение иммуностимулирующего эффекта экстрактов из эмбриональных тканей кур / В. Г. Кузнецова, Г. Ф. Жегунов // Вісник проблем біології і медицини. – 2009. – Вип. 3. – С. 35-38.
4. Мельников Н. В. Использование метода криоструктурирования в производстве органонпрепаратов / Н. В. Мельников, Р. В. Вахитов, Ф. Н. Кигамов // Здравоохранение Башкирстана. – 2002. – №2. – С. 64-66.
5. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 274, №6. – С. 1513-1516.
6. Свінціцький А. С. Деякі аспекти застосування препарату «Ербісол» в гастроenterологічній клініці / А. С. Свінціцький, К. М. Ревенюк, Н. П. Козак [та ін.] // Матеріали науково-практичної конференції «Актуальні питання ураження внутрішніх органів та їх зв'язок із наслідками аварії на ЧАЕС. Особливості перебігу захворювань у працівників річкового флоту». – Київ. – 1999. – С. 65-66.
7. Стефанов О. В. Доклиническое исследование лечебных средств: методические рекомендации / Под ред. О. В Стефанова. – К. : Авиценна, 2001. – 528 с.

УДК 636. 5. 09:616. 98:578. 826. 1:615. 36

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТІВ З ЕМБРІОНІВ КУРЕЙ НА ПРОЦЕСИ ЦИТОЛІЗУ, ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕПАТИТУ Кузнецова В. Г., Жегунов Г. Ф.

Резюме. Досліджували антиоксидантну, антицитолітичну та мембронстабілізуючу дію екстрактів з ембріонів курей. Результати дослідження свідчать про те, що у тварин в групі контрольної патології формується токсичне ураження печінки. Показано, що екстракти мають протизапальну дію, знижують активність цитолітичних ферментів та збільшують рівень відновленого глутатіону в крові щурів на тлі експериментального субхронічного токсичного гепатиту. Встановлено, що екстракти, отримані за допомогою методів кріодеструкції, є більш ефективними, ніж екстракти, що було отримано з цільних ембріонів.

Ключові слова: екстракти з ембріонів курей, перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), цитоліз, антиоксидантний захист, гепатит.

УДК 636. 5. 09:616. 98:578. 826. 1:615. 36

ІЗУЧЕННЯ ВЛІЯННЯ ЕКСТРАКТОВ ИЗ ЭМБРИОНОВ КУР НА ПРОЦЕССЫ ЦИТОЛИЗА, ПЕРЕКІСНОГО ОКІСЛЕННЯ ЛІПІДОВ И АНТІОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТИ В УСЛОВІЯХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕПАТИТА

Кузнецова В. Г., Жегунов Г. Ф.

Резюме. Исследовали антиоксидантное, антицитолитическое и мембранстабилизирующее действие экстрактов из эмбрионов кур. Результаты исследования свидетельствуют о том, что у животных группы контрольной патологии развивается токсическое поражение печени. Показано, что экстракти обладают противовоспалительным действием, снижают активность цитолитических ферментов и повышают уровень восстановленного глутатиона в крови крыс на фоне экспериментального субхронического токсического гепатита. Установлено, что экстракти, полученные при помощи методов криодеструкции, являются более эффективными, чем экстракти, полученные из цельных эмбрионов.

Ключевые слова: экстракти из эмбрионов кур, перекисное окисление липидов (ПОЛ), цитолиз, антиоксидантная защита, гепатит.

UDC 636. 5. 09:616. 98:578. 826. 1:615. 36

Research of Extracts from Chicken Embryos Influence on the Cytolysis Processes, Lipid Peroxidation and Antioxidant Protection in Experimental Hepatitis

Kuznetsova V. G., Zhegunov G. F.

Abstract. One of the main starting mechanisms in pathology development is initiation of lipid peroxidation of cell membranes, that accompanied by their destruction, formation of free radicals, lipid peroxidation and activation of inflammation factors. Excess of lipid peroxide fracture physical-chemical structure of cell membranes and repress their enzymes systems, inactivate cytoplasmic enzymes. It causes the development of alternative and exudative processes in tissues. Despite of this, for the correction of such pathologies it is used antioxidants, that due to antioxidant, membrane, vessel-strengthening and anti-inflammatory actions stabilize the activity of lipid peroxidation effects and renovate the function of antioxidant system. Antioxidants are biologically active substances of synthetic, plant and animal origin. There are embryonic preparations among the properties of animal origin, namely extracts from chicken embryos.

It was modeled hepatitis by introduction of carbon tetrachloride and ethanol in rats. Because of carbon tetrachloride metabolism, products are formed in the body, that are inducers of lipid peroxidation.

For correcting such pathologies it was injected extract and cryoextract from chicken embryos to rats in a dose of 2 ml/kg and preparations similar to Kars in a dose of 25,2 ml/kg and Erbisol in a dose of 2 ml/kg.

Functional state of the rats liver assessed by such indicators as animal survival, dynamics of body weight and liver, and also biochemical indicators, that determined in blood serum and liver homogenates.

It is shown, that extract and cryoextract from chicken embryos in a dose of 2 ml/kg and preparations similar to Kars in a dose of 25,2 ml/kg and Erbisol in a dose of 2 ml/kg help restore hemodynamic and trophic processes in rats liver. It is registered the activity decrease of enzyme ALT in 1,3 times for extracts, Erbisol and Kars and in 1,7 times- for cryoextract. It was observed the activity decrease of AST in experimental groups: in 1,5 times- for extracts; in 1,6 times for cryoextracts; in 1,1 times for Kars and in 1,2 times for Erbisol. Extracts and cryoextracts significantly relative to the group of control pathology decreased the level of end products of lipid peroxidation and MDA- reagent in rats liver that indicates a pronounced antioxidant properties of extracts from chicken embryos and on their advantage over preparations similar to Erbisol and Kars. Also in liver homogenates of experimental animals was observed the decrease of intermediates of lipid peroxidation- action of new conjugates in 1,5 and 1,3 times relatively. Unlike Kars and Erbisol, under the influence of extract and cryoextract in a dose of 2 ml/kg it was seen a stimulation of antioxidant function of animals, as evidenced by increasing the level of main enzyme in liver homogenates- glutathione.

The results of investigations show that in sub chronic toxic hepatitis, extract and cryoextract in a dose of 2 ml/kg and preparations similar to Erbisol in a dose of 2 ml/kg and Kars in a dose of 25,2 ml/kg show cytoprotective action, due to anticytologic, antioxidant and membrane properties. Findings show an advantage of extract and cryoextract over comparison preparations. This is most significant antioxidant properties of extracts from chicken embryos and give possibility to think, that extract and cryoextract are antioxidants, also the action of cryoextract is more pronounced than the action of extracts. This is due to the fact, that during freezing-heating cell wall are destroyed, and it causes release of biological substances and at the same time increase the extract activity.

Keywords: extracts from chicken embryos, lipid peroxidation, cytology, antioxidant protection, hepatitis.

Рецензент – д. вет. н. Жукова І. О.

Стаття надійшла 01. 04. 2015 р.