

УДК 615.916³1:546.264-085.322:582.635.3]-092.9

ВПЛИВ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ЧОРНОЇ ШОВКОВИЦІ НА ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНІ ПРОЦЕСИ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ, УРАЖЕНИХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

©І.І. Медвідь, Л.С. Фіра

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

РЕЗЮМЕ. Проведено експериментальне дослідження коригуючого впливу густого екстракту з листя чорної шовковиці на метаболічні порушення в організмі щурів, уражених тетрахлорметаном. Показано, що дана лікарська субстанція має виражену антиоксидантну та гепатопротекторну активність. Про це свідчить зниження процесів перекисного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: шовковиця звичайна, густий екстракт, тетрахлорметан, вільнорадикальні процеси, ендогенна інтоксикація, антиоксидантні властивості.

Вступ. Значне місце в структурі захворюваності, обумовленої дією токсичних факторів, займають хімічні ураження печінки – органа, який відіграє головну роль в регуляції обміну речовин цілісного організму. Загальномедичного значення набули дослідження пошкодження клітин печінки гепатотропною отрутою – тетрахлорметаном (CCl₄). Незважаючи на зусилля багатьох дослідників, ряд питань біохімічних механізмів пошкодження гепатоцитів залишились невиясненими, а способи специфічної профілактики та терапії хімічних ушкоджень печінки недостатні [1, 2, 3]. Порівняльний аналіз структурних і функціональних змін тканини печінки, що спостерігаються під дією CCl₄, дозволив виділити два основні типи ураження: порушення структурно-функціональної цілісності органа і дискоординація діяльності ферментних систем [4, 5]. З літератури відомо, що ураження тетрахлорметаном призводить до активації вільнорадикальних процесів та зниження активності захисних сил в організмі. З метою корекції даних метаболічних

порушень застосовують лікарські засоби, що володіють антиоксидантними та гепатопротекторними властивостями [6]. Антиоксиданти рослинного походження останнім часом широко використовуються в гепатології, особливо при лікуванні захворювань, що супроводжуються гострою печінковою недостатністю, летальність за якої, незважаючи на розвиток методів інтенсивної терапії, вкрай велика [7].

Звідси, актуальним є вивчення різних органів рослин з метою дослідження коригуючих властивостей біологічно активних речовин з них. У зв'язку із вищезазначеним, нашу увагу привернула шовковиця, завдяки вмісту в ній біологічно активних речовин з антиоксидантними властивостями.

Мета дослідження – з'ясувати антиоксидантні, гепатопротекторні та мембранопротекторні властивості густого екстракту з листя чорної шовковиці в експерименті на тваринах з модельованим токсичним гепатитом.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проведено на білих безпородних щурах-

самцях масою тіла 150-170 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету. Для проведення експерименту тварини були розділені на чотири групи, по п'ять тварин у кожній. Моделами токсичного ураження тварин слугувала інтоксикація тетрахлорметаном (CCl₄). Тетрахлорметан вводили тваринам через день внутрішньоочеревинно у вигляді 50 % олійного розчину в дозі 2 мг/кг.

Евтаназію проводили з використанням тіопенталу натрію на 4-ту та 7-му доби після введення тетрахлорметану. Об'єктом дослідження слугували гомогенат печінки та сироватка крові. Кров забирали із серця тварин. Корируючий вплив густого екстракту з листя чорної шовковиці вивчали у дозі 1,5 мл на тварину. Активність вільнорадикальних процесів в організмі щурів та стан антиоксидантної системи після введення корируючих чинників оцінювали за вмістом ТБК-реагуючих продуктів, активностями (АсАТ), (АлАТ), концентрацією 2,4-динітрофенілгідрозонів та величиною ЕІІ [8–12].

Результати й обговорення. Нами вивчено вміст ТБК-реагуючих продуктів у сироватці крові та печінці тварин, уражених тетрахлорметаном.

Як видно із даних, наведених у таблиці 1, у тварин, уражених тетрахлорметаном, вміст ТБК-реагуючих продуктів в сироватці крові зростає в обидва терміни дослідження (p<0,05). Аналогічна тенденція до підвищення спостерігається і в печінці щурів, яким вводили тетрахлорметан. На 7-му добу ураження вміст проміжних продуктів вільнорадикального окиснення зростає максимально.

Введення в уражений організм густого екстракту з листя чорної шовковиці привело до зниження вмісту ТБК-реагуючих продуктів в сироватці крові на 28 % на 4-ту добу дослідження і на 31 % – на 7-й день, в печінці вміст МДА знизився відповідно на 23 % і 25 % відносно уражених тварин.

Останнім часом у літературі з'явилися повідомлення, в яких вказується, що процесам переокиснення піддаються і білкові компоненти мембран. Це призводить до змін активності ферментів, порушення синтезу нуклеїнових кислот та накопичення токсичних продуктів метаболізму. Внаслідок окислювальної модифікації білкових компонентів під дією активних форм кисню (АФК) та токсичних метаболітів утворюються молекули середньої маси та пептиди [13, 14]. Дослідження показників ОМБ показало, що в сироватці крові та печінці щурів після ураження їх CCl₄ проходить збільшення вмісту 2,4-динітрофенілгідрозонів нейтрального (370 нм) та основного характеру (430 нм).

Як видно з таблиці 2, вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру в сироватці крові та печінці уражених тварин збільшився відповідно на 54,4 % і 47,5 % на 4-ту та на 44 % і 57 % на 7-му добу експерименту відносно інтактних тварин. Аналогічна тенденція до підвищення спостерігалась і для 2,4-ДНФГ основного характеру. Після корекції екстрактом відмічали достовірне зниження вмісту 2,4-ДНФГ нейтрального та основного характеру як в сироватці крові, так і в печінці піддослідних тварин майже до рівня норми.

В наших експериментах ми досліджували проникність еритроцитарних мембран та плазматичних мембран гепатоцитів.

Встановлено, що після ураження тварин CCl₄ підвищується відсоток проникнення мембрани еритроцитів, на що вказує збільшення еритроцитарного індексу інтоксикації (табл. 3).

На 4-ту та 7-му доби дослідження ЕІІ збільшився у 1,35 та 1,4 рази відповідно. Це вказує на те, що після ураження проходить деструкція та зміна проникності мембран еритроцитів під дією токсичних чинників.

Після застосування густого екстракту з листя шовковиці ступінь проникнення еритроцитарної мембрани значно знизився у 1,2 як на 4-ту

Таблиця 1. Вміст ТБК-реагуючих продуктів в сироватці крові (мкмоль/л) та печінці (мкмоль/кг) щурів, уражених CCl₄ (M±m; n=5)

Група тварин	Сироватка крові		Печінка	
	строк дослідження, доба		строк дослідження, доба	
	4-та	7-ма	4-та	7-ма
Інтактні	7,95±0,21		69,48±2,42	
Уражені	12,87±0,26*	14,43±0,27*	110,1±2,06*	121,7±1,42*
Уражені+ корекція	9,23±0,29**	9,97±0,31**	84,6±1,73**	91,53±1,62**

Примітки. Тут і в наступних таблицях:

* – достовірні зміни між інтактними тваринами та ураженими CCl₄ (p<0,05);

** – достовірні зміни між тваринами ураженими та лікованими корируючими чинниками (p<0,05).

Таблиця 2. Вміст 2,4-ДНФГ в сироватці крові та печінці (мкмоль/г білка) щурів, уражених CCl_4 ($M \pm m$; $n=5$)

Група тварин	2,4-ДНФГ нейтрального характеру		2,4-ДНФГ основного характеру	
	сироватка	печінка	сироватка	печінка
	4 доба			
Інтактні	0,125±0,008	0,165±0,012	0,053±0,003	0,095±0,007
Уражені	0,274±0,011*	0,314±0,013*	0,095±0,002*	0,22±0,007*
Уражені+ корекція	0,141±0,008**	0,197±0,006**	0,063±0,004**	0,137±0,005**
	7 доба			
Інтактні	0,125±0,008	0,165±0,012	0,053±0,003	0,095±0,007
Уражені	0,295±0,011*	0,358±0,01*	0,113±0,009*	0,254±0,006*
Уражені+ корекція	0,14±0,008**	0,199±0,007**	0,067±0,003**	0,154±0,008**

Таблиця 3. Еритроцитарний індекс інтоксикації в крові (%) щурів, уражених CCl_4 ($M \pm m$; $n=5$)

Група тварин	Строк дослідження, доба	
	4-та	7-ма
Інтактні	59,5±2,42	
Уражені	80,12±2,53*	82,42±2,07*
Уражені+ корекція	65,49±1,87**	69,29±1,52**

добу, так і на 7-му добу експерименту відносно рівня уражених тварин.

Паралельно нами було досліджено коригуючий вплив лікарської субстанції з шовковиці на стан плазматичних мембран гепатоцитів. Для цього ми визначили активність АлАТ і АсАТ. Внаслідок деструкції та зміни проникності плазматичних мембран клітин печінки підвищується активність як АлАТ, так і АсАТ в сироватці крові. Підвищення активності амінотрансфераз в печінці свідчить про порушення процесів перемінування в ураженому організмі [13, 15].

Дані з вивчення активності АлАТ в сироватці крові та печінці уражених тварин наведені в таблиці 4.

З таблиці 4 видно, що активність АлАТ в сироватці крові на 4-ту добу розвитку гепатиту зростає в 3,3 раза, на 7-му добу дослідження в 2,7 раза. Це свідчить, що під впливом тетрахлорметану відбувається цитоліз гепатоцитів і переміщення ферменту в кров. Аналогічна тенденція до підвищення активності спостерігалась і в печінці уражених тварин, що може бути захисною реакцією організму у відповідь на потраплення ксенобіотику. Печінка в цей час посилено починає синтезувати даний ензим.

Введення в уражений організм густого екстракту з листя шовковиці привело до нормалізації даного показника в обидва терміни дослідження.

Таблиця 4. Активність АлАТ в сироватці крові (мкмоль/(л*год)) та печінці (мкмоль/(кг*год)) щурів, уражених CCl_4 ($M \pm m$; $n=5$)

Група тварин	Сироватка крові		Печінка	
	строк дослідження, доба		строк дослідження, доба	
	4-та	7-ма	4-та	7-ма
Інтактні	0,107±0,012		0,167±0,005	
Уражені	0,353±0,007*	0,291±0,027*	0,412±0,005*	0,456±0,013*
Уражені+ корекція	0,18±0,011**	0,158±0,013**	0,196±0,005**	0,209±0,01**

Таблиця 5. Активність АсАТ в сироватці крові (мкмоль/(л*год)) та печінці (мкмоль/(кг*год)) щурів, уражених CCl_4 ($M \pm m$; $n=5$)

Група тварин	Сироватка крові		Печінка	
	строк дослідження, доба		строк дослідження, доба	
	4-та	7-ма	4-та	7-ма
Інтактні	0,114±0,007		0,164±0,003	
Уражені	0,35±0,007*	0,381±0,015*	0,33±0,007*	0,402±0,017*
Уражені+ корекція	0,178±0,003**	0,192±0,01**	0,195±0,005**	0,195±0,004**

Показники активності АсАТ в сироватці крові та печінці тварин, отруєних CCl_4 , наведені в таблиці 5.

При вивченні активності АсАТ в крові уражених тварин на 4-ту та 7-му доби дослідження встановлено зростання активності ферменту на 67 % та 70 % в порівнянні з нормою. Після введення екстракту даний показник знизився на 49 % та 45 % відносно уражених тварин. В печінці тварин, отруєних тетрахлорметаном, рівень АсАТ на 4-ту та 7-му доби дослідження зріс відповідно на 50 % та 59 % порівняно з інтактними тваринами, після корекції знизився відповідно на 41 % та 52 % відносно уражених тварин.

Вивчення активності амінотрансфераз в ураженому організмі після використання густого екстракту з листя шовковиці вказує на гепатопротекторні властивості даної лікарської форми, що дозволить успішно використовувати її при захворюваннях печінки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Панасик М.Т., Тимочко М.Ф. Значення перекисного окислення ліпідів в нормі та при адаптації до експериментальних впливів // *Експерим. та клін. фізіол.* – 1997. – № 2. – С. 92–98.
2. Coleman John B., Condie Lyman W., Lomb Robert G. The role of CC1 biotransformation in the activation of hepatocyte phospholipase C in vivo and in vitro // *Toxicol. and Appl. Pharmacol.* – 1988. – 295, № 2. – P. 208 – 219.
3. Feher J., Vereckei A., Lengyel G. Role of free-radical reactions in liver diseases // *Acta Physiol. Hung.* – 1992. – Vol. 80, № 3 (1-4). – P. 351–361.
4. Беленічев І.Ф., Левицький Є.Л., Гунський Ю.І. Антиоксидантна система захисту організму (огляд) // *Совр. пробл. токсикол.* – 2002. – № 3. – С. 24–29.
5. Роль антиоксидантної системи в патогенезі токсического гепатита / Я.И. Гонский, М.М. Корда, И.М. Клиш, Л.С. Фира // *Пат. физ. и эксперим. тер.* – 1996. – № 2. – С. 43–45.
6. Антиоксидантная терапия растениями / В.Г. Колесова, В.А. Дадали, В.И. Дойко, В.А. Марченко // *Эфферент. терапия.* – 1996. – № 1. – С. 67–70.
7. Меньщикова Е.Б., Зенков И.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // *Успехи совр. биол.* – 1993. – Т. 113, вып. 4. – С. 442–454.

Висновки. На основі проведених досліджень встановлено, що після введення густого екстракту з листя шовковиці тваринам, ураженим тетрахлорметаном, знижуються процеси перекисного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків.

Таким чином, дослідження даної лікарської форми доводить її виражену антиоксидантну та гепатопротекторну дії і вказує на доцільність подальшого вивчення з метою впровадження у практичну фармацію та медицину.

Перспективи подальших досліджень бачимо у використанні листя шовковиці як джерела отримання БАР для створення високоєфективних лікарських препаратів та застосування їх в офіциальній медицині. Виявлення антиоксидантних, мембранопротекторних та гепатопротекторних властивостей листя шовковиці дасть можливість запропонувати використання її в клініці за різних патологічних станів.

8. Арчаков А.И., Михосоев И.М. Модификация белков активным кислородом и их распад // *Биохимия.* – 1998. – 54, № 2. – С. 179–186.

9. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / / В кн.: *Современные методы в биохимии* / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66 – 68.

10. Покровский А.А. Биохимические методы исследований. – М.: Медицина, 1969. – 650 с.

11. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А.А. Тогайбаев, А.В. Кургузкин, И.В. Рикун, Р.М. Карибжанова // *Лаб. дело.* – 1988. – № 9. – С. 22–24.

12. Vitozi Luttiano, Nastainzyk Wolfgang. Biding of reactive metabolites of CC1 to specific microsomal proteins // *Biochem. Pharmacol.* – 1987. – 236, № 9. – P. 1401 – 1408.

13. Костюк В.А., Потапович А.И., Маслова Г.Т. Состояние антиокислительной защитной системы печени крыс при воздействии четыреххлористого углерода // *Укр. биохим. журн.* – 1992. – № 3. – С. 11 – 115.

14. Brent J.A., Rumack B.H. Role of free radicals in toxic hepatic injury. I. Free radical biochemistry // *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* – 1993. – Vol. 31, № 1. – P. 139–171.

15. Reitman S., Frankel S. // *Amer. J. clin. Path.* – 1957. – Vol. 28, № 1. – P. 56–60.

INFLUENCE OF THE THICK EXTRACT FROM THE BLACK MULBERRY LEAVES ON FREE RADICAL PROCESSES IN THE BODY OF RATS WOUNDED BY CARBON TETRACHLORIDE

I.I. Medvid, L.S. Fira

Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky

SUMMARY. The experimental investigation of the corrective influence of the thick extract from the black mulberry leaves on metabolic disturbances in the body of rats wounded by carbon tetrachloride has been conducted. It has been shown, that the drug substance has a significant antioxidant and hepatoprotective activity. The evidence of this is the reduction of the lipid peroxidation and oxidative protein modification.

KEY WORDS: ordinary mulberry, thick extracts, carbon tetrachloride, free radicals processes, endogenous intoxication, antioxidant properties.