УДК 615.244:615.332.085

ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТУ З БРУНЬОК ОБЛІПИХИ КРУШИНОВИДНОЇ НА МОДЕЛІ ГОСТРОГО ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ

©В.П. Пида, Л.С. Фіра

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

РЕЗЮМЕ. У статті наведені результати дослідження впливу густого спиртового 10 % екстракту з чоловічих бруньок обліпихи за умов гострого токсичного гепатиту. Використання даного екстракту в дозі 1 мл для корекції порушень за умов тетрахлорметанового гепатиту виявилось доцільним, оскільки проявило позитивний вплив на процеси ліпопероксидації та показники антиоксидантної системи тварин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: обліпиха крушиновидна, густий спиртовий 10 % екстракт з чоловічих бруньок обліпихи, тетрахлорметановий гепатит.

Вступ. Хімізація промисловості та сільського господарства призвела до зростання дії різних хімічних чинників на організм людини і тварин. Усі вони негативно впливають на людський організм та призводять до тяжких захворювань.

Виявлення нових видів лікарської сировини та виготовлення на її основі нових лікарських форм є одним з актуальних питань сучасної фармацевтичної практики. Обліпиха крушиновидна є перспективною рослиною в цьому напрямку. В офіцинальній медицині як сировину використовують її плоди (*Fructus hippophaes*) [1]. Цікавим є вивчення чоловічих бруньок обліпихи, а саме спиртового густого екстракту на їх основі.

Мета дослідження – дослідити антиоксидантні та мембранопротекторні властивості 10 % спиртового густого екстракту з чоловічих бруньок обліпихи крушиновидної.

Матеріал і методи дослідження. Матеріалом дослідження слугували бруньки чоловічих особин обліпихи крушиновидної, густий спиртовий 10 % екстракт з бруньок обліпихи та білі безпородні щури-самці масою тіла 160-180 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію. Моделлю токсичного ураження тварин слугувала інтоксикація тетрахлорметаном. Тетрахлорметан тварини отримували триразово (через день) внутрішньоочеревинно у вигляді олійного розчину в дозі 0,2 мл на тварину. Евтаназію проводили з використанням тіопенталу натрію на 4-ту та 7-му доби після введення тетрахлорметану. Дослідженням піддавали сироватку крові та печінку, кров забирали із серця тварин. Визначали такі показники, як вміст ТБК-реагуючих продуктів та церулоплазміну, активність каталази та аланінамінотрансферази. Для корекції використовували 1 мл густого спиртового екстракту з чоловічих бруньок обліпихи. Усі експерименти на тваринах проводились згідно з Положенням про використання тварин у біомедичних дослідах [2]. Визначення вмісту ТБК-реагуючих проводили за методом [3], який базується на здатності малонового діальдегіду утворювати з тіобарбітуровою кислотою забарвлений комплекс. Вміст церулоплазміну визначали за здатністю цього ферменту окислювати п-фенілендиамін [4]. Визначення активності каталази ґрунтується на здатності перекису водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс жовтого кольору [5]. Визначення активності аланінамінотрансферази базується на її здатності взаємодіяти з 2,4-динітрофенілгідразином в лужному середовищі, в результаті чого утворюється забарвлений комплекс [6].

Результати й обговорення. Як видно з таблиці 1, введення тетрахлорметану в організм тварин призводить до суттєвого зростання вмісту ТБК-реагуючих продуктів, причому максимальним він був на 4-ту добу після отруєння даним гепатотоксином.

В цей строк вміст ТБК-реагуючих продуктів зріс в сироватці крові та в печінці ($p<0,05$) в 2,6 та 3 рази відповідно. На 7-му добу дослідження даний показник зріс в сироватці крові в 2,3 раза, в печінці ($p<0,05$) в 3 рази. Очевидно, четверта та 7-ма доби є токсикогенною фазою дії ксенобіотиків, оскільки відомо, що під впливом тетрахлорметану активація процесів ПОЛ найбільше відбувається саме в перші дні з моменту ураження.

Після введення екстракту чоловічих бруньок обліпихи крушиновидної вміст ТБК-реагуючих продуктів в сироватці крові тварин знизився на 48 % на 4-ту добу експерименту і на 40 % – на 7-му добу дослідження відносно уражених ($p<0,05$).

Введення екстракту чоловічих бруньок обліпихи крушиновидної призвело до зниження продуктів ліпопероксидації в печінці уражених тварин в 1,6 раза як на 4-ту, так і на 7-му добу експерименту. Достовірні зміни відмічені в усі терміни дослідження даного показника ($p_1<0,05$).

Таблиця 1. Вміст ТБК-реагуючих продуктів в сироватці крові (мкмоль/л) та печінці тварин (мкмоль/г), уражених CCl_4, після введення екстракту бруньок обліпихи крушиновидної (M±m; n = 6)

Група тварин	ТБК-реагуючі продукти			
	в сироватці крові, мкмоль/л		в печінці, мкмоль/г	
	4-та доба	7-ма доба	4-та доба	7-ма доба
Інтактні	2,85± 0,07		0,90± 0,03	
Уражені	7,42± 0,05*	6,60± 0,23*	2,65± 0,05*	2,73± 0,14*
Ліковані	3,87± 0,06**	3,95± 0,19**	1,66± 0,04**	1,75± 0,05**

Примітки: * – достовірні зміни між інтактними та ураженими тваринами;
** – достовірні зміни між ураженими та лікованими тваринами.

Результати наших експериментів показали, що ураження тварин тетрахлорметаном супроводжується глибоким порушенням з боку ферментативної антиоксидантної системи. Так, на 4-ту добу після введення токсину в сироватці крові щурів в 1,7 раза знижується активність каталази (табл. 2). Це, можливо, обумовлено пригніченням білоксинтезуючої функції печінки.

На 7-му добу дослідження активність каталази знижується в 1,9 раза в порівнянні з інтактними тваринами. В печінці достовірних змін щодо зниження активності даного ферменту не спостерігалось.

Як видно з таблиці 2, активність КТ в сироватці крові щурів, уражених CCl_4, після введення екстракту чоловічих бруньок обліпихи крушиновидної достовірно підвищується в обидва досліджувані терміни (на 4-ту добу в 1,3, а на 7-му в 1,6 рази).

При дослідженні активності каталази в печінці тварин достовірних змін не було відмічено протягом всього терміну дослідження.

Нами відмічено зниження вмісту церулоплазміну в сироватці крові уражених тварин на 4-ту добу на 33 %, на 7-му добу на 16 % від рівня інтактних щурів.

Після введення коригуючого чинника спостерігалось підвищення вмісту даного ферменту в лікованих тварин відносно уражених на 20 % на 4-ту та на 10 % на 7-му доби дослідження (табл. 2). Дані зміни були відмічені як вірогідні.

Досліджено активність АлАТ в сироватці крові та печінці тварин за умов тетрахлорметанового гепатиту та після корекції порушень екстрактом з бруньок обліпихи крушиновидної.

Як видно з таблиці 3, введення тетрахлорметану в організм тварин призводить до суттєвого зростання активності АлАТ в сироватці крові.

Причому, максимальною вона була на 4-ту добу після отруєння. В цей термін активність АлАТ зросла в сироватці крові в 1,7 раза ($p<0,05$). На 7-му добу дослідження активність даного показника зросла в 1,6 раза ($p<0,05$). Це обумовлено тим, що АлАТ максимально локалізується в печінці і підвищення її активності в сироватці крові безпосередньо вказує на цитоліз гепатоцитів.

Таблиця 2. Активність каталази в сироватці крові (мкат/л) та печінці (мкат/кг), вміст церулоплазміну (мг/л) в сироватці крові тварин, уражених CCl_4, після введення екстракту бруньок обліпихи крушиновидної (M±m; n = 6)

Група тварин	Показник					
	активність каталази				вміст ЦП	
	в сироватці крові, мкат/л		в печінці, мкат/кг		в сироватці крові, мг/л	
	4-та доба	7-ма доба	4-та доба	7-ма доба	4-та доба	7-ма доба
Інтактні	0,26± 0,01		0,36± 0,02		36,00± 1,06	
Уражені	0,15± 0,01*	0,14± 0,01*	0,30± 0,01	0,32± 0,02	24,10± 0,68*	30,30± 0,55*
Ліковані	0,20± 0,01**	0,22± 0,02**	0,34± 0,02	0,35± 0,02	28,50± 0,27**	33,30± 0,43**

Таблиця 3. Активність АлАТ в сироватці крові (мкмоль/л·год) та печінці (мкмоль/кг·год), тварин, уражених CCl_4, після введення екстракту бруньок обліпихи крушиновидної (M±m; n = 6)

Група тварин	Показник			
	активність АлАТ			
	в сироватці крові, мкмоль/л·год		в печінці, мкмоль/кг·год	
	4-та доба	7-ма доба	4-та доба	7-ма доба
Інтактні	0,26± 0,01		0,68± 0,01	
Уражені	0,43± 0,01*	0,42± 0,03*	0,85± 0,01*	0,85± 0,04*
Ліковані	0,31± 0,01**	0,27± 0,01**	0,73± 0,01**	0,72± 0,02**

У печінці досліджуваних тварин на 4-ту та 7-му доби відмічено зростання активності АлАТ в 1,3 раза в порівнянні зі здоровими тваринами (табл. 3). Відмічене зростання активності даного ферменту в сироватці крові значно перевищує її активність у печінці. Це пов'язано, ймовірно, з токсичним впливом на печінку тетрахлорметану. Ушкоджена печінка не спроможна синтезувати необхідну кількість ферментів, а ті, що знаходились в ній, внаслідок пошкодження гепатоцитів потрапили в сироватку крові і ми відмітили значну їх активність саме в ній.

Після введення екстракту чоловічих бруньок обліпихи крушиновидної активність АлАТ в сироватці крові уражених тварин знизилася на 40 % на 4-ту добу експерименту та на 55 % на 7-му добу, достовірні зміни відмічено в обох добах дослідження (p_1<0,05). У печінці зміни активності АлАТ були достовірними (p_1<0,05) протягом всього експерименту.

Висновок. В експерименті доведено, що екстракт чоловічих бруньок обліпихи крушиновидної проявляє антиоксидантні, гепатопротекторні властивості, знижуючи високий вміст продуктів ліпопероксидації в уражених тварин уже на початкових стадіях цього процесу, а також приводить до нормалізації активності антиоксидантних ферментів, що може бути використано при виготовленні лікарських засобів з цієї рослинної сировини.

Перспективи подальших досліджень. Проведені дослідження дають змогу розробити технологію та виготовити нові лікарські засоби з бруньок обліпихи крушиновидної, які б проявляли антиоксидантні та гепатопротекторні властивості.

ЛІТЕРАТУРА

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1: Общие методы анализа / МЗ СРСР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 336 с.

2. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідах // Експерим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108-109.

3. Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Издательство Ленинград ун-та, 1982. – 272 с.

4. Колб В.Г., Камишников В.С. Визначення активності церулоплазміну в крові // В кн.: Клиническая биохимия. – Минск: Беларусь, 1976. – С. 216–220.

5. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16 – 19.

6. Reitman S., Frankel S. Am. J. Clin. Pathol., 1957. – Vol. 28. – p. 56.

A STUDY OF ANTIOXIDATIVE AND HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES OF THE MASCULINE SEA-BUCKTHORN'S BUDS EXTRACT ON THE MODEL OF ACUTE TETRACHLORMETAN INDUCTED HEPATITIS

V.P. Pyda, L.S. Fira

Ternopil State Medical University by I.Ya. Horbachevsky

SUMMARY. In the article the results of research work of the masculine sea-buckthorn buds' thick alcoholic 10 % extract have been performed. The introduction of 1 ml of this extract per day in the case of acute tetrachlormetan hepatitis has been found usefull because the results demonstrate the positive effect on the processes of the lipid peroxydation and indices of the antioxydant system of the rats.

KEY WORDS: sea-buckthorn, the masculine sea-buckthorn buds' thick alcoholic 10 % extract, tetrachlormetan hepatitis.