

*Н.П.ГРИГОР'ЄВА, канд. біол наук, доц., Н.В.ДАВИДОВА, канд. мед. наук,
І.Ф.МЕЩИШЕН, д-р біол. наук, академік АН України,
І.М.ЯРЕМІЙ, канд. біол наук, доц.*

Буковинський державний медичний університет

КОМБІНОВАНА ДІЯ НАСТОЯНКИ ЕХІНАЦЕЇ ТА ЕТОНІЮ НА СТАН ГЛУТАТІОНОВОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ

Ключові слова: вільнорадикальне окиснення, глутатіонова система, настоянка ехінацеї, етоній, токсичний гепатит, щури

Активация процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) є одним з провідних патогенетичних факторів розвитку більшості патологій шлунково-кишкового тракту та гепатобіліарної системи.

Метаболізм усіх лікарських препаратів відбувається в печінці. Прогресування хронічних захворювань печінки вимагає вивчення молекулярних механізмів пошкодження мембран гепатоцита. Модельною системою токсичного гепатиту є ураження гепатоцитів та інших органів чотиріхлористим вуглецем [2]. Отруєння експериментальних тварин цим ксенобіотиком за морфологічною характеристикою і біохімічними показниками близьке до гострих ушкоджень печінки різноманітної етіології у людини [7]. За клінічною картиною хімічні ушкодження печінки практично не відрізняються від вірусного гепатиту.

Препарати лікарських рослин містять в оптимальних кількостях біологічно активні речовини, що забезпечує можливість їх використання для профілактики та комплексної терапії вільнорадикальних патологій [11]. Четвертинні амонієві сполуки мають мембраностабілізуючий та гемолітичний ефект, антимікробну та антиоксидантну активності, є ефективними для корекції активності ферментів за умов експериментального токсичного гепатиту, виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки [4].

Метою даного експериментального дослідження було вивчення впливу поєднаної дії настоянки ехінацеї пурпурової та етонію на стан глутатіонової системи печінки щурів за умов експериментального токсичного гепатиту.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 150 ± 10 г. Тварини утримувались на стандартному раціоні віварію з вільним доступом до їжі та води.

Експериментальний токсичний гепатит у щурів викликали шляхом дворазового (через день) внутрішньошлункового введення тваринам 50 % олійного розчину тетрахлорметану з розрахунку 0,25 мл на 100 г маси [4].

Настоянку ехінацеї пурпурової (1:5) вводили тваринам, які попередньо голодували впродовж 12 год, внутрішньошлунково в дозі 0,25 мл/кг маси, етоній у комбінації з настоянкою — в дозі 5 мг/кг. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 24 год після останнього введення препарату.

У постядерному супернатанті 5 % гомогенатів печінки визначали вміст малонового альдегіду (МА) за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [6], вміст

окисномодифікованих білків (ОМБ) — за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином [5], вміст глутатіону відновленого (ГВ) — за методом О.В.Травіної [8] та ферментів його обміну — глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) — за методом Корнберга і Хорекера в модифікації Ю.Л.Захар'їна [3] (виражали в нмолях утвореного за 1 хв відновленого нікотинаміддинуклеотидфосфату (НАДФН) на 1 мг білка), глутатіонредуктази (ГР) — за методом Е.Біатлер, [9] (виражали у нмоль НАДФН, використаного в реакції, за 1 хв на 1 мг білка) та глутатіон-S-трансферази (Г-S-T) — за методом Х.Хабіг, М.Пабст і В.Якобі [10] (виражали у нмоль/хв · мг білка).

Дослідні тварини були поділені на групи: I — контроль; II — тварини, інтоксиковані тетрахлорметаном; III — тварини, яким після інтоксикації тетрахлорметаном вводили настоянку ехінацеї (0,25 мл/кг); IV — тварини, яким після інтоксикації тетрахлорметаном вводили настоянку ехінацеї (0,25 мл/кг) та етоній у дозі 5 мг/кг. Біохімічні показники в постядерному супернатанті гомогенату печінки дослідних груп тварин визначали в динаміці на 5-ту та 7-му добу після відтворення експериментальної моделі та порівнювали з відповідними показниками контрольної групи тварин. Одержані результати обробляли статистично з використанням t-критерію достовірності Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Інтоксикація тварин тетрахлорметаном супроводжувалась посиленням процесів вільнорадикального окиснення та активацією глутатінової системи в печінці тварин (табл. 1, 2).

Так, вміст окисномодифікованих білків у печінці тварин зріс у 1,9 раза, малонового альдегіду — в 1,7 раза, відновленого глутатіону — на 52 % порівняно з тваринами контрольної групи. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази на п'ятий день експерименту зросла на 35 %, а глутатіон-S-

Таблиця 1

Результати вивчення комбінованої дії настоянки ехінацеї пурпурової (0,25 мл/кг) та етонію (5 мг/кг) на стан окиснювальних процесів печінки щурів за умов експериментального токсичного гепатиту ($M \pm m$; $n = 4$)

Умови досліджу		Досліджувані показники	
		ОМБ, нмоль/мг білка	МА, мкмоль/г тканини
Контроль (I)		27,7±1,68	34,6±2,37
5-та доба	Тетрахлорметан (II)	54,2±3,71*	61,3±2,97*
	Тетрахлорметан + настоянка ехінацеї (III)	42,0±2,06*	47,5±2,97*
	Тетрахлорметан + настоянка ехінацеї + розчин етонію (IV)	38,0±2,37*	39,6±1,97
7-ма доба	Тетрахлорметан (II)	43,4±2,28*	57,7±2,40*
	Тетрахлорметан + настоянка ехінацеї (III)	33,0±2,06	43,4±2,57*
	Тетрахлорметан + настоянка ехінацеї + розчин етонію (IV)	28,9±2,31	29,3±3,51

* Вірогідність різниці показників контрольної та дослідної груп ($p \leq 0,05$).

Таблиця 2

Результати вивчення показників глутатіонової системи печінки щурів за умов експериментального токсичного гепатиту і введення настоянки ехінацеї пурпурової (0,25 мл/кг) та етонію (5 мг/кг) ($M \pm m$; $n = 4$)

Умови досліджу		Досліджувані показники			
		ГВ, мкМ/г тканини	ГР, нМ/хв · мг білка	Г-6-ФДГ, нМ/хв · мг білка	Г-S-T, нмоль/хв · мг білка
Контроль (I)		6,9 ± 0,48	3,2 ± 0,23	4,9 ± 0,34	76,7 ± 2,62
5-та доба	Тетрахлорметан (II)	10,5 ± 0,78*	3,5 ± 0,41*	6,7 ± 0,68*	65,1 ± 2,570*
	Тетрахлорметан + настоянка ехінацеї (III)	9,3 ± 0,38*	3,4 ± 0,16	7,0 ± 0,24*	54,5 ± 2,460*
	Тетрахлорметан + настоянка ехінацеї + розчин етонію (IV)	8,6 ± 0,35*	3,4 ± 0,12	5,6 ± 0,44*	62,6 ± 2,346*
7-ма доба	Тетрахлорметан (II)	8,4 ± 0,27*	3,5 ± 0,34*	5,8 ± 0,12*	68,8 ± 3,396*
	Тетрахлорметан + настоянка ехінацеї (III)	8,2 ± 0,61	3,0 ± 0,10	5,1 ± 0,38	70,6 ± 2,406*
	Тетрахлорметан + настоянка ехінацеї + розчин етонію (IV)	7,7 ± 1,25	3,3 ± 0,16	4,7 ± 0,67	67,6 ± 2,65*

*Вірогідність різниці контрольної та дослідних груп тварин за досліджуваним показником, $p \leq 0,05$.

трансферази зменшилась на 18 % порівняно з показниками контролю (табл. 2). Ці дані свідчать про посилення процесів вільнорадикального окиснення та декомпенсацію системи антиоксидантного захисту печінки щурів внаслідок інтоксикації.

Рівень відновленого глутатіону підтримується як синтезом *de novo*, так і відновленням окисненого глутатіону глутатіонредуктазою. Нами показано (табл. 2), що експериментальний токсичний гепатит супроводжувався зростанням активності глутатіонредуктази на 11 % на 5-ту добу порівняно з контролем. Паралельно відбувалося підвищення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази печінки щурів, що забезпечувало утворення НАДФН, необхідного для відновлення глутатіону глутатіонредуктазою, поряд із пригніченням його використання в глутатіон-S-трансферазній реакції (табл. 2).

Як було показано раніше [1], настоянка ехінацеї пурпурової має антиоксидантні властивості, стимулює активність ферментів антиоксидантного захисту. Одноразове введення етонію в концентрації 10 мг/кг стимулює активність ферментів регенерації глутатіону у печінці щурів — глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (на 20 %) та глутатіонредуктази (на 22,7 %) [4].

На 5-ий день введення настоянки ехінацеї пурпурової тваринам на фоні отруєння тетрахлорметаном призвело до зниження вмісту відновленого глутатіону в печінці щурів порівняно з інтоксикованими тваринами, проте його вміст у печінці залишався вищим від контролю на 35 %. На 7-му добу введення настоянки вміст ГВ у печінці достовірно не відрізнявся від його рівня у тварин контрольної групи.

Комбіноване введення настоянки ехінацеї пурпурової (0,25 мл/кг) та етонію (5 мг/кг) тваринам, інтоксикованим тетрахлорметаном, має різноманітний вплив на стан глутатіонової системи печінки. Так, на 5-ий день введення препаратів активність глутатіонредуктази досягла показників контрольної групи, на 7-му добу введення — у печінці тварин нормалізувався вміст відновленого глутатіону, а активність глутатіон-S-трансферази не змінилася порівняно з інтоксикованими тваринами (табл. 2). Разом з тим, комбіноване введення настоянки ехінацеї пурпурової та етонію за умов інтоксикації щурів тетрахлорметаном пригнічувало окиснювальні процеси в печінці. Так, рівень малонового альдегіду в печінці нормалізувався на 5-ту добу введення препаратів, а вміст окисномодифікованих білків — на 7-ий день експерименту (табл. 1). Комбіноване введення препаратів рослинного походження та етонію виявилось ефективним за умов вільнорадикальної патології (токсичного гепатиту). Можливо, це пов'язано як із впливом антиоксидантів настоянки, що діють на першу ланку захисту, так і активацією ферментних систем четвертинною амонієвою сполукою — етонієм.

Отже, дія настоянки ехінацеї пурпурової (0,25 мл/кг) та етонію (5 мг/кг) при сумісному введенні тваринам на фоні експериментального токсичного гепатиту є значно ефективнішою для нормалізації більшості досліджуваних показників печінки щурів, ніж дія самого екстракту.

Висновки

1. Експериментальний токсичний гепатит, викликаний внутрішньошлунковим введенням тетрахлорметану, характеризується посиленням пероксидного окиснення ендогенних ліпідів та окисної модифікації білків печінки.

2. Як настоянка ехінацеї пурпурової (0,25 мл/кг, розведення 1:5), так і етоній (5 мг/кг) проявляють виражену антиоксидантну дію за рахунок активації глутатіонової системи печінки.

3. Поєднане введення тваринам настоянки ехінацеї пурпурової та етонію на фоні експериментального токсичного гепатиту впродовж шести днів викликає нормалізацію показників глутатіонової системи.

1. Геруш І.В., Мецишен І.Ф. // Вісн. проблем біології та медицини. — 1998. — № 7. — С. 10—15.
2. Губский Ю.И., Юрженко Н.Н., Шаповал Г.С. // Укр. биохим. журн. — 1998. — Т. 70, № 3. — С. 128—134.
3. Захарьин Ю.Л. // Лаб. дело. — 1967. — № 6. — С. 327—330.
4. Мецишен И.Ф. Механизм действия четвертичных аммониевых соединений (этония, тиония, додефония и их производных) на обмен веществ в норме и патологии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — К., 1991. — 37 с.
5. Мецишен И.Ф. // Буковин. мед. вісн. — 1998. — Т. 2, № 1. — С. 156—158.
6. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — С. 66—68.
7. Сторожок Н.М., Гуреева Н.В., Крысин А.П. и др. // Хим.-фармац. журн. — 2002. — Т. 36, № 2. — С. 14—18.
8. Травина О.В. Руководство по биохимическим исследованиям. — М.: Медгиз, 1955. — 256 с.
9. Beutler E. // J. Clin. Invest. — 1969. — Vol. 48, № 11. — P. 1957—1965.
10. Habig H.W., Pabst M.J., Jacoby W.B. // J. Biol. Chem. — 1974. — Vol. 249, № 22. — P. 7130—7139.
11. Luper S. // Altern Med. Rev. — 1999. — Vol. 4, № 3. — P. 178—189.

Надійшла до редакції 08.11.2005.

Н.Ф.Григорьева, Н.В.Давыдова, И.Ф.Мещишен, И.Н.Яремий

КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ НАСТОЙКИ ЭХИНАЦЕИ И ЭТОНИЯ
НА СОСТОЯНИЕ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ КРЫС
ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

Ключевые слова: свободнорадикальное окисление, глутатионовая система, настойка эхинацеи, этоний, токсический гепатит, крысы

Показано, что совместное введение белым крысам настойки эхинацеи и этония на фоне экспериментального токсического гепатита в течение семи дней нормализует содержание малонового альдегида, окислительно-модифицированных белков и некоторые показатели глутатионовой системы печени.

N.P.Grygorieva, N.V.Davydova, I.F.Meshchyshen, I.M.Yaremiy

THE COMBINED ACTION OF TINCTURE OF ECHINACEA AND AETHONIUM ON THE
STATE OF THE GLUTATHIONE SYSTEM OF RAT'S LIVER IN CASE OF TOXIC HEPATITIS

Key words: free radical oxidation, glutathione system, tincture of echinacea, aethonium, toxic hepatitis, rat's

SUMMARY

It was demonstrated that joint administration of Echinacea tincture and aethonium to albino rat's during 7 days in case of toxic hepatitis normalized malonic aldehyde, oxidative modification of proteins contents and some indices of glutathione system of liver.