

СТАН ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ І АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ ТА ДІЇ НАСТОЙКИ ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ

І.В.Геруш

Буковинська державна медична академія

Ключові слова: пероксидне окислення ліпідів; антиоксидантна система; гострий токсичний гепатит; настойка ехінацеї пурпурової; каталаза

Вивчений вплив спиртової настойки ехінацеї пурпурової на стан оксидантної системи та активність каталази і супероксиддисмутази в печінці щурів при гострому токсичному гепатиті. Встановлено, що введення настойки ехінацеї пурпурової сприяє пригніченню процесів ПОЛ і стимуляції активності основних антиоксидантних ферментів. Показано, що настойка ехінацеї пурпурової має виражені антиоксидантні властивості, і її використання обумовлює позитивний коригуючий ефект щодо основних показників ферментативної антиоксидантної системи печінки при гострому токсичному гепатиті. Отримані результати висвітлюють нові етапи в механізмі дії настойки ехінацеї пурпурової і дозволяють рекомендувати її для подальшого вивчення при патології печінки в умовах експерименту та клініки.

Модельною системою токсичного гепатиту є uszkodження гепатоцитів та інших органів чотирихлористим вуглецем (CCl₄). CCl₄ — це мембранотропна отрута, яка руйнує біологічні мембрани як розчинник ліпідів і стимулює процеси вільнорадикального окислення ліпідів (ВРОЛ). Гепатотоксичність властива не тільки чотирихлористому вуглецю, а і його метаболітам. Метаболізм CCl₄ відбувається в мікосомах гепатоцитів і супроводжується утворенням вільних радикалів [7, 13].

Отруєння експериментальних тварин цим ксенобіотиком за морфологічною характеристикою і біохімічними показниками близьке до гострих uszkodжень печінки різної етіології у людини [7]. За клінічною картиною хімічні uszkodження печінки практично не відрізняються від вірусного гепатиту [11]. У зв'язку з особливостями молекулярних механізмів

дії тетрахлорметану на субклітинні мембрани гепатоцитів (мікросомальна активація, пероксидне окислення ліпідів як механізм порушення каталітичних властивостей мембранозв'язаних ферментів) токсичний (CCl₄) гепатит розглядають в ролі моделі молекулярної патології мембранних структур [7]. Порушення структури і функцій мембран, в свою чергу, є ключовим внутрішньоклітинним процесом при розвитку різних за етіологією патологічних процесів.

Тому сьогодні доцільним є пошук та дослідження препаратів з антиоксидантними і мембранопротекторними властивостями для їх подальшого використання у комплексному лікуванні захворювань гепатобілярної системи. Перспективним у цьому відношенні є вивчення лікарських засобів з ехінацеї пурпурової. Препарати з ехінацеї широко використовуються при лікуванні різноманітних за-

хворювань як імуномодулюючий, протизапальний, ранозагоючий, біостимулюючий та протиінфекційний засіб [14]. Настойка ехінацеї пурпурової чинить антиоксидантну дію, пригнічуючи інтенсивність процесів ПОЛ [4, 5].

У зв'язку з цим метою нашого дослідження було вивчення впливу спиртової настойки ехінацеї пурпурової на стан ПОЛ та активність ключових ферментів антиоксидантного захисту — супероксиддисмутази і каталази в печінці білих щурів за умов гострого токсичного гепатиту.

Матеріали та методи

Досліди проводили на білих безпородних щурах масою 140-160 г. Токсичний гепатит викликали повторним внутрішньошлунковим введенням CCl₄ з розрахунку 0,25 мл/100 г маси тіла щурів у вигляді 50% олійного (оливкового) розчину [8, 13]. Настойку сухого коріння ехінацеї пурпурової (1:10 на 70% спирт) вводили щоденно інтрагастрально в дозі 0,25 мл/кг. Контрольну

Таблиця

Вплив настойки ехінацеї пурпурової на стан пероксидного окислення ендogenous ліпідів і антиоксидантної системи печінки щурів за умов токсичного гепатиту (M±m, n=10-25)

Групи тварин/ Умови досліджу	Досліджувані показники (одиниці виміру)						
	ІПЗ (E220/г тканини)	ДК (E232/г тканини)	КД і СТ (E278/г тканини)	МДА (мкмоль/г тканини)	СОД (Од/мг білка · хв.)	Каталаза (мкмоль/мг білка · хв.)	
Контрольна	33,31±0,65	22,81±0,40	9,74±0,24	42,26±1,84	0,52±0,01	185,9±2,8	
4 день	II-гепатит	55,50±1,14**	33,34±0,76**	20,24±0,53**	102,40±3,34**	0,25±0,01**	118,5±8,2**
	III-гепатит+ ехінацея	45,22±0,83**	27,98±0,86**	16,35±0,61**	71,24±3,41**	0,39±0,01**	147,3±6,9**
7 день	II-гепатит	45,55±1,34**	30,15±0,96**	18,00±0,65**	84,42±3,58**	0,41±0,02*	143,3±5,9**
	III-гепатит+ ехінацея	35,34±0,86	24,57±0,82	11,70±0,71*	50,31±2,47*	0,48±0,03	165,3±4,3**
14 день	II-гепатит	39,18±1,08**	27,71±1,09**	11,71±0,38**	61,24±2,18**	0,49±0,02	173,0±3,7*
	III-гепатит+ ехінацея	32,53±0,74	22,68±0,65	9,56±0,23	41,99±1,71	0,51±0,02	190,2±5,3

Примітка: * — вірогідні зміни у порівнянні з інтактними тваринами (P<0,05); ** — вірогідні зміни у порівнянні з інтактними тваринами (P<0,01).

групу тварин утримували в стандартних умовах виварію. Дослідні тварини були поділені на дві групи: I — тварини з гепатитом і неліковані; II — тварини з гепатитом, що отримували настойку ехінацеї пурпурової. Досліджували печінку тварин I і II груп у динаміці через 3, 7 та 14 днів після останнього введення CCl₄ і порівнювали з показниками тварин інтактної групи.

Тварин забивали декапітацією під легким ефірним наркозом. Швидко виймали печінку, висушували фільтрувальним папером, після чого заморожували, подрібнювали ножицями і на холоді готували 5% гомогенат, використовуючи 50-мілімолярний тріс-НСІ буфер (рН 7,5). Гомогенат центрифугували протягом 10 хв. при швидкості 3000 об./хв. Визначали вміст молекулярних продуктів ПОЛ: сполук з ізольованими подвійними зв'язками (ІПЗ), дієнових кон'югатів (ДК), кетодієнів та спряжених трієнів у центрифугаті печінки [2, 12] та малонового діальдегіду (МДА) за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [1]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за її здатністю інгібувати відновлення ніротетразолію синього [15, 16], а активність каталази — за від-

ним методом [9]. Одержані експериментальні дані обробляли статистично на комп'ютері, використовуючи t-критерій Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

Було встановлено, що вже в ранні строки отруєння CCl₄ в печінці щурів спостерігаються значні біохімічні зміни, пов'язані з порушенням структури і функцій клітинних мембран гепатоцитів. Через 3 доби після дворазового введення чотирьохлористого вуглецю в печінці щурів різко підвищувався вміст молекулярних продуктів ПОЛ (див. табл.). Кількість сполук з ізольованими подвійними зв'язками збільшувалась на 66,5%, дієнових кон'югатів — на 46,2%, кетодієнів і спряжених трієнів — на 107,8% у порівнянні з показниками у тварин контрольної групи. Але найбільш суттєве зростання відмічене відносно концентрації кінцевого продукту ПОЛ — малонового діальдегіду, вміст якого в печінці зростав на 142,3% у порівнянні з контролем.

У відповідь на прискорення процесів ПОЛ при токсичному гепатиті в печінці знижувалась активність основних ферментів, які беруть участь у інактивації

реактивних інтермедіаторів кисню. Так наприклад, активність супероксиддисмутази в печінці знижувалась на 51,9%, а каталази — на 36,3% в порівнянні з показниками інтактних тварин, що свідчить про ослаблення ферментативного захисту клітин від реакцій ВРОЛ. Можливо, збільшення концентрації продуктів ПОЛ обумовлює гальмування активності СОД внаслідок необоротного відновлення іонів міді в активному центрі або ж внаслідок окислення в ньому деяких функціональних груп. Також імовірно, що токсичні метаболіти біотрансформації CCl₄ викликають конформаційні зміни молекули ферменту, що призводить до втрати ним своїх функціональних властивостей [6]. СОД — ключовий фермент антиоксидантного захисту, і таке зниження його активності може спричиняти ще більше підсилення ВРОЛ внаслідок нагромадження супероксидного аніон-радикалу, який лежить в основі всіх інших активних форм кисню. Як відомо [10], активність СОД суттєво корелює з активністю каталази, так як остання розщеплює продукт супероксиддисмутазної реакції — пероксид водню. Тому активність останньої, як і активність СОД, також

знижувалась. Причиною зниження активності каталази може бути викликана токсином деградація рибосом, які відповідають за синтез ферменту.

Пероральне введення з лікувальною метою тваринам з гострим токсичним гепатитом настойки ехінацеї пурпурової протягом 4-х днів дещо зменшувало в печінці вміст молекулярних продуктів ПОЛ. Разом з тим, ці показники залишалися достовірно вищими в порівнянні з показниками контрольної групи тварин. Під впливом препарату відмічалось також суттєве зниження ТБК — активних продуктів у печінці (на 30,4% в порівнянні з показниками нелікованих тварин), але їх концентрація була достовірно вищою, ніж у контролі. Тридобове введення настойки ехінацеї сприяло підвищенню активності СОД та каталази в печінці щурів, уражених гепатитом.

На 7-му добу експерименту в печінці нелікованих тварин залишався високим вміст молекулярних продуктів ПОЛ і МДА, хоча ці показники були дещо меншими, ніж в попередній термін дослідження. Дещо підвищувалася й активність СОД та каталази у печінці в порівнянні з попередніми строками, але вони залишались достовірно нижчими в порівнянні з показниками інтактної групи тварин.

Введення експериментальним тваринам настойки ехінацеї пурпурової протягом 7-ми днів приводило до зменшення у печінці щурів вмісту сполук з ІПЗ, ДК і кетодієнів та спряжених трієнів

на 22,4%, 18,5% і 35% відповідно, а вмісту МДА — на 40,4% у порівнянні з показниками нелікованих тварин. Лікування тварин досліджуваним препаратом сприяло значно швидшій нормалізації активності антиоксидантних ферментів у печінці щурів у порівнянні з тваринами, яких не лікували. Так, під дією настойки ехінацеї в печінці щурів вже на 7 день експерименту активність СОД суттєво зростала і достовірно не відрізнялася від показників контролю, а активність каталази підвищувалась на 15,4% у порівнянні з показниками нелікованих тварин.

На 14 добу експерименту рівень молекулярних продуктів ПОЛ та малонового діальдегіду в печінці нелікованих тварин значно зменшився у порівнянні з попередніми строками, але все ще достовірно відрізнявся від показників контрольної групи. Намітилася тенденція до нормалізації активності ферментів, що вивчалися.

Під впливом спиртової настойки ехінацеї пурпурової повністю нормалізувалися процеси ПОЛ у печінці дослідних тварин, про що свідчить зниження вмісту сполук з ізольованими подвійними зв'язками, дієнових кон'югатів, кетодієнів і спряжених трієнів та ТБК-активних продуктів до показників контрольної групи тварин. Двотижневе введення препарату сприяло повній нормалізації активності СОД і навіть незначному зростанню активності каталази. Лікування тварин протягом двох тижнів спиртовою настійкою ехінацеї стабілізувало перебіг процесів ПОЛ в гепатоци-

тах і сприяло повній нормалізації активності ферментів антиоксидантної захисної системи.

Таким чином, інтоксикація тварин чотирьохлористим вуглецем призводить до накопичення в тканинах молекулярних продуктів ПОЛ і викликає глибокі зміни у функціонуванні ензимної антиоксидантної системи. Введення тваринам спиртової настойки ехінацеї пурпурової на фоні інтоксикації тетрахлорметаном мало виразний позитивний вплив на стабілізацію функціонального стану печінки. Про це свідчить більш рання нормалізація процесів ПОЛ і активності ферментів антиоксидантної захисної системи в порівнянні з показниками нелікованих тварин. Така дія настойки ехінацеї пурпурової обумовлена наявністю в ній біологічно активних речовин (флавоноїдів, полісахаридів, алкалоїдів, каротиноїдів, макро- та мікроелементів), здатних інгібувати реакції БРОЛ та стимулювати можливості антиоксидантних систем організму, що приводить до зменшення ушкодження мембран продуктами ПОЛ і нормалізації їх функцій [4].

ВИСНОВКИ

Застосування настойки ехінацеї пурпурової з метою корекції порушень оксидантно-антиоксидантного гомеостазу організму при токсичному гепатиті показало, що даний препарат має високу ефективність і виражені антиоксидантні властивості, що поряд з його мембраностабілізуючою здатністю лежить в основі позитивного терапевтичного ефекту при даній патології.

ЛІТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. *Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.* — М.: Наука, 1972. — 252 с.
2. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. // *Вопр. мед. химии.* — 1989. — Т. 35, Вып. 1. — С. 127-131.
3. Геруш І.В., Мецишен І.Ф. // *Матер. наук. конф., присвяченої 120-річчю заснування Чернівецького університету.* — Чернівці, 1995. — Т. 3. — С. 13.
4. Геруш І.В., Мецишен І.Ф. // *Ліки.* — 1997. — №6. — С. 27-30.
5. Геруш І.В., Мецишен І.Ф. // *Матер. Междунар. науч. конф. "Изучение и использование эхинацеи".* — Полтава, 1998. — С. 115-118.

6. Гонский Я.И., Корда М.М., Клищ И.Н., Фира Л.С. //Пат. физиол. — 1996. — №2. — С. 43-45.
7. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. — К.: Здоров'я, 1989. — 168 с.
8. Губский Ю.И. Молекулярные механизмы поврежденных мембран гепатоцитов при экспериментальном поражении печени: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. — К., 1983. — 38 с.
9. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. //Лаб. дело. — 1998. — №1. — С. 16-19.
10. Логинов А.С., Матюшин Б.Н. //Вестник РАМН. — 1994. — №5. — С. 3-7.
11. Маждраков Г., Попхристов П. Лекарственная болезнь. — София: Медицина и физкультура, 1976. — 622 с.
12. Печенюк І.В. Механізм дії спиртового екстракту бджолиного пилку на обмін речовин у нормі та при експериментальній гастроентерологічній патології: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — К., 1993. — 21 с.
13. Скакун Н.П., Писько Г.Т., Мосейчук И.П. Поражение печени четыреххлористым углеродом. — М.: НИИТЭХИМ, 1989. — 107 с.
14. Яковлева Н.Ю., Войтенко Г.М., Ласица О.І., Наумова М.І. //Ліки. — 1996. — №2. — С. 118-123.
15. Fried R. //Biochemie. — 1975. — Vol. 57, №3. — P. 657-660.
16. Nashikimi N., Arrajik R., Jagi K. //Biochem. and Biophys. Res. Communs. — 1972. — Vol. 46, №2. — P. 849-854.

Адреса для листування: 274031, м. Чернівці,
Театральна пл., 2. Тел. (03722) 3-52-53, 2-57-29.
Буковинська державна медична академія

Надійшла до редакції 06.11.1998 р.