

ДОКЛІНІЧНА ОЦІНКА АНТИТОКСИЧНИХ І МЕМБРАНОСТАБІЛІЗУЮЧИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТУ БУРКУНУ В КРОЛІВ РІЗНОГО ВІКУ

Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України, Одеса

Відповідно до медичної статистики, сьогодні понад 60 % населення зрілого і літнього віку страждають на серцево-судинні захворювання, що перебігають, як правило, на фоні інших супровідних хронічних хвороб [2].

Однією з основних причин кардіологічної патології медицини вважають погіршення екологічних умов і зростання психо-емоційного напруження. Найчастіше це приводить до розвитку стану хронічного стресу, що викликає різке зниження компенсаторно-приспосувальних можливостей організму, більш ранній розвиток вікових змін. Особливо відчутні ці зміни в осіб літнього віку.

Сучасні уявлення про механізми старіння дозволяють науково обґрунтовувати призначення геріатричних засобів [12]. Пошук ефективних препаратів для профілактики та лікування хронічних захворювань, створення лікарських засобів, за допомогою яких можна запобігати хворобі або послабити процес прискореного старіння організму, — важливе завдання геріатричної фармакології [1].

Практичний інтерес становлять лікувальні препарати з рослинної сировини, що характеризуються багатим хімічним складом, який дозволяє комплексно впливати на весь організм, не порушуючи природного перебігу фізіологічних процесів і тонко регулюючи патологічні зрушення. Експериментальні дослідження та клінічне застосування лікарських засобів рослинного похо-

дження свідчать про велику цінність при лікуванні багатьох, особливо хронічних, захворювань, коли необхідне тривале їх застосування, іноді протягом усього життя, без небезпечних побічних явищ [13].

У лабораторії фармакології і тканинної терапії Інституту ім. В. П. Філатова розроблено технологію одержання водного екстракту з трави буркуну лікарського (Патент 3544, 15.11.2004. Бюл. № 11), а також метод ідентифікації препарату (якісна й кількісна оцінка) за сукупністю кумаринів [10].

Експериментальні дослідження, проведені на білих щурах лінії Вістар при моделюванні гострого токсичного ураження печінки, показали, що профілактичне введення екстракту буркуну (ЕБ) щурам виявляє захисну дію на процеси цитолізу гепатоцитів: сприяє зменшенню коефіцієнта маси печінки, знижує активність маркерних ферментів — аланінамінотрансферази й аспаратамінотрансферази (АЛТ і АСТ); зменшує вміст малонового діальдегіду (МДА) і дієнових кон'югатів (ДК) у крові. Гепатопротекторні властивості препарату, ймовірно, пов'язані з дією фенольних сполук ЕБ як інгібіторів вільнорадикальних реакцій, що викликають загальне уповільнення процесу перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Під впливом препарату поліпшується детоксикаційна функція печінки — тривалість гексеналового сну вірогідно зменшується на 20 % [9].

Це підтверджують отримані нами дані про вплив ЕБ на

ультраструктуру гепатоцитів інтактних кроликів. Встановлено, що курсове введення ЕБ приводить до посилення білоксинтезувальної та енергоутворювальної функцій у клітинах печінки, а також до нагромадження в них глікогену, що сприяє підвищенню резистентності гепатоцитів [8].

Оскільки при активації ПОЛ важливе значення надається фізіологічному стану еритроцитів та їх мембран, для нас становило інтерес вивчення впливу ЕБ на резистентність еритроцитів у віковому аспекті.

Метою даної роботи було вивчення потенційних анти-токсичних і мембраностабілізуючих властивостей ЕБ у кролів різного віку.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведені на 30 кролях породи шиншила масою від 3,6 до 6,0 кг, поділені на 2 вікові групи (контрольна й дослідна): молодих (вік — 1 рік) і старих (вік — 7 років). Дослідним тваринам протягом 30 днів вводили підшкірно ЕБ дозою 0,5 мл/кг маси тіла. Кролі контрольної групи одержували еквівалентний об'єм фізіологічного розчину. Для оцінки поглинальної функції печінки використовували бромсульфалеїнову пробу. Принцип методу полягає в такому: барвник, який надходить у кровотік, зв'язується з альбуміном плазми, потім передається рецепторним білкам печінкових клітин. Атоми бромю, що входять до складу фарби, реагують з



**Вплив курсового введення екстракту буркуну
на детоксикаційну функцію печінки кролів різного віку
за показниками бромсульфалеїнової проби, M±m**

Група тварин	Затримки бромсульфалеїну	
	до початку дослідження	після завершення дослідження
А. Вік кролів — 1 рік		
Контроль (фіз. розчин)	14,5±0,2	14,7±0,8
Дослід ЕБ	15,3±1,1	11,7±1,1*
Б. Вік кролів — 7 років		
Контроль (фіз. розчин)	34,3±1,4	33,1±1,6
Дослід ЕБ	35,8±2,2	22,3±0,9*

Примітка. * — Вірогідність порівняно з вихідним рівнем (P<0,02).

SH-групами глутатіону, далі передаються цистеїну у вигляді парної сполуки, разом з яким виводяться з жовчю.

Бромсульфалеїнову пробу за методикою В. В. Меньшикова [3] проводили до початку дослідження і після його завершення. Відсоток затримки бромсульфалеїну в крові розраховували через 45 хв після введення фарби за формулою:

$$X = (E3 - E1) \cdot 100 : E2 - E1,$$

де X — відсоток затримки бромсульфалеїну; E1 — екстинкція проби до введення фарби (проба 1); E2 — екстинкція проби 2 — початкова концентрація через 3 хв після введення бромсульфалеїну, прийнята за 100 %; E3 — екстинкція проби 3 — концентрація бромсульфалеїну через 45 хв.

Перекисну [15] й осмотичну резистентність еритроцитів (ПРЕ і ОРЕ) [6] визначали до початку експерименту, через 2 тиж і після закінчення курсу введення ЕБ. При статистичній обробці застосовували критерій Уїлкоксона.

Результати дослідження та їх обговорення

Однією з основних функцій печінки є здатність знешкоджувати токсичні речовини, що надходять до організму. Бромсульфалеїнова проба допомагає визначити детоксикаційну функцію печінки, кількісно оцінити величину очищення (кліренсу). При найрізноманітніших захворюваннях гепатобіліарної системи інтенсивність зв'язування барвника печінковими клітинами та його видалення з крові різко знижується [7].

Результати доклінічного дослідження показників бромсульфалеїнової проби на фоні курсового введення ЕБ кролям подано у табл. 1.

Згідно з наведеними даними, у контрольних групах тва-

рин значних змін не спостерігалось (14,5 % затримки бромсульфалеїну на початку експерименту і 14,7 % — після його закінчення). Через 30 днів від початку введення ЕБ у дослідній групі старих кролів відзначено зниження затримки бромсульфалеїну з 35,8 до 22,3 % (P<0,02): виведення фарби відбувалося в 1,6 рази швидше щодо вихідного рівня. У групі молодих кролів затримка бромсульфалеїну після курсового введення ЕБ становила 11,7 % при 15,3 % вихідного рівня (P<0,02), тобто у 1,3 рази прискорювалося виведення фарби порівняно з вихідними даними. Різниця між швидкостями виведення фарби у молодих і старих кролів до початку дослідження становила 2,3 рази, а після закінчення експерименту скоротилася до 1,9.

У первинних механізмах старіння неабияку роль відіграють внутрішньоклітинні зміни, що супроводжуються зниженням енергетичного мембранного потенціалу, порушеннями проникності мембран і взаємозв'язку між органами клітини, ослабленням окисних процесів [11; 14].

Порушення стабільності клітинних мембран пов'язане з посиленням процесів ПОЛ. При цьому в біліпідному шарі плазмолемі відбувається нагромадження ДК, що згодом

перетворюються в МДА, який «зшиває» молекули ліпідів і знижує проникність мембрани [11]. Внаслідок цього мембрана стає крихкою, порушуються процеси, пов'язані зі зміною її поверхні, значно знижується чутливість клітини до деяких гормонів, змінюється клітинна міграція тощо. До інтегральних тестів, що характеризують антиоксидантний статус організму, належать ОРЕ і ПРЕ.

У табл. 2 наведені результати впливу ЕБ на зміну показників ОРЕ.

Виявлено, що курсове введення ЕБ сприяє підвищенню ОРЕ. У групі молодих кролів діапазон ОРЕ збільшився: максимальний діапазон — 0,29 до 0,24 %; мінімальний — з 0,54 до 0,53 % NaCl.

У групі старих тварин, початок гемолізу зареєстрований при 0,55%-й концентрації NaCl, що супроводжувалося руйнуванням 20%-го еритроцитарного пулу. Повний гемоліз настав при 0,3%-й концентрації NaCl. Підвищення ОРЕ характеризувалося меншою кількістю одночасно зруйнованих клітин (10 %) у момент початку гемолізу при 0,53%-й концентрації NaCl, при цьому повний гемоліз відбувався при більш низькій концентрації NaCl (0,24%-й). Діапазон амплітуди розширився від 0,25 до 0,29, що відповідало показникам у молодих тварин.



Вплив курсового введення екстракту буркуну на осмотичну резистентність еритроцитів у кролів різного віку

Група тварин	Початок гемолізу						Повний гемоліз, конц. NaCl, %		
	Конц. NaCl, %			Процент гемолізу, M±m			Вихідний рівень	15 днів введення	30 днів введення
	Вихідний рівень	15 днів введення	30 днів введення	Вихідний рівень	15 днів введення	30 днів введення			
А. Вік кролів — 1 рік									
Контроль (фіз. розчин)	0,55	0,55	0,55	11,4±2,0	12,0±2,3	11,1±1,4	0,3	0,3	0,28
Дослід ЕБ	0,54	0,53**	0,53*	7,8±1,3	7,4±1,0	6,1±1,6	0,29	0,24**	0,24*
Б. Вік кролів — 7 років									
Контроль (фіз. розчин)	0,55	0,55	0,55	17,4±1,3	17,8±1,0	18,6±0,7	0,3	0,3	0,3
Дослід ЕБ	0,55	0,55	0,53**	19,9±1,4	12,9±1,4*	9,4±1,2**	0,3	0,24*	0,24*

Примітка. Вірогідність порівняно з вихідним рівнем: * — P<0,05; ** — P<0,02.

Таблиця 3

Вплив курсового введення екстракту буркуну на перекисну резистентність еритроцитів у кролів різного віку, M±m

Група тварин	Гемолізовані еритроцити, %		
	Вихідний рівень	15 днів введення	30 днів введення
А. Вік кролів — 1 рік			
Контроль (фіз. розчин)	11,4±0,5	10,9±1,2	10,7±0,7
Дослід ЕБ	11,7±0,7	8,7±0,7*	8,5±0,7*
Б. Вік кролів — 7 років			
Контроль (фіз. розчин)	20,5±0,8	20,2±0,8	19,8±0,8
Дослід ЕБ	21,3±0,5	13,0±1,6*	10,3±1,1*

Примітка. * — Вірогідність порівняно з вихідним рівнем (P<0,05).

При вивченні ПРЕ результати дослідження показали, що вихідний рівень перекисного гемолізу еритроцитів у старих кролів на 82 % вищий, ніж у молодих. Стійкість еритроцитів до перекисів після закінчення експерименту зросла в групі старих тварин удвічі, в групі молодих — у 1,4 разу щодо вихідного рівня, тобто різниця між ними скоротилася до 21 % (табл. 3).

Відомо, що при старінні організму збільшуються агрегаційна активність і жорсткість еритроцитів. Важливим механізмом зазначених проявів функціонального стану цих клітин є зміни ліпідного та жирокислотного складу їх мембран [4].

При оцінці ступеня клітинної резистентності необхідно вра-

ховувати, що клітини як кінцевий пункт складних адаптаційних реакцій не тільки відбивають загальний рівень опірності організму, але й забезпечують її [5].

Виходячи з цього, можна припустити, що підвищення ОРЕ і ПРЕ у дослідних кролів обох вікових груп свідчить про розвиток компенсаторної реакції, тобто активацію утворення нових еритроцитів, а також збільшення плинності ліпідного біошару та нормалізацію проникності еритроцитарних мембран.

Висновки

1. Доклінічне вивчення антиоксидантних властивостей ЕБ показало, що він підвищує детоксикаційну функцію печінки

молодих, а особливо, старих кролів.

2. Досліджено мембраностабілізуючу дію ЕБ: він збільшує діапазон функціональної стійкості еритроцитів (ОРЕ і ПРЕ), що сприяє підвищенню антиоксидантного статусу організму.

3. Одержані результати переконливо свідчать про необхідність подальшої клінічної апробації ЕБ у терапевтичній і геріатричній практиці як перспективного ефективного засобу для підвищення функціональної активності печінки при прискореному її старінні, а також при лікуванні гепатитів різної етіології.

ЛІТЕРАТУРА

1. Анисимов В. Н. Средства профилактики ускоренного старения (геропротекторы) // Успехи геронтологии. — 2000. — Вып. 4. — С. 55-74.
2. Корсун В. Ф., Ройзман С. А., Чуйко Т. В. Фитотерапия сердечно-сосудистых заболеваний. — М.: ПИК ВИНТИ, 2003. — 288 с.
3. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. проф. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1971. — С. 119-120.
4. Лишневская В. Ю., Дужак Г. В. Эритроциты при старении // Проблемы старения и долголетия: Тезисы 4-го Нац. конгр. геронтологов і геріатрів України. Київ, 11–13 жовтня, 2005 р. — Т. 14, прил. — 2005. — С. 157-158.



5. Меерсон Ф. З. Защитные эффекты адаптации и некоторые перспективы развития адаптационной медицины // Успехи физиолог. наук. — 1991. — Т. 22, № 2. — С. 52-89.

6. Руководство по клинической лабораторной диагностике / Под ред. М. А. Базарновой. — К.: Вища шк., 1982. — Ч. 2. — С. 48-49.

7. Руководство по клинической лабораторной диагностике / Под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1982. — С. 215-216.

8. Влияние экстракта донника на ультраструктуру гепатоцитов кроликов / Е. П. Сотникова, Н. Е. Думброва, Г. С. Фесюнова, Н. И. Молчанюк // Буковин. мед. вісник. — 2005. — Т. 9, № 4. — С. 193-196.

9. Сотникова Е. П., Лотош Т. Д., Фесюнова Г. С. Гепатозащитное

действие препарата экстракта донника и ФиБСа при экспериментальном токсическом гепатите // Нове в офтальмології: Тези наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 130-річчю з дня народження акад. В. П. Філатова (13 травня 2005, Одеса). — Одеса, 2005. — С. 54-55.

10. Сотникова О. П., Фесюнова Г. С., Котов А. Г. Ідентифікація і кількісне визначення суми кумаринів у водному екстракті з трави буркуну лікарського // Фармацевт. журнал. — 2005. — № 6. — С. 70-74.

11. Хавинсон В. Х., Морозов В. Г. Пептиды эпифиза и тимуса в регуляции старения. — СПб.: ИКФ «Фолиант», 2001. — 160 с.

12. Влияние длительного применения тканевых препаратов на показатели физической работоспо-

собности функционального возраста сердечно-сосудистой системы у людей с ускоренным типом старения / Д. Ф. Чеботарёв, О. В. Коркушко, В. Б. Шатило, Л. М. Соловей // Проблемы старения и долголетия. — 1998. — № 2. — С. 127-136.

13. Чекман И. С., Липкан Г. Н. Растительные лекарственные средства. — К.: ИТЭТ, 1993. — 384 с.

14. Чипенс Г. И., Фрейдлин И. С., Склярсов С. Н. Возникновение и эволюция пептидно-белковых биорегуляторов // Журнал эволюц. биохимии и физиологии. — 1987. — Т. 23, № 3. — С. 361-372.

15. Mino M. Studies on the factors influencing the hydrogen peroxide hemolysis test // J. Nutr. Sci. Vitaminol. — 1978. — Vol. 24. — P. 383-395.

УДК 612.332.7:615.27:612.092.9

О. В. Сторчило, В. К. Напханюк, О. А. Багірова

МОДУЛЯЦІЯ ТРАНСПОРТНОЇ АКТИВНОСТІ ТОНКОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПРЕПАРАТОМ «ЛЕГАЛОН» І ЕКСТРАКТОМ ПЛОДІВ РОЗТОРОПШІ ПЛЯМИСТОЇ

Одеський державний медичний університет

Останнім часом здійснюються спроби визначення меж біологічно активних домішок (БАД) у терапії та корекції метаболічних порушень. Так, наприклад, вважається, що вони, на відміну від патентованих фармацевтичних препаратів, можуть бути використані як додаткове джерело харчових і біологічно активних речовин з метою нормалізації обмінних процесів при різних функціональних станах (без порушення структури цих процесів), а також для поліпшення функціонального стану органів і систем організму. Крім того, БАД сприяють відновленню нормальної мікрофлори шлунково-кишкового тракту, ентеросорбції та за допомогою цих механізмів — зниженню ризику захворюваності завдяки

нормалізації роботи імунної системи. Однак сьогодні неможливо провести чітку межу між БАД і патентованими препаратами, оскільки не можна точно визначити, де закінчується коригувальна або загальнозміцнювальна дія й починається терапевтичний ефект. Так, неможливо розмежувати, доки вважати вплив поглинених перорально ненасичених жирних кислот нутритивним і коригувальним, а з якого моменту — терапевтичним [1; 2].

Існує також низка проблем, з якими стикаються виробники БАД і патентованих фармацевтичних засобів. Зокрема, фармакологічна дія рослинного препарату найчастіше не є просто сумою ефектів кожного з його компонентів окремо (так, до складу аскорутину

входять аскорбінова кислота й рутин у менших концентраціях, ніж при роздільному їхньому застосуванні, тому що ці вітаміни потенціюють дію один одного), активні компоненти рослин модифікують (потенціюють або інгібують) взаємний вплив. У натуральній рослинній сировині співвідношення компонентів є оптимальним і спроба змінити його на користь одного з них або збагатити натуральний препарат якимись домішками може призвести до ослаблення або збочення ефекту [3]. Не всі компоненти рослинної сировини можна екстрагувати навіть найсучаснішими способами екстракції: так, при екстракції руйнуються природні зв'язки, насамперед ненасичені, що особливо важливо

