

функціонального стану транспортних систем тонкої кишки // Декларац. патент на корисну модель. — (11) 10460. — (51) 7 А61К35/78, А61Р1/00. — (46). 15.11.2005. Бюл. № 11.

7. Scott T. A., Melvin E. N. The determination of hexoses with antrone // *Analyt. Chem.* — 1953. — Vol. 25. — P. 1656-1658.

8. Уголев А. М., Тимофеева Н. М. Определение пептидазной активности // Исследование пищеварительного аппарата у человека. — Л.: Наука, 1969. — С. 178-181.

9. Сторчило О. В., Напханюк В. К., Багірова О. А. Вплив деяких рослинних екстрактів на транспорт вуглеводних та пептидних субстратів *in vitro*

// *Досягнення біології та медицини.* — 2006. — № 1 (7). — С. 9-13.

10. Влияние растительных экстрактов на транспорт глицина аккумулялирующими препаратами слизистой тонкой кишки крыс / О. В. Сторчило, В. К. Напханюк, Е. А. Багірова, А. Г. Васильева // *Вісн. мор. медицини.* — 2004. — № 2. — С. 68-72.

УДК 616-071+615.244+616-08+612.014.46+616.36-002

Л. М. Шеремета

## ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ ЛІПОСОМАЛЬНОГО КВЕРЦЕТИНУ ПРИ ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ, ВИКЛИКАНОМУ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

Івано-Франківський державний медичний університет

### Вступ

Печінка є головним органом метаболізму людського організму з понад 70 функціями, які забезпечуються процесами, що відбуваються у гепатоцитах. До основних захворювань печінки належать жирова інфільтрація печінки, гострий гепатит, хронічний гепатит, цироз [1].

Проблема гепатитів є актуальною у сучасній гастроентерології. Зростання захворюваності серед населення та розвиток тяжких наслідків, зокрема цирозу та гепатоцелюлярної карциноми, зростає з кожним роком. Так, за останні 5 років кількість випадків гепатитів в Україні зросла на 76,6 %, а розвиток цирозу печінки — на 75,6 % [2]. Причини розвитку гепатитів різноманітні: інфекція (віруси), зловживання алкоголем, тривале приймання лікарських засобів, що мають гепатотоксичну дію (протитуберкульозні, протипухлинні та ін.), порушення імунної системи, обміну речовин, контакт із хімічними токсикантами на виробництві та в побуті тощо [3].

Важливе місце в лікуванні гепатитів посідають гепатопротектори [4; 5]. Сьогодні у нашій країні зареєстровано понад 80 різних препаратів, які зараховано до групи гепатопротекторів [6]. Традиційно до них належать рослинні поліфенольні засоби (карсил, легалон, левасил, лів-52, гепабене, гепатофальк планта, карсил, дарсил та ін.) та препарати «есенціальних» фосфоліпідів (ліолів, есенціале, ессель, ліпін, ліолів, лецитин та ін.). Оскільки при будь-якому захворюванні печінки відмічається ушкодження мембран гепатоцитів, то очевидна доцільність призначення терапії, яка покращує та відновлює функції клітинних мембран і забезпечує гальмування процесу руйнування клітин [6]. Разом із тим, патогенетично обґрунтованим є застосування препаратів, що пригнічують активність вільнорадикального окиснення і сприяють посиленню антиоксидантного захисту організму [7–9]. Отже, можна вважати доцільним проведення поглибленого вивчення фармакопрофілактичних і лі-

кувальних властивостей ліпосомального кверцетину (ЛК) в експерименті та клініці.

**Метою** нашого дослідження було вивчення ефективності ЛК при гострому гепатиті (ГГ), спричиненому тетрахлорметаном (ТХМ), та його впливу на активність процесів ПОЛ, стан АОЗ і мікроструктуру печінки.

### Матеріали та методи дослідження

Досліди проведені на 50 дорослих білих щурах-самцях лінії Вістар масою (250±15) г. Усі тварини були поділені на 5 експериментальних груп: 1-ша — інтактні тварини; 2-га — ГГ (нелікований контроль); 3-тя — тварини з ГГ, ліковані ЛК дозою 2 мг на 1 кг маси тіла; 4-та — тварини з ГГ, ліковані силібором всередину дозою 25 мг/кг; 5-та — тварини з ГГ, ліковані 50%-м олійним розчином токоферолу ацетату підшкірно дозою 50 мг/кг. Тваринам протягом 4 днів щодня вводили підшкірно 50%-й олійний розчин ТХМ із розрахунку 4 мл/кг [10]. Антиоксидантну терапію тривалістю 7 днів починали



через добу після останнього введення гепатотоксину. Евтаназію тварин виконували на 7-й день лікування під ефірним наркозом. Морфологічні та гістохімічні дослідження проводили згідно з [11].

Визначали такі біохімічні показники: вміст дієнових кон'югатів (ДК) і ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) у гомогенаті печінки та сироватці крові, активність АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази, церулоплазміну (ЦП) та каталази [12]. Результати обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

### Результати дослідження та їх обговорення

Введення ТХМ викликало у щурів виражену інтоксикацію з розвитком токсичного ГГ. При цьому виживання тварин, лікованих ЛК, було таким, як і інтактних щурів, лікованих силібором, — 90 %, а летальність нелікованих тварин і лікованих токоферолом була високою (рис. 1).

Наприкінці експерименту було проведено вимірювання маси тіла тварин. На 7-й день від початку лікування відмічено і зміну маси тіла експериментальних тварин. У інтактних щурів спостерігали приріст маси тіла у середньому на 3 %, а у нелікованих — зменшення на 7 %; у тварин, що отримували лікування ЛК, силібором і токоферолу ацетатом, суттєвої втрати маси не спостерігали

лось — її зміни були в межах від 3 до 4,5 % порівняно з початковою (рис. 2).

Ушкоджуюча дія вільних радикалів на ліпіди мембран гепатоцитів є основною ланкою патогенезу гепатитів і цирозу [13; 14]. За результатами дослідження біохімічних показників й активності процесів ПОЛ виявлено відповідні зміни. Спостерігалось збільшення вмісту інтермедіатів ліпопероксидації в сироватці крові нелікованих тварин: вміст ДК збільшився на 69,4 % ( $P < 0,05$ ), а вміст кінцевого продукту ПОЛ — ТБК-АП — підвищився на 27,7 % ( $P < 0,05$ ). Активність АлАТ зросла у 4 рази ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактними тваринами, а рівень АсАТ підвищився у 2,8 рази ( $P < 0,05$ ). Паралельно із активацією процесів ПОЛ і цитолізу при ГГ спостерігався дисбаланс ферментів антиоксидантного захисту.

При застосуванні ЛК відзначалося зменшення вмісту маркерів цитолізу у сироватці крові. Зокрема, рівень АлАТ знизився на 60 % ( $P < 0,05$ ) при введенні ЛК дозою 2 мг/кг. Активність АсАТ теж була меншою, а саме на 38,8 % ( $P < 0,05$ ). Введення ЛК сприяло покращанню стану системи АОЗ. Зросла активність каталази гомогенату печінки, яка була різко знижена у нелікованих тварин. При введенні ЛК дозою 2 мг/кг її збільшення становило 74,4 % ( $P < 0,05$ ) і мало відрізнялося від величин у

здорових тварин. Концентрація ДК під впливом силібору порівняно з нелікованими тваринами у сироватці крові зменшилася на 14 % ( $P < 0,05$ ), а вміст ТБК-АП — на 25 % ( $P < 0,05$ ) і не значно відрізнявся від показників тварин, лікованих ЛК. Силібор проявляв менш виражений позитивний вплив на активність ферментів АОЗ: активність ЦП зменшилася на 9 % ( $P < 0,05$ ), активність каталази зросла 68 % ( $P < 0,05$ ). Ці дані вірогідно відрізнялися ( $P < 0,05$ ) від таких при введенні ЛК.

Токоферол теж сприяв нормалізації показників ПОЛ. Так, при введенні токоферолу активність ЦП зменшувалась на 11,5 % ( $P < 0,05$ ), активність каталази зростала на 70 % ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем.

Морфогістологічні дослідження корелювали зі змінами біохімічних показників. Так, у мікропрепаратах печінки нелікованих тварин відмічали дифузну зернисту, вакуольну дистрофію гепатоцитів, численні дрібні, місцями більш поширені інфільтрати з нейтрофілів, макрофагів, лімфоцитів (рис. 3). Спостерігалися ділянки некрозу гепатоцитів із руйнуванням ядер.

У деяких мікропрепаратах цієї групи тварин поряд із некротизованими гепатоцитами трапляються гепатоцити зі збільшеними гіперхромними ядрами.

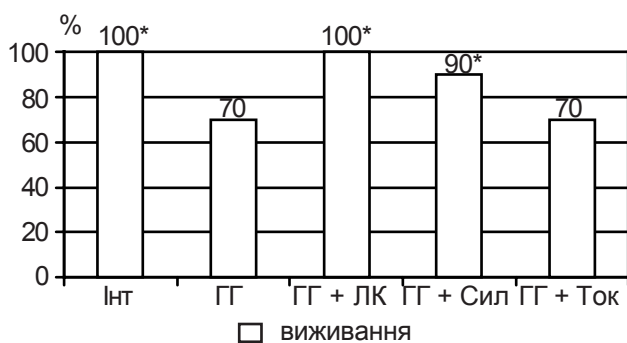


Рис. 1. Вплив ЛК і препаратів порівняння на виживання тварин із гострим тетрахлорметановим гепатитом: \* —  $P < 0,05$  відносно нелікованих і лікованих токоферолом тварин; Інт — інтактні; ГГ + Сил — ліковані силібором; ГГ + Ток — ліковані токоферолом

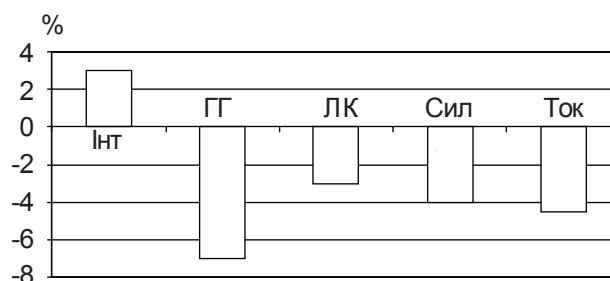


Рис. 2. Вплив ліпосомального кверцетину і препаратів порівняння на масу тіла тварин із гострим гепатитом: Інт — інтактні; ГГ — неліковані контрольні; ЛК — ліковані ліпосомальним кверцетином; Сил — ліковані силібором; Ток — ліковані токоферолом

При лікуванні тварин із ГГ силібором, у більшості випадків у препаратах печінки щурів спостерігалася дифузна зерниста дистрофія (рис. 4). У перипортальній фіброзній тканині відзначали помірну інфільтрацію з нейтрофільних лейкоцитів, макрофагів, лімфоцитів.

При застосуванні токоферолу ацетату для лікування ГГ у печінці щурів спостерігалася переважно вакуольна дистрофія гепатоцитів (рис. 5).

В окремих гепатоцитах відмічено явища зернистої дистрофії.

У мікропрепаратах печінки тварин з ТХМ гепатитом, лікованим ЛК, дистрофії гепатоцитів, осередків некрозу не спостерігали. У фіброзній тка-

нині портальних трактів знаходили поодинокі інфільтрати з лімфоцитів, макрофагів. Ядра деяких гепатоцитів збільшені, гіпертрофовані, що узгоджується із даними літератури [15]. Трапляються поодинокі двоядерні клітини (рис. 6).

### Висновки

1. Виявлено значний гепатопротекторний ефект ЛК в експериментах на щурах, яким моделювали гострий ТХМ гепатит.

2. Введення ЛК дозою 2 мг/кг значно зменшувало летальність тварин, активність вільнорадикального окиснення та сприяло підвищенню АОЗ.

3. Гістоструктурні дослідження підтвердили протекторну дію ЛК стосовно гепато-

цитів, що можна пояснити мембраностабілізуючим впливом ліпосом і вираженою антиоксидантною дією кверцетину.

4. Ефект ЛК прирівнюється до дії еталонних гепатопротекторів, використаних як референс-препарати, а за деякими показниками перевищує їх вплив.

### Перспективи подальших досліджень

Планується розробити рекомендації для клінічного дослідження гепатопротекторних властивостей вітчизняного препарату ліпосомального кверцетину, оскільки його ефективність доведена в експерименті, а частота розвитку гепатитів і цирозу печінки є високою.

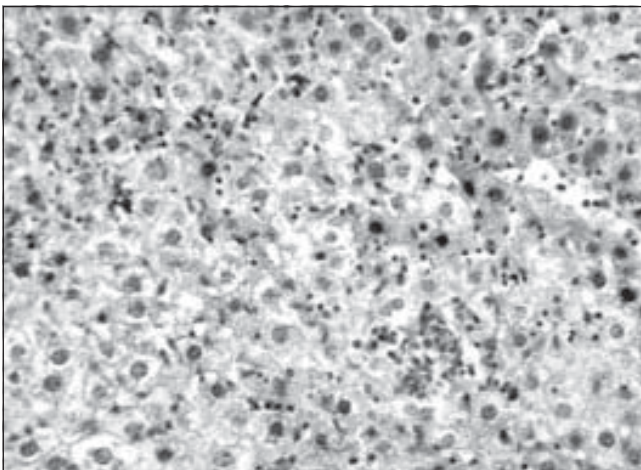


Рис. 3. Печінка щура з гострим тетрахлорметановим гепатитом. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб.: 7x40

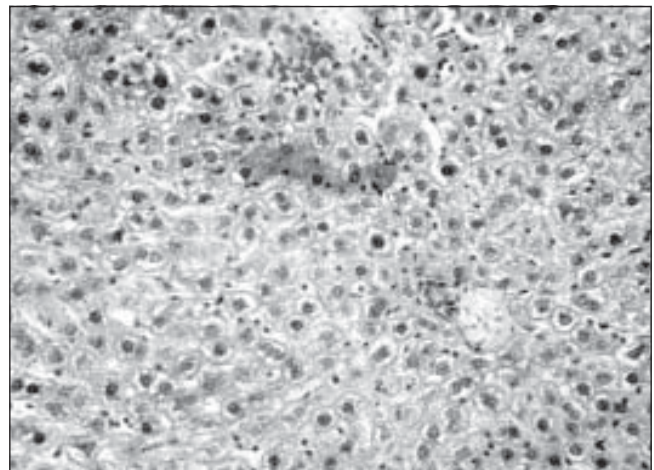


Рис. 4. Печінка щура з гострим тетрахлорметановим гепатитом, лікованим силібором. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб.: 7x40

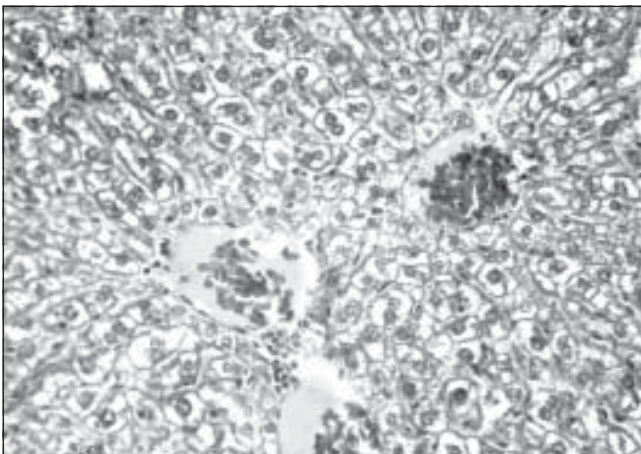


Рис. 5. Печінка щура з тетрахлорметановим гепатитом, лікованим токоферолу ацетатом. Забарвлення пікрофуксином за Маллорі. Зб.: 10x20

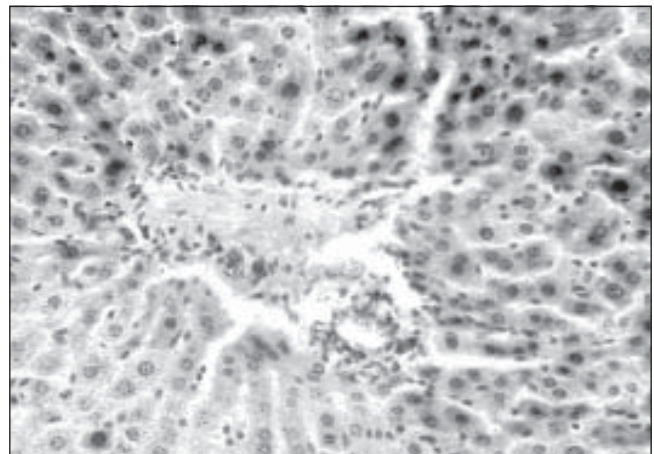


Рис. 6. Печінка щура з гострим тетрахлорметановим гепатитом, лікованим ліпосомальним кверцетином. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб.: 7 x 40





## ЛІТЕРАТУРА

1. Королева Л. Р. Современные гепатопротекторы // Рос. мед. журнал. — 2005. — № 2. — С. 35-37.
2. Харченко Н. В., Анохина Г. А. Клиническая гастроэнтерология. — К.: Здоров'я, 2000. — 250 с.
3. Бабак О. Я. Хронические гепатиты. — К.: АО «Изд-во Блиц-Информ», 1999. — 208 с.
4. Скакун Н. П., Охримович Л. М., Шманько В. В. Клиническая фармакология гепатопротекторов. — Тернополь, 1995. — 272 с.
5. Дроговоз С. М., Бородина Т. В., Деримедвідь Л. В. Экспериментальне обґрунтування альтернативи вибору гепатопротекторів // Ліки. — 1998. — № 5. — С. 32-35.
6. Харченко Н. В. Порівняльна характеристика сучасних гепатопротекторів // Вісн. фармакол. та фармації. — 2001. — № 3-4. — С. 18-25.
7. Изучение влияния препарата «Силицетин» на течение экспериментального тетрахлорметанового гепатита / Л. В. Деримедведь, В. Г. Демьяненко, Салих Бодри Хамам, Д. В. Демьяненко // Фармаком. — 2004. — № 3. — С. 45-47.
8. Гепатопротекторні властивості препарату ліпін при хронічному токсичному ураженні печінки в експерименті / О. В. Стефанов, В. М. Коваленко, М. І. Козлов, О. А. Писарев // Ліки. — 1997. — № 3. — С. 16-19.
9. Дроговоз С. М., Журавель О. В. Фосфолипидные препараты в гепатологии: реалии и перспективы // Провизор. — 1998. — № 12. — С. 35-37.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. О. В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — С. 321-333.
11. Меркулов Г. А. Курс патолого-гистологической техники. — Л.: Медицина, 1969. — 422 с.
12. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — С. 63-64, 66-68.
13. Britton R. S., Bacon B. R. Role of free radicals in liver diseases and hepatic fibrosis // Hepato-Gastroenterology. — 1994. — Vol. 41, N 4. — P. 343-348.
14. Герасимова О. О. Експериментальне дослідження впливу на процеси вільнорадикального окислення нового гепатопротектора піфламіну // Мед. хімія. — 2001. — Т. 3, № 1. — С. 44-46.
15. Бондарев Є. В. Патоморфологічне дослідження гепатопротекторних властивостей грацеолу при гострому токсичному гепатиті // Вісн. фармації. — 2004. — № 1 (37). — С. 71-73.

