

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ РОДІОЛИ РІДКОГО НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

Н.В. Давидова, І.Ф. Мещишен
БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ

Вивчали вплив екстракту родіоли рідкого (ЕЕР) на функціональний стан печінки щурів за умов інтоксикації тетрахлорметаном (CCl_4). Встановлено, що введення ЕЕР при інтоксикації CCl_4 призводить до зниження синдрому цитолізу, нормалізації окиснювальних процесів, метаболізму ліпідів та білірубину, посилення регенераторних процесів у печінці.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **тетрахлорметан, токсичний гепатит, екстракт родіоли рідкий.**

ВСТУП. Кількість токсичних уражень печінки зростає з року в рік, що пов'язано з широким розповсюдженням у побуті та на виробництві хімічних речовин, які проявляють гепатотоксичну дію. Тетрахлорметан (CCl_4) має високу персистентність у навколишньому середовищі, кумулятивні властивості та при надходженні в організм будь-якими шляхами здатен ушкоджувати печінку, викликаючи дозозалежні зміни з боку функції та морфологічної структури [6]. Неминучим для будь-якого токсичного ураження печінки є підвищення рівня перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [2, 3]. Тому актуальним є пошук нових гепатопротекторних антиоксидантних препаратів, зокрема рослинного походження.

Метою роботи було вивчення впливу екстракту родіоли рідкого на функціональний стан печінки щурів за умов експериментального токсичного гепатиту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих безпородних щурах масою (150 ± 10) г, яких утримували в умовах віварію з вільним доступом до їжі та води. Експериментальний токсичний гепатит моделювали шляхом дворазового (через день) внутрішньошлункового введення CCl_4 у вигляді 50 % олійного розчину з розрахунку 0,25 мл/100 г маси тіла. Екстракт родіоли рідкий (ЕЕР) вводили внутрішньошлунково в дозі 0,01 мл/кг маси тіла щоденно після останнього введення CCl_4 . Тварин декапітували під легким ефірним наркозом на 5-ту і 10-ту доби введення екстракту. Шматочки

© Н.В. Давидова, І.Ф. Мещишен – д.біол.н., проф., 2004.

тканини печінки фіксували в нейтральному забуференому формаліні, проводили через висхідну батарею спиртів і заливали у чистий парафін-віск. Гістологічні зрізи після депарафінізації забарвлювали гематоксиліном та еозином і вивчали під світловим мікроскопом МБР-15. Кров стабілізували шляхом додавання ЕДТА з розрахунку 1 мг/мл. 5 % гомогенат печінки готували на льоду з використанням трис-НС1 буфера (50 мМ, рН=7,4). У пост'ядерному супернатанті гомогенату печінки визначали вміст малонового діальдегіду [7], окисномодифікованих білків [4], загального білка, загальних ліпідів; у плазмі – активність аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспаратамінотрансферази (АсАТ), вміст загального білірубину і сечовини із застосуванням стандартних наборів, вироблених ООО НПП "Филісит діагностика" (Україна). Результати оброблено статистично з використанням t-критерію Стьюдента та представлено в таблиці 1.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Патоморфологічні зміни досягали максимального рівня на 5-ту добу гострого періоду токсичного гепатиту. Основні ураження спостерігалися в периферичних відділах печінкових часточок (рис. 1). Ураження гепатоцитів характеризувалися розвитком зернистої та гідропічної дистрофії, мікроемуляційного стеатозу (рис. 2).

У реалізації молекулярних механізмів пошкодження гепатоцитів провідна роль належить активним метаболітам та інтермедіатам CCl_4 , що утворюються в процесі його біотранс-

Таблиця 1 – Показники функціонального стану печінки щурів за умов інтоксикації тетрахлорметаном та введення екстракту родіоли рідкого (M±m; n=6-8)

Умови досліджуваних показників	Контроль	5-та доба		10-та доба	
		Гепатит	Гепатит+ родіола	Гепатит	Гепатит+ родіола
Заг. білок, мг/г тканини	333,3±42,77	186,3±20,66*	205,7±28,00*	278,9±30,86*	332,6±24,39
Заг. ліпіди, мг/г тканини	22,0±3,10	71,6±7,18*	56,8±4,38*	39,1±2,74*	28,85±8,37
Сечовина, ммоль/л	12,2±1,24	5,1±1,78*	5,7±1,56*	6,9±0,31*	11,5±1,06
АлАТ, мкмоль/год·мл	0,54±0,085	1,22±0,072*	1,08±0,082*	1,17±0,320*	0,79±0,320
АсАТ, мкмоль/год·мл	0,74±0,167	1,60±0,248*	1,35±0,375*	1,31±0,229*	0,80±0,213
Білірубін, мкмоль/л	8,5±2,11	25,3±4,56*	13,3±1,29*	20,8±3,97*	9,9±3,62
ОМБ (370 нм), ммоль/г білка	1,99±0,281	3,57±0,050*	3,08±0,364*	2,96±0,461*	2,46±0,294*
Малоновий діальдегід, мкмоль/г тк.	38,9±2,56	49,9±0,56*	45,3±0,58*	56,9±2,18*	40,9±2,10

Примітка. * – достовірні зміни порівняно з контролем.

формації за участю цитохром-Р-450-залежних монооксигеназ [6]. Вільнорадикальні похідні мають високу реакційну здатність, атакують метиленові містки ненасичених жирних кислот, ініціюючи ланцюг ліпопероксидації.

Посилення процесів ПОЛ підтверджують результати біохімічного дослідження вмісту кінцевого продукту ПОЛ – малонового діальдегіду – в печінці, який перевищував рівень контролю на 28 та 46 % на 5-ту і 10-ту доби відповідно. Вільнорадикальному окисненню піддаються і білкові молекули, про що свідчить збільшення вмісту окисномодифікованих білків у печінці в усі терміни експерименту.

Індукований CCl_4 стеатоз зумовлений порушенням функції мітохондрій, інгібуванням β -окиснення жирних кислот та сповільненням транспорту ліпопротеїнів із печінки в кров [1]. Встановлено зростання вмісту загальних ліпідів у печінці щурів у 3,2 та 1,7 раза на 5-ту і 10-ту доби експерименту.

Найбільш токсичним продуктом розпаду фосfolіпідів мембран є лізофосфатидилхолін, що призводить до деструкції мембран, як наслідок, до некрозу паренхіми печінки [2]. Встановлено, що на 5-ту добу експерименту поруч із дистрофічно зміненими клітинами печінки часто розташовувались клітини з морфологічними ознаками коліквацийного некрозу, що зумовлювало значну дисконкомплексцію печінкових балок (рис. 1).

Синдром цитолізу супроводжувався вивільненням гіалоплазмових та лізосомальних ферментів, що підтверджувало зростання активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові в усі терміни експерименту. Внаслідок некрозу гепатоцитів розвивався внутрішньопечінковий холестаза, про що свідчило підвищення вмісту загального білірубину в сироватці крові.

Пошкодження організації мембранних структур супроводжувалося інактивацією мембранозв'язаних рецепторів та більшості внутрішньоклітинних ферментів. При цьому послаблювались антитоксична функція печінки, порушувались синтетичні процеси, розвивалась гіпоксія. Відмічено зниження білоксинтетичної функції печінки: вміст загального білка в печінці був на 79 та 20 % меншим від рівня контролю на 5-ту і 10-ту доби відповідно. Окисномодифіковані білки піддавалися швидкій деградації, що також може спричинити зниження вмісту білків у печінці. Вміст сечовини в сироватці крові за умов інтоксикації був у 2,4 та 1,8 раза меншим від рівня контролю на 5-ту і 10-ту доби експерименту відповідно.

CCl_4 викликав загибель гепатоцитів за механізмом як некрозу, так і апоптозу [9]. Відмічено зміни гепатоцитів, які зазвичай характерні для різних морфологічних стадій апоптозу, такі, як конденсація ядерного хроматину, сепарація його у периферичний відділ ядра, ущільнення цитоплазми, фрагментація ядра з одночасним збереженням цитоплазматичної мембрани (утворення апоптотичних тілець) (рис. 2). Вважають, що вирішальне значення в розвитку апоптозу належить рецепторонезалежному механізму, який ініціюється неспецифічними факторами (NO, активні форми кисню) [5, 9].

На 10-ту добу експерименту в інтоксикованих тварин поєднана зерниста та гідропічна дистрофія печінкових клітин залишалася на рівні 5-ї доби, стеатозу не спостерігалось. Відмічались збільшення кількості двоядерних гепатоцитів, що прийнято вважати посиленням регенерації цих клітин, подальше зростання числа об'єктів із характерними морфологічними ознаками апоптозу. Лейкоцитарних

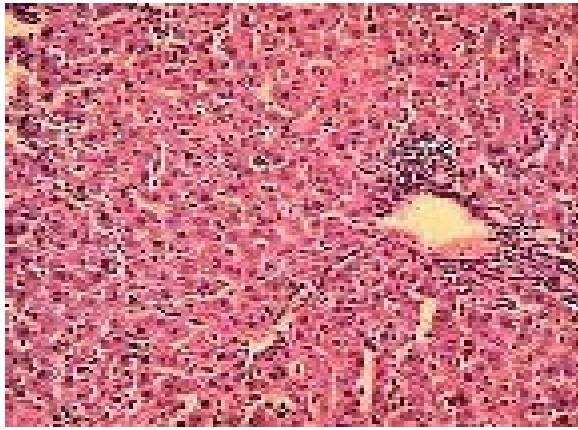


Рис. 1. Інтоксикація тетрахлорметаном, 5-та доба. Печінка, гематоксилін та еозин, x 120.



Рис. 2. Інтоксикація тетрахлорметаном, 5-та доба. Печінка, гематоксилін та еозин, x 1200.

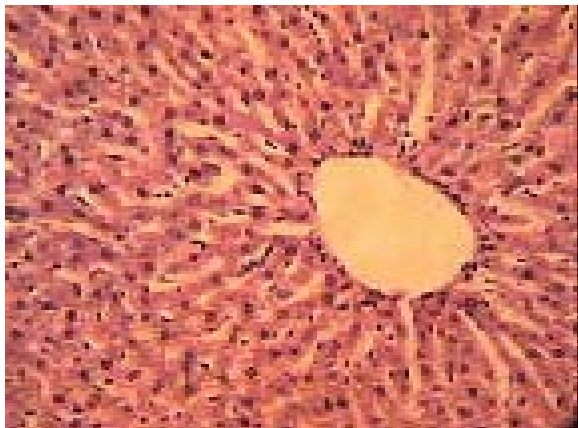


Рис. 3. Введення екстракту родіоли рідкого на фоні інтоксикації тетрахлорметаном, 5-та доба. Печінка, гематоксилін та еозин, x 120.

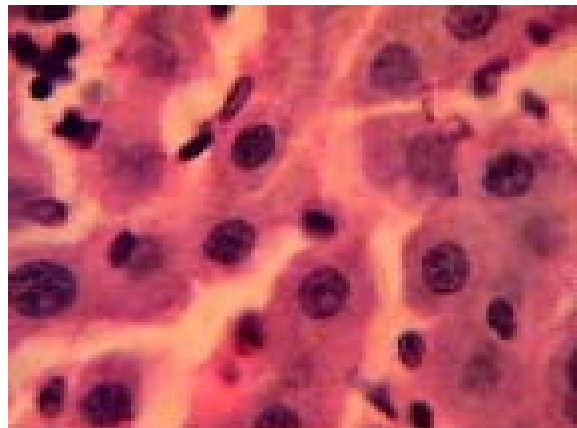


Рис. 4. Введення екстракту родіоли рідкого на фоні інтоксикації тетрахлорметаном, 5-та доба. Печінка, гематоксилін та еозин, x 1200.

інфільтратів не спостерігалось, запалення було представлено виключно гранулематозною формою.

Екстракт родіоли рідкий містить ряд речовин, які є природними антиоксидантами: тирозол, органічні кислоти, флавоноїди (катехіни, проантоціанідини) [8]. Існують дані про антиоксидну активність екстракту та його складових за умов *in vivo* та *in vitro* [8, 9]. Введення тваринам екстракту родіоли рідкого впродовж 5 днів на фоні експериментального токсичного гепатиту супроводжувалось менш вираженими ознаками гідропічної та зернистої дистрофії. В окремих клітинах спостерігалися морфологічні ознаки колікваційного некрозу. Ознак запалення не було. Структура печінкових балок зберігалася (рис. 3). На 10-ту добу введення препарату уражень гепатоцитів не виявлено. Будова печінкових балок повністю зберігалася. Цитоплазма характеризувалася гомогенністю або ледве помітною зернистістю без істотного збільшення розмірів гепатоцитів (рис. 4). Морфологічні об'єкти з ознаками, характерними

для апоптозу, відшукувалися з великими труднощами. Ознак запалення не відмічено. Поряд із цим, відзначено нормалізацію вмісту малонового діальдегіду, загальних ліпідів. Вміст окисномодифікованих білків перевищував рівень контролю на 20 %. Ці дані свідчать про нормалізацію процесів вільнорадикального окиснення біомолекул. Вміст білірубину, сечовини, активність АлАТ та АсАт у сироватці крові достовірно не відрізнялись від рівня контролю.

ВИСНОВОК. Введення тваринам екстракту родіоли рідкого на фоні інтоксикації CCl_4 призводить до швидкої нормалізації функціонального стану печінки. Імовірно, лікувальна дія екстракту пов'язана з антиоксидною дією фенольних сполук у його складі, які сприяють обмеженню ПОЛ, стабілізації мембран, субклітинних структур і тим самим перешкоджають руйнуванню та загибелі гепатоцитів.

Перспективою подальших досліджень є вивчення гепатопротекторної дії екстракту родіоли рідкого за умов інтоксикації CCl_4 .

ЛІТЕРАТУРА

1. Буевров А.О., Маевская М.В. Некоторые патогенетические и клинические вопросы неалкогольного стеатогепатита // Клинич. перспективы гастроэнтерол. и гепатол. – 2003. – № 3. – С. 2-8.
2. Венгеровский А.И., Чучалин В.С., Паульс О.В., Саратиков А.С. Влияние гепатопротекторов на метаболизм липидов при CCl_4 -гепатите // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1987. – **103**, №4. – С. 430-432.
3. Ивашкин В.Т. Клеточная и молекулярная биология воспаления печени // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. и колопроктол. – 1999. – № 5. – С. 13-17.
4. Мешишен І.Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Буковин. мед. вісник. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156-158.
5. Пентюк А.А., Мороз Л.В., Паламарчук О.В. Поражение печени ксенобиотиками // Совр. пробл. токсикол. – 2002. – № 2. – С. 8-16.
6. Скаун Н.П., Писько Г.Т., Мосейчук И.П. Поражение печени четыреххлористым углеродом. – М.: НИИТЭХИМ, 1989. – 107 с.
7. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М., 1977. – С. 66-68.
8. Kelli G.S. Rhodiola rosea: A possible plant adaptogen // Altern. Med. Rev. – 2001. – **6**, № 3. – P. 293-302.
9. Mook-Jung I., Kim H., Fan W. Neuroprotective effects of constituents of the oriental crude drugs, Rhodiola sacra, R. sachalinensis and Tokaku-joki-to, against beta-amyloid toxicity, oxidative stress and apoptosis // Biol. Pharm. Bull. – 2002. – **25**, № 8. – P. 1101-1104.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА РОДИОЛЫ ЖИДКОГО НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

Н.В. Давыдова, И.Ф. Мешишен
БУКОВИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Резюме

Изучали влияние экстракта родиолы жидкого (ЭРЖ) на функциональное состояние печени крыс при интоксикации тетрахлорметаном (CCl_4). Установлено, что введение ЭРЖ при интоксикации CCl_4 приводит к снижению синдрома цитолиза, нормализации окислительных процессов, метаболизму липидов и билирубина, усилению регенераторных процессов в печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тетрахлорметан, токсический гепатит, экстракт родиолы жидкий.

THE EFFECT OF RHODIOLA ROSEA LIQUID EXTRACT ON THE LIVER FUNCTIONAL STATE UNDER CONDITIONS OF TETRACHLOROMETHANE INTOXICATION

N.V. Davydova, I.F. Meshchysheh
BUKOVYNIAN STATE MEDICAL ACADEMY

Summary

The efficacy of using the Rhodiola rosea liquid extract (RRE) on the liver functional state under conditions of tetrachloromethane intoxication was investigated. It was established that oral administration of RRE promoted the reducing of cytolytic syndrome, normalization of the oxidative processes, lipid and bilirubin metabolism, increasing of regeneration processes in the liver.

KEY WORDS: tetrachloromethane, toxic hepatitis, Rhodiola rosea liquid extract.

Отримано 17.02.2004 р.

Адреса для листування: Н.В. Давидова, вул. Ватутіна, 4, кв. 7, Чернівці, 58000, Україна.