

15. Энциклопедия лекарственных растений (La Sante par les plantes) / пер. с франц. - Б.м.: Ридерз Дайджест, 2004. - С.159.

16. Энциклопедия народной медицины. - Т.8, Раздел 18. Лесные лекарственные растения. - М.: изд-во АНС, 2002. - С. 352.

17. Dudley T.S. Ivy / T.S. Dudley.: in The World Book Encyclopedia. - Vol.10. - Chicago; London, Sydney, Toronto: World book, Inc, 1994. - P. 524-525.

18. Izmail H. Бронхипрет (Bronchipret) при остром бронхите / H.Izmail, H.Willer, H.Shteidl // Современная педиатрия. - 2008. - №3 (18). - С. 1-10.

19. Kemmerich B. Efficacy and tolerability a fluid extract combination of thyme herb and ivy leaves and matched placebo in adults suffering from acute bronchitis with productive cough. A prospective, double-blind, placebo-controlled trial / B. Kemmerich, R. Eberhardt, H. Stammer // *Arzneim. - Forsch. / Drug Res.* - 2006. - №56. - P. 652-660.

20. Steineger E. *Lehrbuch der Pharmacognosie, III* / E.R.Steinegger, R.Hansel. - Berlin-Heilderberg, New York: Springer Verlag, 1972. - 557 p.

#### Резюме

**Гарник Т.П., Фролов В.М., Романюк Б.П., Пересадин Н.А.** Плющ обыкновенный (*Hedera helix L.*) - ботаническое описание и фармакологическая характеристика растения.

Охарактеризованы данные литературы и результаты собственных исследований по вопросу ботанической характеристики плюща обыкновенного (*Hedera helix L.*) и лечебного использования препаратов из этого лекарственного растения.

**Ключевые слова:** плющ, свойства, препараты.

#### Резюме

**Гарник Т.П., Фролов В.М., Романюк Б.П., Пересадин М.О.** Плющ звычайний (*Hedera helix L.*) - ботанічний опис і фармакологічна характеристика рослини.

Охарактеризовані дані літератури і результати власних досліджень з питання ботанічної характеристики плющу звичайного (*Hedera helix L.*) та лікувальне використання препаратів з цієї лікарської рослини.

**Ключові слова:** плющ, властивості, препарати.

#### Summary

**Garnik T.P., Frolov V.M., Romanjuk B.P., Peresadin N.A.** The botanical description and pharmacological description of plant as English ivy (*Hedera helix L.*)

These literatures and results of own researches are described through question of botanical description English ivy (*Hedera helix L.*) and medical uses of preparations from this medical plant.

**Key words:** ivy, properties, preparations.

**Рецензент:** д.біол.н., проф.С.М.Смірнов

УДК 616.33:577.151.6

## ОКИСНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАН ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ПРИ СТРЕСОВІЙ ВИРАЗЦІ ШЛУНКА

**К.О.Дворщенко, О.Л.Бервен, Л.М.Гайда,  
Л.І.Остапченко**

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

### Вступ

На сьогоднішній день розповсюдженням захворюванням в більшості країн світу є виразкова хвороба, одна з найпоширеніших патологій шлунково-кишкового тракту, яка уражає людей в найбільш активному творчому віці і часто призводить до тимчасової непрацездатності [23, 27]. Виразкова хвороба є системним захворюванням, яке не обмежується локальним деструктивним процесом слизової оболонки шлунка, а обумовлює порушення регулюючих систем усього організму. Розвиток цього захворювання залучає у патологічний процес інші органи травної системи, зокрема печінку [7, 8].

Печінка - найбільший внутрішній орган, який здійснює життєво важливі функції організму (метаболізм білків, ліпідів, вуглеводів, пігментний обмін, секреція жовчі, детоксикація та екскреція шкідливих для організму речовин тощо) та взаємодіє з багатьма іншими системами [4]. Зміни структурно - функціонального стану печінки при виразковій хворобі шлунка зумовлені єдністю нейрогуморальної регуляції та спільним етіопатогенезом. Крім того, у виникненні уражень печінки на тлі виразкової хвороби велику роль відіграє порушення метаболізму, однак ці механізми патогенезу залишаються повністю не вивченими.

Важливу роль у життєдіяльності організму відіграють процеси перекисного окиснення мембранних фосфоліпідів (ПОЛ). З одного боку, вони приймають участь у підтримці нормальної фізіологічної активності клітин, що необхідно, наприклад, для синтезу простагландинів та лейкотрієнів, а з іншого при дії несприятливих чинників в клітинах може порушуватись окисно-антиокси-

дантна рівновага, що призводить до зростання кількості активних форм кисню (АФК). Це в свою чергу спричинює інтенсифікацію процесів ПОЛ, наслідком чого стає пошкодження мембран [19, 25]. Тому важливим питанням стає вивчення інтенсивності ПОЛ та ферментів антирадикального захисту в гепатоцитах щурів за умов дії такого пошкоджуючого фактору, як стрес.

Стреси спричинюють негативний вплив як на психологічний, так і фізичний стан здоров'я людини. Вони є головними факторами ризику проявлення та загострення багатьох захворювань, в тому рахунку виразкової хвороби, що призводить до зміни якості та тривалості життя людини [10, 14, 17].

Тому **метою роботи** було визначити оксидантно-антиоксидантний баланс у гепатоцитах щурів за умов стресової моделі виразки шлунка.

#### **Матеріали та методи дослідження**

*Умови проведення експерименту.* У дослідях використовували щурів лінії Вістар обох статей вагою 180 - 230 г., яких утримували на стандартному раціоні віварію. Для створення експериментальної виразки шлунка використовували модель імобілізаційного водоімерсійного холодового стресу [26].

*Виділення загальної фракції гепатоцитів щурів.* Гепатоцити з печінки щурів виділяли неферментативним шляхом [11]. Отримані клітини ресуспендували у розчині Хенкса до концентрації  $2-3 \times 10^7$  кл./мл. Кількість життєздатних гепатоцитів підраховували у камері Горяєва з використанням 0,2% розчину вітального барвника трипанового синього [16].

*Визначення продуктів перекисного окиснення ліпідів у гепатоцитах щурів.* Вміст дієнових кон'югатів визначали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометричним методом [3], шифових основ - флюориметричним методом [5]. Вміст та швидкість накопичення ТБК-активних продуктів визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [13].

*Визначення активності ферментів антиоксидантної системи у клітинах печінки щурів.* Активність супероксиддисмутази у клітинах визначали з використанням нітросинього тетразолію за методом [15]. Оцінку каталазної активності у гепатоцитах проводили за Корольюк і співав [9]. Ферментатив-

ну активність глутатіонпероксидази визначали по накопиченню окисненого глутатіону, а глутатіон-S-трансферазну активність оцінювали за швидкістю утворення хромогенного глутатіонового кон'югату з 1-хлор-2,4-динітробензолом [2]. Вміст відновленого глутатіону визначали згідно методу [22].

*Статистична обробка даних.* Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики [12]. Вірогідність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Вірогідною вважали різницю між порівнювальними показниками при  $P < 0,05$ . Розрахунки та побудову графіків виконували на комп'ютері з використанням прикладних програм: "Origin 7.0" та "Microsoft Excel 2003".

#### **Отримані результати та їх обговорення**

*Визначення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів у гепатоцитах щурів при експериментальній моделі стресової виразки шлунка.* При дії різних негативних ендогенних та екзогенних факторів на організм баланс між антиоксидантною системою (АОС) та продукцією АФК в клітинах може порушуватись або в результаті зниження рівня антиоксидантів, або внаслідок гіперпродукції АФК. Оскільки визначення кількості утворених вільних радикалів у клітинах звичайними хімічними методами неможливо в зв'язку з їх дуже високою реакційною здатністю, нами було визначено продукти реакцій, у яких припускається участь радикалів. Зокрема, встановлено вміст продуктів пероксидації ліпідів, які відображають наслідки дії на мембрани АФК.

Показано, що при дослідженні вмісту первинних продуктів ПОЛ - дієнових кон'югатів у загальній фракції гепатоцитів щурів за умов експериментальної моделі стресової виразки шлунка їх кількість зростала на 42% по відношенню до контрольних тварин (табл.1). Також при дії стресу спостерігалось збільшення вмісту проміжних продуктів ПОЛ - ТБК-активних сполук - на 85% відносно контрольних гепатоцитів.

Нами було проведено визначення спонтанної швидкості накопичення ТБК - активних продуктів у клітинах печінки та за умов неферментативних та ферментативних індукторів ПОЛ.

Встановлено, що при стресі без системи індукції ПОЛ швидкість накопичення ТБК - активних продуктів в гепатоцитах щурів збільшувалась на 110% відносно контролю (табл. 1). Показано, що при дії стресового фактору неферментативна швидкість накопичення ТБК - активних продуктів у клітинах печінки зростала на 165%, а ферментативна швидкість накопичення ТБК - активних продуктів збільшувалась на 120% відносно контролю. Встановлено, що за умов стресової виразки шлунка рівень кінцевих продуктів ПОЛ - шифових основ у гепатоцитах статистично значиме збільшувався на 82% відносно контрольних клітин (табл. 1).

Таблиця 1

**Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у гепатоцитах щурів**

Досліджуваний параметр	Група тварин	
	контроль	стрес
Дієнові кон'югати, нМоль х мг білка <sup>-1</sup>	108,7 ± 8,94	154,19 ± 12,85*
Вміст ТБК-активних сполук, нМоль х мг білка <sup>-1</sup>	75,24 ± 9,31	139,25 ± 12,02*
Спонтанне накопичення ТБК-активних сполук, нМоль х мг білка <sup>-1</sup>	92,81 ± 8,37	195,06 ± 16,92*
Fe <sup>2+</sup> -аскорбат-залежне накопичення ТБК-активних сполук, нМоль х мг білка <sup>-1</sup>	825,38 ± 7,95	2186,25 ± 215,03*
АДФ+НАДФ <sup>-</sup> - залежне накопичення ТБК-активних сполук, нМоль х мг білка <sup>-1</sup>	351,02 ± 34,82	772,21 ± 76,85*
Шифові основи, ум. од. х мг білка <sup>-1</sup>	93,2 ± 7,69	169,94 ± 14,25*

Примітка: \* -  $p < 0,05$  щодо контролю

Отримані результати дозволяють дійти висновку, що за умов стресової моделі виразки шлунка, у гепатоцитах щурів зростає вміст вільних радикалів, зокрема гідроксиду, який вважають найбільш вірогідним активатором ПОЛ [1]. Інтенсифікація пероксидації ліпідів викликає в клітині порушення організації мембранних структур та їх функціональної актив-

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

ності: зміні в'язкості мембран, інактивації мембранозв'язаних рецепторів та ферментів, зростанню неспецифічної проникності для іонів кальцію, створення умов для вивільнення лізосомальних ферментів [20].

Оцінка активності ферментів антиоксидантного захисту у гепатоцитах щурів за умов стресової виразки шлунка. Захист біомембран від вільних радикалів забезпечує АОС організму, яка складається з цілого ряду ферментів та низькомолекулярних антиоксидантів. Ферментативна АОС включає в себе мембранозв'язані та цитозольні ферменти, такі як супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонзалежні пероксидази та трансферази [18,24].

Накопичення окиснювальних пошкоджень мембранних ліпідів у клітинах печінки при стресі свідчить про недостатню ефективність системи антиоксидантного захисту. Тому ми визначили активність основних ферментів АОС у гепатоцитах щурів за умов стресової виразки шлунка.

Встановлено, що при стресі у клітинах печінки знижується активність супероксиддисмутази та каталази, відповідно на 60% та 49% відносно контролю (табл. 2).

Таблиця 2

**Активність ферментів антиоксидантного захисту в гепатоцитах щурів**

Досліджуваний показник	Група тварин	
	контроль	стрес
Супероксиддисмутаза, ум. од. х хв <sup>-1</sup> х мг білка <sup>-1</sup>	2,75 ± 0,26	1,09 ± 0,11*
Каталаза, мМоль х хв <sup>-1</sup> х мг білка <sup>-1</sup>	0,24 ± 0,02	0,12 ± 0,01*
Глутатіонпероксидаза, нМоль GSSG х хв <sup>-1</sup> х мг білка <sup>-1</sup>	9,79 ± 0,48	13,09 ± 0,97*
Глутатіонтрансфераза, мкМоль х хв <sup>-1</sup> х мг білка <sup>-1</sup>	0,75 ± 0,05	1,13 ± 0,09*
Відновлений глутатіон, нМоль GSH х мг білка <sup>-1</sup>	1,52 ± 0,14	3,69 ± 0,32*

Примітка: \* -  $p < 0,05$  щодо контролю

При дослідженні глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази у гепатоцитах щурів за умов експериментальної виразки

Екологічні аспекти сучасної біології та медичної генетики

шлунка показано зростання їх активності, відповідно на 34% та 49% відносно контрольних клітин (табл. 2). Показано, що при стресовій виразці шлунка в гепатоцитах щурів, збільшується вміст відновленого глутатіону на 143% по відношенню до контролю.

Зниження активності супероксиддисмутази у клітинах печінки свідчить про наявність у гепатоцитах високого вмісту активних кисневих метаболітів, зокрема перекису водню, який безпосередньо може інактивувати фермент [21, 28]. Основним місцем генерації  $H_2O_2$  у клітинах печінки є пероксисоми, в яких головним чином локалізована каталаза. Пригнічення каталазної активності призводить до виходу  $H_2O_2$  з пероксисом у цитозоль клітин. Оскільки глутатіопероксидаза локалізована в мітохондріях та цитозолі гепатоцитів, активується робота цього ферменту.

Підвищена активність глутатіопероксидази за умов стресової виразки шлунка підтверджує зростання у клітинах печінки вмісту цілого ряду перекисів, зокрема гідропероксиду, гідроперекисів жирних кислот, перекисів білкового та нуклеїнового походження, утилізацію яких здійснює цей фермент. Активність глутатіопероксидазного шляху розкладання гідроперекисів залежить від концентрації донору водню у гепатоцитах. Рівень відновленого глутатіону в клітинах печінки підтримується як синтезом *de novo*, так і відновленням окисненого глутатіону в спряженій системі НАДФН-глутатіонредуктази [6]. Зростання активності глутатіонтрансферази у гепатоцитах при стресі також має захисний ефект від зростаючої кількості у клітинах гідроперекисів органічного походження.

#### Висновки

1. Згідно отриманих результатів проведених експериментальних досліджень при стресі у клітинах печінки спостерігається окисне пошкодження мембранного апарату гепатоцитів, що проявляється у підвищенні вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів та зниженні активності важливих ферментів антиоксидантного захисту - супероксиддисмутази та каталази.

2. Таким чином, за умов стресової моделі виразки шлунка у гепатоцитах щурів порушується окисно-відновлювальна рівновага, що призводить до розвитку окисного стресу в клітинах.

#### Література

1. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А.Владимиров, А.И.Арчаков. - М.: Наука, 1972. - 252 с.
2. Власова С.Н. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей / С.Н.Власова, Е.И.Шабунина, И.А.Переслегина // Лабораторное дело. - 1990. - Вып. 8. - С. 19-22.
3. Гаврилов В.Б. Измерение дневных конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / В.Б.Гаврилов, А.Р.Гаврилова, Н.Ф. Хмара // Лабораторное дело. - 1988. - № 2. - С. 60-63.
4. Гепатоцит. Функционально-метаболические свойства / [И.В. Гулак, А.М. Дудченко, В.В. Зайцев и др. ]. - М.: Наука, 1985. - 270 с.
5. Колесова О.Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О.Е.Колесова, А.А.Маркин, Т.Н.Федорова // Лабораторное дело. - 1984. - № 9. - С. 540-546.
6. Кулинский В.И. Биологическая роль глутатиона / В.И.Кулинский, Л.С. Колесниченко // Успехи современной биологии. - 1990. - Т. 110. - Вып. 1(4). - С. 20-33.
7. Лапина Т.Л. Язвенная болезнь и патология печени (анализ 6456 секционных наблюдений за 1983-1992 гг.) / Т.Л. Лапина, В.В. Серов, Л.О. Севергина // Архив патологии. - 1996. - № 6. - С. 33 - 37.
8. Майкова Т. В. Характеристика функциональной способности печінки і підшлункової залози у хворих на виразкову хворобу дванадцятипалої кишки, поєднаної з хронічним безкам'яним холециститом та хронічним панкреатитом / Т.В.Майкова // Сучасна гастроентерологія. - 2004. - № 5 (19). - С. 26 - 31.
9. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабораторное дело. - 1988. - Вып. 1. - С. 16-18.
10. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса / Л.Е.Панин. - Новосибирск: Наука, 1983. - 232 с.
11. Петренко А.Ю. Выделение гепатоцитов крыс ферментативным методом: детоксикационная и дыхатель-

ная активности / А.Ю.Петренко, А.Н. Сукач, А.Д. Росляков // Биохимия. - 1991. - Т. 56, Вып. 9. - С. 1647-1650.

12. Плохинский М.А. Математические модели в биологии / Плохинский М.А. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981. - 265 с.

13. Стальная И.Д. Современные методы в биохимии / И.Д. Стальная, Т.Г.Гаришвили. - М.: Медицина, 1977. - С. 66-68.

14. Фурдуй Ф.И. Стресс и здоровье / Фурдуй Ф.И. - Кишинёв: Штиица, 1990. - 239 с.

15. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С.Чевари, И.Чаба, Й.Секей // Лабораторное дело. - 1985. - Вып. 11. - С. 678 - 681.

16. Яновський І.І. Фізіологія людини і тварин : практикум / І.І.Яновський, П.В.Ужако. - Київ: Вища школа, 1991. - 175 с.

17. Coursol C.J. Impact of stress ulcer prophylaxis algorithm study/ C.J. Coursol, S.E. Sanzari // Ann. Pharmacother. - 2005. - Vol. 39. - P. 810 - 816.

18. Fridovich I. Superoxide Anion Radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), Superoxide Dismutases, and Related Matters / I.Fridovich// J. Biol. Chem. - 1997. - Vol. 272. - P. 18515-18517.

19. Gutteridge J.M. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage/ J.M. Gutteridge // Clin. Chem. - 1995. - Vol. 41. - P. 1819-1828.

20. Peroxide-induced cell death and lipid peroxidation in C6 glioma cells / A.Linden, M.Gulden, H.J. Martin [e.a.] // Toxicol. In Vitro. - 2008. - Vol. 22(5). - P. 1371-1376.

21. Liochev S. Copper, Zinc Superoxide Dismutase and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> / S.Liochev, I.Fridowich //The Journal of biological chemistry. - 2002. - Vol. 277, №38. - P. 34674-3468.

22. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples using acrylonitrile as a thiol-blocking reagent / S.Matsumoto, M.Teshigawara, S.Tsuboi, S.Ohmori // Analytic. sciences. - 1996. - Vol. 12. - P. 91-95.

23. Ramakrishnan K. Peptic ulcer disease / K. Ramakrishnan, R.C. Salinas // Am. Fam. Physician. - 2007. - Vol. 76(7). - P. 1005-1012.

24. Rushmore T.H. Glutathione S-transferases, structure, regulation, and therapeutic implications / T.H. Rushmore, C.B. Pickett //J. Biol. Chem. - 1993. - Vol. 268. - P. 11475-11478.

25. Effect of chronic restraint stress and alpha-lipoic acid on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in rat peripheral organs / M.Sahin, G.Sagdic, O.Elmas [e.a.] / Pharmacol. Res. - 2006. - Vol. 54(3). - P. 247-252.

26. Takagi K. The effects of drugs on the production and recovery process of the stress ulcer / K.Takagi, S.Okabe //J. Pharmacol. - 1968. - Vol. 18. - P. 9 - 18.

27. Risk factors of peptic ulcer in 4943 inpatients / G.Talamini, M.Tommasi, V.Amadei [e.a.] // J. Clin. Gastroenterol. - 2008. - Vol. 42(4). - P. 373-380.

28. Uchida K. Identification of Oxidized Histidine Generated at the Active Site of Cu,Zn-Superoxide Dismutase Exposed to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> / K.Uchida, S.Kawakishi // The Journal of biological chemistry. - 1994. - Vol. 269, №4. - P. 2405-2410.

#### Резюме

**Дворщенко К.О., Бервен О.Л., Гайда Л.М., Остапченко Л.І.** Окисно-антиоксидантний стан гепатоцитів щурів при стресовій виразці шлунка. Встановлено, що за умов стресової виразки шлунка в гепатоцитах щурів порушується окисно-антиоксидантний баланс, що проявляється інтенсифікацією процесів перекисного окиснення ліпідів та зміною активності антиоксидантних ферментів.

**Ключові слова:** стрес, гепатоцити, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система.

#### Резюме

**Дворченко Е.А., Бервен О.Л., Гайда Л.Н., Остапченко Л.И.** Окислительно-антиоксидантное состояние гепатоцитов крыс при стрессовой язве желудка.

Установлено, что при стрессовой язве желудка в гепатоцитах крыс нарушается окислительно-антиоксидантный баланс, что проявляется интенсификацией процессов перекисного окисления липидов и изменением активности антиоксидантных ферментов.

**Ключевые слова:** стресс, гепатоциты, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

#### Summary

**Dvorshchenko C.O., Berven O.L., Gaida L.M., Ostapchenko L.I.** The oxidative-antioxidant state of rat hepatocytes at stress gastric ulcer.

It fixed, that at stress stomach ulcer in hepatocytes of rats the oxidative-antioxidant balance was disturbed that manifestes to an intensification of lipid peroxidation processes and the changes of antioxidant system enzymes.

**Key words:** stress, hepatocytes, lipid peroxidation, antioxidant system.

**Рецензент:** д.біол.н., проф.С.М.Федченко