

**ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД  
"ТЕРНОПЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ імені І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО  
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ"**

На правах рукопису

**ВАШКЕБА-БІТЛЕР Евеліна Михайлівна**

УДК 616-099+615.75+616.36:615.32+66.061.54

**ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО  
УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ЕКСТРАКТУ З  
НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ХРОНУ ЗВИЧАЙНОГО**

14.03.04 – патологічна фізіологія

дисертація на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Науковий керівник:  
ФІРА Людмила Степанівна,  
доктор біологічних наук,  
професор

Тернопіль – 2012

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ .....	5
ВСТУП .....	6
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО РОЗВИТОК МЕДИКАМЕНТОЗНИХ УРАЖЕНЬ ПЕЧІНКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОШУКУ НОВИХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНИХ ЗАСОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ) .....	13
1.1 Механізми розвитку парацетамолового гепатиту .....	13
1.2 Сучасні підходи до лікування медикаментозних та токсичних уражень печінки з використанням рослинних лікарських засобів ..	21
1.3 Перспективність створення лікарських засобів на основі біологічно активних речовин хрону звичайного .....	27
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	35
2.1 Матеріали дослідження .....	35
2.2 Методи дослідження .....	36
РОЗДІЛ 3 ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ПАРАЦЕТАМОЛОВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ .....	45
3.1 Показники вільнорадикальних процесів в організмі щурів, отруєних парацетамолом .....	45
3.2 Стан антиоксидантної системи щурів за умов ураження парацетамолом .....	48
3.3 Дослідження проникності плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів за парацетамолової інтоксикації .....	52
3.4 Дослідження знешкоджувальної функції печінки в умовах парацетамолового ураження .....	55
3.5 Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов парацетамолового гепатиту .....	57
3.6 Морфологічні дослідження печінки та шлунка щурів за умов ураження парацетамолом .....	60

РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ ЕКСТРАКТУ З НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ХРОНУ ЗВИЧАЙНОГО .....	68
4.1 Вивчення гострої токсичності екстракту з надземної частини хрону .....	68
4.2 Підбір мінімально діючої дози екстракту з надземної частини хрону на моделі парацетамолового ураження печінки .....	73
4.3 Дослідження ульцерогенної дії екстракту з надземної частини хрону .....	79
4.4 Вивчення алергічної дії екстракту з надземної частини хрону ..	79
4.5 Вивчення місцевоподразнювальної дії екстракту з надземної частини хрону .....	80
4.6 Вивчення протизапальної активності екстракту з надземної частини хрону .....	81
4.7 Дослідження антимікробної активності екстракту з надземної частини хрону .....	82
РОЗДІЛ 5 ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ВИКОРИСТАННЯ ПРИРОДНИХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРІВ .....	86
5.1 Вплив екстракту з надземної частини хрону на розвиток вільнорадикальних процесів в організмі щурів, отруєних парацетамолом .....	86
5.2 Стан антиоксидантної системи щурів за умов ураження парацетамолом після введення екстракту з надземної частини хрону .....	90
5.3 Показники проникності еритроцитарних мембран та мембран гепатоцитів у щурів, уражених парацетамолом, після застосування екстракту з хрону та силімарину .....	94

5.4	Вплив екстракту з надземної частини хрону на структуру печінки та шлунка після ураження щурів парацетамолом.....	98
5.5	Дослідження жовчовидільної функції печінки в умовах парацетамолового гепатиту при застосуванні екстракту з надземної частини хрону .....	108
5.6	Дослідження знешкоджувальної функції печінки в умовах парацетамолового ураження після використання коригуючих чинників .....	111
РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ		
	ДОСЛІДЖЕННЯ .....	115
	ВИСНОВКИ .....	138
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	140
	ДОДАТКИ.....	166

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

АК –	аскорбінова кислота;
АЛАТ –	аланінамінотрансфераза;
АОС –	антиоксидантна система;
АсАТ –	аспартатамінотрансфераза;
АФК –	активні форми кисню;
БАР –	біологічно активні речовини;
ВГ –	відновлений глутатіон;
ВР –	вільні радикали;
ВРО –	вільнорадикальне окиснення;
ГП –	глутатіонпероксидаза;
ГР –	глутатіонредуктаза;
2,4 – ДНФГ –	2,4 – динітрофенілгідразони;
ЕП –	еритроцитарний індекс інтоксикації;
ЖК –	жовчні кислоти;
КТ –	каталаза;
ЛФ –	лужна фосфатаза;
МДА –	малоновий діальдегід;
ПВК –	пірвіноградна кислота;
ПОЛ –	перекисне окиснення ліпідів;
СОД –	супероксиддисмутаза;
ТБК –	тіобарбітурова кислота;
ФЛ –	фосфоліпіди;
Фла –	флавоноїди;
ФС –	фенольні сполуки;
ХЛ –	холестерол;
ЦП –	церулоплазмін

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Враховуючи роль печінки в метаболізмі хімічних речовин, можна апіорно стверджувати, що не існує лікарських засобів, які в певних умовах не викликали б пошкодження печінки. Безперервно зростаючий потік відомостей про гепатотоксичну їх дію свідчить про те, що медикаментозні ураження печінки – одна з найважливіших проблем гепатології. Значна поширеність таких уражень, тяжкість їх перебігу, диктують необхідність глибокого вивчення механізмів токсичної дії ксенобіотиків і розробки ефективних методів лікування та профілактики токсичних гепатитів. Печінка доволі часто є об'єктом хімічної агресії, оскільки більшість токсикантів має гепатотропну спрямованість, чи метаболізуються в ній [3, 4, 88, 152, 173]. Гострі токсичні ураження печінки викликають понад 1000 препаратів, серед яких є парацетамол, що широко використовується населенням [33, 148, 149, 188]. Неконтрольоване лікування основного захворювання може призводити до маскування симптомів побічної дії ліків [151, 163, 172].

На теперішній час відсутні критерії діагностики медикаментозних уражень печінки, недостатньо з'ясованими залишаються питання їх патогенезу, а способи корекції структурно-функціональних розладів цього органу ще не зовсім досконалі.

Багатьма дослідженнями встановлено, що суттєву роль у механізмі розвитку та прогресуванні токсичних і медикаментозних гепатитів відіграє вплив отрути на стан окисного гомеостазу організму, порушення прооксидантно-антиоксидатної рівноваги за умов впливу на організм чинників різного генезу [40, 119, 136, 185]. В основі розвитку

гепатотоксичної дії парацетамолу лежить активація монооксигеназ ендоплазматичного ретикулуму печінки й процесів ліпідної пероксидації, що супроводжується пригніченням другої фази біотрансформації даного лікарського засобу з накопиченням високореактивних метаболітів, які ініціюють пошкодження печінки [49, 89, 197].

Виходячи з цього, однією з найважливіших вимог до високоефективних гепатопротекторів є здатність останніх впливати на інтенсивність процесів ПОЛ та стан антиоксидантної системи організму, а звідси сприяти відновленню функції багатьох органів, зокрема і печінки.

Останнім часом велика увага приділяється пошуку та розробці високоефективних гепатопротекторів серед лікарської рослинної сировини. Патогенетично обґрунтованим у фармакотерапії токсичних гепатитів є використання гепатозахисних лікарських засобів, які б виявляли антиоксидантну дію, коригували порушення метаболічних процесів та підвищували антитоксичні властивості печінки [61, 62, 80, 153, 183]. Більшість уражень гепатобіліарної системи, незалежно від чинників, призводять до значних змін секреції жовчі, які поглиблюються за рахунок пошкодження дрібних жовчних ходів. Розлади жовчовидільної функції печінки супроводжуються деструктивними змінами клітинних мембран гепатоцитів [16, 30, 32, 143]. Тому сучасні терапевтичні схеми передбачають застосування препаратів з гепатопротекторними та гепаторегенераційними властивостями.

Усім цим вимогам відповідають фітопрепарати, важливими особливостями яких є широкий діапазон терапевтичних доз, здатність активно впливати на уражені мембранно-клітинні структури та метаболічні процеси, висока біодоступність, м'яка дія на організм та фізіологічна корекція порушених функцій, низькі токсичність та алергенність, і у багатьох

випадках, – ціна [139, 159, 165, 167, 186]. Враховуючи вищезазначене, як перспективну сировину було вибрано надземну частину хрону звичайного, яка містить поліфенольні сполуки, вітаміни та інші біологічно активні речовини (БАР), що забезпечують гепатопротекторну дію [1, 82, 86, 96, 147, 156].

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота є фрагментом планової наукової теми кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського" "Фармакогностичне вивчення деяких видів лікарських рослин" (№ держреєстрації 0105U004109).

**Мета дослідження.** З'ясувати в динаміці особливості перебігу парацетамолового ураження печінки та дослідити за цих умов гепатопротекторні властивості екстракту з надземної частини хрону.

**Завдання дослідження.**

1. Дослідити активність прооксидантної та антиоксидантної систем у щурів в динаміці розвитку токсичного ураження печінки парацетамолом.
2. Вивчити показники жовчовидільної та знешкоджувальної функцій печінки в динаміці розвитку парацетамолової інтоксикації.
3. Встановити особливості мембранодеструктивних процесів в динаміці розвитку токсичного ураження печінки парацетамолом.
4. З'ясувати антиоксидантну активність екстракту надземної частини хрону в динаміці розвитку токсичного ураження печінки парацетамолом.
5. З'ясувати гепато- та мембранопротекторні властивості екстракту надземної частини хрону звичайного та довести його ефективність за умов парацетамолового ураження печінки.



б. Дослідити особливості структурної організації печінки за умов токсичного ураження парацетамолом та корекції екстрактом надземної частини хрону звичайного.

*Об'єкт дослідження* – парацетамолове ураження печінки.

*Предмет дослідження* – показники вільнорадикального окиснення, ферментативної та неферментативної ланок антиоксидантної системи, ендогенної інтоксикації, жовчовидільна та знешкоджувальна функції печінки в організмі тварин, уражених парацетамолом після корекції екстрактом з надземної частини хрону звичайного.

*Методи дослідження:* біохімічні (для визначення інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів та окисної модифікації білків, стану антиоксидантної системи та ступеня цитодеструктивних процесів); функціональні (для оцінки жовчовидільної та знешкоджувальної функцій печінки). Для підтвердження гепатотоксичності парацетамолу проводили морфологічні дослідження (вивчення структури печінки з відповідними методами забарвлення та контрастування). Для аналізу отриманих результатів використовували статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** На підставі проведення біохімічних та морфологічних досліджень поглиблено існуючі уявлення про патогенез парацетамолового ураження печінки, з'ясовано стан жовчовидільної та знешкоджувальної її функцій.

Вперше в динаміці (протягом 10 днів) досліджено метаболічні порушення в організмі тварин, уражених парацетамолом. Встановлено, що парацетамол в дозі 1250 мг/кг активує процеси ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків, пригнічує активність антиоксидантної системи в крові та печінці щурів, збільшує проникність мембран гепатоцитів, порушує жовчовидільну та детоксикаційну функції печінки, що

ускладнюється розвитком ендогенної інтоксикації. Доведено, що парацетамол у зазначеній дозі викликає некротично-дистрофічні зміни та розлади мікроциркуляції в паренхімі печінки та слизовій оболонці шлунка. Отримані дані дозволили вперше запропонувати патогенетичну схему розвитку порушень в ураженому парацетамолом організмі, а також виявити ланки, які можна відкорегувати для зменшення ступеня пошкодження печінки.

Вперше на моделі парацетамолового ураження печінки доведено коригуючий вплив екстракту з надземної частини хрону звичайного, який полягає у зменшенні активності вільнорадикального окиснення, покращенні стану антиоксидантної системи, жовчовидільної та детоксикаційної функцій печінки щурів. Доведення гепатопротекторних та мембраностабілізуючих властивостей екстракту з надземної частини хрону в експерименті *in vivo* дозволяє пропонувати використання цього коригуючого чинника для подальшого дослідження з метою введення його в практичну медицину.

**Практичне значення отриманих результатів.** Отримані результати можуть бути використані в клініко-лабораторній практиці для діагностики ступеня тяжкості токсичного ураження печінки парацетамолом. Для корекції виявлених порушень в умовах парацетамолового ушкодження запропоновано використання екстракту з хрону звичайного, що дозволить в подальшому виготовити на його основі гепатопротекторні та антиоксидантні засоби.

Результати дисертаційної роботи впроваджені у лекційний курс кафедр патологічної фізіології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського", ДВНЗ "Ужгородський національний університет", Національного фармацевтичного університету, ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет", Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. За

результатами роботи отримано позитивне рішення щодо патенту на корисну модель "Спосіб корекції медикаментозних уражень печінки".

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз літератури з досліджуваної проблеми, поставлено мету, сформульовано завдання дослідження, змодельовано парацетамоловий гепатит, проведено вивчення жовчовидільної та знешкоджувальної функцій печінки, досліджено стан вільнорадикального окиснення та антиоксидантної системи, проведено вивчення гострої токсичності екстракту з надземної частини хрону звичайного та доведено його антиоксидантні, гепато- та мембрано-протекторні властивості. Самостійно проведено статистичну обробку результатів, оформлення дисертаційної роботи, аналіз та узагальнення результатів дослідження. Разом з науковим керівником розроблено програму наукових досліджень, сформульовано висновки.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, та актах впровадження, що стосується науково-практичної новизни, викладено дані, отримані в процесі виконання дисертаційного дослідження. Проведена підготовка матеріалів до публікації. Виконання морфологічних досліджень здійснювались за консультативної допомоги співробітників кафедри патологічної анатомії ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського".

**Апробація результатів роботи.** Результати роботи оприлюднені на Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології, присвяченої 90-річчю професора О.О. Столярчука „Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина” (Вінниця, 2010), науково-практичній конференції “Актуальні питання теоретичної медицини” (Суми, 2011),

міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2011), науково-практичній конференції з міжнародною участю “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів лікарських препаратів” (Тернопіль, 2011), 71 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченій Дню науки "Сучасні аспекти медицини і фармації" (Запоріжжя, 2011).

**Публікації.** Основні положення роботи висвітлені в 11 публікаціях, із них 3 – у фахових виданнях, 3 – у наукових журналах та 5 тез.

## РОЗДІЛ 1

# СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО РОЗВИТОК МЕДИКАМЕНТОЗНИХ УРАЖЕНЬ ПЕЧІНКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОШУКУ НОВИХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНИХ ЗАСОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### 1.1 Механізми розвитку парацетамолового гепатиту

Печінка доволі часто є об'єктом хімічної агресії, оскільки більшість токсикантів має гепатотропну спрямованість своєї токсичної дії, чи метаболізується в ній [67, 116, 162]. Найбільш частою причиною хімічних пошкоджень печінки є лікарські засоби, а серед них вирізняється парацетамол, який застосовується мільйонами людей [12, 73, 164, 175]

В даний час відомо більше 1000 лікувальних препаратів, що мають гепатотоксичну дію [50, 100, 207, 230]. Особливої актуальності набуває широке використання самими пацієнтами та призначення лікарями біологічно активних добавок, окремі компоненти яких (ретинол, корінь валеріани, залізо) проявляють гепатотоксичність. Зазначені факти свідчать про важливість реєстрації побічних ефектів лікарських препаратів, так як часто гострі лікарські гепатити відносять до розряду ідіопатичних. Вони частіше розвиваються на тлі патологічних змін у печінці та обумовлені великими добовими і курсовими дозами ліків, а також поліпрагмазією.

Механізм дії ліків на печінку неоднаковий. Одні медикаменти можуть бути антигенами, інші, будучи хімічно активними речовинами, вступають у з'єднання з білками і перетворюються з гаптенів на повноцінні антигени, а деякі речовини можуть служити протоплазматичними отрутами. Таким чином, одні медикаменти мають пряму гепатотоксичну дію, інші - непряму [122, 123, 124, 177, 178, 233].

Внутрішні гепатотоксини (фосфор, парацетамол, хлороформ,  $CCl_4$ ) проявляють пряму токсичну дію на печінку за допомогою утворення

ковалентних зв'язків з клітинними молекулами ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{OH}^-$ ), що призводить до цитолізу та інактивації ферментних систем. Метаболізм медикаментозних засобів здійснюється у дві стадії: I стадія печінкової біотрансформації – утворюються метаболіти, які проявляють більшу гепатотоксичність, ніж самі фармакологічні препарати. Біотрансформація здійснюється завдяки окиснювальним процесам, що пов'язані з мікросомальною фракцією цитохрому Р-450 і ферментами мітохондрій; II стадія печінкової біотрансформації – зв'язування метаболітів ліків I фази з різноманітними субстратами (глутатіоном, сульфатом, глюкуронідами), які їх знешкоджують. Утворені сполуки виводяться з жовчю та сечею. Гострі медикаментозні пошкодження печінки можуть протікати у вигляді як чистих гепатитоподібних форм, так і холестатичного варіанту захворювання [64, 68, 121, 201, 205].

Одним із популярних медикаментозних середників в Україні й світі є парацетамол (ПА), який рутинно вважається найбільш безпечним з обширної групи засобів, що проявляють анальгетичну/антипіретичну дію [7, 69, 176, 177, 196, 211, 218]. Разом з тим, відомо, що передозування, а також застосування його на фоні провокуючих чинників (гострі й хронічні ураження печінки, низький вміст білка в раціоні, алкоголізм) може викликати некротичні зміни в клітинах печінки з наступним розвитком печінкової недостатності. В основі розвитку гепатотоксичної дії ПА лежить активація монооксигеназ ендоплазматичного ретикулуму печінки й процесів ліпідної пероксидації, що супроводжується пригніченням другої фази біотрансформації ПА з накопиченням високореактивних метаболітів, які ініціюють пошкодження печінки [48, 89, 117, 118, 146].

За хімічною структурою парацетамол є *n*-ацетамінофенолом:  $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$  з молекулярною масою 151,17 і температурою плавлення близько  $170^\circ \text{C}$ . Парацетамол майже не розчинний у воді, але добре розчинний у спирті та ацетоні, а також у їдких лугах. Структурна формула парацетамолу відображена на рис.1.1.

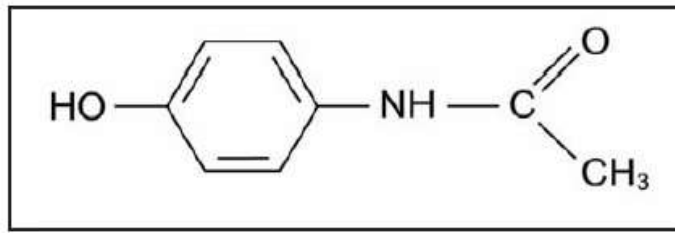


Рис. 1. 1. Структура парацетамолу

В останні роки було висловлено два припущення про механізми дії парацетамолу. Graham et al. [185] погоджуються, що препарат практично не проявляє впливу *in vitro* на ферменти ЦОГ – 1 і ЦОГ – 2, але вважають, що він здатний блокувати *in vivo* біологічні ефекти простагландинів у інтактних клітинах за рахунок прямого зменшення концентрації арахідонової кислоти. Можливо, що вплив парацетамолу на синтез простагландинів опосередковується через регуляцію стимулюючих впливів на процес утворення прозапальних цитокінів [174, 226]. На думку інших дослідників, парацетамол є специфічним і єдиним інгібітором гіпотетичної ЦОГ-3 [236]. Передбачається також, що роль ЦОГ – 3 реалізується на порівняно пізніх стадіях запального процесу і опосередковується через вплив на синтез ендогенних протизапальних медіаторів [180]. Дія парацетамолу може також бути пов'язана з центральними механізмами, відмінними від інгібування синтезу простагландинів.

Як зазначалося вище, у терапевтичних дозах парацетамол має порівняно невелику токсичність, проте усвідомлений чи випадковий прийом високих доз препарату здатний призводити до тяжкого ураження печінки за типом централобулярного гепатонекрозу, що може закінчитися смертю пацієнта [19, 20, 187, 219].

Деякими авторами було показано, що обмін парацетамолу в організмі людини відбувається за участю цитохрому Р-450. У результаті прямої двоелектронної оксидації утворюється активний метаболіт парацетамолу – N-ацетил-p-бензохінонімін (NAPQI), здатний до ковалентного зв'язку з білком [12, 197]. Встановлено, що здатність до перетворення парацетамолу в

активний метаболіт NAPQI (шляхом оксидації) проявляють також цитохроми 2E<sub>1</sub>, 1A<sub>2</sub>, 3A<sub>4</sub> і 2A<sub>6</sub>. В лабораторії доктора Gillette було продемонстровано, що в процесах детоксикації NAPQI бере участь глутатіон (GSH), який утворює кон'югати з парацетамолом. При введенні піддослідним тваринам токсичних доз препарату відбувається зниження рівня GSH у печінці майже на 90%, що зумовлено формуванням ковалентних зв'язків між цистеїном, який входить до складу глутатіону, і NAPQI. Таким чином, формуються парацетамол-білкові стабільні радикали (аддукти), які володіють невисокою токсичністю і можуть елімінуватися з організму [203, 225, 228].

Механізм гепатотоксичної дії парацетамолу пов'язаний з особливостями його метаболізму. Близько 5% ацетамінофену піддається окисленню ізоферментами цитохрому P-450 2E<sub>1</sub> і 1A<sub>2</sub> з утворенням N-ацетил-p-бензохінонімін (NAPQI), який, зв'язуючись з глутатіоном, перетворюється в неактивні сполуки і виводиться нирками. При збільшенні дози парацетамолу зростає кількість NAPQI, при цьому виникає дефіцит глутатіону, а NAPQI з'єднується з нуклеофільними групами білків гепатоцитів, що призводить до некрозу тканини печінки. Цим самим механізмом пояснюється здатність парацетамолу викликати також некроз ниркових каналців (у нирках теж містяться ферменти, що окиснюють препарат).

Таким чином, гепатотоксичний ефект проявляє не власне парацетамол, а його нестабільний метаболіт при виснаженні запасів глутатіону в печінці.

Передбачається, що виникнення ковалентного зв'язку між парацетамолом і найбільш біологічно важливими внутрішньоклітинними білками печінки супроводжується наступним ланцюгом процесів: зниження активності гепатоцитів, потім - загибель і лізис клітин [219, 227]. Відповідно до цієї гіпотези білком-мішенню для парацетамолу є мітохондріальні протеїни клітин печінки. Ковалентне зв'язування препарату з внутрішньоклітинними білками супроводжується зниженням енергетичних процесів у гепатоцитах і, як наслідок, порушеннями в трансмембранному



іонному градієнті, а також різким пригніченням активності плазматичної АТФази [228]. В даний час ідентифіковано близько 20 білків, здатних утворювати ковалентні зв'язки з парацетамолом. Серед них глутамінсинтетаза, глутаміндегідрогеназа, альдегіддегідрогеназа, глутатіонпероксидаза, карбоангідраза III, глутаматдегідрогеназа, гліцин-N-метилтрансфераза [194, 221]. Є підстави припускати, що інгібування більшості внутрішньоклітинних ферментів гепатоцитів не носить миттєвий і тотальний характер. У дослідженнях James et al. [196, 198] було показано, що через 2 години після введення експериментальним тваринам токсичної дози парацетамолу активність глутаматдегідрогенази і N-10-формілтетрагідрофолатдегідрогенази в гепатоцитах знизилася приблизно на 25%.

Роль окисного стресу у патогенезі захворювань печінки інтенсивно вивчається в останні роки. Утворення активних форм кисню (перекисів, супероксид-аніон-радикалу) – звичайне явище в процесі клітинного дихання, однак вміст їх надмірно зростає в умовах алкогольної інтоксикації, при пошкодженні печінки і запаленні, дефіциті антиоксидантів, гіпоксії, дії деяких ліків. Підвищене утворення вільних радикалів супроводжується пошкодженням клітинних органел і макромолекул (ДНК, білків і ліпідів, антиоксидантних систем). При окислювальному стресі продукти перекисного окиснення відіграють важливу роль у фіброгенезі, активуючи зірчасті клітини печінки і підвищуючи продукцію позаклітинного матриксу [114, 132].

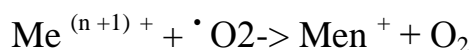
До внутрішньоклітинних "захисних молекул", що перешкоджають розвитку реакцій перекисного окиснення, відносяться ферменти супероксиддисмутаза [57, 154], каталаза, глутатіонпероксидаза, металозв'язуючі білки, молекули – "прибиральники вільних радикалів" (глутатіон, убіхінон, сечова кислота, аскорбінова кислота і токоферол, ліпоева кислота, селен, рибофлавін, цинк, каротиноїди). Обмін різних антиоксидантів тісно взаємопов'язаний. В умовах запалення печінки

джерелом утворення активних форм кисню служать клітини запального інфільтрату [35, 37, 79, 200, 208].

Крім того, одним з універсальних механізмів ушкодження клітин при захворюваннях печінки є порушення функції мітохондрій. При дії на клітину деяких речовин, таких як фактор некрозу пухлини-а (TNF $\alpha$ ), етанол, а також в умовах надлишкового накопичення заліза та міді відбувається порушення процесу окисного фосфорилування в мітохондріях, що супроводжується розвитком енергетичного дефіциту і загибеллю клітин. Дезорганізація мембран мітохондрій в умовах перекисного окиснення може супроводжуватися "виток" цитохрому С в цитоплазму, активацією процесу програмованої загибелі клітин [36, 219].

Незважаючи на те, що сучасні наукові дані, що стосуються значення вільнорадикальних процесів у патогенезі захворювань печінки, нерідко виявляються суперечливими, все ж у певних клінічних ситуаціях негативна патогенетична роль порушення функції мітохондрій, клітинного дихання та розвитку перекисного окиснення ліпідів не викликає сумнівів. Це перш за все алкогольна хвороба печінки, неалкогольний стеатогепатит, внутрішньопечінковий холестаз вагітних, деякі випадки токсичного ураження печінки [13, 15].

Оксидативний стрес є одним з можливих механізмів реалізації токсичних ефектів високих доз парацетамолу. Підвищене утворення супероксиду за механізмом реакції Фентона веде до утворення перекису водню і гідроксильного радикала ( $\bullet$ OH). У реакцію Фентона ( $Me^{n+} + H_2O_2 \rightarrow Me^{(n+1)} + \bullet OH + OH^-$  або  $Me^{n+} + ROOH \rightarrow Me^{(n+1)} + RO\bullet + H_2O$ ) втягуються катіони металів змінної валентності, які перебувають на меншому рівні окиснення ( $Fe^{2+}$ ,  $Cu^+$ ,  $Ti^{3+}$ ,  $Cr^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ). Висока ефективність продукції активних форм кисню в реакції Фентона забезпечується реакцією, в якій супероксид-аніон-радикал виступає в ролі відновника:



Після прийому токсичних доз парацетамолу у високих концентраціях утворюється NAPQI, що, як наслідок, супроводжується вираженим зменшенням рівня GSH в центролобулярних клітинах печінки. Передбачається, що в подібній ситуації відбувається інгібування GSH-пероксидази - найбільш важливого ензиму, який приймає участь у процесах детоксикації. Крім того, у процесі утворення NAPQI під впливом цитохрому P<sub>450</sub> відбувається утворення супероксид-аніонів ( $\cdot\text{GO}^-$ ), що мають потужну цитотоксичну дію. Під впливом супероксиддисмутази супероксид-аніони перетворюються на кисень і перекис водню [184]. Супероксид може утворюватися у ході реакцій, в яких беруть участь різні ферменти, включаючи цитохром P-450 [118, 184]. В експериментальних роботах James з отруєння парацетамолом була дана оцінка метаболічної активності (так званому "респіраторному вибуху") клітин Купфера, макрофагів і нейтрофілів [197, 200]. Раптове різке підвищення утилізації кисню фагоцитуючими клітинами – результат підвищення активності ферменту НАДФ-оксидази, однак проведені дослідження показали, що при передозуванні парацетамолом, джерелом підвищення рівня супероксиду є неактивовані макрофаги. Подальші роботи зазначених авторів дозволили припустити, що джерелом утворення супероксиду служать мітохондрії печінкових клітин, які під впливом парацетамолу, перебувають у стані дисфункції. Ймовірно, цей механізм грає істотну роль в гепатотоксичному ефекті при передозуванні препаратом.

У багатьох лабораторіях вивчають роль макрофагальних клітин в токсичності парацетамолу [170, 191, 200]. У печінці макрофагальними клітинами є клітини Купфера. Відомо, що в процесі життєдіяльності зазначених клітин продукується ряд біологічно активних молекул, серед яких є гідролітичні ферменти, ейкозаноїди, оксид азоту, супероксид. Крім них, в контакт з парацетамолом, купферовські клітини здатні вивільняти деякі прозапальні цитокіни. Деякими дослідниками запропонована експериментальна модель, в якій фізіологічна активність купферовських

клітин штучно пригнічувалась за рахунок введення хлориду гадолінію і сульфату декстрану. З'ясувалося, що щури, яким попередньо вводили ці речовини, істотно краще переносили токсичні дози парацетамолу. Отримані дані дозволили висловити припущення про суттєву роль клітин Купфера в механізмах розвитку отруєння парацетамолом.

В дослідях на експериментальних тваринах було виявлено, що введення токсичних доз парацетамолу супроводжується накопиченням нітротирозину в клітинах печінки [197]. Дані імуногістохімічного аналізу свідчать про те, що нітрати утворюються саме в тих клітинах, в яких відбувається накопичення аддукторів парацетамолу, що призводить до розвитку некрозу. В організмі ссавців пероксинітрит являє собою одну з небагатьох хімічних сполук, здатних перетворювати тирозин в нітротирозин. Є підстави припускати, що саме ця сполука бере участь у метаболізмі парацетамолу в клітинах печінки, призводячи до накопичення продукту реакції – нітротирозину. Разом з тим відомо, що пероксинітрит – дуже агресивний оксидант, потенційно здатний пошкоджувати багатоклітинні структури печінки. В умовах ослаблення антиоксидантного захисту ушкоджуючі ефекти пероксинітриту стають ще більш значними. Аніон пероксинітриту є порівняно стабільним, хоча в умовах зниженого рН період його напіврозпаду зменшується, складаючи близько 1,9 секунди. Реакції оксидації, викликані пероксинітритом, можуть протікати з участю одного або двох електронів. Доведена роль цієї сполуки в процесах оксидації ліпідів, білків і ДНК [198].

Таким чином, процес оксидації клітинних структур, що провокується високими дозами парацетамолу і реалізується за участю пероксинітриту, може виявитися одним із можливих механізмів токсичного пошкодження печінки. Утворення нітротирозину в клітинах печінки також може відбуватися в присутності мієлопероксидази [170].

Все вищенаведене вказує на доцільність пошуку засобів з поліфункціональними властивостями, здатних запобігати утворенню

реактивних метаболітів, сприяти глутатіонзалежній кон'югації парацетамолу і, відповідно, активно впливати на патогенез ураження ним печінки.

## 1.2 Сучасні підходи до лікування медикаментозних та токсичних уражень печінки з використанням рослинних лікарських засобів

Печінка відіграє основну роль у метаболізмі, біотрансформації більшості речовин, які надходять в організм із зовнішнього середовища, зокрема й медикаментів. Наразі відомо понад 300 медикаментозних препаратів, які здатні викликати пошкодження печінки.

До препаратів, які викликають гепатотоксичні реакції, належать саліцилати, тетрациклін та інші антибіотики, парацетамол, сульфаніламід, андрогенні й анаболічні гормони, антиметаболіти, тубазид, метилдофа, триметоприм [4, 149, 152].

Для лікування токсичних та медикаментозних гепатитів широко використовують препарати рослинного [22, 38, 39, 42, 140, 210] та синтетичного [75, 125, 126, 150] походження.

Останнім часом помітно зросла зацікавленість до рослинних гепатопротекторів. Це зрозуміло, оскільки фітогепатопротектори мають багато переваг перед синтетичними препаратами: вони впливають одразу на кілька патогенетичних ланок захворювання, безпечні, діють м'яко, добре сприймаються, характеризуються вигідними фармакоекономічними показниками [47, 53, 70, 141, 216].

За останнє століття виділено та вивчено понад 4 тис. рослинних фенольних сполук із різноманітною біологічною активністю. Поліфенольні сполуки різних класів наявні практично в усіх рослинах [17, 18, 66, 83, 87, 159].

З поміж гепатопротекторів рослинного походження найпопулярнішою рослиною є розторопша плямиста. В червоній квітці розторопші виявлено 400 біохімічних компонентів, з яких особливо цінні 12 видів силімаринів. За

даними літератури, найефективнішим із препаратів, що містять як моносубстанцію лише силімарин, є Легалон. Силімарин – це комбінація ізомерів із 4 флавоноїдів: силібініну, ізосилібініну, силідіаніну й силікрістину [195].

Порівняльне дослідження кількох препаратів, які містять силімарин, свідчить, що частка силібініну в силімарині окремих препаратів коливається в межах 20 – 50%.

Численними клініко-експериментальними дослідженнями встановлено, що флавоноїд силібінін має гепатопротекторну, антиоксидантну, антифібротичну та антитоксичну дії. Гепатопротекторна дія полягає у стимуляції РНК–полімерази гепатоцитів, що прискорює транскрипцію і синтез рРНК у клітинах печінки, в яких збільшується кількість рибосом та підвищується синтез структурних і функціональних білків, фосфоліпідів, зменшується проникність клітинних мембран [182].

Силібінін перешкоджає проникненню в клітину деяких гепатотоксичних речовин, зокрема отрути блідої поганки – альфа-аманітину, а також захищає клітини печінки від токсичної дії чотирихлористого вуглецю та парацетамолу, зв'язує вільне залізо, яке є токсичним.

Відомо, що силімарин застосовують для лікування гострих уражень печінки при отруєннях блідою поганкою, парацетамолом, естрадіолом, розчинниками (тетрахлоркарбонатом та ін.), токсинами навколишнього середовища (бензпіреном, важкими металами тощо), такими токсичними агентами, як галактозамін, триацетамід, кишкового ліпополісахариду-ендотоксину [168, 204].

Силімарин є іонним стабілізатором мембран і має антиоксидантний ефект. Препарат знижує рівень перекисного окиснення ліпідів, за рахунок чого зменшується кількість малонового діальдегіду, який є стимулятором функціональної активності ретикулоепітеліоцитів (клітин Купфера) і ліпоцитів. Відомо, що малоновий діальдегід ініціює посилення імунного запалення в паренхімі печінки. При цьому підвищується продукування

купферівськими клітинами і ліпоцитами грубого колагену – колагену III, який сприяє фібротизації у тканині печінки, зумовлюючи прогресування хронічного гепатиту перехід його в цироз печінки [223].

Силімарин зменшує кількість вільних радикалів – пероксиду водню, гідроксила, синглетного кисню. Вільні радикали зумовлюють ушкодження ензимів, відповідальних за синтез білків, виявляють токсичну, мутагенну і канцерогенність щодо ДНК, руйнують ліпіди, активуючи перекисне окиснення мембран гепатоцитів, пригнічують утворення прозапальних лейкотрієнів і простагландинів, які стимулюють проліферацію у печінці міофібробластів, утворення проколагену III і гідроксипроліну, що сприяє процесам фіброзу в печінці [45].

З огляду на те, що силімарин не тільки є скавенджером вільних радикалів, а й зменшує утворення і накопичення ацетальдегіду, очевидний подвійний позитивний ефект від його застосування. Завдяки своїм радикаловловлюючим властивостям силімарин сприяє також збереженню депо глутатіону в печінці, що підтримує її дезінтоксикаційну функцію.

Силімарин підвищує активність ферментних антиоксидантних систем (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази); пригнічує запальні ензими, зменшуючи продукування медіаторів ліпоксигенази і лейкотрієнів; запобігає процесам фібротизації печінки або пригнічує їх, посилює репарацію, стимулюючи синтез білків і регенерацію печінкових клітин та біосинтетичні процеси в них [5, 98, 209].

Силімарин – рослинна активна складова частина препарату Карсил. Результати фармакокінетичних досліджень Карсилу, проведених на піддослідних тваринах і здорових добровольцях при пероральному введенні, показують інтенсивне розподілення препарату в організмі. У результаті досліджень міченим силібініном високу концентрацію речовини виявляють у печінці і зовсім незначна кількість – у нирках, легенях, серці та інших органах. Нарівні з препаратами силімарину на вітчизняному фармринку

широко представлені і застосовуються і інші препарати, в основу яких покладені такі сполуки, як есенціальні фосфоліпіди, амінокислоти та ін. [51].

Гепабене – комбінований препарат рослинного походження з унікальними фармакологічними властивостями, що забезпечують його високу терапевтичну ефективність не тільки при дифузних захворюваннях печінки, але і при дискінезіях жовчовивідних шляхів [157]. Клінічна активність препарату обумовлена властивостями в його складі природних компонентів: 1 капсула гепабене містить комбінацію екстрактів рослини рутки лікарської та плодів розторопші плямистої в оптимальному співвідношенні (0,275 і 0,07-0,1 г відповідно).

Основна діюча речовина з родини лікарських флавоноїдів розторопші – силібінін – входить до складу препаратів: Сібектан, Легалон, Сіромін та ін. Відмінності між цими препаратами полягають у кількісних співвідношеннях флавоноїдів, а також у поєднаннях розторопші з іншими засобами, які як правило, проявляють жовчогінний або антисептичний ефекти.

Препарат Сібектан містить у своєму складі сухий екстракт з пижма, плодів розторопші плямистої, звіробою та берези. Сібектан успішно застосовується в терапії хронічного холециститу, гіпотонічній дискінезії жовчного міхура. Його призначають при гепатитах і цирозах печінки з метою профілактики прогресування процесу [106] .

Дослідженнями Г.Д. Анохіної та співавт. доведено високу ефективність Легалону як препарату супроводу у хворих, яким назначається антибактеріальна терапія. Мембраностабілізуюча, антиоксидантна дія Легалону та його здатність стимулювати синтез білка в гепатоциті дає змогу запобігти розвитку токсичних уражень паренхіми печінки та здійснити антибактеріальну терапію у повному обсязі [6].

Силібор – гепатопротекторний засіб, механізм дії якого обумовлений антиоксидантною та мембраностабілізуючою активністю. Покращує обмін речовин у гепатоцитах: нормалізує обмін фосфоліпідів, стимулює синтез



структурних та функціональних білків, РНК та глікогену. Перешкоджає проникненню гепатотоксичних речовин у клітини печінки та прискорює процеси регенерації гепатоцитів [ 58, 94, 99, 104, 105, 155].

Широкого застосування знайшов препарат Кверцетин. Його використовують у вигляді пігулок, гранул, розчину для внутрішньовенного застосування. Кверцетин впливає на ферментативні системи, імунні та обмінні процеси в організмі, викликає гіполіпідемічний, гіпоазотемічний та гіпоглікемічний ефекти [74, 142, 161, 166]. У літературі наведено дані про інгібуючу дію біофлавоноїдів, у тому числі, і кверцетину, на активність багатьох ферментів: кіназ, фосфоліпаз А<sub>2</sub> та С типів, Na-K-АТФаз, Са<sup>2+</sup>-АТФаз, ліпооксигеназ, циклооксигеназ, фосфодіестераз та ін. Представляють інтерес також антигістамінні та антиоксидантні властивості кверцетину [202, 213, 215].

Механізм дії препарату Карсил ще не з'ясований остаточно. Вважається, що антигепатотоксична дія силімарину, який є основою препарату, зумовлена його конкуруючою взаємодією з рецепторами до відповідних токсинів у мембрані гепатоцитів. Карсил проявляє свою дію, стабілізуючи біомембрани, покращуючи функції клітинних структур. Таким чином, відбувається специфічний і лікувальний вплив на клітини печінки. Карсил проявляє вплив на клітинний метаболізм. Дія флавоноїдів, до яких відноситься силімарин, пов'язана з їх антиоксидантними ефектами та ефектами, які покращують мікроциркуляцію [8, 10, 95, 120, 134, 135].

До складу препарату Корвітин входить кверцетин, що виявляє властивості модулятора активності різних ферментів, які беруть участь у деградації фосфоліпідів (фосфоліпаз, фосфогеназ, циклооксигеназ) та впливає на вільнорадикальні процеси, відповідає за біосинтез у клітинах оксиду азоту та протеїназ [101]. Інгібуюча дія кверцетину на мембранотропні ферменти і перш за все на 5-ліпооксигеназу проявляється у гальмуванні синтезу лейкотрієнів LTC<sub>4</sub> і LTB<sub>4</sub>. Поряд з цим кверцетин дозозалежно

підвищує рівень оксиду азоту в ендотеліальних клітинах, що пояснює його кардіопротекторну дію при ішемічному та реперфузійному ураженнях міокарда. Виявляє також антиоксидантні та імуномодулюючі властивості, знижує вироблення цитотоксичного супероксиданіону, нормалізує активацію субпопуляцій лімфоцитів і знижує рівень їх активації [21].

Ессенціале Н – препарат, що позиціонується як гепатопротектор. Його основна активна речовина – це есенціальні фосфоліпіди. Препарат не синтезують, а добувають природним шляхом з соєвих бобів. Фосфоліпіди – це основний елемент клітинних органел і клітинної оболонки печінки. Потрапляючи в організм людини, препарат зберігає і відновлює фосфоліпідзалежні ферментні системи та структуру клітин печінки, нормалізує обмін білків і ліпідів, детоксикаційну функцію печінки. Есенціальні фосфоліпіди сповільнюють утворення сполучної тканини в печінці. Високоенергетичні молекули активної речовини препарату вбудовуються в мембрани клітин печінки, що сприяє процесу регенерації тканин органа [52, 55].

Таким чином, препарат здатний не тільки захищати, але й відновлювати цілісність мембран і енергетичні запаси гепатоцитів. Саме "есенціальні" фосфоліпіди входять до складу Ессенціале Н, який нещодавно з'явився в Україні. На відміну від нього до складу Ессенціале форте, крім "есенціальних" фосфоліпідів, входили вітаміни групи В, нікотинамід, вітамін Е [49].

Проте вищеназвані препарати не повністю задовільняють запити клініцистів та фармацевтичний ринок, у зв'язку з тим, що не зовсім достатня сировинна база на Україні для створення препаратів з антиоксидантними та гепатопротекторними властивостями. Багато з них є імпортованими засобами, що затрудняє їх доставку та призводить до здорожчання у мережі аптек. Звідси, виникає потреба у пошуку місцевої рослинної сировини, яку можна було б використати для створення нових ліків.

### 1.3. Перспективність створення лікарських засобів на основі біологічно активних речовин хрону звичайного

Хрін вітамінна рослина, корені та листя якої містять до 250 мг на 100 г сировини аскорбінової кислоти, вітаміни групи В, РР. До складу листків хрину входять вуглеводи, зокрема різні цукри і полісахариди, органічні кислоти, глікозиди синігрин і гліконастурцин, флавоноїди, гірчична олія (листки – 0,125– 0,185 % та корені – 0,15–0,21 %), мікро- та мікроелементи [1, 66, 82, 96, 192, 206].

З лікувальною метою частіше використовують корені хрону звичайного, але народна медицина ще використовує і листя даної рослини.

Останні джерела показали наявність в листках мікроелементу селену, що у нормі необхідний у тисячних частках грама. Він діє як антиоксидант, подібно до вітаміну Е, але не заміняє його і не взаємодіє з ним. Селен впливає на фактор розмноження і дозрівання статевих клітин. Він затримує в організмі ріст і розвиток ракових клітин, а також гальмує деформацію нормальних клітин. Селен підвищує стійкість організму до вірусів і грибків, знищує цвіль [17, 109, 138, 224, 234, 235].

У хімічному відношенні листки хрону вивчені менше. Згідно даних літератури зелені листки рослини багаті на каротиноїди, вміст яких коливається у високих межах і досягає 115 мг на 100 г свіжих листків. Крім цього у надземній частині хрону звичайного виявлено фенольні сполуки, які представлені такими біологічно активними речовинами як флавоноїди, а саме, похідними кверцетину та ізорамнетину, алкалоїдами, мінеральними солями [1, 127].

Таким чином, різноманітність хімічного складу хрону звичайного зумовлює різні його властивості та вплив на організм, що здавна використовують в народній медицині.

Історично з лікувальною метою у народній медицині вживали корені хрону [86].

Завдяки різноманітному хімічному складу і широкому спектру дії кореневище і корені хрону розглядаються як перспективне джерело лікарської рослинної сировини, на основі якого можна створити значну кількість лікарських засобів.

У рослині міститься велика кількість фітонцидів, також бактерицидна речовина лізоцим, що робить хрін незамінним протизапальним засобом [1].

Корінь хрону проявляє протизапальну, бактерицидну, сечогінну, протизастудну, глистогінну, загальнозміцнюючу, стимулюючу апетит дії. Застосовується як загальнозміцнюючий, протицинготний засіб, при гастриті зі зниженою кислотністю, при сечокам'яній хворобі, подагрі, ревматизмі. Зовнішньо використовується як обволікаючий, місцевопозражняючий засіб (подібно гірчичникам) при радикуліті, м'язових болях. Хрін застосовують також при водянці, кашлі, застуді, радикуліті. Корисно включати його у дієтичне харчування при авітамінозах, гепатитах, порушеннях травлення, плевритах, підвищеному артеріальному тиску, порушеннях функцій жовчного міхура, підшлункової залози, нирок, кровотворних органів [66].

Через подразнювальну дію не рекомендується приймати хрін всередину при гострих гастритах, ентероколітах, нефриті. При передозуванні можуть розвинути запальна реакція слизових оболонок і навіть інтоксикація.

Настій хрону корисний при холециститі та хворобі Боткіна.

Клінічними спостереженнями доведено, що свіжий сік хрону та його водні розчини підсилюють секрецію соляної кислоти в шлунку людини й допомагають у лікуванні гастритів з пониженою кислотністю шлункового соку.

Хрін має відхаркувальну, протизапальну, антимікробну, болезаспокійливу дії. Ефірна олія в малих концентраціях подразнює слизову оболонку шлунково-кишкового тракту, що супроводжується посиленням секреції залоз різних відділів кишечника і посилює його перистальтику.

Сік зі свіжих коренів хрону знижує рівень цукру в крові, зменшує розміри адреналінової гіперглікемії і змінює характер глікемічній кривої після навантаження глюкозою, одноразове пероральне застосування соку або витяжки з свіжих коренів хрону викликає значне посилення секреції жовчі, підвищуючи в ній вміст білірубіну. Детальне вивчення хрону показало наявність у ньому антибіотика. Цей антибіотик, згодом названий арморацином, характеризується широким спектром дії антибактеріальної активності і атакує як грампозитивні, так і грамнегативні патогенні мікроорганізми [1, 26]. Хлороформенні екстракти з коренів хрону проявляють виражену дію на золотистий стафілокок і альфа-гемолітичні стрептококи.

Протипоказами до використання хрону та лікарських форм з нього є виражений гастрит, нефрит, ентероколіт, виразкова хвороба.

Під час серії дослідів в Англії з хрону була виділена речовина, яка здатна розбивати ракові клітини на окремі фрагменти. Після встановлення антиракового потенціалу цієї речовини перед медициною відкрився принципово новий шлях лікування раку.

Таким чином, вивчення досвіду використання хрону звичайного у народній медицині, а також інформація про те, що він містить значну кількість біологічно активних речовин, які мають широкий спектр фармакологічної дії, підтверджують доцільність дослідження даної рослини і створення на її основі нових лікарських засобів.

Широкий діапазон фармакологічної активності хрону звичайного пов'язаний з багатим хімічним складом як підземних, так і надземних органів рослини.

Пероксидази, що містяться у верхньому шарі коренів та в шкірці хрону, відносяться до групи ферментів класу оксидоредуктаз; каталізують окиснення різних поліфенолов, аліфатичних і ароматичних амінів, а також жирних кислот (пероксидаза жирних кислот), цитохрому

(цитохромпероксидаза), глутатіона (глутатіонпероксидаза) за допомогою перекису водню ( $H_2O_2$ ) або органічних перекисів [18].

Російські вчені прийшли до висновку, що пероксидаза здатна виліковувати таке захворювання, як лепра (проказа). Дослідження показали, що ефективність знищення збудників прокази (*Mycobacterium leprae*) клітинами-макрофагами безпосередньо залежить від активності вмісту в них ферменту мієлопероксидази. При високій її активності організм стійкий до лепри, а в разі зараження легко виліковується. В іншому ж випадку макрофаги не можуть активно знищувати мікроорганізми, і лікувати хвороби стає неможливим. Враховуючи це, вчені запропонували хворим людям із спадковою або набутою формою лепри компенсувати нестачу цього фермента, використовуючи ідентичну за активністю речовину – пероксидазу хрону.

За останні роки вченими доведена імуномодулююча та антиоксидантна активність ефірних олій [45]. У коренях хрону міститься глюкозид синігрин, при розщепленні якого утворюється аллілова гірчична олія та лізоцим – білкова речовина, що має сильну бактерицидну дію і перешкоджає росту бактерій.

На долю фенольних сполук припадає до 2 – 3 % маси органічних речовин рослини. Феноли, які мають комплексоутворювальну здатність, не шкідливі та малотоксичні, послаблюють та виключають каталітичну дію вільних іонів важких металів. Знешкоджуючи вільні радикали, фенольні сполуки зменшують небезпеку утворення токсичних сполук в організмі [46, 84].

Фенольні сполуки входять до складу багатьох лікарських препаратів препаратів, які використовуються як жовчогінні, протизапальні, антиспастичні, протиалергічні, судиннорозширюючі, антимікробні, діуретичні, седативні, цитостатичні, антиоксидантні, анаболічні, адаптогенні, імуномодельючі, тонізуючі засоби. Вони активують деякі антиоксидантні

ферменти (глутатіонпероксидазу, каталазу) і окремі гідролази (лужну фосфатазу) [91].

Найбільше серед фенольних сполук є флавоноїдів, які проявляють широкий спектр фармакологічної дії: капілярозміцнювальну, протизапальну, антимікробну, антиоксидантну, антиалергічну, діуретичну, гіпотензивну, репаративну, анаболічну, гепатопротекторну, противиразкову, жарознижувальну, відхаркувальну, гіпоглікемічну, гіполіпідемічну, протипухлинну, спазмолітичну, імуностимулюючу [130, 189, 190, 193].

Аскорбінова кислота у значній кількості міститься у рослині. Основні ефекти препарату "Аскорбінова кислота" зумовлені участю в регуляції окисно-відновних процесів, створюючи із дегідроаскорбіною кислотою систему переносу протону водню. Аскорбінова кислота виявляє властивості біоантиоксиданту, за рахунок чого забезпечує стабільність клітинних мембран. За рахунок активації дихальних ферментів у печінці посилюється її детоксикаційна і білковоутворююча функції, підвищується синтез протромбіну. Вона покращує виділення жовчі, відновлює зовнішньосекреторну функцію підшлункової залози та інкреторну функцію щитовидної залози. Регулює імунні реакції (активує синтез антитіл, особливо IgM і IgA, C<sub>3</sub>-компонента комплементу, інтерферону), сприяє фагоцитозу, підвищує опірність організму до інфекцій. Чинить протизапальну і антиалергічну дії за рахунок гальмування звільнення і прискорення деградації гістаміну, пригнічення утворення простагландинів (ПГ) та інших медіаторів запалення й анафілаксії [41, 131].

Каротини в організмі людини підвищують імунний статус, захищають від фітодерматозів, є природними антиоксидантами, як попередники вітаміну А забезпечують механізм зору. Бета-каротин – сильний антиоксидант, він захищає клітинні структури від руйнування вільними радикалами, що утворюються в клітинах у процесі внутрішньоклітинного дихання і надходження в організм забрудненого повітря, компонентів їжі, що містять попередників вільних радикалів, тютюнового диму. Як антиоксидант, бета

каротин бере участь у діяльності імунної системи. Лімфоцити в процесі своєї життєдіяльності продукують вільні радикали, так само вони утворюються і в інших клітинах організму під впливом різних факторів зовнішнього середовища, вірусів і бактерій. Вільні радикали беруть участь в деяких біологічних реакціях, але їх надлишок призводить до руйнування білків, нуклеїнових кислот та клітинних мембран. Для захисту від цих пошкоджень організм синтезує власні антиоксиданти, але їх недостатньо в умовах патології. Як додаткове джерело антиоксидантів використовують бета-каротин, який є в складі вітамінно-мінеральних комплексів [80, 216].

Селен є кофактором у різних ензимах людського організму, тому він належить до основних мікроелементів. У людей були ідентифіковані глутатіон-пероксидаза, що містить селен, та селеновий протеїн. Глутатіон-пероксидаза є частиною антиоксидантного захисного механізму клітини у ссавців. Як складова глутатіонпероксидази, селен може сповільнювати перекиснення ліпідів, а отже – й ушкодження стінки клітини, до якого воно призводить. Глутатіонпероксидаза впливає на метаболізм лейкотрієнів, тромбоксанів та простагліцинів. Дефіцит селену проявляється пригніченням активності глутатіонпероксидази в крові, плазмі або тромбоцитах. Патологічна значущість селенозалежних реакцій виявлена в дослідженнях дефіциту селену у людей та тварин: дефіцит селену активує та інгібує реакцію імунобіологічних механізмів, зокрема реакцію неспецифічних клітин та рідин організму. Дефіцит селену пригнічує активність різних печінкових ензимів [17, 54].

З наведеного огляду літератури випливає, що на даний час зустрічаються небагато публікацій, в яких наводився б комплексний підхід до патогенезу розвитку парацетамолової інтоксикації в організмі тварин. Вивчення молекулярних механізмів патологічних змін, які відбуваються у тварин після отруєння парацетамолом не викликає сумніву. Зокрема, залишається актуальним встановлення взаємозв'язку між окиснювальними процесами та захисними системами організму. Відсутність таких даних



затрудняє пошук препаратів, які проявляли б коригуючий вплив на метаболічні порушення за даної патології. Застосування антиоксидантів синтетичного та рослинного походження при отруєннях різного генезу часто розрізнені та суперечливі. В літературі відсутні результати використання лікарських засобів з хрону звичайного за умов медикаментозного ураження печінки.

Таким чином, хімічний склад хрону звичайного представлений різними класами органічних сполук, кожна з яких має широкий спектр фармакологічної дії. Крім органічних сполук, хрін звичайний вміщує життєво важливі макро- та мікроелементи, які збагачують рослину лікувальними властивостями та необхідні для життєдіяльності людського організму. Такі фармакологічні ефекти як антимікробний, протизапальний, відхаркувальний, літолітичний, протираковий, гепатопротекторний, гіпоглікемічний обумовлені наявністю в ньому пероксидази, флавоноїдів, кумаринів, алкалоїдів, ефірних олій, полісахаридів, селену. Наявність цих ефектів послужила основою для застосування хрону при захворюваннях органів дихання, нирок, сечового міхура, печінки, ракових та вірусних захворювань.

Виходячи із вищезазначеного аналізу хімічного складу хрону звичайного та його фармакологічних властивостей, можна говорити і про антиоксидантну дію цієї рослини. Основою для цього служить наявність у рослині значної кількості фенольних сполук, пероксидази, селену, каротинів та аскорбінової кислоти.

### Резюме

Аналіз даних літератури показав, що пошкодження клітин печінки викликається метаболітами парацетамолу, а не самим препаратом. Продукти метаболізму парацетамолу призводять до розвитку оксидативного стресу, активують процеси вільнорадикального окиснення, пригнічують системи захисту та функціональну спроможність печінки, що в подальшому викликає некроз гепатоцитів.

Проте, в літературі немає комплексних досліджень функціонального стану печінки після ураження парацетамолом, які проводились би протягом тривалого терміну. Відсутні результати морфологічного вивчення структури печінки у більш віддалені строки після ураження. Проведення таких досліджень дасть змогу запропонувати схему розвитку парацетамолової інтоксикації та віднайти ефективні схеми корекції виявлених порушень за допомогою лікарської рослинної сировини, яка містить комплекс БАР з антиоксидантними та гепатопротекторними властивостями. Ми не знайшли в джерелах наукової літератури повідомлень про використання хрону звичайного при медикаментозних ураженнях печінки.

Вищесказане спонукало нас до досліджень, які наведені в наступних розділах і сформульовані як мета та завдання у вступі даної роботи.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Матеріали дослідження

Відбір тварин для дослідження. Досліди проведені на білих безпородних щурах-самцях масою тіла 150 – 170 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію. В процесі роботи використано 163 щури, 6 морських свинок та 3 кролі.

Моделлю токсичного ураження печінки слугувала інтоксикація парацетамолом, який тварини отримували щоденно протягом 2-ох днів інтрагастрально з допомогою зонда у вигляді 1 % крохмального розчину в дозі 1250 мг/кг [60].

Дослідження ефективності екстракту з надземної частини хрону проводили на моделі токсичного ураження щурів парацетамолом [59].

Евтаназію тварин проводили з використанням тіопенталу натрію на 3-ю та 10-у доби від початку введення парацетамолу. Кров забирали із серця щурів [14].

Дослідженням піддавали гомогенат печінки, цільну кров та сироватку крові.

Всі піддослідні щури були поділені на такі групи: 1 – контрольні щури (інтактні, яким вводили фізрозчин); 2 – тварини, отруєні парацетамолом; 3 – уражені тварини, що отримували екстракт з надземної частини хрону; 4 – уражені тварини, яким щоденно вводили лікарський засіб силімарин.

Силімарин вводили внутрішньошлунково щоденно в дозі 50 мг/кг протягом всього експерименту [27, 34]. Екстракт (10 %) з хрону звичайного тварини отримували щоденно внутрішньошлунково в дозі 150 мг/кг маси тіла.

Попередньо нами на моделі парацетамолового ураження тварин встановлено мінімальну діючу дозу шляхом використання 100 мг/кг, 150 мг/кг та 200 мг/кг екстракту з надземної частини хрону звичайного. Екстракт з хрону щури отримували внутрішньошлунково. Доза 150 мг/кг на тварину виявилась мінімально діючою.

Експерименти проводили згідно із Загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біоетики (Київ, Україна, 2001) та узгодженими з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, Франція, 1985) [71].

## 2.2 Методи дослідження

Дослідження біохімічних та фармакологічних показників в організмі тварин проводили за нижченаведеними методиками.

2.2.1 Визначення гострої токсичності екстракту з надземної частини хрону.

З метою визначення показника  $LD_{50}$  вивчали гостру токсичність екстракту з хрону звичайного з використанням експрес-методу Пастушенко Т. В. і співав. та методу найменших квадратів за Прозоровським Б. В. [115]. Досліди проведені на білих безпородних щурах самцях та самках при внутрішньошлунковому введенні препарату.

Дослідження гострої токсичності починали з введення екстракту з надземної частини хрону у об'ємі 5, 7 і 10 мл, який вводили частинами відповідно 3 рази на день у фізіологічно допустимому об'ємі протягом дня з інтервалом 2-4 години [23, 65].

Враховуючи те, що класифікація речовин за токсичністю передбачає досліджування доз у мг/кг, введений об'єм екстракту з надземної частини хрону перераховували відповідно до вказаних одиниць виміру [129].

Для попереднього дослідження в експерименті використовували по 6 тварин у кожній групі. Термін спостереження за тваринами становив два тижні.

Ефект оцінювали за співвідношенням “загибель тварин/кількість тварин у групі”. Додатково враховували результати клінічних спостережень, що включали показники фізіологічного стану тварин: дихання; рухова активність, судоми, офтальмологічні симптоми, серцево-судинні симптоми, салівація, показники стану ШКТ, діурез, стан шкіри [65].

Клас токсичності визначали за класифікацією Сидорова К.К. [133].

Після закінчення терміну спостереження (14 діб) проводили розтин та макроскопічний огляд тварин, яким вводили препарат у максимальній дозі.

2.2.2 Визначення місцевоподразнювальної дії екстракту з надземної частини хрону.

Місцевоподразнювальну дію екстракту з надземної частини хрону вивчали відповідно до методичних рекомендацій шляхом внесення 1-ї краплі розчину препарату в кон'юнктивальний мішок ока кролика [60].

Реакцію слизової оболонки ока оцінювали в динаміці через 15 хвилин, 1 годину і 24 години після введення препарату. При цьому враховували ступінь гіперемії, набряку, кількість виділень. Оцінку ушкоджуючої дії проводили за бальною шкалою:

- 0 – відсутність реакції слизової оболонки ока;
- 1 – легке почервоніння слізної протоки;
- 2 – почервоніння слізної протоки і склери у напрямку роговиці;
- 3 – почервоніння всієї кон'юнктиви і склери.

2.2.3 Вивчення ульцерогенної дії екстракту з надземної частини хрону.

Вивчення впливу екстракту надземної частини хрону на стан слизової оболонки шлунку проводили згідно з методичними рекомендаціями [24, 59]. Білих щурів витримували 48 годин на голодній дієті без обмеження прийому води. Екстракт з надземної частини хрону вводили внутрішньошлунково в дозі 150 мг/кг. Через 3 години всіх тварин знеживлювали, виймали шлунок і

візуально, за допомогою лупи, досліджували стан слизової оболонки шлунку. Ульцерогенну дію оцінювали за наявністю гіперемії та кількістю виразок на слизовій оболонці шлунку.

#### *2.2.4. Вивчення алергенної дії екстракту з надземної частини хрону*

Для дослідження алергенної дії препарату використовують кон'юнктивальну пробу, яку вивчають на мурчаках. Ознаками алергенної дії вважають подразнення та набряки слизової оболонки і рогівки ока тварин.

Для дослідження тваринам протягом 10 днів вводили екстракт з надземної частини хрону звичайного в дозі 150 мг/кг маси тіла. На 14-й день закапували розв'язувальну дозу і спостерігали за розвитком запалення на слизовій оболонці ока [59].

#### *2.2.5 Вивчення протизапальної дії екстракту з надземної частини хрону.*

Дослідження протизапального ефекту екстракту з хрону проводили у порівнянні з таблетками натрію диклофенаку. Екстракт вводили у встановленій мінімально діючій дозі – 150 мг/кг, таблетки диклофенаку натрію – у дозі 8 мг/кг . Препарати вводили інтрагастрально за 1 годину до введення карагеніну. За розвитком набряку спостерігали в динаміці через 1, 3, 6 і 24 години. Об'єм лап вимірювали за допомогою механічного онкометра [60].

#### *2.2.6 Вивчення жовчовидільної функції печінки.*

Жовчовидільну функцію печінки оцінювали за зміною інтенсивності жовчовиділення. У тварин після канюлювання жовчевої протоки визначали об'єм жовчі, отриманий за 1 годину та швидкість її секреції за кожну годину спостережень у мг/хв/100 протягом 3-х годин, а також вміст холестеролу та жовчних кислот [64].

*2.2.7 Вивчення детоксикуючої функції печінки у щурів методом гексеналового сну.*

Після відтворення моделі медикаментозного ураження печінки щурам внутрішньоочеревинно вводили водний розчин гексеналу з розрахунку

60 мг/кг маси тіла. Реєстрували тривалість сну тварин (у хвилинах). За закінчення сну приймали перехід піддослідної тварини з бокового положення [43]. Ефективність екстракту з надземна частина хрону порівнювали з контролем (уражені парацетамолом тварини) та препаратом порівняння силімарином.

#### 2.2.8 Вивчення деметилазної активності.

Принцип методу: активність мікосом може бути показником швидкості деметилювання диметиланіліну (ДМА), який визначається за кількістю утвореного формальдегіду. Реакція відбувається на молекулі цитохром Р-450 в присутності НАДФН і кисню [137].

Інтенсивність утвореного забарвлення вимірювали на спектрофотометрі СФ-45 при довжині хвилі 412 нм. Ферментну активність розраховували за калібрувальною шкалою, побудовану за допомогою стандартного розчину формальдегіду. Максимальна швидкість реакції деметилювання ДМА складає 7–9 нмоль в 1 хв на 1 мг.

#### 2.2.9 Вивчення гідроксилазної активності.

Принцип методу: швидкість *n*-гідроксилювання аніліну визначається за кількістю утвореного *n*-амінофенолу. Реакція відбувається на молекулі цитохром Р-450 в присутності НАДФН і кисню [137].

Величину ферментативної активності розраховували за калібрувальною шкалою, яка складалася із стандартного розчину *n*-амінофенолу. Максимальна швидкість реакції *n*-гідроксилювання аніліну становить 0,6-0,8 нмоль в 1 хв на 1 мг.

#### 2.2.10 Визначення вмісту ТБК-активних продуктів.

Принцип методу: в кислому середовищі при високій температурі малоновий диальдегід утворює з тіобарбітуровою кислотою забарвлений комплекс червоного кольору з максимумом поглинання при 532 нм [90, 128].

Вміст малонового діальдегіду розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції забарвленого комплексу, який дорівнює  $1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ м}^{-1}$  і виражали в мкмоль/л сироватки крові або мкмоль/кг тканини.

2.2.11 Метод визначення окиснювальної модифікації білків (2,4 – динітрофенілгідразонів).

Принцип методу визначення окиснювальної модифікації білків сироватки крові ґрунтується на здатності радикальних залишків аліфатичних амінокислот утворювати альдегідні й кетонні групи. Останні взаємодіють з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4 – динітрофенілгідразонів, що мають характерний спектр поглинання. Альдегідо- і кетопохідні нейтрального характеру реєструють при 370 нм, а основного характеру - при 430 нм. На основі молярного коефіцієнту екстинкції ( $2,1 \times 10^4 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ) знаходять вміст фенілгідразонів основного і нейтрального характеру [2, 63].

Кількість 2,4-динітрофенілгідразонів розраховували за формулою:

$$A = 10^3 E / 21 c, \quad (2.1)$$

де А - вміст 2,4-динітрофенілгідразонів в ммоль/г білка,

Е - оптична густина проб,

С - вміст білка в 0,2 мл сироватки крові,

21 – коефіцієнт, який відповідає 1 ммоль/г

2.2.12 Визначення активності каталази.

Принцип методу визначення активності каталази ґрунтується на здатності перекису водню утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс жовтого кольору [81].

Активність каталази виражали в каталах і розраховували за формулою:

$$A = (E_x - E_d) \times V \times t \times k, \quad (2.2)$$

де А – активність каталази, мкат;

$E_x$  – екстинкція холостої проби;

$E_d$  – екстинкція дослідів;



$t$  – час інкубації, (с);

$k$  – коефіцієнт молярної екстинкції перекису водню, який дорівнює  $22,2 \times 10^3$  моль<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup>.

### 2.2.13 Визначення активності супероксиддисмутази.

Активність СОД визначали за відомим методом у модифікації [154]. В основі методу знаходиться здатність ферменту інгібувати відновлення нітротетразолію синього. Відсоток інгібування розраховували за формулою:

$$(E_k - E_d) 100 / E_k, \quad (2.3)$$

де  $E_k$  – екстинкція контрольної проби,

$E_d$  – екстинкція дослідної проби.

Кількість ферменту, яка здатна інгібувати відновлення нітротетразолію синього на 50 %, приймали за 1 ум. од. активності.

### 2.2.14 Визначення вмісту церулоплазміну в сироватці крові.

Вміст церулоплазміну визначали за методом [97]. Принцип методу базується на здатності *p*-фенілендіаміну в присутності церулоплазміну окиснюватись з утворенням забарвлених сполук рожевого кольору. Кількість церулоплазміну пропорційна інтенсивності забарвлення.

Розрахунок проводили за формулою:

$$C = E \times 87,5, \quad (2.4)$$

де  $C$  – вміст церулоплазміну в мг/л сироватки крові

$E$  – екстинкція проби

### 2.2.15 Визначення активності лужної фосфатази.

Метод визначення активності лужної фосфатази ґрунтується на властивості ферменту гідролізувати ефірний зв'язок у  $\beta$ -гліцерофосфаті з відщепленням фосфатної кислоти. Фосфор визначають колориметричним методом за реакцією з молібденовим реактивом в присутності відновника ейконогену або аскорбінової кислоти. Продукт реакції – молібденовий синій,

інтенсивність забарвлення якого проямо пропорційна кількості фосфору в пробі і характеризує активність ферменту [11].

#### 2.2.16 Визначення вмісту відновленого глутатіону

Для визначення вмісту відновленого глутатіону використовували метод [181], принцип якого полягає у взаємодії 5,5 – дитіобіс (2 – нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з вільними SH – групами відновленого глутатіону з утворенням тіонітрофенильного аніону жовтого кольору, кількість якого прямопропорційна вмісту SH – груп.

Вміст відновленого глутатіону розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції для тіонітрофенильного аніону, який дорівнює  $11400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Вміст відновленого глутатіону виражали в ммоль/л або ммоль/кг.

#### 2.2.17 Визначення еритроцитарного індексу інтоксикації.

Принцип методу: еритроцитарна мембрана здатна поглинати і пропускати забарвлені речовини, тобто еритроцит може проявляти властивість адсорбента [11].

Кількість поглинутого барвника (в %) вираховували за наступною формулою:

$$A = 100 - \frac{C \cdot 100}{B}, \quad (2.5)$$

де А – кількість поглинутого барвника, %;

В – оптична щільність вихідного розчину (метиленова синька) в одиницях екстинкції;

С – оптична щільність розчину барвника після інкубації з еритроцитами (в одиницях екстинкції);

100 – відсоток щільності мембрани в нормі.

#### 2.2.18 Визначення активності аланінамінотрансферази.

Принцип методу: внаслідок амінування 2-оксоглютарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією аланінамінотрансферази, утворюються

L-глутамінова та піровиноградна кислоти. При взаємодії ПВК з 2,4-динітрофенілгідразином в лужному середовищі утворюються 2,4-динітрофенілгідразони, що мають високий коефіцієнт молярної екстинкції, тому оптична щільність їх, яка реєструється на ФЕКу, прямопропорційна активності ферменту [72].

Розрахунок активності ферменту проводили за калібрувальним графіком, побудованим за вмістом ПВК і виражали в мкмоль/(л·год).

2.2.19 Визначення активності аспартатамінотрансферази в сироватці крові

Принцип методу: в результаті амінування 2-оксоглютарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яке проходить під дією аспартатамінотрансферази, утворюються L-глутамінова і щавелево-оцтова кислоти. Остання самовільно декарбоксилюється з утворенням піровиноградної кислоти [72].

Визначення базується на вимірюванні оптичної густини 2,4-нітрофенілгідразонів 2-оксоглютарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі. Оскільки гідразон піровиноградної кислоти має більш високий коефіцієнт молярної екстинкції, спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної густини реакційного розчину від активності фермента.

Розрахунок активності ферменту проводили за калібрувальним графіком, побудованим за вмістом ПВК і виражали в мкмоль/(л·год).

2.2.20 Визначення вмісту холестеролу та жовчних кислот у жовчі.

Принцип методу: охолоджений розчин заліза хлорного дає забарвлені комплекси з жовчними кислотами і холестеролом. При цьому утворюються продукти з максимумами поглинання при різній довжині хвилі [14].

Вміст холестеролу (мг/%) розраховували за формулою:

$$C_{\text{ХСТ}}=50 \cdot (D_{480} - 0,04D_{385}) \cdot P, \quad (2.6)$$

де:  $C_{\text{ХСТ}}$  – вміст холестеролу (мг/%)

$D_{385}$  – величина оптичної густини розчину при 385 нм;

$D_{480}$  – величина оптичної густини розчину при 480 нм;

$P$  – розведення жовчі.

Вміст жовчних кислот (мг/%) розраховували за формулою:

$$C_{\text{ЖК}}=114 \cdot D_{385} \cdot P, \quad (2.7)$$

де:  $C_{\text{ЖК}}$  – Вміст жовчних кислот (мг/%)

$D_{385}$  – величина оптичної густини розчину при 385 нм;

$P$  – розведення жовчі

#### 2.2.21 Гістологічні дослідження

Для гістологічних досліджень брали печінку та шлунок піддослідних тварин на 3-тю та 10-ту доби розвитку гепатиту та після корекції екстрактом, з надземної частини хрону звичайного та силімарином у відповідні доби.

Зразки органу фіксували в 10 %-му розчині формаліні, дегідрували у спиртах зростаючої концентрації та заливали у целоїдин-парафін за загальноприйнятими методиками. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [44, 108]. Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400. Мікрофотографування мікроскопічних зображень виконували цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500.

#### 2.2.22 Методи математичного аналізу

Статистичну обробку отриманих даних проводили на ПК за допомогою програм “Microsoft Excel” та “STATISTICA 6,0” з розрахунку середніх величин, їхніх похибок, критерію Стьюдента [85, 107].

Зміни вважали достовірними при  $p \leq 0,05$ .

## РОЗДІЛ 3

### ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ПАРАЦЕТАМОЛОВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ

Як було показано в розділі 1, у літературі є не досить ґрунтовні дані про вплив парацетамолу на окиснювальні процеси в організмі тварин у динаміці та стан його захисних систем [144, 145]. Особливої уваги заслуговує вивчення антиоксидантної системи та детоксикаційної функції печінки в ураженому організмі та їх взаємодія, на що мало приділена увага дослідників. Тому обґрунтованим було вивчити процеси ліпопероксидації, показники ендогенної інтоксикації та захисно-компенсаторні системи щурів, отруєних парацетамолом, з метою подальшого їх дослідження для створення єдиної схеми патогенезу парацетамолової інтоксикації. Це дасть можливість підібрати адекватні методи корекції, які зможуть бути включені в комплексне лікування токсичних уражень печінки.

Для проведення відповідних досліджень токсичного ураження тварини були розділені на 2 групи: 1 – контрольні тварини; 2 – тварини, отруєні парацетамолом в дозі 1250 мг/кг маси тіла (щоденно протягом двох днів, шлях введення – інтрагастрально).

На третій та десятій день від початку ураження тварин піддавали евтаназії з використанням тіопенталу натрію.

#### 3.1 Показники вільнорадикальних процесів в організмі щурів, отруєних парацетамолом

Відомо, що потрапляння до організму медикаментозних отрут призводить до розвитку вільнорадикальних процесів і загального ураження організму ендогенними токсинами.

За умов нормального функціонування організму постійно підтримується динамічна рівновага між про- та антиоксидантною системами. Порушення цієї рівноваги у бік переважання генерації активних форм кисню та їх метаболітів, виснаження антиоксидантної системи та порушення її збалансованості призводить до окиснювального стресу [9, 92, 93]. Окиснювальне ушкодження тканин відіграє ключову роль у розвитку багатьох захворювань.

В даному підрозділі наведені результати, що стосуються активності процесів перекисного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації в організмі щурів після потрапляння до нього токсичних доз парацетамолу.

Нами встановлено, що на фоні введення парацетамолу в дозі 1250 мг/кг маси тіла у гомогенатах печінки та сироватці крові щурів відбувалась активація процесів пероксидного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків. Результати досліджень даних показників у сироватці крові наведені в табл. 3.1.

*Таблиця 3.1*

**Вміст ТБК-реагуючих продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів у сироватці крові щурів, уражених парацетамолом (M±m; n=6)**

Групи тварин	ТБК-АП, мкмоль/л		2,4-ДНФГ (370 нм), ммоль/г білка		2,4-ДНФГ (430 нм), ммоль/г білка	
	Терміни дослідження, доби					
	3-я	10-а	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	2,60±0,05		0,20±0,03		0,24±0,01	
Уражені парацетамолом	6,20± 0,07*	5,70± 0,04*	0,30± 0,02*	0,27± 0,015	0,29± 0,02*	0,27± 0,011

Примітка: тут і в наступних таблицях:

\* вірогідна різниця між контрольними та ураженими тваринами.

З таблиці 3.1 видно, що через 2 дні після ураження щурів парацетамолом збільшувався вміст ТБК-АП в сироватці крові у 2,4 раза. На

10 день від початку експерименту цей показник практично не змінювався, збільшення його зареєстровано у 2,2 рази ( $p < 0,05$ ). Наші дані узгоджуються з результатами досліджень К.А. Посохової та співав. [125], які свідчать, що внаслідок оксидативного стресу, який виникає при введенні в організм парацетамолу, посилюються процеси ліпопероксидації. На це вказує підвищений вміст ТБК-активних продуктів на 3-ій та 10 день від початку ураження.

Останнім часом у літературі з'явилися повідомлення, в яких вказується, що процесам переокиснення піддаються не тільки ліпіди, а й білкові компоненти мембран. Це призводить до змін активності ферментів, порушення синтезу нуклеїнових кислот та накопичення токсичних продуктів метаболізму.

Ми вивчили вміст альдегідо- та кетопохідних білків, які утворилися внаслідок токсичної дії парацетамолу. Дослідження показників ОМБ показало, що в сироватці крові щурів після ураження їх парацетамолом проходить збільшення вмісту 2,4-динітрофенілгідразонів нейтрального (370 нм) та основного характеру (430 нм). Як видно з табл. 3.1, вміст 2,4-динітрофенілгідразонів нейтрального характеру в сироватці крові на 3-ю добу від початку дослідження збільшився на 50 %, на 10-ий день це збільшення становило 35 %. При визначенні вмісту 2,4-ДНФГ основного характеру відмічено достовірне зростання їх вмісту на 21 % в сироватці крові на початку експерименту і на 12 % на 10 день.

Нами досліджено вміст продуктів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків у печінці щурів за парацетамоловою інтоксикацією. Результати досліджень наведені у табл. 3.2.

На 3-ю добу після ураження парацетамолом у печінці щурів вміст ТБК-АП збільшився у 2,5 рази, на 10 день – у 2,4 рази ( $p < 0,05$ ).

При визначенні продуктів окиснювальної модифікації білків відмічалось вірогідне підвищення вмісту 2,4-динітрофенілгідразонів

нейтрального характеру в печінці тварин в обидва терміни дослідження: на 3-ю добу збільшення становило 30 %, на 10-у добу – 22 %.

Таблиця 3.2

**Вміст ТБК-АП продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів у печінці щурів, уражених парацетамолом, ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Групи тварин	ТБК-АП, мкмоль/кг		2,4-ДНФГ(370нм), ммоль/г білка		2,4-ДНФГ(430нм), ммоль/г білка	
	Терміни дослідження, доби					
	3-я	10-а	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	0,75±0,03		0,46±0,02		0,60±0,025	
Уражені парацетамолом	1,90± 0,04*	1,80± 0,07*	0,60± 0,03*	0,56± 0,04*	0,67± 0,015	0,65± 0,03

Нами досліджено вміст 2,4-ДНФГ основного характеру в печінці щурів за парацетамолового ураження. Встановлено, що підвищення цього показника спостерігалось протягом всього експерименту, але воно не було вірогідним.

Таким чином, отримані результати свідчать про розвиток вільнорадикальних процесів в ураженому парацетамолом організмі, що проявляється збільшенням продуктів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків як в сироватці крові, так і в печінці щурів.

### 3.2 Стан антиоксидантної системи щурів за умов ураження парацетамолом

Токсичні чинники, що викликають активацію процесів ВРО в організмі людини та тварин, призводять до порушень в захисно-компенсаторних системах. В організмі існують системи, дія яких направлена на знешкодження вільних радикалів та продуктів перетворення ксенобіотиків



[9, 144]. До таких систем належить антиоксидантна система. Основне її завдання – протистояти активації процесів ПОЛ в ураженому організмі. До антиоксидантної системи належать ферментні та неферментні компоненти, дія яких узгоджена та збалансована. Вони на різному етапі вільнорадикальних процесів знешкоджують утворені токсичні продукти.

В уражених парацетамолом тварин внаслідок інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення відбувається пригнічення активності антиоксидантної системи, про що свідчило зниження активності каталази ( в 1,4 раза) та вмісту відновленого глутатіону (в 1,3 раза) в сироватці крові на 3-ю добу розвитку медикаментозного гепатиту (табл. 3.3).

*Таблиця 3.3*

**Активність каталази та вміст відновленого глутатіону в сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, ( $M \pm m$ ; n=6)**

Групи тварин	Каталаза, мкат/л		Відновлений глутатіон, ммоль/л	
	Терміни дослідження, доби			
	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	7,80±0,30		4,75±0,15	
Уражені парацетамолом	5,40±0,19*	5,80±0,21*	3,55±0,12*	3,60±0,20*

На 10-у добу дослідження активність каталази в сироватці крові була нижчою від контролю на 26 % і лише на 5 % перевищувала таку на 3-ю добу дослідження. Вміст відновленого глутатіону на 10-у добу експерименту знаходився на такому ж рівні, як і на 3-ю добу від початку потрапляння в організм парацетамолу.

Ураження тварин парацетамолом призводить до інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення та посилення токсичного впливу продуктів його метаболізму на печінку.

Ми дослідили активність антиоксидантних показників у печінці тварин, уражених парацетамолом. Результати дослідження наведені в таблиці 3.4.

Відмічено, що як на 3-ю, так і на 10-у доби експерименту спостерігалось зниження активності каталази та відновленого глутатіону в печінці тварин після ураження парацетамолом. У всіх випадках це зниження виявилось вірогідним. Очевидно, причиною цього є порушення синтезу даних ензимів у печінці.

Таблиця 3.4

**Активність каталази та вміст відновленого глутатіону в печінці щурів, уражених парацетамолом, ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Групи тварин	Каталаза, мкат/кг		Відновлений глутатіон, ммоль/кг	
	Терміни дослідження, доби			
	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	10,30±0,15		4,15±0,11	
Уражені парацетамолом	7,35±0,13*	7,45±0,23*	3,05±0,12*	3,15±0,11*

Нами вивчено активність супероксиддисмутази – ферменту, який є одним з ключових у антиоксидантному захисті та відіграє значну роль саме на початкових етапах вільнорадикального окиснення.

Відмічено, що на 3-ю добу від початку введення парацетамолу активність супероксиддисмутази в сироватці крові знизилась на 31 %, на 10-ий день активність даного ензиму становила 72 % від рівня контрольних тварин (рис. 3.1).

При дослідженні вмісту церулоплазміну після ураження парацетамолом встановлено підвищення його у 1,5 раза в порівнянні з контролем на 3-ту добу розвитку гепатиту, на 10-у добу він перевищував рівень контрольних тварин у 1,7 раза (табл. 3.5).

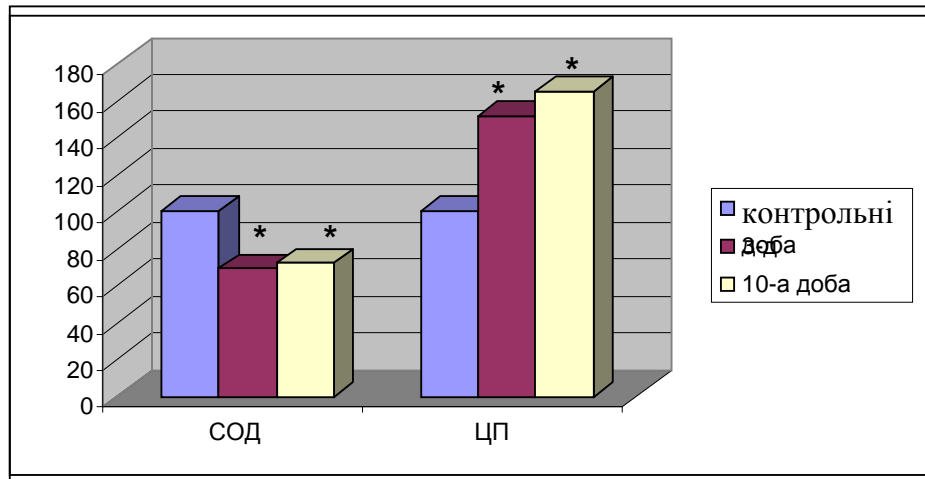


Рис. 3.1 Активність супероксиддисмутази та вміст церулоплазміну в сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, %

Таблиця 3.5

**Активність СОД (мкмоль/л) та вміст ЦП (мг/л) в сироватці крові щурів, уражених парацетамолом (M±m; n=6)**

Група тварин	СОД		ЦП	
	Строк дослідження, доби		Строк дослідження, доби	
	3-я	10-та	3-я	10-та
Контрольні	52,5±1,2		10,4±0,2	
Уражені парацетамолом	36,4±1,3 *	37,6±1,4 *	15,8±0,3*	17,2±0,4*

Це свідчить про активацію захисно-компенсаторних сил організму у цей період. Відомо, що даний ензим є пасткою ОН-радикалів і вступає в реакцію знешкодження їх у більш ранні терміни розвитку процесів вільнорадикального окиснення.

Таким чином, встановлено, що після ураження тварин токсичними дозами парацетамолу відбуваються глибокі порушення в антиоксидантій системі. Нами зареєстровано зниження активності каталази та вмісту відновленого глутатіону в сироватці крові та печінці уражених тварин, а також зниження активності супероксиддисмутази та підвищення вмісту

церулоплазміну в сироватці крові. Таке зниження активності антиоксидатних ферментів може свідчити про пригнічення білоксинтетичної функції печінки, а також зниження активності захисно-компенсаторних сил організму в період інтоксикації його екзо- та ендogenousними токсикантами.

### 3.3 Дослідження проникності плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів за парацетамолової інтоксикації

Значна кількість продуктів вільнорадикального окиснення, що нагромаджується за умов парацетамолового гепатиту, чинить токсичний вплив на стан плазматичних мембран гепатоцитів. Це підтверджується підвищенням в сироватці крові активності амінотрансфераз. Зокрема, відмічено зростання активності АлАТ в 1,7 раза, активності АсАТ – в 1,3 раза на 3-ю добу дослідження відносно контрольних тварин (табл. 3.6). На 10-у добу від початку експерименту активність АлАТ підвищилась в 1,9 раза, АсАТ – в 1,4 раза.

Таблиця 3.6

#### Активність амінотрансфераз та лужної фосфатази в сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, ( $M \pm m$ ; $n=6$ )

Групи тварин	АлАТ, мкмоль/л		АсАТ, мкмоль/л		ЛФ, ммоль/л	
	год		год			
	Т е р м і н и д о с л і д ж е н н я , д о б и					
	3-я	10-а	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	0,25±0,02		0,36±0,03		3,86±0,11	
Уражені парацетамолом	0,42± 0,03*	0,48± 0,02*	0,48±0,0 3	0,50± 0,04*	5,82± 0,13*	5,90± 0,17*

Аналогічна тенденція до підвищення спостерігалась після ураження парацетамолом і для лужної фосфатази: її активність як на 3-ю, так і на 10-у доби перевищувала в 1,5 раза таку в контрольних тварин.

Таке підвищення в сироватці крові органоспецифічних ензимів свідчить про зміну проникності плазматичних мембран гепатоцитів, що зумовило вихід внутрішньоклітинних компонентів у кров.

У печінці уражених тварин активність АЛАТ знизилась в 1,35 раза на 3-ю добу від початку отруєння, на 10-у добу це зниження було в 1,27 раза відносно контрольних тварин (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

**Активність амінотрансфераз та лужної фосфатази у печінці щурів, уражених парацетамолом, ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Групи тварин	АЛАТ, мкмоль/ кг год		АсАТ, мкмоль/ кг год		ЛФ, ммоль/кг	
	Терміни дослідження, доби					
	3-я	10-а	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	0,70±0,04		0,82±0,03		4,75±0,13	
Уражені парацетамолом	0,52± 0,03*	0,55± 0,04*	0,70± 0,04	0,75± 0,05	4,20± 0,11*	4,10± 0,13*

При визначенні активності АсАТ у печінці щурів після потрапляння в організм токсиканта ми спостерігали її зниження протягом всього періоду дослідження. На 3-ю добу з моменту ураження активність АсАТ знизилась у печінці на 15 %, на 10-у – на 9,5 % (рис.3.2).

Після ураження парацетамолом ми спостерігали зниження активності лужної фосфатази у печінці. На 3-ю добу вона знизилась на 12 %, на 10-у добу – на 14 %. Це підтверджує гепатотропність даного препарату та факт розвитку медикаментозного гепатиту після потрапляння парацетамолу в організм (рис. 3.3).

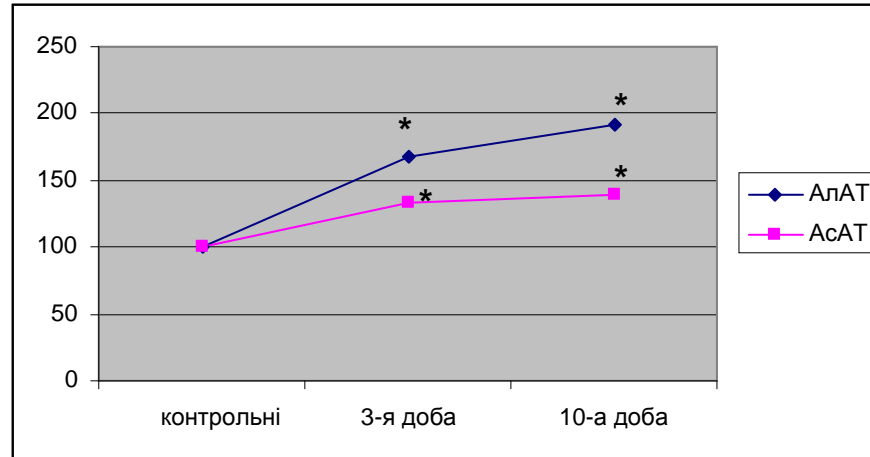


Рис. 3.2. Активність амінотрансфераз в сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, %

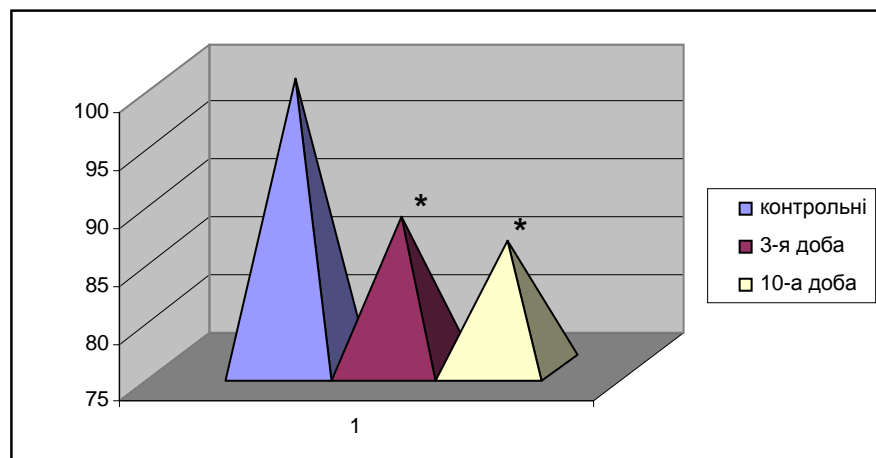


Рис. 3.3. Активність лужної фосфатази в печінці щурів, уражених парацетамолом, %

Отже, отримані результати дозволяють припустити, що потрапляння до організму парацетамолу викликає ушкодження печінки, що зумовлює зміну проникності мембран гепатоцитів та збільшення у крові внутрішньоклітинних компонентів.

Нами досліджено стан еритроцитарних мембран за умов ушкодження організму підвищеними дозами парацетамолу. Встановлено, що після ураження тварин даним препаратом підвищується відсоток проникнення

мембрани еритроцитів, на що вказує збільшення еритроцитарного індексу інтоксикації (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

**Еритроцитарний індекс інтоксикації в крові (%) уражених парацетамолом тварин (M±m; n=6)**

Група тварин	Терміни дослідження, доби	
	3-я	10-а
Контрольні	60,5±2,70	
Уражені парацетамолом	78,25±2,75*	75,17±2,15*

Так, на 3-ій день дослідження відсоток проникності еритроцитарних мембран збільшився в 1,3 раза, на 10-ий день він переважав на 15 % ступінь проникності даних мембран у контрольних тварин.

Таким чином, ураження організму щурів парацетамолом призводить до деструкції ліпідних та білкових компонентів мембран гепатоцитів та еритроцитів, що зумовлює зміну їх проникності. Це підтверджується підвищенням активності внутрішньоклітинних ферментів печінки у крові та зниження їх саме у цьому органі. Значна кількість утворених токсичних продуктів чинить негативний вплив на мембрани еритроцитів, на що вказує підвищення відсотку їх проникності.

#### 3.4 Дослідження знешкоджувальної функції печінки в умовах парацетамолового ураження

Однією з найбільш важливих захисних функцій печінки є детоксикація токсичних сполук ендо- та екзогенного походження. Біохімічною сутністю знешкодження переважної більшості токсинів є їх біотрансформація за участю мікосомальних монооксигеназ.

Враховуючи важливу роль процесів детоксикації у знешкодженні токсичних метаболітів парацетамолу, ми вважали за доцільне дослідити стан мітросомальної системи окиснення за умов парацетамолового ураження печінки.

Одним із показників функціонального стану печінки є гексеналовий сон. Після відтворення моделі медикаментозного ураження печінки парацетамолом реєстрували тривалість сну тварин (у хвилинах). За закінчення сну приймали перехід піддослідної тварини з бокового положення.

У таблиці 3.9 наведені результати гексеналового сну у щурів після ураження їх парацетамолом. Дослідження проводили на 3-ю добу з моменту потрапляння токсиканта до організму.

Встановлено, що через 24 год після останнього введення гепатотоксину час біотрансформації гексеналу в печінці (тривалість сну) був на 27 хв тривалішим, ніж у щурів контрольної групи (табл. 3.9).

*Таблиця 3.9*

**Тривалість гексеналового сну (хв) у щурів після ураження їх парацетамолом ( $M \pm m$ ,  $n=4$ )**

Показники	Терміни дослідження, 3-я доба	
	Контрольні	Уражені парацетамолом
Тривалість гексеналового сну	46,0±3,7	73,0±4,2*

Пригнічення функціонального стану печінки при парацетамоловому гепатиті підтверджено вивченням деметилазної та гідроксилазної активностей, на що вказують результати, наведені в табл. 3.10.

З даних таблиці видно, що після ураження тварин парацетамолом відбувається зниження деметилазної активності печінки як на 3-ю, так і на



10-у доби дослідження (в 1,5 та 1,2 рази відповідно). Таке зниження виявилось вірогідним ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.10

**Деметилазна та гідроксилазна активність (нмоль/мг білка) печінки щурів при ураженні парацетамолом ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Групи тварин	Деметилазна активність		Гідроксилазна активність	
	Строки дослідження, доби			
	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	4,30±0,20		0,60±0,03	
Уражені парацетамолом	2,80±0,10*	3,50±0,16*	0,40±0,015*	0,52±0,02

При дослідженні гідроксилазної активності печінки спостерігалась аналогічна тенденція до зниження після ураження протягом 10 діб. Це зниження виявилось вірогідним тільки на 3-ю добу від початку введення парацетамолу.

Нами встановлено, що введення в організм щурів токсичних доз парацетамолу призводить до пригнічення системи мікросомального окиснення, на що вказує зниження активності монооксигеназ та подовження тривалості гексеналового сну.

Результати даного дослідження дозволяють стверджувати, що в процесі парацетамолового ураження тварин проходять глибокі порушення знешкоджувальної функції печінки. Це дозволить відшукати ефективні способи корекції даної патології.

### 3.5 Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов парацетамолового гепатиту

Більшість уражень гепатобіліарної системи, незалежно від чинників, призводять до значних змін секреції жовчі, які поглиблюються за рахунок

пошкодження дрібних жовчних ходів. Розлади жовчовидільної функції печінки супроводжуються деструктивними змінами клітинних мембран гепатоцитів [143].

Враховуючи наведене доцільним було вивчити жовчоутворювальну та жовчовидільну функцію печінки у щурів, отруєних токсичними дозами парацетамолу.

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою тіла 170-180 г. Тварини були розділені на 2 групи: 1 – контрольні тварини; 2 – тварини, отруєні парацетамолом в дозі 1250 мг/кг маси тіла (щоденно протягом двох днів, шлях введення – інтрагастрально).

На 3-ю добу від початку ураження тварин оперували з використанням тіопенталу натрію та канюлювали жовчну протоку. Після забору жовчі проводили евтаназію щурів. Дослідженням піддавали жовч та сироватку крові, у яких вивчали вміст холестеролу та жовчних кислот.

Токсичний медикаментозний гепатит, викликаний парацетамолом, супроводжувався вираженим порушенням жовчовидільної функції печінки у щурів. У таблиці 3.11 наведені результати дослідження об'єму та швидкості секреції жовчі у щурів після ураження.

*Таблиця 3.11*

**Дослідження показників жовчовидільної функції печінки на моделі ураження печінки парацетамолом, (M±m, n=6)**

Показники	Контрольні тварини	Уражені парацетамолом
Об'єм жовчі, мл/100 г	0,90±0,05	0,65±0,03*
Швидкість секреції жовчі, мг/хв·100 <sup>-1</sup>	4,50±0,31	2,60±0,15*

Після ураження парацетамолом такі показники, як швидкість секреції та об'єм жовчі у тварин з патологією, вірогідно знижувались ( $p < 0,05$ ). На 3-ю добу від початку ураження об'єм жовчі зменшився в 1,4 раза, а швидкість

секреції жовчі – в 1,7 раза, що може вказувати на порушення процесів утворення жовчі, пов'язаних з цитолітичним синдромом у печінці в умовах парацетамолового отруєння.

Відомо, що холестерол є попередником жовчних кислот (ЖК) – фізіологічних регуляторів зовнішньосекреторної функції печінки. Порушення обміну холестеролу і утворення ЖК, поряд із зниженням транспортної здатності мембран гепатоцитів, вважають важливими причинами порушення процесів жовчоутворення і жовчовиділення.

Нами досліджено вміст холестеролу в жовчі та сироватці крові щурів, уражених парацетамолом. Результати наведені в таблиці 3.12.

*Таблиця 3.12*

**Вміст холестеролу та жовчних кислот в сироватці крові та жовчі щурів після ураження печінки парацетамолом ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )**

Показники	Контрольні тварини	Уражені парацетамолом
Холестерол у жовчі, мг/100 мл	40,70±4,20	31,50±3,00
Жовчні кислоти у жовчі, мг/100 мл	856,20±72,50	840,60±82,20
Холестерол у сироватці крові, ммоль/л	1,45±0,11	2,35±0,26*

Як видно з табл. 3.12, після потрапляння в організм парацетамолу, у жовчі на 33 % знижується вміст холестеролу (рис. 3.4), у сироватці крові відмічається вірогідне його зростання (в 1,6 раза).

Гіперхолестеринемія на тлі зниження вмісту холестеролу у жовчі свідчить про розвиток синдрому холестазу. Крім цього, підвищення вмісту холестеролу є компенсаторною реакцією при активації вільнорадикальних процесів, що мають місце за парацетамолового гепатиту [77, 212].

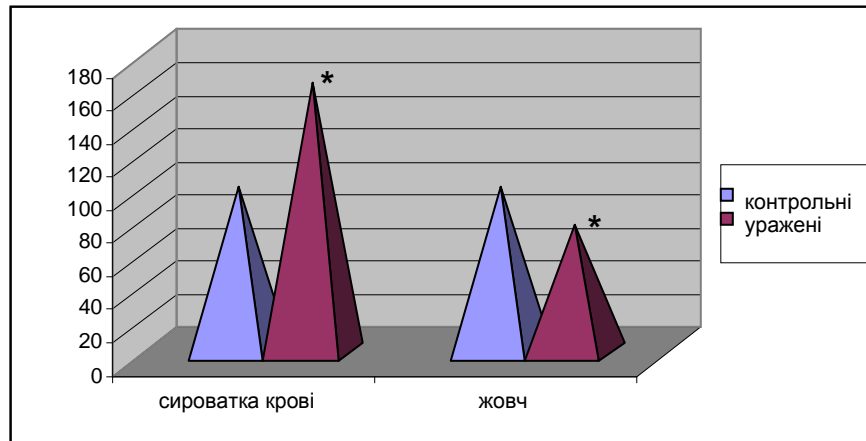


Рис. 3.4. Вміст холестеролу в сироватці крові та жовчі щурів, уражених парацетамолом, %

Поряд з цим відмічається незначне зниження вмісту жовчних кислот у жовчі після ураження тварин парацетамолом. Отримані результати дозволили зробити висновок про пригнічувальний вплив парацетамолу на процеси жовчовиділення у щурів, однією з причин яких може бути розвиток холестази в ураженій парацетамолом печінці.

### 3.6 Морфологічні дослідження печінки та шлунка щурів за умов ураження парацетамолом

Для підтвердження припущеної нами думки про гепатотоксичність парацетамолу доцільним було провести гістологічні дослідження печінки, а враховуючи інтрагастральний шлях його введення, необхідним виявилось вивчення мікроскопічної структури шлунка.

При гістологічному дослідженні тканини печінки на 3-ю добу від початку розвитку парацетамолової інтоксикації ми спостерігали, що структура печінкової часточки була порушеною. Центральні вени частково розширювались і містили еритроцити. Синусоїди розширювались переважно в центральних ділянках часточки, на інших вони практично не

візуалізувались. В їх просторах виявлялась незначна кількість макрофагів (рис. 3.5).

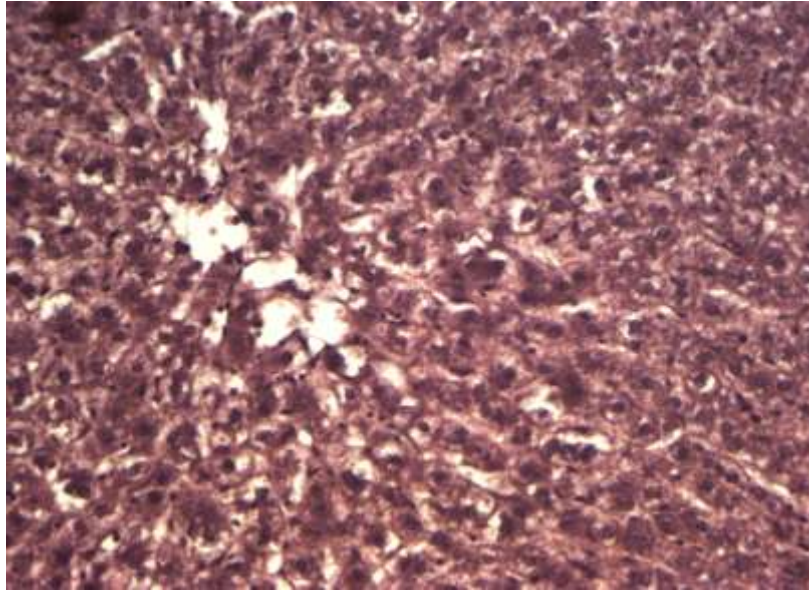


Рис. 3.5. Гістологічна структура печінкової часточки тварини на 3-ю добу експерименту при ураженні парацетамолом. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$ .

Переважає більшість центролобулярних гепатоцитів були із ознаками вакуольної білкової дистрофії та некрозу (рис. 3.6). Навколо некротично змінених гепатоцитів в просвітах синусоїдів виявлялась велика кількість еритроцитів.

Клітини центральної та периферичної ділянок часточки мали різної форми ядра та неоднорідної структури цитоплазму. Балкова організація гепатоцитів була порушеною. Судини портальних трактів були розширеними та повнокровними, помірно інфільтрованими лімфо-гістіоцитарними інфільтратами. Жовчні протоки розширювались.

Слизова оболонка шлунка потовщувалась за рахунок набряку. Поверхневий епітелій із переважанням дистрофічних змін, злущувався у просвіт, формуючи поверхневі дефекти (рис.3.7). Залозистий епітелій

збільшувався у розмірах за рахунок цитоплазми та ядер, що свідчило про підвищення секреторної активності (рис. 3.8).

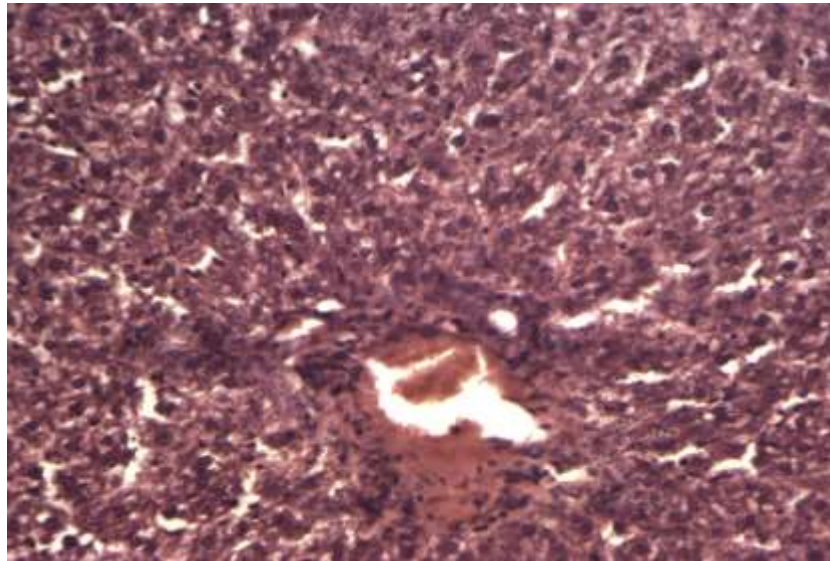


Рис. 3.6. Гістологічна структура печінкової часточки тварини на 3-ю добу експерименту при ураженні парацетамолом. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$ .

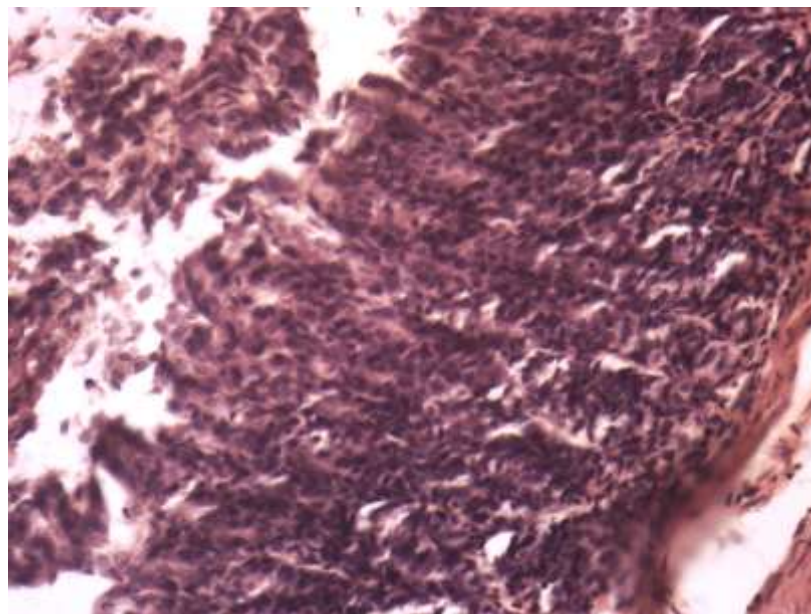


Рис. 3.7. Гістологічна структура тканини шлунка тварини на 3-ю добу експерименту при ураженні парацетамолом. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$ .

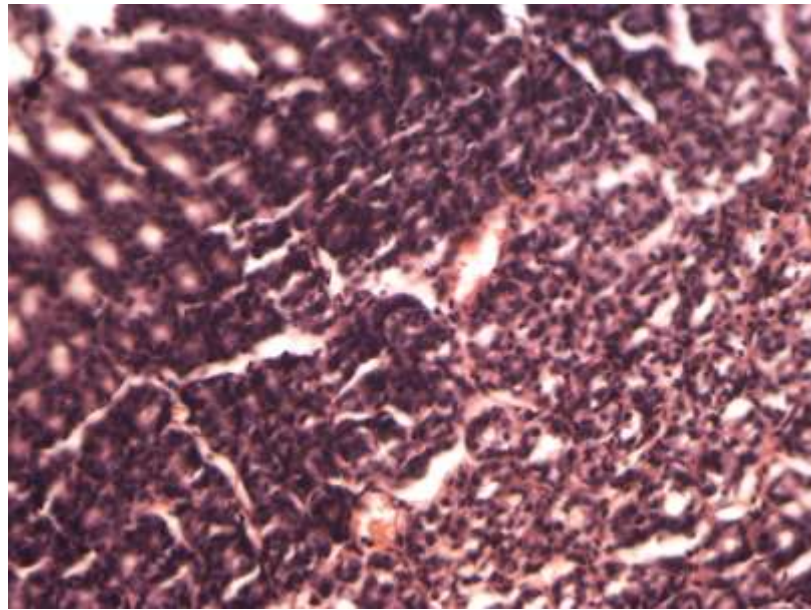


Рис. 3.8. Гістологічна структура тканини шлунка тварини на 3-ю добу експерименту при ураженні парацетамолом. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$ .

Просвіт залоз збільшувався, судини строми розширювались, містили помірну кількість еритроцитів, що свідчило про формування ерозій. Базальна мембрана потовщувалась за рахунок повнокрів'я судин та вираженого периваскулярного набряку.

При гістологічному дослідженні структури печінки на 10-у добу експерименту нами було виявлено, що структура печінкової часточки була порушеною. Центральні вени при цьому були розширеними помірно і не містили еритроцитів. Синусоїди не візуалізувались. Гепатоцити мали різну форму та структуру цитоплазми, переважна більшість якої була оптично пустою, що свідчило про переважання дистрофічно-некротичних змін у клітинах (рис. 3.9, 3.10). По при те, що ядра виявлялися у клітинах, ми спостерігали їх різну структуру та форми. Зустрічались клітини із вираженими клітинними холестазами. Судини портальних трактів частково розширювались і були повнокровними, навколо них візуалізувались лімфо-гістіоцитарні інфільтрати.

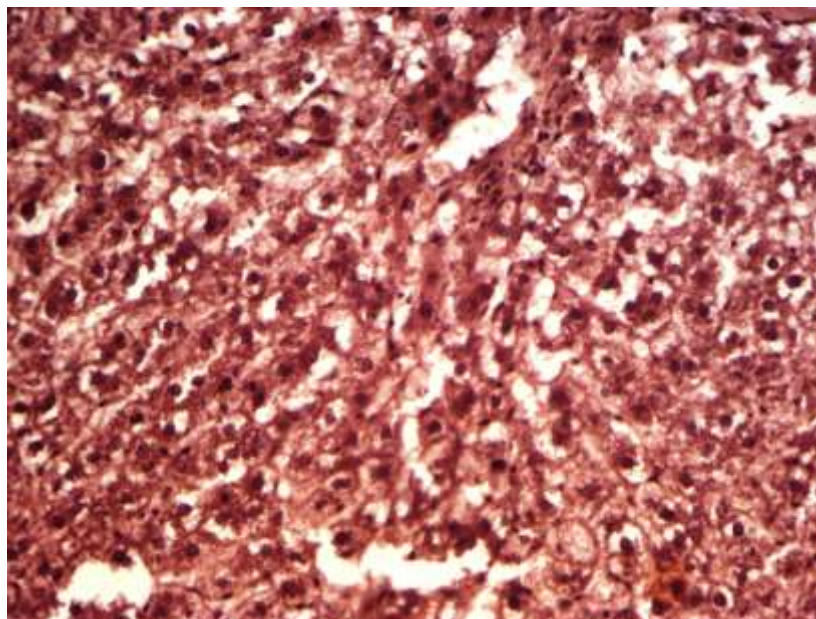


Рис. 3.9. Гістологічна структура печінки тварини на 10-у добу експерименту при ураженні парацетамолом. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$ .

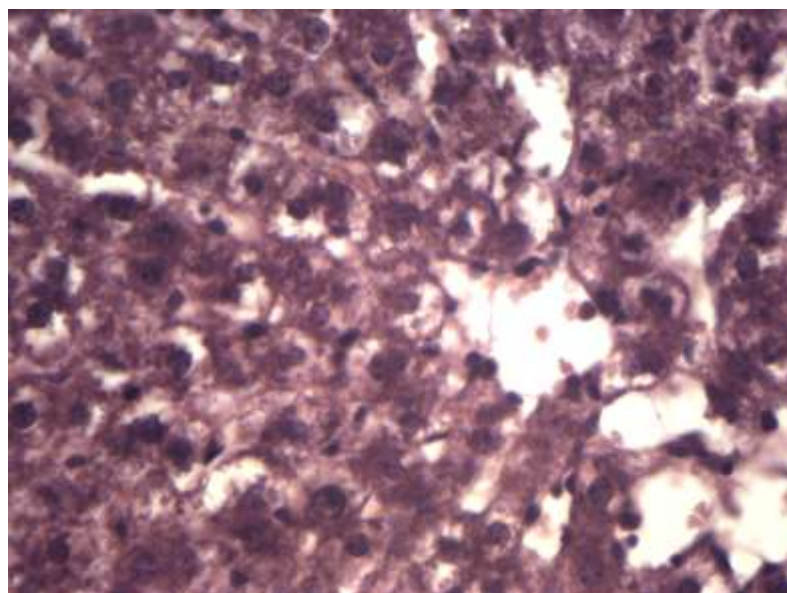


Рис. 3.10. Гістологічна структура печінки тварини на 10-у добу експерименту при ураженні парацетамолом. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .



В слизовій оболонці шлунка на перше місце виступали гострі розлади кровообігу, які проявлялися суттєвим потовщенням базальної мембрани за рахунок розширення та повнокрів'я судин дрібного калібру та вираженим периваскулярним набряком (рис. 3.11, 3.12), який поширювався також на м'язову оболонку.

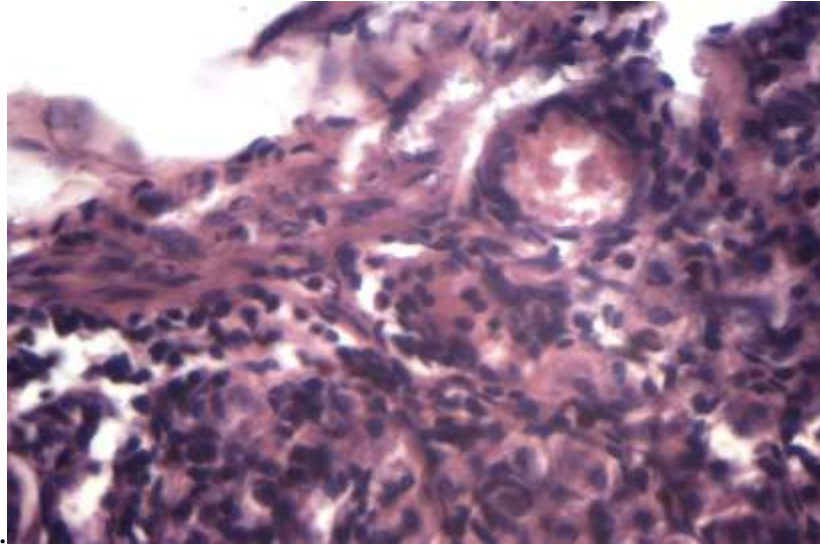


Рис. 3.11. Гістологічна структура тканини слизової оболонки шлунка тварини на 10 добу експерименту при ураженні парацетамолом. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

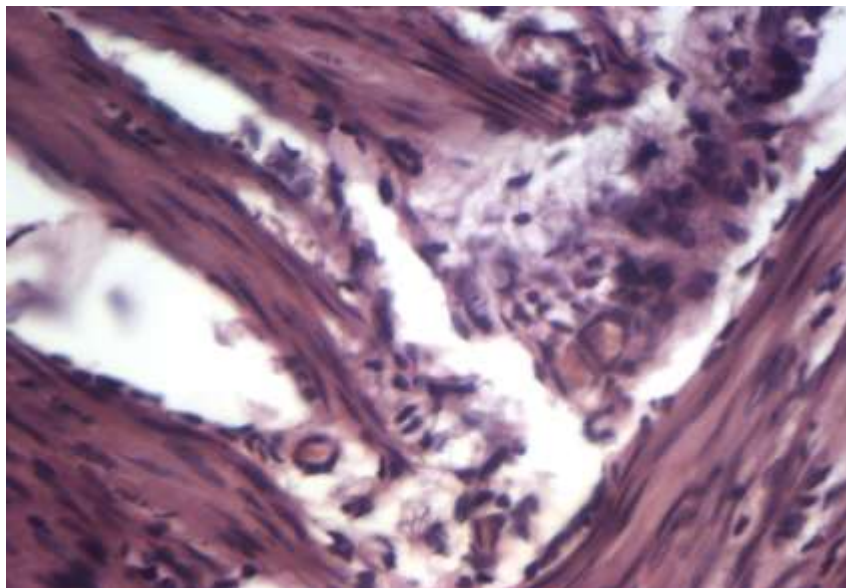


Рис. 3.12. Гістологічна структура тканини слизової оболонки шлунка тварини на 10-у добу експерименту при ураженні парацетамолом. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

Залозистий епітелій був гіпертрофованим із ознаками підвищеної секреції. Просвіти залоз значно розширювались. Поверхневий епітелій із явищами дистрофії та некрозу злущувався у просвіт шлунку. Строма помірно інфільтрувалась лімфо-гістіоцитарними інфільтратами.

Таким чином, нами відмічено важкі ускладнення, які проявлялись дистрофічно-некротичними змінами епітелію та пошкодженням структури епітеліальних компонентів у тварин, яким моделювали парацетамолове ураження печінки.

Проведені дослідження та отримані результати дозволили зробити наступні висновки:

1. Після ураження тварин токсичними дозами парацетамолу відбувається активація окиснювальних процесів, зокрема ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків, що підтверджується збільшенням вмісту в сироватці крові та печінці ТБК-активних продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів.

2. Активація процесів вільнорадикального окиснення викликає пригнічення системи антиоксидантного захисту, на що вказує зниження активності супероксиддисмутази, каталази та вмісту відновленого глутатіону в ураженому парацетамолом організмі тварин.

3. Нагромадження токсичних продуктів після ураження парацетамолом поглиблює ендогенну інтоксикацію в сироватці крові та печінці щурів, що призводить до підвищення проникності мембран еритроцитів та гепатоцитів.

4. Потрапляння до організму парацетамолу зумовлює пригнічення детоксикаційної функції печінки, що супроводжується збільшенням тривалості гексеналового сну та пригніченням активності ферментів мікросомального окиснення.

5. Підтвердженням гепатотропності парацетамолу є вивчення процесів жовчовиділення в ураженому організмі. Доведено, що парацетамолове отруєння викликає пригнічення швидкості секреції жовчі та її об'єму, а також зниження вмісту холестеролу та жовчних кислот у ній.

6. У тварин, уражених парацетамолом, відмічено дистрофічно-некротичні зміни епітелію та пошкодження структури епітеліальних компонентів печінки та шлунка.

Результати, наведені в даному розділі, опубліковані в наступних наукових працях:

1. Вашкеба Е. М. Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов парацетамолового гепатиту /Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький, В. П. Пида // Вісник морфології. – 2011. – № 3 (Т.17). – С. 532 – 534.

## РОЗДІЛ 4

### ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИЧНОСТІ ЕКСТРАКТУ З НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ХРОНУ ЗВИЧАЙНОГО

Останнім часом широкого застосування в гепатології знайшли рослинні гепатопротектори та антиоксиданти. Нашу увагу привернув хрін звичайний – рослина, яка має цілий комплекс БАР, що проявляють антиоксидантні властивості, і практично ще не знайшла застосування в офіційній медицині.

В проведених попередніх дослідженнях ми вивчили хімічний склад листя і виготовили екстракт з надземної частини хрону звичайного.

Дослідженням токсичності та специфічних видів активності, а також встановленню мінімально діючої дози екстракту з надземної частини хрону звичайного присвячений даний розділ дисертаційної роботи.

#### 4.1 Вивчення гострої токсичності екстракту з надземної частини хрону

У відповідності до Методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України при дослідженні нового перспективного лікарського засобу обов'язковою характеристикою є оцінка його токсичності, що дозволяє, в свою чергу, оцінити ступінь нешкідливості. Чим більша ефективність та нешкідливість препарату, тим ширшими є його можливості застосування в медичній практиці. Виходячи з цього, було доцільним вивчити гостру токсичність, ульцерогенну, місцевоподразнювальну, протизапальну та антимікробну активності 10 % спиртового екстракту з надземна частина хрону.

При дослідженні нового лікарського засобу обов'язковою характеристикою, поряд з вивченням лікувальних властивостей, є визначення показника ЛД<sub>50</sub> (середньолетальна смертельна доза), що визначається при

вивченні гострої токсичності [59]. Це дозволяє оцінити ступінь токсичності препарату та співвідношення шкідливість/нешкідливість в умовах застосування препарату в дозах, що у декілька десятків разів перевищують терапевтичну.

При виборі доз для внутрішньошлункового введення лімітуючим показником при визначенні гострої токсичності є максимальна доза четвертого класу токсичності (малотоксичні речовини) – 5000 мг/кг, якщо при цьому не спостерігається загибелі, введення більшої дози, як правило, є недоцільним. Зважаючи на вищенаведене, для проведення дослідження нами була обрана доза екстракту 5000 мг/кг, яку вводили одноразово внутрішньошлунково щурам самцям та самкам з масою тіла 180 – 210 г. Після введення досліджуваної лікарської форми за тваринами спостерігали протягом 14 днів та оцінювали їх загальний стан, летальність, динаміку маси тіла, а після виведення тварин з експерименту проводили макроскопічну оцінку стану внутрішніх органів і систем та розраховували масові коефіцієнти внутрішніх органів.

Як показали проведені дослідження, після внутрішньошлункового введення екстракту з надземна частина хрону в дозі 5000 мг/кг ознак інтоксикації у щурів обох статей не виявлено: тварини були охайними, активними, реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, порушення дихання та судом не спостерігали. Рефлекторна збудливість у всіх тварин була збережена. Споживання води та їжі у всіх дослідних щурів не відрізнялось від такого у групах інтактних тварин. Результати вивчення гострої токсичності екстракту наведені в таблиці 4.1.

З таблиці 4.1 видно, що загибелі тварин обох статей при введенні щурам екстракту в дозі 5000 мг/кг не спостерігалось, що свідчить про нешкідливість даної лікарської форми.

**Дослідження гострої токсичності екстракту з надземної частини хрону при одноразовому внутрішньошлунковому введенні білим щурам обох статей**

Умови досліджу	Доза, мл/кг	Самці	Самки
		Спостережуваний ефект, кількість загиблих тварин/загальна кількість тварин у групі	Спостережуваний ефект, кількість загиблих тварин/загальна кількість тварин у групі
Контроль № 1, питна вода	5,0	0/6	0/6
Контроль № 2, 70% спирт етиловий	5,0	0/6	0/6
Контроль № 3, екстракт	5,0	0/6	0/6

Протягом 14-и діб проводилось визначення маси тіла дослідних тварин, яку оцінювали в динаміці (перед початком експерименту, через 3-и, 7-и та 14-и днів від початку введення екстракту). Дослідження динаміки маси тіла тварин показало, що у щурів після внутрішньошлункового введення даного лікарського засобу та у групах інтактних тварин протягом терміну спостереження відбуваються збільшення маси тіла відносно вихідних даних (табл.4. 2).

Після закінчення експерименту, через 14 діб, був проведений розтин тварин та макроскопічний огляд внутрішніх органів. Під час розтину всі тварини мали охайний шерстний покрив, незмінені слизові оболонки природних отворів. Поверхня печінки, нирок та наднирників гладенька. Колір, форма, розмір органів звичайний. Підшлункова залоза сірувато-рожевого кольору гілко-тяжистого вигляду.

**Динаміка маси тіла щурів після одноразового внутрішньошлункового введення екстракту з надземної частини хрону**

Умови досліджу	Вихідні дані	3 дні, г	7 днів, г	14 днів, г
<b>Самці</b>				
Контроль № 1, питна вода	185,5±4,15	188,0±3,12	190,7±3,52	195,7±2,43
Контроль № 2, 70% спирт етиловий	192,0±4,17	193,3±2,85	195,5±3,50	198,5±3,50
Контроль № 3, екстракт	195,7±4,12	198,7±3,45	205,0±5,10	208,3±4,90
<b>Самки</b>				
Контроль № 1, питна вода	190,0±3,35	193,8±4,35	196,7±5,13	200,5±5,10
Контроль № 2, 70% спирт етиловий	202,0±3,75	205,8±3,15	209,5±5,12	210,5±3,18
Контроль № 3, екстракт	200,5±4,25	204,3±4,16	207,5±5,15	212,3±3,95

Селезінка повнокровна, пружна. Слизова оболонка шлунка з вираженим рельєфом складок. Слизова оболонка кишечника не змінена. В грудній порожнині всі органи розташовані анатомічно правильно. М'яз серця на розрізі темно-червоний, легені повітряні, листки плеври не змінені. Лімфатичні вузли грудної та черевної порожнин не змінені. З боку масових коефіцієнтів внутрішніх органів тварин, наведених в таблицях 4.3 – 4.4, патологічних змін не спостерігалось.

Як видно з табл. 4.3 у щурів-самок всіх дослідних груп маса внутрішніх органів за період спостереження практично не змінилась.

Таблиця 4.3

Масові коефіцієнти внутрішніх органів (г) щурів-самок після одноразового внутрішньошлункового введення екстракту з надземної частини хрону

Орган		Умови дослідю		
		Контроль № 1, питна вода	Контроль № 2, 70% спирт етиловий	Контроль №3, екстракт
Печінка		3,75±0,16	3,70±0,14	3,76±0,10
Нирки	права	0,38±0,03	0,37±0,02	0,38±0,02
	ліва	0,37±0,02	0,37±0,02	0,38±0,01
Серце		0,40±0,02	0,41±0,01	0,40±0,03
Легені		0,69±0,03	0,70±0,05	0,72±0,03
Селезінка		0,39±0,03	0,39±0,02	0,40±0,02
Надирники		0,032±0,002	0,028±0,001	0,031±0,002
Тимус		0,12±0,009	0,11±0,016	0,12±0,012

При аналізі масових коефіцієнтів внутрішніх органів достовірних відхилень між ними у різних групах тварин не виявлено, що підтверджує нетоксичність досліджуваного екстракту і можливість його подальшого застосування.

Аналогічно не виявлено змін у масі внутрішніх органів щурів-самців.

Маса всіх органів у щурів-самців у контрольних та дослідній групах знаходилась на одному рівні, достовірних змін виявлено не було (табл. 4.4).

Таким чином, комплекс проведених досліджень з вивчення гострої токсичності екстракту з надземна частина хрону дозволив встановити відсутність його токсичної дії при одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам дози 5000 мг/кг.



**Масові коефіцієнти внутрішніх органів (г) щурів-самців після одноразового внутрішньошлункового введення екстракту з надземної частини хрону**

Орган		Умови досліджу		
		Контроль № 1, питна вода	Контроль № 2, 70% спирт етиловий	Контроль №3, екстракт
Печінка		4,20±0,12	4,12±0,14	4,15±0,16
Нирки	права	0,39±0,02	0,40±0,01	0,39±0,02
	ліва	0,39±0,01	0,39±0,03	0,39±0,01
Серце		0,38±0,02	0,36±0,01	0,36±0,02
Легені		0,75±0,01	0,75±0,02	0,75±0,01
Селезінка		0,57±0,02	0,51±0,02	0,54±0,01
Наднирники		0,029±0,001	0,030±0,001	0,030±0,002
Тимус		0,13±0,01	0,11±0,01	0,12±0,02
Сім'я ники	Правий	0,64±0,03	0,63±0,01	0,64±0,01
	Лівий	0,65±0,02	0,65±0,01	0,65±0,01

Проведені дослідження вказують, що ЛД<sub>50</sub> для екстракту з листя хрону знаходиться за межами 5000 мг/кг. Згідно з токсикологічною класифікацією речовин К.К. Сидорова [133] екстракт з надземної частини хрону звичайного при внутрішньошлунковому введенні належить до V класу токсичності – практично нешкідливих речовин.

4.2. Підбір мінімально діючої дози екстракту з надземної частини хрону на моделі парацетамолового ураження печінки

В даному підрозділі наведені результати вибору оптимально діючої дози екстракту з надземної частини хрону на моделі ураження щурів парацетамолом.

Відомо, що прийом підвищених доз препарату може призвести до інтоксикації зі скритою стадією, яка складає від 24 до 48 годин. Внаслідок некрозу печінкових клітин можуть розвиватися порушення функцій печінки аж до печінкової коми з летальним наслідком.

Ми вибрали дану модель ураження, щоб попередньо дослідити прояв антиоксидантного та гепатопротекторного ефекту запропонованого нами екстракту з надземної частини хрону.

Матеріалом дослідження слугували білі безпородні щури-самці масою тіла 160-180 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію.

Для дослідження обрали дози екстракту 100 мг/кг, 150 мг/кг та 200 мг/кг маси тіла тварин.

В даній серії експерименту вивчали розвиток процесів ліпопероксидації в уражених тварин та стан ферментативної ланки антиоксидантного захисту на 3-ю добу від початку потрапляння до організму парацетамолу.

Як видно з табл. 4.5 через 24 години з моменту останнього введення парацетамолу активуються процеси перекисного окиснення ліпідів, про що свідчить збільшення в сироватці крові та печінці щурів ТБК-активних продуктів. Відмічено зростання вмісту даного показника у сироватці крові в 2,4 раза, у печінці уражених тварин в 2,5 раза ( $p < 0,05$ ).

Після введення в уражений парацетамолом організм екстракту з хрону ми спостерігали зниження вмісту продуктів перекисного окиснення як у сироватці крові, так і в печінці дослідних тварин. Найбільш ефективний вплив на цей показник проявила доза екстракту 200 мг/кг маси тіла. Введення дози 100 мг/кг виявилось неефективним, вміст ТБК-активних продуктів не знижувався.

Після застосування дози 150 мг/кг для корекції окиснювальних процесів, ми відмітили позитивний вплив її на даний показник в обидвох досліджуваних тканинах. Вміст продуктів ліпопероксидації при застосуванні

дозы 150 мг/кг массы тела снижувался у сироватці крові на 90 %, у печінці – на 53 % ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 4.5

**Біохімічні показники у щурів, уражених парацетамолом, та вплив на них різних доз екстракту з надземної частини хрону ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Показники	Групи тварин				
	Контрольні	Уражені парацетамолом	Уражені+ 100 мг екстракту	Уражені+ 150 мг екстракту	Уражені+ 200 мг екстракту
Сироватка крові					
ТБК-АП, мкмоль/л	2,60±0,05	6,20±0,07*	5,95±0,15	3,85±0,06**	3,15±0,12**
Каталаза, мкат/л	7,80±0,30	5,40±0,19*	5,90±0,21	6,82±0,13**	7,25±0,15**
ВГ, ммоль/л	4,75±0,15	3,55±0,12*	3,90±0,11	4,40±0,13**	4,60±0,13**
АлАТ, мкмоль/л год	0,25±0,02	0,42±0,03*	0,39±0,03	0,32±0,02**	0,30±0,04**
АсАТ, мкмоль/л год	0,36±0,03	0,48±0,03*	0,47±0,02	0,40±0,02	0,38±0,03
Печінка					
ТБК-АП, мкмоль/кг	0,75±0,03	1,90±0,04*	1,75±0,08	1,50±0,03**	0,90±0,07**
Каталаза, мкат/кг	10,30±0,15	7,35±0,13*	8,00±0,12	9,15±0,17**	9,80±0,15**
ВГ, ммоль/кг	4,15±0,11	3,05±0,12*	3,25±0,11	3,82±0,11**	4,10±0,13**
АлАТ, мкмоль/кг год	0,70±0,04	0,60±0,03	0,60±0,04	0,68 ±0,05	0,70±0,04
АсАТ, мкмоль/кг год	0,82±0,03	0,70±0,04*	0,68±0,05	0,78±0,04	0,78±0,03

Примітка: тут і в наступних таблицях:

\* вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами;

\*\* вірогідні зміни між ураженими та лікованими тваринами

При дослідженні показників антиоксидантної системи нами встановлено значне їх зниження після отруєння щурів парацетамолом.

В уражених тварин активність каталази в сироватці крові знизилась на 31 % на третю добу після введення в організм парацетамолу, вміст відновленого глутатіону знизився на 25 %. Аналогічна тенденція до зниження активності цих ферментів відмічалась у печінці тварин через 24 год з моменту останнього введення токсину. Активність каталази виявилась на 29 % нижче рівня контрольних щурів, вміст відновленого глутатіону – на 27 % нижче контролю.

Для відновлення функціонування ферментативної ланки антиоксидантної системи нами було використано екстракт з надземної частини хрону в дозах 100 мг/кг, 150 мг/кг та 200 мг/кг маси тіла щурів.

Після введення 100 мг/кг екстракту спостерігалась тенденція до незначного підвищення активності каталази, але вірогідних змін не відмічено ( $p > 0,05$ ). Достовірно підвищилась активність даного ферменту в сироватці крові після застосування дози 150 мг/кг. Доза 200 мг/кг теж проявила ефективний вплив на на цей показник (рис. 4.1).

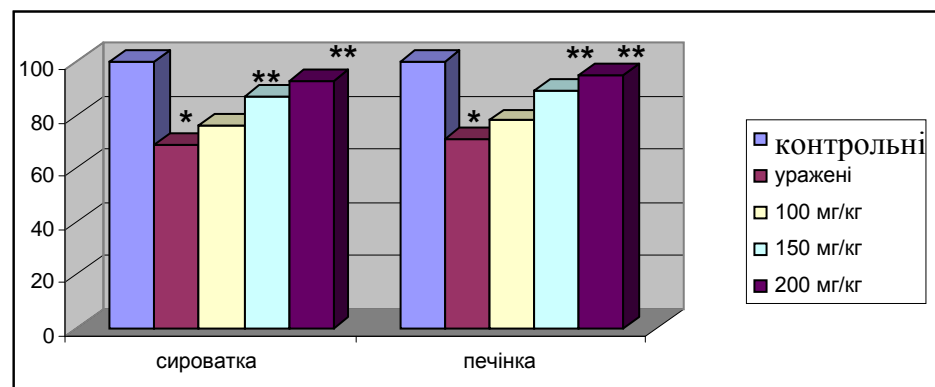


Рис. 4.1 Активність каталази у сироватці крові та печінці щурів, отруєних парацетамолом, та після корекції екстрактами з надземної частини хрону, %

У печінці уражених тварин при застосуванні вищенаведених доз екстракту (150 мг/кг та 200 мг/кг) значно підвищилась активність досліджуваного ензиму в порівнянні з тваринами, які його не отримували.

Важливою ланкою захисту клітини від переокиснення є глутатіонова система, яка включає ферменти глутатіонредуктазу та глутатіонпероксидазу, а також неферментативний комплекс – відновлений глутатіон.

Ми вивчили вміст відновленого глутатіону в тканинах уражених щурів. Після введення в організм парацетамолу вміст ВГ у сироватці крові знизився на 25 %, в печінці – на 27 %, що виявилось вірогідним ( $p < 0,05$ ).

Використання екстракту з надземної частини хрону призвело до підвищення рівня цього показника. Найбільш ефективний вплив проявила доза 200 мг/кг, хоча при застосуванні дози 150 мг/кг вміст відновленого глутатіону в сироватці крові становив 93 % від рівня контролю і в печінці 92 %. Зміни відмічені як вірогідні ( $p < 0,05$ ) в порівнянні з ураженими тваринами. Доза 100 мг/кг виявилась неефективною для даного показника.

Активація процесів перекисного окиснення ліпідів призводить до нагромадження токсичних продуктів метаболізму парацетамолу в печінці щурів, які є цитотоксичними і призводять до порушення структури та зміни проникності мембран гепатоцитів.

Нами вивчена активність амінотрансфераз у тварин контрольної та дослідних груп. Відомо, що ці ферменти є органоспецифічними для печінки і містяться в цитоплазмі гепатоцитів. Порушення проникності мембран останніх викликає підвищення їх активності в сироватці крові.

Через 24 год після останнього введення парацетамолу ми відмітили зростання активності АлАТ у 1,7 раза, АсАТ – у 1,3 раза в сироватці крові. У печінці спостерігалось незначне зниження активності цих ферментів – в обидвох випадках в 1,2 раза (табл. 4.5).

Виникла потреба застосувати досліджуваний екстракт для корекції активності амінотрансфераз. Введення в уражений організм екстракту в дозі 100 мг/кг призвело до незначного зниження активності обидвох ферментів у сироватці крові. В печінці уражених тварин застосування екстракту в цій же дозі не проявило позитивного впливу на досліджувані показники. Ефективний вплив на дані ензими проявила доза екстракту 150 мг/кг маси

тіла. При її введенні до ураженого організму активність АлАТ в сироватці крові знизилась на 40 %, у печінці підвищилась на 11 %. Дослідження активності АсАТ після застосування екстракту показало її зниження на 22 % у сироватці крові і підвищення на 10 % у печінці щурів в порівнянні з ураженими тваринами (рис.4.2). Використана нами доза екстракту 200 мг/кг маси тіла була найбільш ефективною. Після її введення в уражений організм активність амінотрансфераз прийшла до норми.

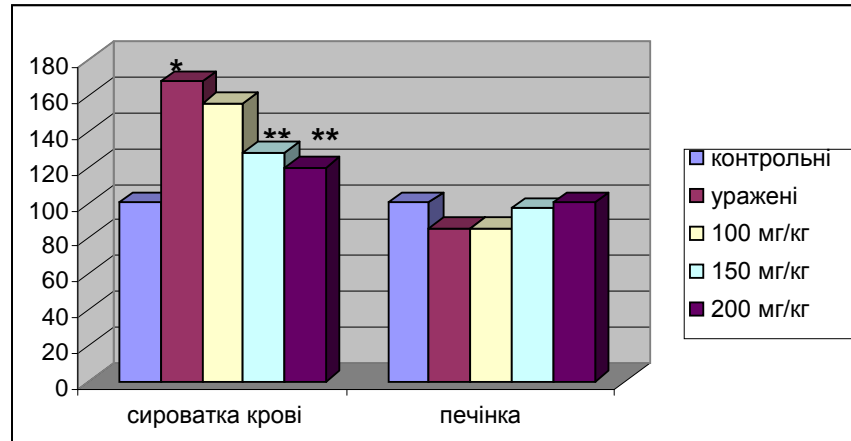


Рис. 4.2. Активність аланінамінотрансферази у сироватці крові та печінці щурів, отруєних парацетамолом, та після корекції екстрактами з надземної частини хрону, %

Таким чином, проведені дослідження показали, що мінімально діючою дозою за умов парацетамолового гепатиту є доза екстракту 150 мг/кг [25]. У цій дозі екстракт з надземної частини хрону проявляє антиоксидантні та гепатопротекторні властивості, які супроводжуються відновленням проникності плазматичних мембран гепатоцитів. На це вказує зниження активності процесів ліпопероксидації (зменшення вмісту ТБК-активних продуктів) та підвищення активності таких антиоксидантних ферментів як каталази та неферментного компонента глутатіонової системи – відновленого глутатіону. Нормалізація активності амінотрансфераз засвідчила про відновлення проникності та структури гепатоцитів, що може бути діагностичним критерієм для оцінки ступеня ураження печінки в умовах токсичного гепатиту. У подальших наших дослідженнях ми використовували саме цю

дозу з метою вивчення її коригуючого впливу на організм в умовах медикаментозного та токсичного гепатитів.

#### 4.3 Дослідження ульцерогенної дії екстракту з надземної частини хрону

Дослідження впливу 10% екстракту з надземної частина хрону на стан слизової оболонки шлунка проводили за методом Андрєєвої Н.І. і Шарової С.Д. [60]. Дослідний препарат вводили одноразово внутрішньошлунково у дозі 150 мг/кг маси тіла (табл. 4.6).

*Таблиця 4.6*

#### **Вплив екстракту з надземної частини хрону на стан слизової оболонки шлунка щурів**

Групи тварин	Кількість тварин в групі	Кількість гіперемічних плям
Контрольні	6	0,30±0,02
Екстракт, 150 мг/кг	6	0,35±0,025

Через 3 год після введення екстракту тварин піддавали евтаназії та проводили макроскопічний огляд слизової шлунка. Результати досліджень вказують на те, що екстракт з надземної частини хрону в дозі 150 мг/кг не впливає на стан слизової оболонки шлунка і, таким чином, не виявляє ульцерогенної дії [24].

#### 4.4 Вивчення алергенної дії екстракту з надземної частини хрону

Дослідження алергенного ефекту екстракту з надземної частини хрону проводили на морських свинках шляхом дослідження слизової кон'юктиви та рогівки ока у тварин.

Екстракт вводили морським свинкам внутрішньошлунково у дозі 150 мг/кг протягом 10 днів. На 14-й день досліду проводили закапування розв'язувальної дози препарату під верхню повіку ока і враховували реакцію слизової оболонки. Контролем служило друге око, куди закапували воду.

При виконанні кон'юнктивальної проби у морських свинок були відсутні ознаки алергічної запальної реакції на слизовій оболонці ока. Відмічалась лише незначна сльозливість, яка через 2-3 хв проходила. Це вказує на відсутність сенсibiliзуючої дії дослідного препарату.

Таким чином, одержані дані свідчать про те, що екстракт з надземної частини хрону у дозі 150 мг/кг не проявляє алергенної активності.

#### 4.5 Вивчення місцевоподразнювальної дії екстракту з надземної частини хрону

Місцевоподразнювальну дію досліджуваного екстракту в дозі 150 мг/кг вивчали шляхом внесення 1-ї краплі розчину у кон'юнктивальний мішок ока кролика. Друге око служило контролем. Подразнювальну дію оцінювали в балах за ступенем гіперемії і набряку.

Проведені дослідження показали, що внесення в кон'юнктивальний мішок ока кролика екстракту з надземної частини хрону викликало незначне почіхування ока відразу після внесення екстракту, через 2-3 хв поведінка кролів не відрізнялась від початкової. Видимої реакції з боку слизової оболонки ока через 15 хвилин, 1 години та 24 годин з початку експерименту, що відповідало 0 балів, не відмічено.

Таким чином, вивчення місцевоподразнювальних властивостей 10 % екстракту з надземної частини хрону показало, що досліджувана лікарська форма не проявляє подразнювального ефекту при контакті зі слизовою оболонкою ока.



#### 4.6 Вивчення протизапальної активності екстракту з надземної частини хрону

Протизапальна активність хрону звичайного може проявлятися за рахунок наявності у його складі дубильних речовин.

Метою даної роботи було вивчення протизапальної активності екстракту з надземної частини хрону на моделі карагенінового набряку лапи щурів. Визначали здатність досліджуваного препарату впливати на інтенсивність запальної реакції та інгібувати гістамін, серотонін, кініні.

Дослідження протизапальної дії досліджуваного екстракту проводили у порівнянні з таблетками натрію диклофенаку. Екстракт вводили в дозі 150 мг/кг, таблетки диклофенаку натрію – у дозі 8 мг/кг. Препарати вводили перорально за 1 годину до ін'єкції карагеніну. Одна з груп тварин замість досліджуваних чинників отримувала еквівалентну кількість води. За розвитком набряку спостерігали в динаміці через 1, 3, 6 і 24 години. В кожний термін спостереження вимірювали об'єм лап за допомогою механічного онкометра.

Результати дослідження показали (табл. 4.7), що у контрольній групі розвиток запальної реакції спостерігався уже на 1-й годині від початку введення карагеніну і досягав максимуму на 3-й годині. До 24-ї години експерименту набряк зменшувався.

У групі тварин, які отримували екстракт з надземної частини хрону вже на 1-й годині від початку запалення спостерігався максимальний коригуючий ефект, який тривав протягом всього експерименту. Аналогічну тенденцію проявив диклофенак натрію при одноразовому введенні в організм щурів.

Через 24 год від початку розвитку запалення протизапальна активність екстракту становила 51,1 %, диклофенаку натрію – 47,8 %. Найефективнішим виявилось застосування екстракту на першій годині розвитку запалення і його активність становила 62,5 %.

**Протизапальна активність екстракту з надземної частини хрону,  
(M±m; n=6)**

Групи тварин		Динаміка розвитку запалення, години			
		1	3	6	24
Контрольні тварини	ΔV	12,00±0,56	18,25±0,75	16,72±0,95	6,13±0,25
	Активність, %	62,50	52,10	57,20	51,10
Екстракт, 150 мг/кг	ΔV	4,50±0,37*	8,75±0,50*	7,15±0,20*	3,00±0,12*
	Активність, %	66,70	49,00	53,10	47,80
Диклофенак натрію, 8 мг/кг	ΔV	4,00±0,17*	9,30±0,42*	7,85±0,15*	3,20±0,11*
	Активність, %	66,70	49,00	53,10	47,80

Примітка: ΔV – величина набряку;

\* - відхилення показника вірогідно по відношенню до контрольної групи,  $p < 0,05$ .

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про виразну протизапальну дію екстракту з надземної частини хрону звичайного, яка може бути обумовлена пригніченням синтезу простагландинів [28].

#### 4.7 Дослідження антимікробної активності екстракту з надземної частини хрону

Дане дослідження присвячене вивченню антимікробних властивостей надземної частини хрону звичайного. Вивчення антимікробної дії екстракту проводили на шести видах мікроорганізмів (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Salmonella enterica*), які мають різні біологічні властивості (морфологію, будову, ступінь патогенності, відношення до різних біотопів).

Дослідження проводили методом двократних серійних розведень шляхом посіву в м'ясо-пептонний бульйон, до якого в першу пробірку додавали 1 мл екстракту листків хрону звичайного визначеної концентрації (10 % на 40° та 70° етиловому спирті, а також на воді). Після ретельного перемішування із даної пробірки мірною піпеткою відбирали 1 мл і поміщали в другу. Дану процедуру проводили до шостої пробірки, із якої 1 мл відливали, щоб у всіх пробірках був однаковий об'єм. Сьома пробірка не містила екстракту, вона служила контролем росту мікроорганізмів. Таку процедуру повторювали 5 разів.

Після цього у кожен із шести рядів пробірок вносили відповідні добові культури мікроорганізмів і поміщали на добу в термостат, де при температурі 37 °C відбувалось культивування бактерій.

На другу добу із всіх пробірок робили посів петлею на щільне поживне середовище (для кожного мікроорганізму оптимальне для росту) і проводили знову ж таки культивування бактерій в термостаті.

На третю добу відмічено, що екстракт з хрону проявляє вибірково антимікробну активність.

У чашках Петрі, де культивувались *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Candida albicans* порівняно з контролем відмінностей не виявлено, а там, де культивувалися *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Salmonella enterica* у найменших розведеннях (екстракт водний 1:10) спостерігався обмежений ріст.

Дані результати свідчать про бактеріостатичну дію екстракту з надземної частини хрону відносно *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Salmonella enterica*.

На всі інші штами екстракт з хрону звичайного не вплинув [26].

Таким чином, можна констатувати, що екстракту з надземної частини хрону притаманні, в основному, бактеріостатичні властивості, які можуть бути використані в практичній медицині при лікуванні захворювань, викликаних різними мікроорганізмами.

Впровадження запропонованої антимікробної активності екстракту з хрону дозволяє проводити наступні дослідження даної лікарської субстанції, що забезпечить подальше її використання в медичній практиці.

Наведені в даному розділі результати дозволили зробити наступні висновки:

1. ЛД<sub>50</sub> для екстракту з надземної частини хрону знаходиться за межами 5000 мг/кг. Екстракт з надземної частини хрону звичайного при внутрішньошлунковому введенні належить до V класу токсичності – практично нешкідливих речовин.

2. Мінімально діючою дозою екстракту з надземної частини хрону встановлена доза 150 мг/кг, введення якої проявило коригуючий вплив на процеси ліпопероксидації та показники антиоксидантної системи в організмі тварин, уражених парацетамолом.

3. Екстракт з надземної частини хрону в дозі 150 мг/кг не виявляє ульцерогенної, місцевопоздражнявальної дії, алергічної активності.

4. На моделі карагенінового набряку доведена протизапальна активність екстракту з надземної частини хрону звичайного.

5. Проведені мікробіологічні дослідження підтвердили бактеріостатичні властивості екстракту з надземної частини хрону.

За результатами досліджень, наведених в даному розділі, опубліковані наступні праці:

1. Мельник Л. В. Вивчення хімічного складу надземної частини хрону звичайного / Л. В. Мельник, Е. М. Вашкеба, П. Г. Лихацький, Л. С. Фіра, І. Г. Пересадько // Фарм. часопис. – 2009. – № 1(9). – С. 10 – 12.

2. Вашкеба Е. М. Вивчення гострої токсичності густого екстракту з надземної частини хрону звичайного / Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра // Фарм. часопис. – 2011. – № 2(18). – С. 67 – 69.

3. Вашкеба Е. М. Підбір мінімально діючої дози екстракту з надземної частини хрину звичайного на моделі парацетамолового гепатиту / Е. М. Ва-шкеба, Л. С. Фіра // Укр. біофарм.журнал. – 2011. – №4 (15). – С. 28 – 31.

4. Вашкеба Е.М. Дослідження ульцерогенної дії густого екстракту з листя хрину звичайного (*Armoracia rusticana* L.) / Е. М. Вашкеба// Всеукр. Науково-практична конференція, ХУ Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, 27-29 квітня 2011. – Тернопіль-2011. – С. 326.

5. Вашкеба Е. М. Вивчення протизапальної активності густого екстракту з листя хрину звичайного // 71 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки "Сучасні аспекти медицини і фармації" – 2011 / Е. М. Вашкеба// Запор. держав. медуніверситет . – Тези доповідей 12-13 травня 2011 р. – С. 167 – 168.

6. Вашкеба Е. М. Вивчення антимікробної активності екстракту з листків хрину звичайного (*Armoracia rusnicana*). / Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра // Тези доповідей VI Всеукр. науково-практичної конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології, присвяченій 90-річчю професора О.О.Столярчука. – Вінниця. – 2010. – С. 167 – 169.

## РОЗДІЛ 5

### ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ВИКОРИСТАННЯ ПРИРОДНИХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРІВ

З метою корекції метаболічних порушень, які виникають за парацетамолового ураження печінки, доцільним було дослідити властивості екстракту з надземної частини хрону звичайного моделі токсичного гепатиту у щурів.

Тварини були розділені на 4 групи: 1 – контрольні тварини; 2-а – тварини, отруєні парацетамолом в дозі 1250 мг/кг маси тіла (щоденно протягом двох днів, шлях введення – інтрагастрально); 3-я група – щури, яким через 2 год після ураження парацетамолом щоденно протягом двох днів вводили 10 % екстракт з надземної частини хрону звичайного в дозі 150 мг/кг маси тіла; 4-ій групі тварин після ураження вводили силімарин в дозі 50 мг/кг маси тіла.

На третій та десятій день від початку ураження тварин піддавали евтаназії з використанням тіопенталу натрію.

#### 5.1 Вплив екстракту з надземної частини хрону на розвиток вільнорадикальних процесів в організмі щурів, отруєних парацетамолом

В розділі 3 наведені результати досліджень, які вказують, що введення токсичних доз парацетамолу в організм тварин викликає активацію вільнорадикальних процесів, а зокрема інтенсифікацію ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків в сироватці крові та печінці уражених тварин.

З метою корекції даних порушень ми використали екстракт з надземної частини хрону та препарат, отриманий з розторопші плямистої –

силімарин. Доцільним було порівняти ці два коригуючі чинники за їхніми властивостями. Результати досліджень наведені в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

**Вміст ТБК-АП продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів у сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрону та силімарину, ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Групи тварин	ТБК-АП, мкмоль/л		2,4-ДНФГ (370 нм), ммоль/г білка		2,4-ДНФГ (430 нм), ммоль/г білка	
	Терміни дослідження, доби					
	3-я	10-а	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	2,60±0,05		0,20±0,03		0,24±0,01	
Уражені парацетамолом	6,20± 0,07*	5,70± 0,04*	0,30± 0,02*	0,27± 0,015	0,29± 0,02*	0,27± 0,011
Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	3,75± 0,06**	3,10± 0,03**	0,25± 0,02	0,22± 0,011	0,25± 0,03	0,24± 0,012
Уражені + ліковані силімарином, 50 мг/кг	3,70± 0,05**	3,15± 0,03	0,25± 0,03	0,22± 0,016	0,26± 0,02	0,25± 0,011

Примітка: тут і в наступних таблицях

\* вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ( $p < 0,05$ );

\*\* - вірогідні зміни між ураженими та лікованими тваринами ( $p < 0,05$ )

З наведених у таблиці 5.1 результатів видно, що після ураження щурів парацетамолом збільшується вміст ТБК-АП у сироватці крові протягом всього періоду дослідження. Використаний нами екстракт з надземної частини хрону викликав вірогідне зниження даного показника в сироватці крові уже на 3-ій день від початку експерименту і становив 144 % в порівнянні з 238 % в уражених щурів, хоча рівня контролю в цей період він ще не досяг. Очевидно, це пов'язано з недовготривалим введенням коригуючого чинника і невеликим терміном дослідження розвитку медикаментозного гепатиту. Аналогічна тенденція до зниження вмісту ТБК-АП у сироватці крові тварин після парацетамолової інтоксикації спостерігається при введенні в організм відомого гепатопротектора та

антиоксиданта силімарину (142 % порівняно з 238 % в уражених). Результати досліджень цих показників практично були на одному рівні при використанні обидвох коригуючих чинників. На 10-ий день з моменту потрапляння парацетамолу в організм тварин та введення їм екстракту з надземної частини хрону вміст ТБК-АП знизився на 100 % і на 19 % перевищував такий у контрольних тварин.

Активація процесів вільнорадикального окиснення призводить до дії АФК та токсичних продуктів метаболізму на білкові компоненти мембран та інші білки організму, що викликає їх деградацію та зміни у структурі.

Дослідження показників ОМБ показало, що у сироватці крові щурів після ураження їх парацетамолом проходить збільшення вмісту 2,4-динітрофенілгідразонів нейтрального (370 нм) та основного характеру (430 нм) у всі терміни дослідження.

Застосування екстракту з хрону та силімарину призвело до зниження вмісту 2,4-ДНФГ нейтрального та основного характеру в сироватці крові уражених парацетамолом тварин (табл. 5.1), хоча зміни не виявились вірогідними.

Протягом 10 днів після ураження у печінці тварин збільшувався вміст ТБК-АП, причому як на 3-ю, так і на 10-у доби дослідження він був практично на одному рівні. Використання екстракту з хрону та силімарин проявили позитивний вплив на даний показник, знижуючи протягом всього експерименту. Після введення тваринам екстракту з надземної частини хрону спостерігалось достовірне його зниження уже на 3-ю добу від початку дослідження. Зниження виявилось вірогідним ( $p < 0,05$ ), проте вміст ТБК-АП ще у 2 рази був вище контролю. Аналогічна тенденція до зменшення вмісту продуктів ліпопероксидації характерна після введення в уражений організм силімарину. Як видно з табл. 5.2, обидва коригуючі чинники проявили позитивний ефект на процеси перекисного окиснення ліпідів, причому застосування досліджуваного екстракту виявилось більш ефективним.



Нами відмічено збільшення вмісту 2,4-динітрофенілгідразонів у печінці після введення до організму тварин парацетамолу. Це збільшення зареєстровано протягом 10 днів спостереження.

Ми використали коригуючі чинники і відмітили позитивний їх вплив на даний показник. Результати досліджень наведені у табл. 5.2.

Таблиця 5.2

**Вміст ТБК-АП продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів у печінці щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрону та силімарину, ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Групи тварин	ТБК-АП, мкмоль/кг		2,4-ДНФГ (370 нм), ммоль/г білка		2,4-ДНФГ (430 нм), ммоль/г білка	
	Терміни дослідження, доби					
	3-я	10-а	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	0,75±0,03		0,46±0,02		0,60±0,025	
Уражені парацетамолом	1,90±0,04*	1,80±0,07*	0,60±0,03*	0,56±0,04*	0,67±0,015	0,65±0,03
Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	1,50±0,03**	1,50±0,05**	0,52±0,03	0,46±0,02**	0,65±0,04	0,62±0,03
Уражені + ліковані силімарином, 50 мг/кг	1,60±0,03**	1,55±0,04**	0,48±0,04**	0,49±0,03	0,65±0,03	0,65±0,04

Введення в уражений парацетамолом організм екстракту з надземної частини хрону призвело до вірогідного зниження вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у печінці уражених тварин, до кінця експерименту він виявився на рівні інтактних щурів. Силімарин проявив позитивний вплив на вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру тільки на початкових стадіях розвитку медикаментозного гепатиту. До кінця експерименту його введення ураженим тваринам виявилось менш ефективним, ніж застосування екстракту з хрону.

Підвищення вмісту 2,4-ДНФГ основного характеру у печінці спостерігалось протягом всього експерименту, але воно не було вірогідним. Застосування коригуючих чинників проявило позитивний ефект на вміст 2,4-ДНФГ основного характеру в печінці щурів за парацетамолового ураження, причому більш ефективним до кінця експерименту виявилось введення екстракту з надземної частини хрону.

Таким чином, використання екстракту з надземної частини хрону проявило позитивний ефект на окиснювальні процеси в організмі тварин за умов парацетамолового ураження, що робить доцільним подальше його вивчення як антиоксидантного засобу та дозволяє рекомендувати до використання в подальших дослідженнях за умов токсичного ураження печінки.

## 5.2 Стан антиоксидантної системи щурів за умов ураження парацетамолом після введення екстракту з надземної частини хрону

У попередніх розділах було показано, що парацетамоловий гепатит супроводжується інтенсифікацією вільнорадикальних реакцій у печінці та сироватці крові, що неминуче призводить до розвитку ендогенної інтоксикації організму, деструкції та дестабілізації клітинних мембран, деградації їх ліпідних та білкових компонентів. Як наслідок можуть відбуватися зміни активності багатьох ферментів. Виявлені порушення призводять до порушень захисно-компенсаторних сил, особливо стану антиоксидантної системи, як ферментативної, так і неферментативної її ланки.

За умов медикаментозного ураження печінки застосовують багато рослинних препаратів як коригуючих факторів. Проте, не всі вони доступні широким колам населення у зв'язку з дорогою ціною, яка зумовлена недостатньою сировинною базою.

Нашим завданням було дослідити антиоксидантні властивості екстракту з надземної частини хрону звичайного. В попередніх наших дослідженнях виявлено велику кількість БАР в даній сировині, яка зумовлює антиоксидантний ефект. Їх вміст у надземній частині хрону є достатнім, щоб взяти на себе функцію екзогенних антиоксидантів та позитивно вплинути на ендогенну антиоксидантну систему.

Результати наших експериментів показали, що ураження тварин парацетамолом супроводжується глибоким порушенням ферментативної антиоксидантної системи.

Екстракт з надземної частини хрону проявив позитивний вплив на показники антиоксидантної системи (табл. 5.3). При його введенні в уражений організм ми спостерігали підвищення активності каталази та вмісту відновленого глутатіону (на 18 % в обидвох випадках) в сироватці крові щурів на 3-ю добу дослідження.

*Таблиця 5.3*

**Активність каталази та вміст відновленого глутатіону в сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрону та силімарину ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Групи тварин	Каталаза, мкат/л		Відновлений глутатіон, ммоль/л	
	Т е р м і н и д о с л і д ж е н н я, д о б и			
	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	7,80±0,30		4,75±0,15	
Уражені парацетамолом	5,40±0,19*	5,80±0,21*	3,55±0,12*	3,60±0,20*
Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	6,82±0,13**	7,25±0,30**	4,40±0,13**	4,55±0,17**
Уражені + ліковані силімарином, 50 мг/кг	6,55±0,17**	7,00±0,23**	4,35±0,14**	4,35±0,13**

На 10-у добу експерименту введення екстракту з хрону призвело до підвищення активності каталази на 19 % в порівнянні з ураженими тваринами і всього на 7 % відрізнявся цей показник від контролю.

При порівнянні впливу препарату силімарин на показники антиоксидантної системи, можна сказати що досліджуваний екстракт був ефективнішим стосовно відомого уже гепатопротектора як на 3-ю, так і на 10-у доби дослідження.

Введення в організм парацетамолу призводить до посилення розвитку вільнорадикальних реакцій у печінці щурів. Можливо, однією з причин, як показано нами в розділі 3, є недостатність системи мікросомального окиснення, що супроводжується накопиченням екзогенних токсичних продуктів метаболізму парацетамолу.

Ми дослідили активність антиоксидантних показників у печінці тварин, уражених парацетамолом. Результати дослідження наведені в таблиці 5.4.

*Таблиця 5.4*

**Активність каталази та вміст відновленого глутатіону в печінці щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрону та силімарину ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Групи тварин	Каталаза, мкат/кг		Відновлений глутатіон, ммоль/кг	
	Терміни дослідження, доби			
	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	10,30±0,15		4,15±0,11	
Уражені парацетамолом	7,35±0,13*	7,45±0,23*	3,05±0,12*	3,15±0,11*
Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	9,15±0,17**	9,90±0,32**	3,82±0,11**	4,05±0,15**
Уражені + ліковані силімарином, 50 мг/кг	9,00±0,12**	9,25±0,19**	3,72±0,14**	3,85±0,16**

Після застосування екстракту активність каталази у печінці уражених тварин знаходилась майже на рівні контролю до кінця дослідження. Аналогічна тенденція до збільшення спостерігалась при вивченні вмісту відновленого глутатіону, досліджуваний нами екстракт наблизив цей показник до рівня контрольних тварин.

Інтоксикація тварин парацетамолом призвела до значного підвищення в сироватці крові вмісту церулоплазміну (табл. 5.5) – ферменту, який нейтралізує супероксидні та гідроксильні радикали ( $O_2^{\cdot}$  та  $OH^{\cdot}$ ), тобто проявляє дію аналогічну внутрішньоклітинній дисмутазі.

Таблиця 5.5

**Активність СОД (мкмоль/л) та вміст ЦП (мг/л) в сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрону та силімарину ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Групи тварин	СОД		ЦП	
	Терміни дослідження, доби		Терміни дослідження, доби	
	3-я	10-та	3-я	10-та
Контрольні	52,5±1,2		10,4±0,2	
Уражені парацетамолом	36,4±1,3 *	37,6±1,4 *	15,8±0,3*	17,2±0,4*
Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	42,5±1,7**	48,4±1,5	12,0±0,5**	12,3±0,7**
Уражені + ліковані силімарином, 50 мг/кг	40,2±2,0	42,5±1,3	13,8±0,6**	13,3±0,5**

Використані нами коригуючі засоби викликали зниження вмісту церулоплазміну. Більш ефективним виявився екстракт з надземної частини хрону, після його використання вміст церулоплазміну наближався до рівня контрольних тварин вже на початку експерименту. На 10-у добу дослідження вміст ЦП після застосування екстракту був на 47 % нижчим, ніж в уражених тварин, після силімарину – на 37 %.

При дослідженні СОД відмічалось збільшення її активності у сироватці крові тварин, що отримували екстракт, у порівнянні з ураженими в 1,2 раза на 3-ю добу від початку експерименту. Після використання силімарину активність даного ензиму перевищувала таку від щурів контрольної групи в 1,1 раза. На 10-у добу дослідження застосування екстракту проявило також більш ефективний вплив на активність СОД у сироватці крові, ніж силімарин.

Отримані дані свідчать про виражену антиоксидантну активність екстракту з надземної частини хрону звичайного, яка по деяких показниках перевищує за своїми властивостями відомий гепатопротектор та антиоксидант силімарин.

Таким чином, результати досліджень вказують на антиоксидантні властивості екстракту з хрону за умов медикаментозного ураження печінки, що дозволить розширити арсенал препаратів, які використовуються для лікування токсичних гепатитів.

### 5.3 Показники проникності еритроцитарних мембран та мембран гепатоцитів у щурів, уражених парацетамолом, після застосування екстракту з хрону

Нами відмічено, що ураження щурів парацетамолом призводить до активації вільнорадикальних процесів, в результаті яких утворюється значна кількість ендogenous токсинів. Всі ці продукти чинять токсичний вплив на клітини різних органів, а зокрема змінюється проникність плазматичних мембран гепатоцитів. Це підтверджується підвищенням у сироватці крові активності амінотрансфераз та лужної фосфатази (табл. 5.6).

Використаний нами екстракт з надземної частини хрону звичайного достовірно зменшив активності амінотрансфераз у сироватці крові після ураження парацетамолом в усі терміни дослідження (на 3-ю добу на 40 %, на 10-у добу – на 72 %).

**Активність амінотрансфераз та лужної фосфатази в сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрону та силімарину (M±m; n=6)**

Групи тварин	АлАТ, мкмоль/л год		АсАТ, мкмоль/л год		ЛФ, ммоль/л	
	Терміни дослідження, доби					
	3-я	10-а	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	0,25±0,02		0,36±0,03		3,86±0,11	
Уражені парацетамолом	0,42±0,03*	0,48±0,02*	0,48±0,03	0,50±0,04*	5,82±0,13*	5,90±0,17*
Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	0,32±0,02**	0,30±0,03**	0,40±0,02	0,40±0,03	4,60±0,12**	4,15±0,12**
Уражені + ліковані силімарином, 50 мг/кг	0,31±0,02**	0,31±0,03**	0,42±0,03	0,40±0,03	4,45±0,11**	4,25±0,13**

Аналогічна тенденція до зниження активності ензимів спостерігалась після введення ураженим тваринам силімарину (рис. 5.1), проте до кінця експерименту ефективність досліджуваного екстракту на 4 % перевищувала ефективність силімарину.

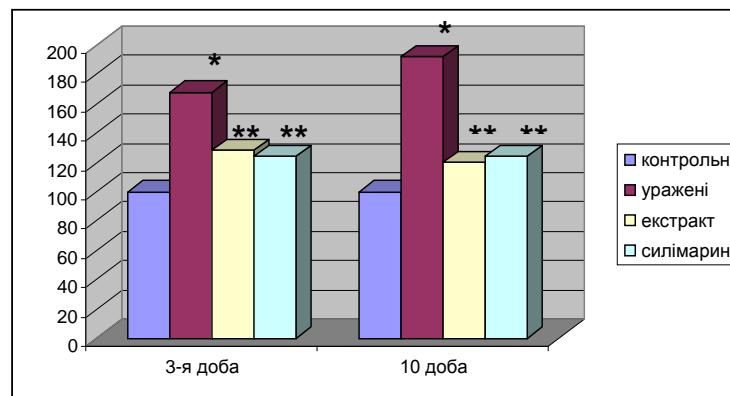


Рис. 5.1. Активність аланінамінотрансферази в сироватці крові щурів за умов парацетамолової інтоксикації та введення коригуючих чинників, %.

Більш ефективний вплив проявив екстракт на активність лужної фосфатази – до кінця експерименту вона становила 107 % від контролю, тоді

як після застосування силімарину активність даного ензиму знаходилась на рівні 110 %.

Введення в уражений організм екстракту з хрону звичайного призвело до підвищення у печінці активності АлАТ на 9 %, АсАТ на 5 % на 3-ю добу від початку ураження (табл. 5.7). Позитивний вплив проявив силімарин, при використанні якого активність амінотрансфераз підвищилась у цей же термін дослідження.

Таблиця 5.7

**Активність амінотрансфераз та лужної фосфатази у печінці щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрону та силімарину ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )**

Групи тварин	АлАТ, мкмоль/ кг год		АсАТ, мкмоль/ кг год		ЛФ, ммоль/кг	
	Терміни дослідження, доби					
	3-я	10-а	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	0,70±0,04		0,82±0,03		4,75±0,13	
Уражені парацетамолом	0,52± 0,03*	0,55± 0,04*	0,70± 0,04*	0,75± 0,03*	4,20± 0,11*	4,10± 0,13*
Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	0,58± 0,05**	0,65± 0,03**	0,74± 0,04	0,80± 0,05**	4,55± 0,12**	4,70± 0,11**
Уражені + ліковані силімарином, 50 мг/кг	0,60± 0,04**	0,65± 0,04	0,72± 0,03	0,76± 0,04**	4,60± 0,10**	4,65± 0,12**

Застосування екстракту викликало підвищення активності лужної фосфатази в печінці до рівня контрольних тварин на 10-у добу дослідження. Силімарин проявив аналогічну тенденцію до нормалізації даного показника і практично протягом 10 діб цей показник знаходився на одному рівні і становив 97 % від контролю. Проте він виявився менш ефективним, ніж досліджуваний нами лікарський засіб.

Одним із способів діагностики ендогенної інтоксикації є дослідження проникності мембран еритроцитів.



У таблиці 5.8 наведені дані, які вказують на зміну проникності еритроцитарної мембрани під впливом парацетамолу та після застосування досліджуваних коригуючих чинників. Очевидно, збільшення проникності мембран є наслідком дії на них АФК, які утворюються при надходженні в організм гепатотропної отрути.

Таблиця 5.8

**Еритроцитарний індекс інтоксикації в крові (%) щурів, уражених парацетамолом, після введення екстракту з надземної частини хрону та силімарину (M±m; n=6)**

Групи тварин	Терміни дослідження, доби	
	3-я	10-а
Контрольні	60,50±2,70	
Уражені парацетамолом	78,25±2,75*	75,17±2,15*
Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	72,45±3,15	64,20±3,40**
Уражені + ліковані силімарином, 50 мг/кг	73,30±2,75	70,50±3,20

Застосування екстракту з хрону проявило позитивний вплив на еритроцитарні мембрани, проникність яких зменшувалась уже на 3-ю добу після потрапляння в організм парацетамолу і становила 72,45 % відносно 78,25 % в уражених тварин. На 10-у добу експерименту проникність еритроцитарної мембрани вірогідно знизилась і на 4,3 % відрізнялась від контрольних тварин. Використаний нами силімарин призвів до зниження проникності мембран, але вірогідних змін не спостерігалось протягом всього періоду дослідження.

Таким чином, проведені дослідження дозволили виявити позитивний вплив екстракту з надземної частини хрону звичайного на проникність плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитарних мембран в організмі тварин за умов ураження їх парацетамолом, що підтверджується нормалізацією активності таких мембранозалежних ферментів як амінотрансферази та лужна фосфатаза, а також зменшенням проникності мембран еритроцитів. Отримані результати можуть вказувати на можливість

застосування екстракту як мембранопротекторного засобу за умов парацетамолового ураження печінки.

#### 5.4 Вплив екстракту з надземної частини хрону на структуру печінки та шлунка після ураження щурів парацетамолом

При гістологічному дослідженні печінкової паренхіми на 3-ю добу експерименту при лікуванні екстрактом нами було виявлено, що структура печінкової часточки була збереженою. Центральні вени частково розширювались, проте не містили еритроцитів (рис. 5.2). Синусоїди частково розширювались, проте лише в центролобулярних зонах. На інших ділянках вони не відрізнялись від контролю, були вільними від еритроцитів та макрофагів.

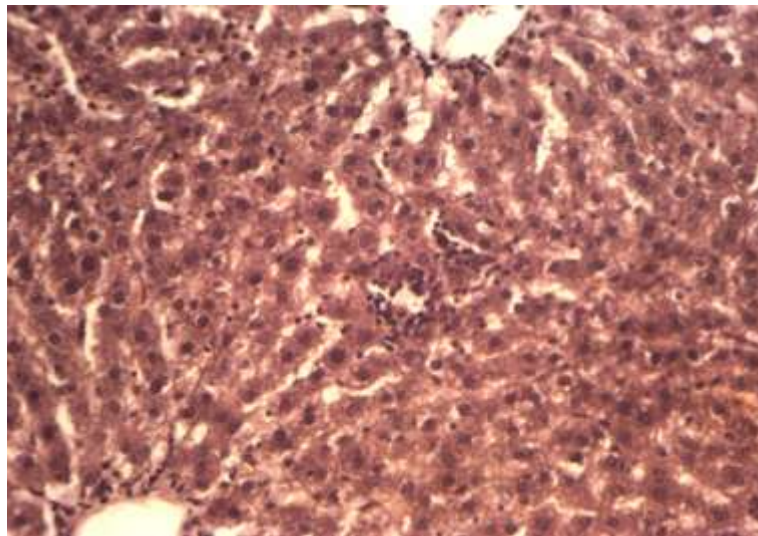


Рис. 5.2. Гістологічна структура печінкової часточки тварини на 3-ю добу експерименту при лікуванні екстрактом з надземної частини хрону звичайного. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$ .

Структура гепатоцитів відрізнялась від контролю лише центролобулярно. Зустрічались клітини із вираженими явищами дистрофічних змін та апоптозу. В середній третині часточки та її периферії

клітини мали звичайну форму, слабозернисту цитоплазму та чітко виражені ядра. Клітини були згруповані у балки ( рис.5.3).

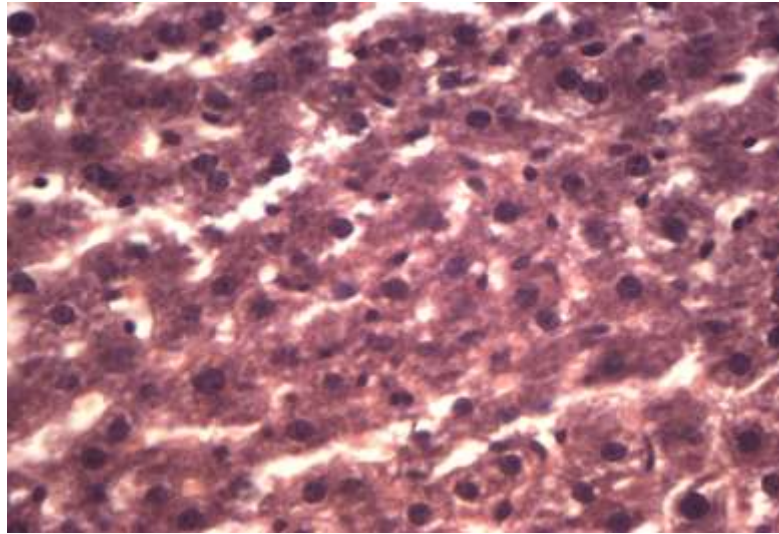


Рис. 5.3. Гістологічна структура печінкової часточки тварини на 3-ю добу експерименту при лікуванні екстрактом з надземної частини хрону звичайного. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

Судини портальних трактів розширювались мало, були вільними від еритроцитів. Лише в окремих полях зору спостерігались незначні лімфогістіоцитарні інфільтрати. Часточкові жовчні протоки частково розширювались і також інфільтрувались клітинними інфільтратами, що може свідчити про явища холестазу.

При гістологічному дослідженні тканини шлунка на 3-ю добу експерименту ми не виявили суттєвих змін зі сторони слизової оболонки, а саме: поверхневий шар епітелію мав звичайну структуру, залозистий епітелій не мав ознак гіперсекреції, просвіти залоз не розширювались і були вільними від вмісту (рис. 5.4). Базальна мембрана містила повнокровні судини, проте без ознак набряку (рис.5.5). М'язова оболонка не змінювалась.

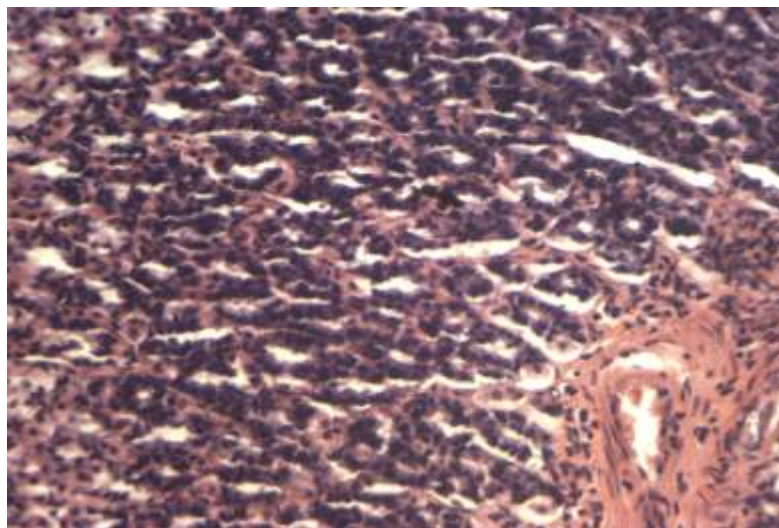


Рис. 5.4. Гістологічна структура тканини шлунка тварини на 3-ю добу експерименту при лікуванні екстрактом з надземної частини хрону звичайного. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$ .

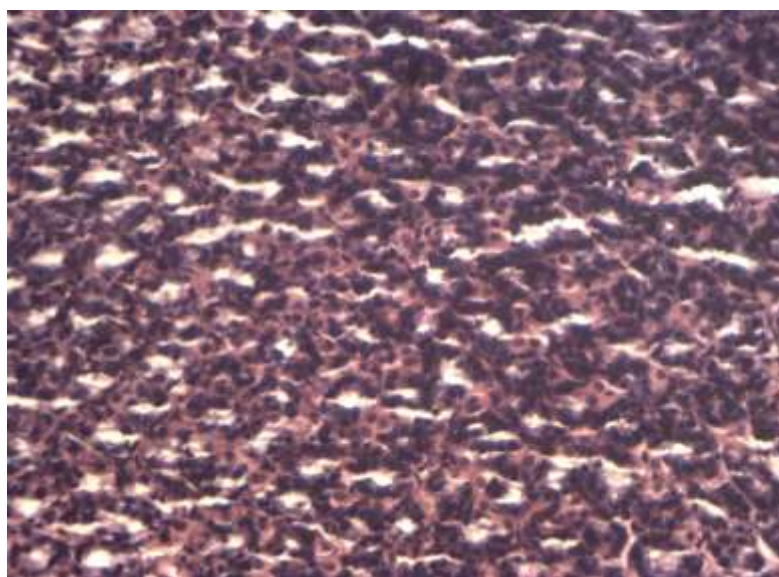


Рис. 5.5. Гістологічна структура тканини шлунка тварини на 3-ю добу експерименту при лікуванні екстрактом з надземної частини хрону звичайного. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$

На 10-у добу експерименту при застосуванні екстракту з хрону ми спостерігали, що структура печінкової часточки була збереженою. Центральні вени незначно розширювались і містили еритроцити. Синусоїдальні простори також частково розширювались, у них виявлялись поодинокі еритроцити (рис. 5.6). Структура гепатоцитів змінювалась мало,

усі клітини містили однакового розміру ядра та однорідно-зернисту цитоплазму. Балкова організація їх була збереженою. .

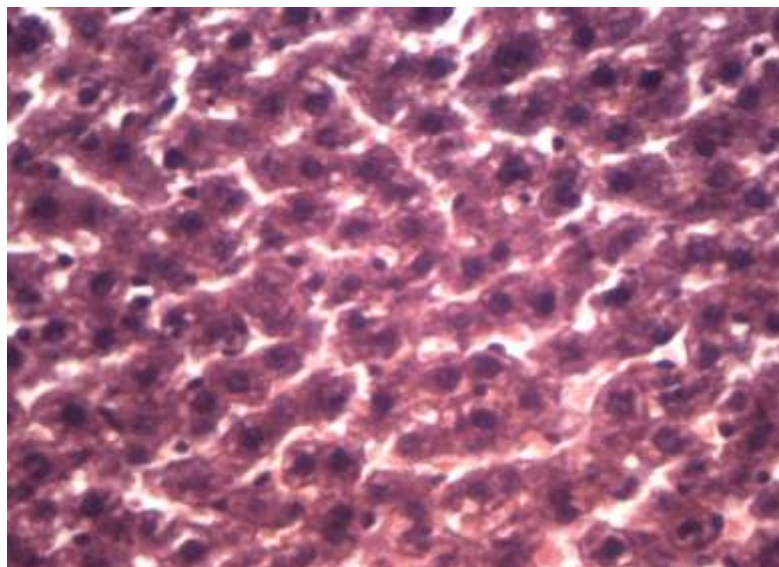


Рис. 5.6. Гістологічна структури печінки тварини на 10-у добу експерименту при лікуванні екстрактом з надземної частини хрону звичайного. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

Судини портальних трактів були частково розширеними та повнокровними, проте лімфо-гістіоцитарна лінфільтрація їх була слабо вираженою (рис. 5.7)

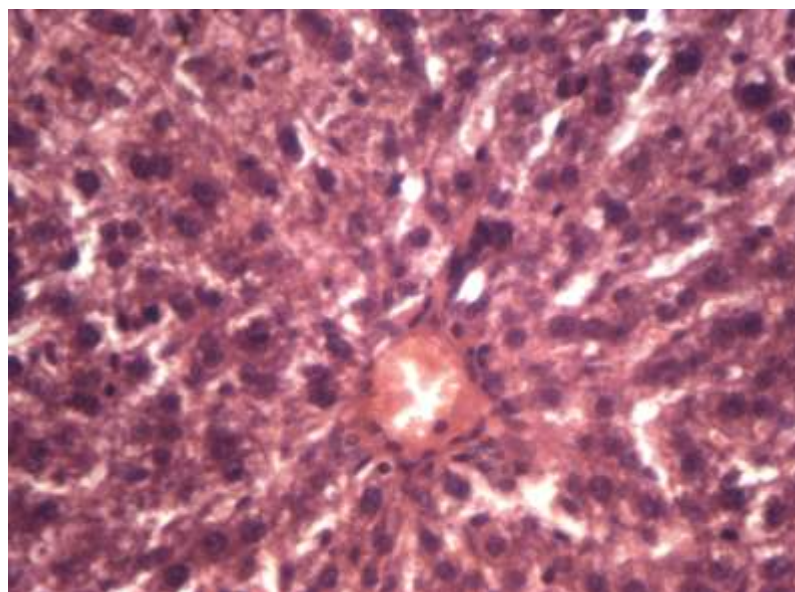


Рис. 5.7. Гістологічна структура печінки тварини на 10-у добу експерименту при лікуванні екстрактом з надземної частини хрону звичайного. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

Слизова оболонка шлунка на 10-у добу експерименту змінювалась мало. Поверхневий епітелій мав звичайну структуру, тому злуцувався у просвіт у межах фізіологічної норми. Проте ряд клітин були набухшими, що свідчило про підвищену секреторну активність (рис. 5.8, 5.9).

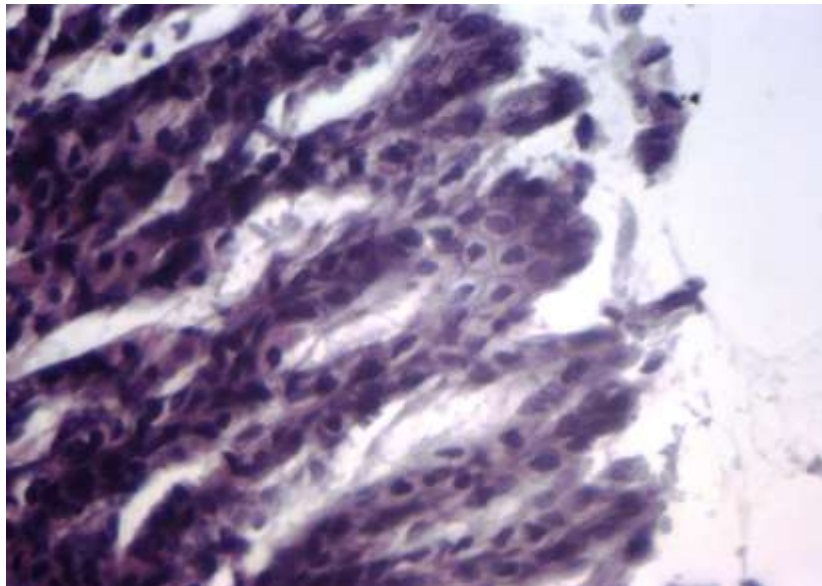


Рис. 5.8. Гістологічна структура тканини слизової оболонки шлунка тварини на 10-у добу експерименту при лікуванні екстрактом з надземної частини хрону звичайного. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

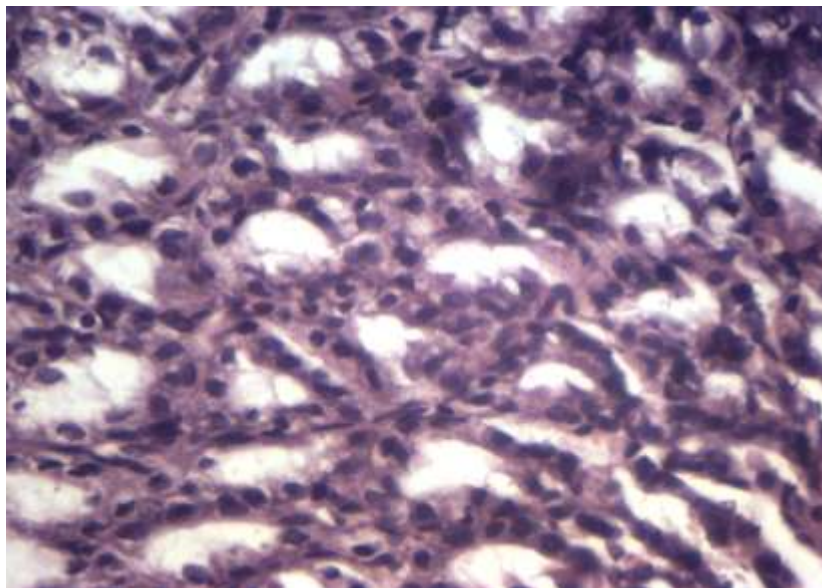


Рис. 5.9. Гістологічна структура тканини слизової оболонки шлунка тварини на 10-у добу експерименту при лікуванні екстрактом з надземної частини хрону звичайного. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

При гістологічному дослідженні структури печінки на 3-ю добу експерименту після моделювання парацетамолового гепатиту та лікування сілімарином ми спостерігали, що структура печінкової часточки була порушеною. Центральні вени помірно розширювались, містили незначну кількість еритроцитів. Синусоїди частково візуалізувались, в них спостерігались поодинокі еритроцити та макрофаги (рис. 5.10). В окремих полях зору вони значно розширювались.

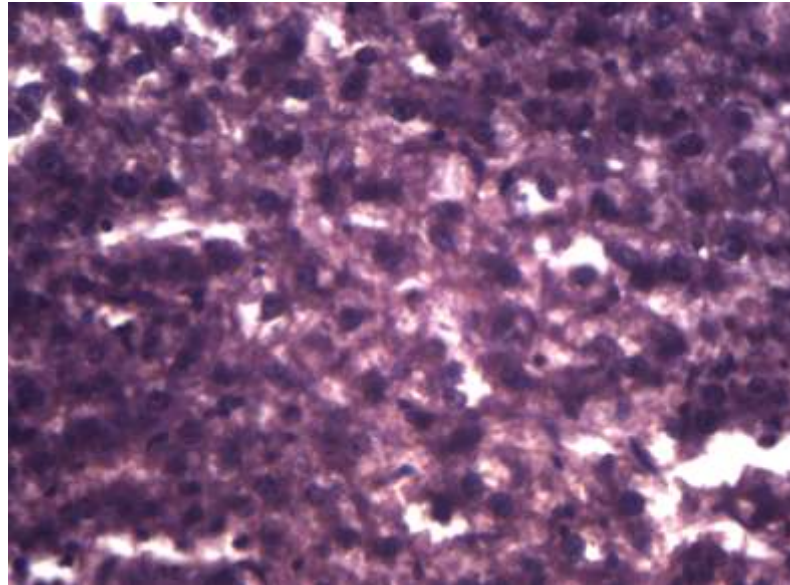


Рис. 5.10. Гістологічна структура печінкової часточки тварини на 3-ю добу експерименту при лікуванні сілімарином. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

Балкова організація гепатоцитів візуалізувалась слабо. Найменше ушкодженими були периферичні клітини. Вони мали однорідну структуру цитоплазми, та добре виражені ядра. Клітини середньої третини часточки мали різні форми та розміри, різної величини ядра, та дрібнозернисту цитоплазму, місцями із ознаками гідропічної дистрофії та вираженими некрозами, про що свідчила відсутність ядер у клітинах (рис. 5.11). Судини пери портальних трактів були помірно розширеними, не містили еритроцитів. Зустрічалась незначна лімфо-гістіоцитарна інфільтрація.

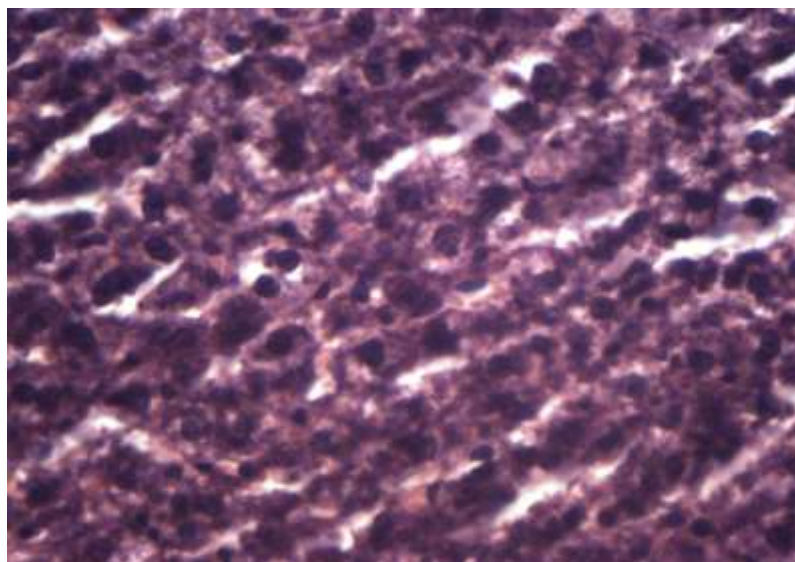


Рис. 5.11. Гістологічна структура печінкової часточки тварини на 3-ю добу експерименту при лікуванні силімарином. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

Слизова оболонка шлунка на 3-ій день від початку ураження змінювалась наступним чином: у поверхневому епітелії спостерігались явища слабо вираженої дистрофії та незначне його злушення у просвіт. Залозистий епітелій був набухлим, із ознаками гіпертрофії та підвищеної секреторної активності (рис. 5.12, 5.13), просвіти окремих залоз були розширеними.

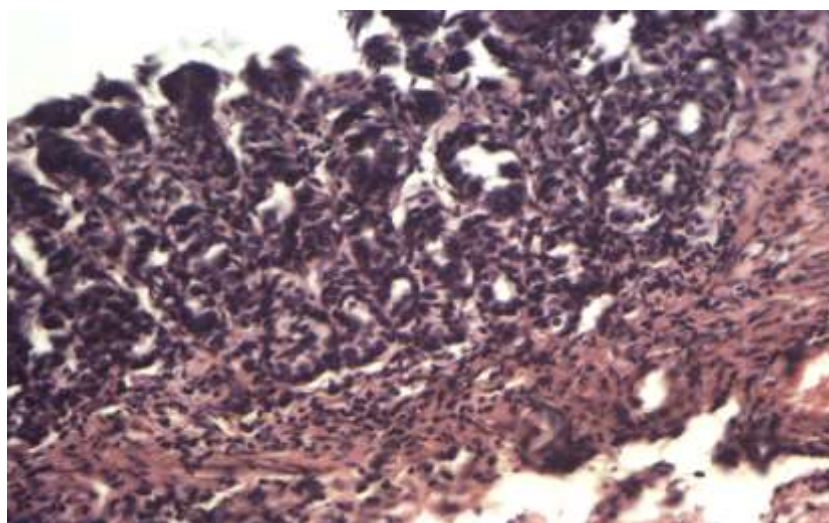


Рис. 5.12. Гістологічна структура тканини шлунка тварини на 3-ю добу експерименту при лікуванні силімарином. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$ .



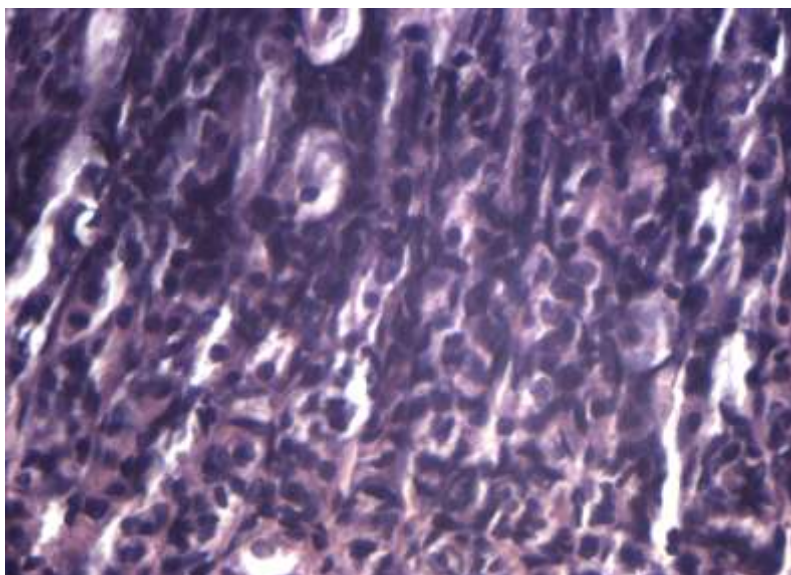


Рис. 5.13. Гістологічна структура тканини шлунка тварини на 3-ю добу експерименту при лікуванні силімарином. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

Базальна мембрана потовщувалась за рахунок розширення та повнокрів'я судин середнього калібру та вираженого периваскулярного набряку. Стромальні елементи були незначно інфільтрованими лімфо-гістіоцитарними інфільтратами.

При корекції силімарином медикаментозного ураження печінки на 10-у добу морфологічна структура печінки змінювалась наступним чином: структура печінкової часточки була збереженою частково. Центральні вени розширювались і містили помірну кількість еритроцитів. Синусоїди в окремих полях зору розширювались, а подекуди не візуалізувались, при цьому містили незначну кількість макрофагів. Структурні зміни стосувались також і гепатоцитів. На всьому протязі печінкової часточки спостерігалось переважання білкової дистрофії із розвитком некрозів клітин (рис. 5.14, 5.15). Балкова організація гепатоцитів була порушеною.

Судини портальних трактів були частково розширеними і повнокровними, пери портальні простори незначно інфільтрованими лімфо-гістіоцитарними інфільтратами.

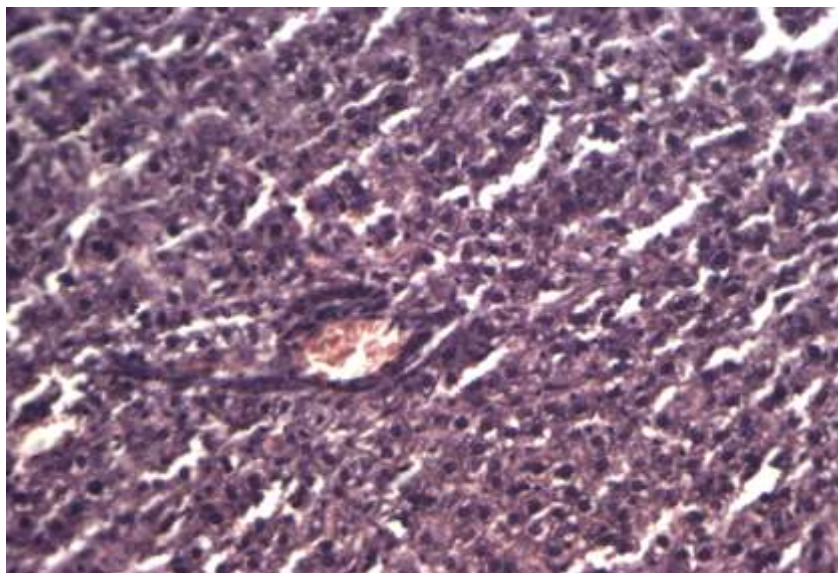


Рис. 5.14. Гістологічна структура печінки тварини на 10-у добу експерименту при лікуванні силімарином. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$ .

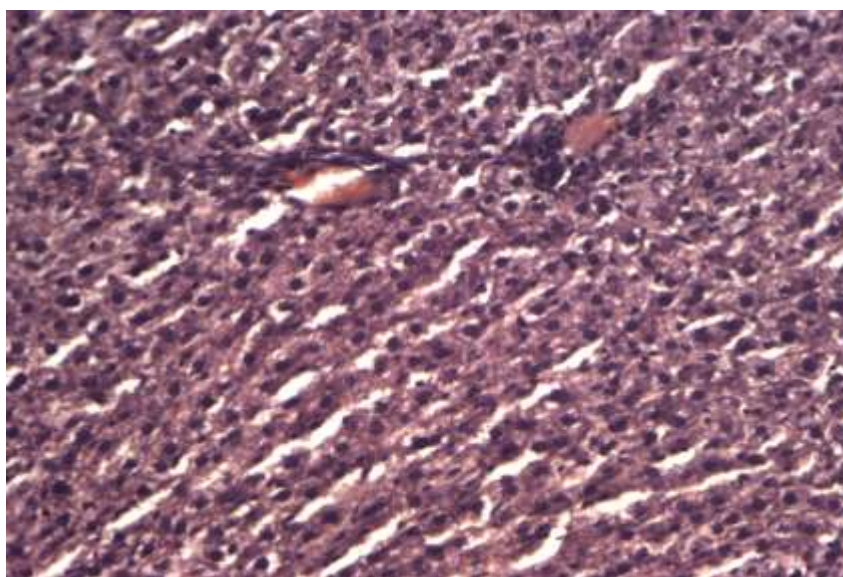


Рис. 5.15. Гістологічна структура печінки тварини на 10-у добу експерименту при лікуванні силімарином. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$ .

В слизовій оболонці шлунка спостерігались слабкі дистрофічні зміни поверхневого епітелію та часткове злушення його у просвіт. Залозистий епітелій був набухшим, з'являлись поодинокі клітини Панета та збільшувалась кількість інтраепітеліальних лімфоцитів, при цьому просвіт

залоз розширювався, що свідчило про підвищення секреторної активності (рис. 5.16). Базальна мембрана дещо потовщувалась за рахунок розширення і повнокрів'я судин та периваскулярного набряку. Мала місце помірна лімфо-гістіоцитарна інфільтрація строми (рис. 5.17).

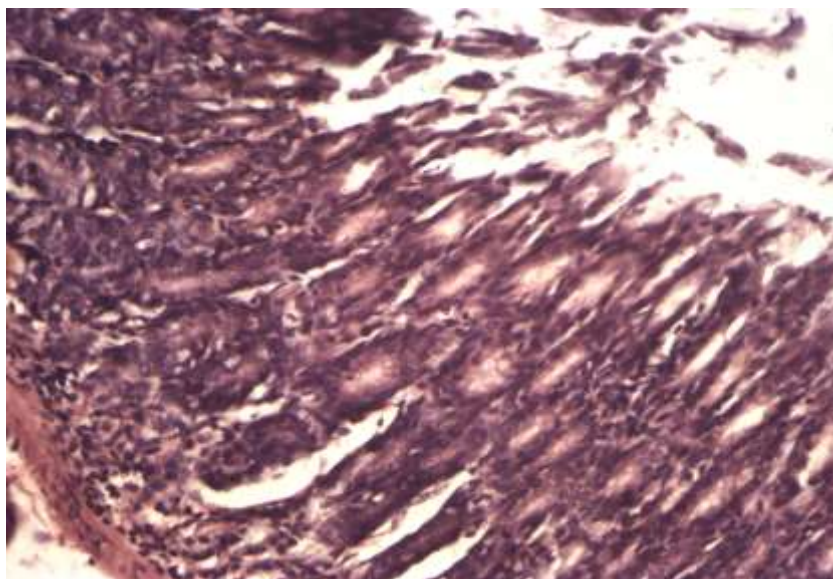


Рис. 5.16. Гістологічна структура тканини слизової оболонки шлунка тварини на 10-у добу експерименту при лікуванні силімарином. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 180$ .

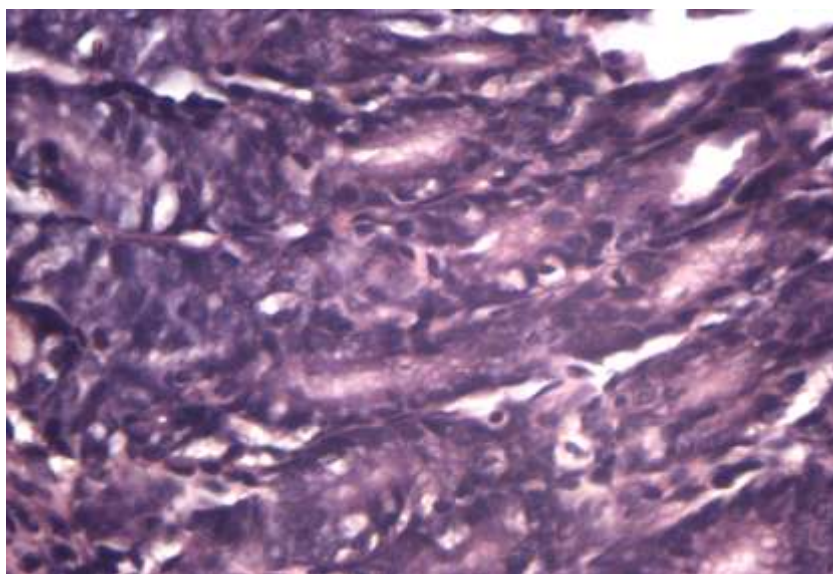


Рис. 5.17. Гістологічна структура тканини слизової оболонки шлунка тварини на 10-у добу експерименту при лікуванні силімарином. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

Після застосування лікарських форм з метою корекції виявлених порушень на 10-у добу експерименту при гістологічному аналізі досліджуваних органів найменші пошкодження тканини печінки та шлунка ми спостерігали у тварин, лікованих екстрактом з надземної частини хрону звичайного.

Наведені в розділі дані морфологічні дослідження засвідчують гепато- та мембранопротекторні властивості запропонованого нами екстракту з надземної частини хрону звичайного, що може бути використано при лікуванні медикаментозних уражень печінки.

5.5 Дослідження жовчовидільної функції печінки в умовах парацетамолового гепатиту при застосуванні екстракту з надземної частини хрону

В попередніх розділах нами показано, що ураження щурів парацетамолом призводить до порушень процесів жовчовиділення та жовчоутворення. З метою відновлення даної функції печінки необхідним було використати засоби, які б позитивно впливали на ці показники.

Полікомпонентні фітогепатопротектори (гепатопланк-планта, карсил, легелон, гепабене), які використовують для лікування захворювань печінки, проявляють антимікробні, протизапальні, спазмолітичні, жовчогінні, антиоксидантні, імуномодулюючі властивості. З погляду на це, ми використали екстракт з надземної частини хрону, що містить цілий комплекс речовин, які можуть проявити гепатопротекторний ефект різний за механізмом дії, та порівняли його властивості з відомим гепатопротектором силімарином. Дослідження проводили на щурах, уражених токсичними дозами парацетамолу.

У таблиці 5.9 наведені результати дослідження об'єму та швидкості секреції жовчі у щурів на 3-ій день після ураження парацетамолом при

використанні екстракту з надземної частини хрону звичайного та препарату порівняння силімарину.

Таблиця 5.9

**Дослідження показників жовчовидільної функції печінки на моделі ураження печінки парацетамолом після застосування коригуючих засобів ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )**

Показники	Контрольн і тварини	Уражені парацетамолом	Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	Уражені + ліковані силімарином, 50 мг/кг
Об'єм жовчі, мл/100 г	0,90±0,05	0,65±0,03*	0,86±0,04**	0,87±0,03**
Швидкість секреції жовчі, мг/хв·100 <sup>-1</sup>	4,50±0,31	2,60±0,15*	4,45±0,23**	4,40±0,18**

Після ураження парацетамолом, такі показники як швидкість секреції та об'єм жовчі у тварин з патологією вірогідно знижувались ( $p < 0,05$ ). Використання екстракту з хрону звичайного призвело до відновлення жовчовидільної функції у щурів. Швидкість секреції жовчі у таких тварин досягла рівня контрольних щурів, об'єм жовчі лише на 4 % виявився меншим від такого у контролю (рис. 5.18).

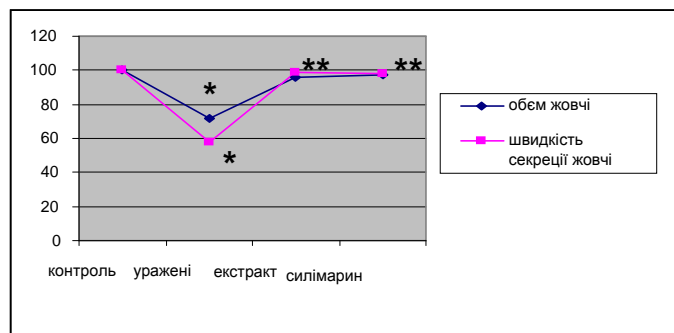


Рис. 5.18 Швидкість секреції та об'єм жовчі у щурів уражених парацетамолом після застосування коригуючих чинників, %

Препарат порівняння силімарин проявив аналогічну дію на досліджувані нами показники. Його застосування призвело до збільшення

швидкості секреції жовчі та її об'єму практично до такого ж рівня, як і при застосуванні екстракту.

Нами досліджено вміст холестеролу в жовчі та сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, після застосування екстракту та силімарину. Результати наведені в таблиці 5.10.

Таблиця 5.10

**Вміст холестеролу та жовчних кислот в сироватці крові та жовчі щурів після ураження печінки парацетамолом та застосування коригуючих засобів ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )**

Показники	Контрольні тварини	Уражені парацетамолом	Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	Уражені + ліковані силімарином, 50 мг/кг
Холестерол у жовчі, мг/100 мл	40,70±4,20	31,50±3,00	37,40±2,70	38,60±4,10
Жовчні кислоти у жовчі, мг/100 мл	856,20±72,50	840,60±82,20	924,60±85,40	952,50±76,40
Холестерол у сироватці крові, ммоль/л	1,45±0,11	2,35±0,26*	1,52±0,09**	1,48±0,10**

Введення в уражений організм екстракту з надземної частини хрону призводить до нормалізації зниженого після ураження парацетамолом вмісту холестеролу у жовчі, а вміст жовчних кислот виявився вище рівня контрольних тварин. Аналогічна тенденція при дослідженні даних показників спостерігалась при застосуванні силімарину.

Досліджувані лікарські форми проявили ефективний вплив на вміст холестеролу в сироватці крові. Після застосування екстракту з надземної частини хрону цей показник знизився у 1,5 раза в порівнянні з ураженими тваринами, а при введенні в організм силімарину - в 1,6 раза.

Таким чином, проведені дослідження дозволили виявити позитивний вплив екстракту з надземної частини хрону звичайного та препарату

порівняння силімарину на процеси жовчовиділення у тварин, уражених парацетамолом.

Наведені результати дозволяють рекомендувати подальше вивчення екстракту з надземної частини хрону звичайного для використання при токсичних ураженнях печінки як гепатопротекторного засобу, одним з механізмів реалізації яких є відновлення жовчовидільної функції печінки.

**5.6 Дослідження знешкоджувальної функції печінки в умовах парацетамолового ураження після використання коригуючих засобів**

У розділі 3 нами показано, що пригнічення дезінтоксикаційної функції печінки є результатом впливу парацетамолу на мікосомальні ферменти гепатоцитів, які беруть участь у біотрансформації токсичних сполук.

Ми дослідили вплив екстракту з надземної частини хрону звичайного на тривалість гексеналового сну в порівнянні з впливом на детоксикуючу функцію печінки силімарину (табл. 5.11).

*Таблиця 5.11*

**Тривалість гексеналового сну ( хв) у щурів, лікованих екстрактом з надземної частини хрону після ураження парацетамолом (M±m, n=4)**

Показники	Контрольні тварини	Уражені парацетамолом	Уражені + ліковані екстрактом, 150 мг/кг	Уражені + ліковані силімарином, 50 мг/кг
Тривалість гексеналового сну, хв	46,0±3,7	73,0±4,2*	58,0±3,9**	60,0±3,0

Відмічено, що введення екстракту з надземної частини хрону призводить до вірогідного скорочення ( $p < 0,05$ ) тривалості гексеналового сну. Це вказує на відновлення активності мікосомальних монооксигеназ, і як наслідок, активації детоксикаційної функції печінки. Силімарин виявив менш ефективний вплив на даний показник.

Для підтвердження позитивного впливу на знешкоджувальну функцію печінки досліджуваного екстракту нами вивчена деметилазна та гідроксилазна активність мікосомальної системи. Результати наведені у табл. 5.12.

Таблиця 5.12

**Деметилазна та гідроксилазна активність (нмоль/мг білка) печінки щурів при ураженні парацетамолом та після застосування екстракту з хрону та силімарину ( $M \pm m$ ;  $n=5$ )**

Групи тварин	Деметилазна активність		Гідроксилазна активність	
	Строки дослідження, доби			
	3-я	10-а	3-я	10-а
Контрольні	4,30±0,20		0,60±0,03	
Уражені парацетамолом	2,80±0,10*	3,50±0,16*	0,40±0,015*	0,52±0,020*
Уражені + екстракт, 150 мг/кг	3,40±0,15**	3,90±0,14**	0,45±0,017	0,57±0,015**
Уражені + силімарин, 50 мг/кг	3,40±0,13**	3,60±0,15	0,43±0,013	0,55±0,020

Уже на 3-ю добу від початку введення парацетамолу ми спостерігали позитивний вплив екстракту з хрону та силімарину на деметилазну активність, яка 14 % перевищувала рівень в уражених тварин у обидвох випадках. На 10-ий день дослідження більш ефективним виявилось застосування екстракту і деметилазна активність у печінці лікованих щурів становила 91 % від рівня контрольних тварин. При застосуванні силімарину деметилазна активність виявилась на рівні 84 % відносно контролю (рис. 5.19).

Позитивний вплив використані нами коригуючі чинники проявили на гідроксилазну активність. На 10-ий день після розвитку медикаментозного гепатиту активність досліджуваного ферменту була практично на одному



рівні після використання як екстракту, так і силімарину і лише на 6-7 % була нижчою від активності у контрольних тварин.

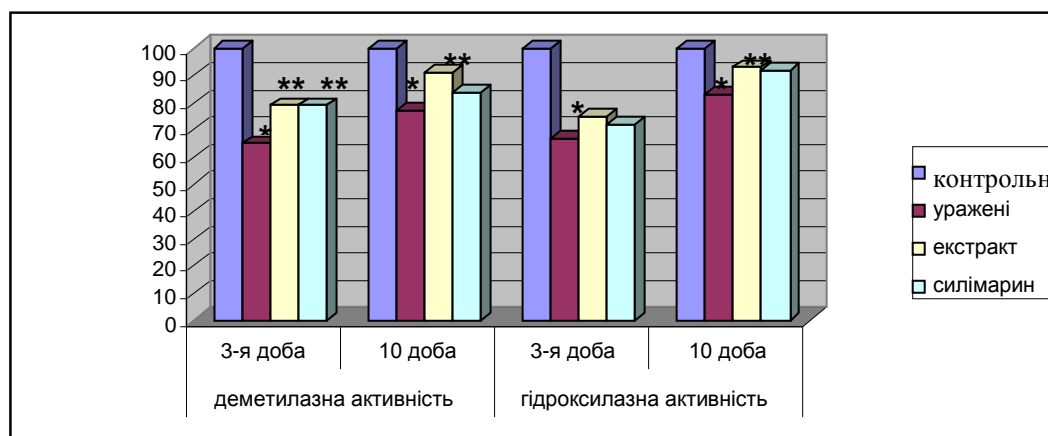


Рис. 5.19. Деметилазна та гідроксилазна активність печінки щурів в умовах парацетамолового ураження після використання коригуючих чинників, %

Отже, досліджуваний нами екстракт суттєво підвищував систему детоксикації печінки та захищав гепатоцити від ушкодження вільними радикалами, підтвердженням чому є дані, наведені в цьому розділі [31]. Ефективним було застосування відомого гепатопротектора силімарину, проте на деякі показники більш ефективний вплив проявив екстракт з надземної частини хрону, що робить доцільним його застосування за умов парацетамолового ураження печінки.

Результати досліджень, отримані в даному розділі, дали можливість зробити наступні висновки:

1. В експерименті на білих щурах, уражених парацетамолом, доведена антиоксидантна активність екстракту з надземної частини хрону, що проявляється зниженням процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків, підвищенням активності ендогенної антиоксидантної системи організму.

2. Вивчена та експериментально підтверджена гепатопротекторна активність екстракту з надземної частини хрону, введення якого в уражений

організм супроводжувалось зниженням активності амінотрансфераз та лужної фосфатази, а також відновленням жовчовидільної та знешкоджувальної функцій печінки.

3. З'ясовано мембранопротекторні властивості екстракту з надземної частини хрону, що проявилось зниженням проникності цитоплазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів.

4. Ефективність застосування екстракту з надземної частини хрону за умов парацетамолового гепатиту підтверджена морфологічними дослідженнями печінки та шлунка щурів.

За результатами проведених досліджень опубліковані наступні наукові праці:

1. Вашкеба Е. М. Використання екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту / Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький // Мед. хімія. – 2011. – № 1. – С. 39 – 43.

2. Вашкеба Е. М. Дослідження знешкоджувальної функції печінки за умов парацетамолового її ураження та корекції екстрактом з хрину звичайного / Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький // Здобутки експерим. та клін. медицини. – 2011. – № 2. – С. 28 – 30.

3. Вашкеба Е. М. Вивчення гепатозахисних властивостей екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту // Матеріали науково-практичних конференцій студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів. – Суми, 21-22 квітня 2011 р. – С. 69.

4. Вашкеба Евеліна. Вивчення жовчегінної активності екстракту з листя хрину звичайного в умовах парацетамолового гепатиту / Евеліна Вашкеба, Петро Лихацький, Людмила Фіра. // Мат. 4-ї науково-практичної конференції з міжнародною участю "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" – Тернопіль, 2011. – С. 169.

## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Безперервно зростаючий потік даних про гепатотоксичну дію багатьох лікарських препаратів свідчить про те, що медикаментозні ураження печінки є однією з важливіших проблем сучасної гепатології. Гострі лікарські ураження печінки здатні викликати приблизно 1000 препаратів, понад 200 з яких є гепатотоксичними. В європейських країнах і США гострі гепатотоксичні реакції на фармацевтичні засоби є основною причиною трансплантації печінки [124, 136].

Останнім часом усе частіше зустрічається медикаментозне ураження печінки, що є наслідком застосування антибіотиків, серцевосудинних, психотропних та нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП), більшість з яких виявляють цитотоксичний ефект відносно гепатоцитів. До найважливіших загальних механізмів, які є основою цитотоксичної дії препаратів, належать: порушення енергетичного обміну і гомеостазу внутрішньоклітинного кальцію, активація вільнорадикальних процесів та відповідне пошкодження клітинних мембран, розлади процесів синтезу білка і клітинного поділу [100, 124].

Медикаментозні ураження печінки припускають патологічні зміни органу, що викликаються різними лікарськими речовинами. Сучасний моніторинг гепатотоксичної дії лікарських препаратів показав, що не існує таких ліків, які за певних умов не спричиняють ураження печінки. Найчастіше терапевти і гастроентерологи зустрічаються з лікарським гепатитом, що виникає внаслідок токсичного впливу на печінку різних медикаментів. До групи гепатотоксичних препаратів, застосування яких призводить до медикаментозного ураження печінки більш ніж у 40 % пацієнтів, належать протитуберкульозні (ізоніазид, рифампіцин), протигрибкові препарати (кетоконазол, інтраконазол), нестероїдні

протизапальні засоби (ібупрофен, парацетамол, індометацин) та інші [12, 163, 199, 220, 222].

Патофізіологічні механізми медикаментозної гепатотоксичності досі не достатньо вивчені і характеризуються як гепатоцелюлярними, так і позаклітинними змінами. До відомих форм ушкодження печінки можна віднести руйнування гепатоцитів і транспортних білків, цитолітичну активацію Т-клітин, апоптоз гепатоцитів, розпад мітохондрій, ураження жовчних протоків.

Найбільш частою причиною хімічних ушкоджень печінки є лікарські засоби, серед яких вирізняється парацетамол [12, 169, 171, 217, 232].

Парацетамол широко використовується як анальгетичний та антипіретичний засіб і є відносно безпечним при прийомі в терапевтичних дозах. Разом з тим, не лише передозування його, але й застосування при ряді захворювань (гострі та хронічні ураження печінки, низький за вмістом білків раціон, вживання алкоголю) здатні викликати некрози печінки людини та тварин. Гепатотоксична дія парацетамолу проявляється в утворенні реактивного метаболіту N-ацетил-p-бензохінонімін (NAPXI), який утворюється із залученням цитохромів P-450 і ковалентно зв'язується з сульфгідрильними групами білків та глутатіону переважно в центролобулярних зонах печінки. Оскільки детоксикація NAPXI здійснюється за допомогою реакцій хімічної та ферментативної кон'югації з глутатіоном, при передозуванні парацетамолу рівень його в печінці зменшується. Це, в свою чергу, може призвести до порушення антиоксидантного статусу організму та активації окиснення і переокиснення біосубстратів печінки, що мало б посилити токсичну дію NAPXI [185, 188].

Ще один механізм токсичної дії ксенобіотиків пов'язаний з утворенням реакційноздатних метаболітів. Багато ферментних систем здатні перетворювати молекулу токсину в активні ацетильні, алкільні або арильні метаболіти, які ковалентно зв'язуються з критичними для гепатоцита макромолекулами [185]. Так, цитохром P-450-залежне окиснення

ксенобіотиків типу бромбензолу або парацетамолу веде до утворення електрофільних інтермедіатів, здатних утворювати ковалентні аддукти з тіоловними мембранними білками, які регулюють гомеостаз кальцію. Зростання вмісту внутрішньоклітинного кальцію може стати причиною загибелі клітин.

Серед механізмів розвитку лікарського ураження печінки важливе значення мають процеси перекисного окиснення ліпідів, денатурація білків, виснаження запасів АТФ, порушення функцій мітохондрій, утворення вільних радикалів, гаптенів. Лікарський препарат може зв'язуватися з ядерними та цитоплазматичними молекулами, блокувати транспортну РНК, зв'язуватися з мембранними рецепторами, руйнувати клітинний цитоскелет та індукувати рецептори, апоптоз через ФНП-а, активувати внутрішньоклітинний каспаз [103, 231].

Окиснювальний стрес, який виникає внаслідок потрапляння в організм парацетамолу, призводить до нагромадження активних форм кисню. Останні можуть з'являтися як побічний продукт каталітичного циклу реакцій, що каталізуються цитохромом Р-450, синтетазою оксиду азоту, NADPH-редуктазою та іншими ферментами, або внаслідок участі семіхінонних метаболітів ксенобіотиків в реакціях одноелектронного переносу з киснем, або внаслідок активації макрофагів, які є потужними продуцентами вільнорадикальних форм кисню [214, 229].

Однією із актуальних проблем клінічної медицини в напрямку лікування токсичних медикаментозних гепатитів є розробка та впровадження нових лікарських засобів, бажано рослинного походження.

Важливим у лікуванні медикаментозної гепатотоксичності є призначення гепатопротекторів. Це препарати, дія яких спрямована на відновлення гомеостазу в печінці, підвищення стійкості гепатоцитів до дії патогенних факторів, нормалізацію функціональної активності та стимуляцію репаративно-регенеративних процесів в органі.

Сучасні медичні препарати дають швидкий, стабільний ефект і дозволяють справитися з багатьма захворюваннями. В той час хімічні ліки мають масу побічних дій, інколи тяжчих, ніж саме захворювання. Вони дають швидкий ефект при гострих станах, але при хронічних захворюваннях швидше отруюють організм, ніж лікують його. Альтернатива – лікуватися з допомогою фітотерапії, яка пропонує препарати виключно на природній основі.

Сьогодні лікування рослинними засобами знову набирає популярності. Фітотерапія практично не має побічних ефектів і вважається більш "бережливою" для організму, ніж медикаментозне лікування. У той же час, помітний позитивний ефект при лікуванні фітопрепаратами з'являється повільніше, але зберігається довше. Відповідно, лікуватися з допомогою лікарських рослин потрібно довше, ніж з допомогою медикаментів [158, 160].

Виходячи з вищенаведеного, нашу увагу привернув хрін звичайний, як одна з рослин, яка містить цілий комплекс діючих речовин. Наявність практично у всіх органах хрону звичайного біологічно активних речовин зумовлює широке використання його в народній медицині.

Хрін з давніх пір використовується в народній медицині як протизапальний, фітонцидний, протимікробний засіб, джерело вітамінів і мікроелементів. Медикам і біологам добре знайома пероксидаза, що міститься у верхньому шарі кореня хрону і в його шкірці [1, 102]. Вона широко застосовується в діагностиці при біохімічному дослідженні компонентів крові та сечі; в експрес-тестах на СНІД, є найсильнішим імуномодулятором, відновлює функції імунної системи. На основі пероксидази хрону розробляються перспективні електрохімічні біосенсиори.

Виходячи з вищенаведеного, метою роботи було дослідження гепатопротекторних властивостей екстракту з надземної частини хрону звичайного на моделі токсичного ураження печінки парацетамолом.

В основу даної роботи покладені дослідження патогенезу токсичного ураження печінки парацетамолом та спроба корекції виявлених порушень за

допомогою екстракту з надземної частини хрону звичайного та порівняння його ефективності з відомим гепатопротектором силімарином.

В літературі є достатньо повідомлень про токсичні ураження печінки, але ряд питань з механізмів пошкодження гепатоцитів залишилися невиясненими, а способи профілактики та лікування медикаментозних ушкоджень печінки недостатні.

Парацетамол належить до лікарських засобів з гепатотропною дією. Особливості молекулярних механізмів його дії на субклітинні мембрани гепатоцитів (ПОЛ, енергетичне забезпечення клітини, стан ендогенної антиоксидантної системи) дозволяють використовувати інтоксикацію цим препаратом як модель молекулярної патології мембранних структур.

Багато авторів при вивченні молекулярних механізмів пошкодження гепатоцитів, що розвивається за патології печінки, значну увагу надають стану ПОЛ мембран та його ролі в порушенні активності мембранозв'язаних ферментів [214].

Результати наших досліджень показали, що при ураженні парацетамолом відбувається активація процесів перекисного окиснення ліпідів, яка триває протягом 10 діб. На 3-ій та 10-ий день після ураження щурів парацетамолом вірогідно збільшується вміст ТБК-АП в сироватці крові ( $p < 0,05$ ). Аналогічно нами відмічено збільшення продуктів ліпопероксидації в печінці уражених парацетамолом тварин, вміст яких в 2,5 рази перевищував рівень контрольних тварин протягом всього експерименту.

Відомо, що раннім індикатором пошкодження клітин за умов вільнорадикального окиснення є окисна модифікація білків (ОМБ). Вважають, що ОМБ відіграє ключову роль у молекулярних механізмах оксидативного стресу і є пусковим механізмом до окиснювальної деструкції інших молекул, наприклад, ліпідів і нуклеїнових кислот [2, 63].

Поряд з активацією процесів ліпопероксидації ми відмітили інтенсифікацію процесів окиснювальної модифікації білків. Встановлено, що

в сироватці крові та печінці щурів, уражених парацетамолом, збільшується вміст 2,4-динітрофенілгідразонів як основного, так і нейтрального характеру, причому в сироватці крові це збільшення виявилось вірогідним ( $p < 0,05$ ) протягом вього терміну дослідження. У печінці уражених парацетамолом тварин вірогідного збільшення зазнав вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру та спостерігалась тенденція до підвищення вмісту 2,4-ДНФГ основного характеру.

При співставленні показників ліпопероксидації з показниками ОМБ спостерігалася аналогічна спрямованість їх змін: максимальній активності ПОЛ (ТБК-АП) відповідав найвищий вміст модифікованих білкових молекул. Це свідчить про взаємозв'язок і взаємообумовленість двох процесів (ПОЛ та ОМБ) в розвитку патологічних станів та вимагає відповідних методів корекції.

Таким чином, ми підтвердили факт активації вільнорадикальних процесів в організмі щурів, які отримували парацетамол в дозі 1250 мг/кг маси тіла, протягом 10 днів. Вірогідно, що активація вільнорадикальних реакцій у печінці й сироватці крові є наслідком прооксидного ефекту використаного нами токсичного чинника. Інтенсифікація процесів перекисного окиснення ліпідів та окиснювальної модифікації білків призвела до нагромадження токсичних продуктів метаболізму парацетамолу в печінці щурів, які є цитотоксичними і викликають порушення структури та зміни проникності мембран гепатоцитів. Потрапляння в організм парацетамолу призводить до посиленого утворення активних форм кисню, що активують процеси ПОЛ та призводять до модифікації мембранних білків. Це викликає зменшення рідинних властивостей мембран, мембранного потенціалу, збільшення проникності мембрани для різних іонів. Наслідком цього може бути вихід внутрішньоклітинних компонентів у кров. З іншого боку, утворені в процесі ПОЛ гідроперекиси та продукти їх розпаду – цитотоксичні.

Токсичне ураження печінки парацетамолом обумовлено дією метаболіта на головні ферментні системи в гепатоцелюлярній тканині.



Активність основних ферментів АлАТ та АсАТ характеризує стан катаболізму білкових структур гепатоцитів. Внаслідок деструкції та зміни проникності плазматичних мембран гепатоцитів підвищується активність амінотрансфераз у сироватці крові уражених парацетамолом тварин.

Підвищення активності цитоплазматичних амінотрансфераз відображає процеси мобілізації амінокислот та утворення субстратів для глюконеогенезу, що активується при стресі, викликаному введенням ксенобіотиків в організм.

Нами відмічено зростання активності АлАТ в 1,7 раза, активності АсАТ – в 1,3 раза на 3-ю добу дослідження, на 10-у добу від початку експерименту активність АлАТ збільшилась в 1,9 раза, АсАТ – в 1,4 раза.

Аналогічна тенденція до підвищення спостерігалась після ураження щурів парацетамолом для лужної фосфатази: її активність як на 3-ю, так і на 10-у доби перевищувала в 1,5 раза таку в контрольних тварин.

Встановлене нами підвищення органоспецифічних ферментів в крові є підтвердженням зміни проникності та цитолізу гепатоцитів [78], на що вказує зниження їх активності у печінці в досліджувані терміни. Причому, найбільшого зниження зазнала АлАТ, яка є маркером пошкодження клітин саме печінки.

Крім цитолізу гепатоцитів, ми відмітили ушкодження еритроцитарних мембран після потрапляння до організму тварин токсичної дози парацетамолу. Встановлено, що після ураження тварин даним препаратом підвищується відсоток проникнення мембрани еритроцитів, на що вказує підвищення еритроцитарного індексу інтоксикації як на 3-ю, так і через 10 діб від початку експерименту.

Таким чином, ураження щурів парацетамолом призводить до деструкції ліпідних та білкових компонентів мембран гепатоцитів, що зумовлює зміну їх проникності та вихід внутрішньоклітинних компонентів печінки у кров. Значна кількість утворених токсичних продуктів чинить

негативний вплив на мембрани еритроцитів, на що вказує підвищення відсотку їх проникності.

Для нормального функціонування та життєдіяльності організму вільнорадикальні реакції повинні підтримуватися на певному постійному рівні за рахунок узгодженої дії ензимів антиоксидантної системи.

Відомо, що антиоксидантна система захисту організму контролює і гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій. Нами досліджено ферментативну ланку антиоксидантної системи – активність СОД, каталази та вміст церулоплазміну, а також один з компонентів глутатіонової системи, який відносять до неферментативної ланки – відновлений глутатіон.

Найпотужнішим природним антиоксидантом і ферментом першої ланки антирадикального захисту є СОД, яка володіє супероксиддисмутазною активністю. Тому показники активності цього ферменту характеризують глибину тканинного ураження та порушення метаболізму, зумовлених оксидативним стресом [184, 214]. Зниження активності даного ферменту в сироватці крові, можливо, пов'язано з тим, що парацетамол індукує вільнорадикальне окиснення, яке може змінювати конформацію апоферменту шляхом зв'язування сульфгідрильних груп та окиснювальної модифікації активного центру холоферменту [154]. Отримані нами дані свідчать про значне зниження активності ферменту на 3-ю та 10-му доби дослідження після введення парацетамолу. Причому, це зниження було практично на одному рівні в обидва терміни дослідження.

За умов отруєння тварин хімічними токсинами заслугоували особливої уваги дослідження в сироватці крові мідьвмісного білка церулоплазміну, якому притаманні ферментативні антиоксидантні властивості. Відомо, що церулоплазмін синтезується мембранозв'язаними полісомами гепатоцитів та бере участь у різних важливих фізіологічних процесах: транспорті та утилізації міді в організмі [9], тісно пов'язаний із СОД. Цей фермент є пасткою ОН-радикалів і вступає в реакцію знешкодження їх у більш ранні терміни розвитку процесів

вільнорадикального окиснення. В обидва терміни дослідження ми спостерігали підвищення вмісту ЦП в сироватці крові після ураження тварин парацетамолом – у 1,5 рази в порівнянні з контролем на 3-ту добу розвитку гепатиту, на 10-у добу він перевищував рівень контрольних тварин у 1,7 рази.

Важливим при характеристиці антиоксидантної системи є співвідношення змін показників СОД та ЦП у крові уражених тварин. Однак СОД є інтра-, а ЦП екстрацелюлярним ферментом. Так, на тлі зниження активності СОД у крові спостерігалось значне підвищення рівня ЦП, що, можливо, обумовлено компенсаторно-захисною реакцією організму. Таким чином, в організмі існує рівновага між компонентами антиоксидантного захисту: зниження активності або вмісту одного викликає посилення синтезу іншого.

До ферментативної АОС клітини належить каталаза, яка знешкоджує пероксид водню. Даний фермент розщеплює продукт супероксиддисмутазної реакції – пероксид водню до води та кисню [9]. Отруєння парацетамолом призвело до зниження активності каталази як в сироватці крові щурів, так і в печінці. Ймовірно, це є наслідком цитолітичних процесів, що відбуваються при захворюваннях гепатобіліарної системи. На 10-у добу дослідження активність каталази в сироватці крові була нижчою від контролю на 26 % . У печінці уражених тварин відмічено, що як на 3-ю, так і на 10-у доби експерименту спостерігалось зниження активності каталази порівняно з контрольними тваринами. У всіх випадках це зниження виявилось вірогідним. Відомо, що при хімічному ураженні печінки порушується її білоксинтезуюча функція. Останнє викликало пригнічення синтезу каталази в цьому органі після ураження. Отримані нами дані узгоджуються з літературними даними [125]. Зниження активності каталази в сироватці крові може бути наслідком ушкодження еритроцитарної мембрани, так як відомо, що каталаза міститься, в основному в еритроцитах та гепатоцитах [9].

Важливою ланкою захисту клітини від переокиснення є глутатіонова система, яка включає ферменти глутатіонредуктазу та глутатіонпероксидазу,

а також неферментативний комплекс – відновлений глутатіон. Гостре отруєння щурів парацетамолом викликало зниження вмісту відновленого глутатіону в сироватці крові та печінці щурів.

У літературі є повідомлення, де вказується, що за умов токсичного гепатиту проходить порушення синтезу коферментів глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази, а також зниження вмісту відновленого глутатіону внаслідок деструктивної дії ксенобіотиків на мембрани ендоплазматичної сітки та рибосоми [194].

Токсичні ксенобіотики здатні утворювати високореакційні метаболіти біотрансформації, пошкоджувальна дія яких на гепатоцити визначається фізіологічними факторами, що змінюють активність мікросомального окиснення, а також супутнім потраплянням в організм хімічних речовин – індукторів та інгібіторів монооксигеназ. До найінформативніших параметрів дезінтоксикаційної функції печінки належать показники активності деметилази та гідроксилази [95]. Проведені нами дослідження цих двох ферментів у мікросомах гепатоцитів за умов отруєння тварин парацетамолом показали, що активність їх різко знижується в обидва досліджувані строки – 3-я та 10-а доби. Очевидно, це може бути наслідком пригнічення функціонування ферментної системи змішаних монооксигеназ мікросом гепатоцитів.

Щодо механізму пригнічувального ефекту ксенобіотиків на функціонування детоксикаційної системи, то, можливо, він є наслідком надмірної активації реакцій ПОЛ на тлі змін у функціональній активності антиоксидантної системи. Під впливом проміжних та кінцевих продуктів ПОЛ та ОМБ можуть окиснюватись сульфгідрильні групи ферментів мітохондріального окиснення, модифікуватись гемові угруповання цитохрому P-450, що перетворює його в неактивну форму. Крім того, у функціонуванні ланцюгів транспорту електронів важливу роль відіграє фосфоліпідний компонент мембран ендоплазматичної сітки. Від його фізико-хімічного стану залежить не тільки проникнення субстратів мікросомального

окиснення через мембрану, а і їх зв'язування з активним центром цитохрому Р-450, просторове розміщення ферментів монооксигеназної системи, швидкість транспорту електронів [31]. Звідси зрозуміло, що навіть найменше руйнування мікросомальних мембран у процесі перекисного окиснення викликає значну інактивацію мембранозв'язаних ензимів.

Зниження деметилазної та гідроксилазної активності за умов ураження парацетамолом може залежати не тільки від порушень каталітичної активності мембранозв'язаних ферментів монооксигеназ, а й від зниження кількості ферментних молекул та порушення біогенезу мембран внаслідок загальних змін у системі білкового синтезу [76].

Механізми пригнічувального ефекту на детоксикаційну функцію печінки можуть бути наслідком зменшення вмісту в гепатоцитах піримідинових нуклеотидів, активації ПОЛ, пригнічення процесів білкового синтезу та прямої дії токсинів, зокрема парацетамолу на цитохром Р-450.

Щодо можливого механізму негативного ефекту парацетамолу на процеси мікросомального окиснення, то в першу чергу, це є наслідком порушення під впливом токсинів процесів транскрипції та трансляції в гепатоцитах. Вірогідно, що проходить пригнічення синтезу ферментів мікросомального окиснення, а одночасно інгібується синтез ферментів цитратного циклу та дихального ланцюга. Крім того, активація реакцій ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків викликає зниження активності досліджуваних нами ферментів. Збільшення токсичних продуктів ПОЛ призводить до утворення детергентних лізоформ фосфоліпідів, що локалізовані в мембранах, та зумовлює втрату ферментами своєї каталітичної активності.

Для підтвердження пригнічення детоксикаційної функції ми дослідили тривалість гексеналового сну . Встановлено, що через 24 год після введення гепатотоксину час біотрансформації гексеналу в печінці (тривалість сну) був на 27 хв тривалішим, ніж у щурів контрольної групи.

Ураження організму тварин парацетамолом призводить до структурно-функціональних розладів печінки, що характеризуються порушенням жовчовидільної функції, а саме об'ємом та швидкістю секреції жовчі.

Названі показники у тварин з даною патологією достовірно знижувались ( $p < 0,05$ ). На 3-ю добу після ураження об'єм жовчі зменшився в 1,4 раза, а швидкість її секреції – в 1,7 раза, що може вказувати на порушення процесів утворення жовчі, пов'язаних з цитолітичним синдромом у печінці в умовах парацетамолового отруєння.

Відомо, що жовчні кислоти синтезуються з холестеролу і є регуляторами зовнішньосекреторної функції печінки. Порушення обміну холестеролу і утворення ЖК, поряд із зниженням транспортної здатності мембран гепатоцитів, є однією із причин порушення процесів жовчоутворення і жовчовиділення [16].

При вивченні вмісту холестеролу ми відмітили зменшення його на 33 % у жовчі та підвищення на 62 % у сироватці крові, що може бути однією з причин розвитку холестазу. Підвищення вмісту холестеролу в крові, ймовірно, є компенсаторною реакцією на активацію процесів ПОЛ за умов ураження парацетамолом.

Відмічене нами зниження вмісту жовчних кислот у жовчі уражених тварин підтверджує порушення жовчоутворювальної та жовчовидільної функції печінки.

Узагальнюючи дані літератури та отримані нами результати, можна запропонувати патогенетичну схему парацетамолового ураження тварин, яка наведена нижче (рис. 6.1).

Таким чином, підводячи підсумок із схеми розвитку парацетамолового токсикозу, можна стверджувати, що первинною реакцією на потрапляння його в організм є активація вільнорадикальних окиснювальних процесів, які в наступному призводять до розвитку окиснювального стресу та змін у захисних системах організму.

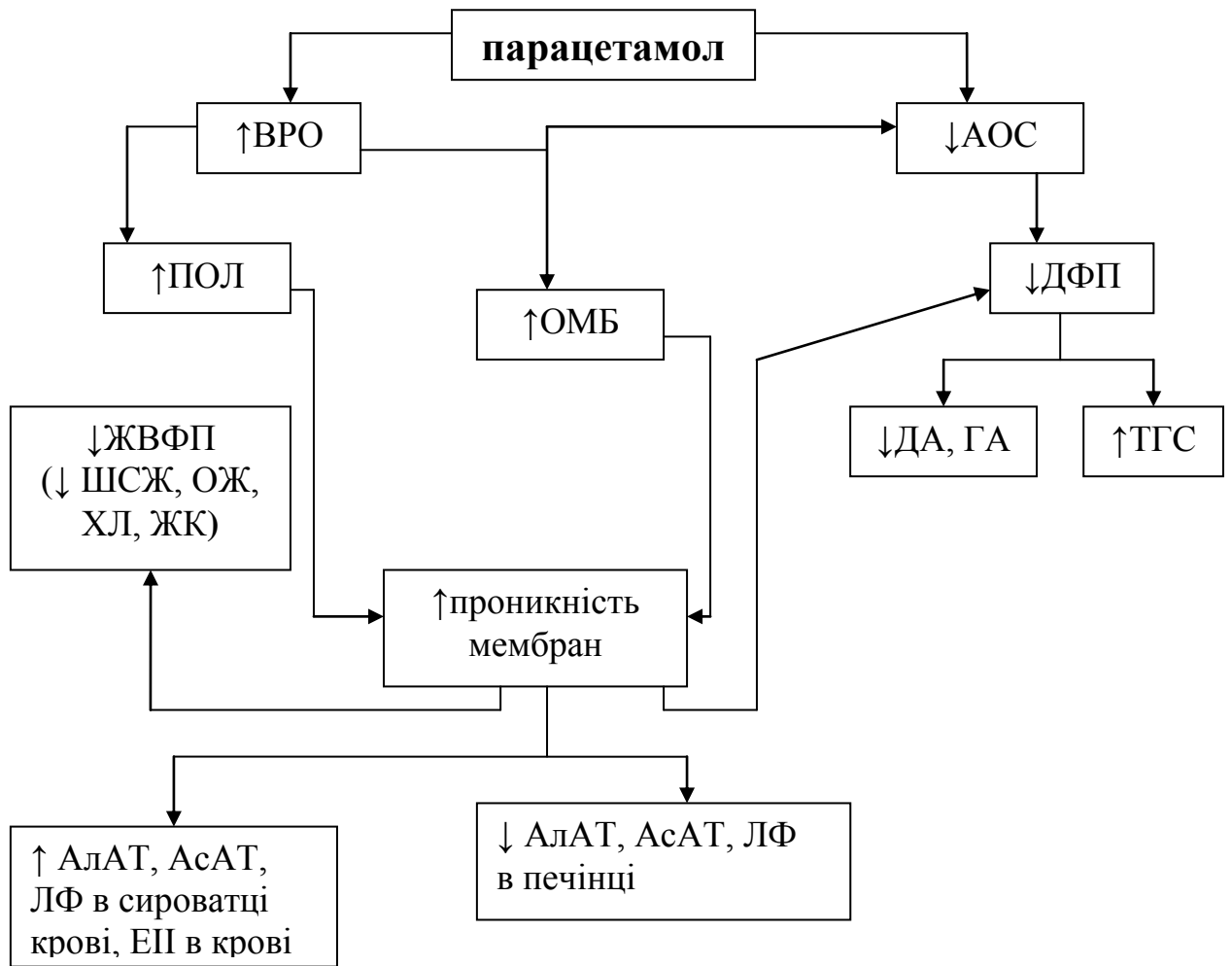


Рис. 6.1. Патогенетична схема парацетамолового ураження щурів

Виходячи з отриманих результатів та розуміння механізмів розвитку метаболічних порушень в організмі тварин, уражених парацетамолом, виникла проблема їх корекції. Як видно з вищенаведеної схеми, одним з ключових механізмів розвитку порушень в ураженому організмі є активація процесів ВРО та пригнічення системи антиоксидного захисту. Зрозумілим стає використання середників, які б пригнічували активовані процеси ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків. Для цього використовують антиоксиданти та гепатопротектори синтетичного та рослинного походження [17, 91,47].

Нашу увагу привернув хрін звичайний, а зокрема його надземна частина. Попередньо проведені дослідження показали, що в надземній частині хрону звичайного знаходиться значна кількість речовин, які можуть

проявляти антиокиснювальні властивості. Це дозволило нам провести подальші дослідження та створити на її основі лікарський засіб, зокрема екстракт. Екстракт був виготовлений за сприяння Тернопільської фармацевтичної фабрики "Тернофарм".

Обов'язковою характеристикою лікарського засобу є вивчення його токсичності на різних видах тварин або на одному виді різної статі. Це і стало наступним нашим завданням – вивчити гостру токсичність екстракту з надземної частини хрону звичайного. Одержані результати дозволили класифікувати досліджуваний екстракт за ступенем токсичності і віднести його до групи "відносно нешкідливих" при одноразовому внутрішньошлунковому введенні ( $LD_{50} > 15000$ ), що відповідає класифікації речовин за ступенем токсичності, запропонованій К.К.Сидоровим.

Обов'язковою умовою при доклінічному вивченні нових лікарських засобів, призначених для перорального застосування, є дослідження їх впливу на стан слизової оболонки шлунка. Проведені дослідження на щурах свідчили про відсутність для екстракту з надземної частини хрону звичайного ульцерогенної дії та шкідливого впливу на стан слизової шлунка. Результати підтверджені морфологічними дослідженнями, які вказали на відсутність ульцерогенної дії даної лікарської форми.

Для дослідження антиоксидантних та гепатопротекторних властивостей екстракту необхідно було підібрати його мінімально діючу дозу в умовах токсичного ураження печінки. Для цього ми використали модель парацетамолового отруєння щурів.

Для дослідження обрали дози екстракту 100 мг/кг, 150 мг/кг та 200 мг/кг маси тіла тварин. В даній серії експерименту вивчали розвиток процесів ліпопероксидації в уражених тварин та стан ферментативної ланки антиоксидантного захисту через 2 доби після потрапляння до організму парацетамолу.

На 3-ю добу з моменту ураження активуються процеси перекисного окиснення ліпідів, про що свідчить збільшення в сироватці крові та печінці



щурів ТБК-активних продуктів. Відмічено зростання вмісту даного показника у сироватці крові в 2,4 раза, у печінці уражених тварин - в 2,5 раза.

Після введення в уражений парацетамолом організм екстракту з надземної частини хрону в дозах 100 мг/кг, 150 мг/кг та 200 мг/кг для корекції окиснювальних процесів, ми відмітили позитивний вплив останніх двох доз на даний показник в досліджуваних тканинах. Вміст продуктів ліпопероксидації при застосуванні дози 150 мг/кг маси тіла знижувався у сироватці крові на 90 %, у печінці - на 53 % ( $p < 0,05$ ).

В уражених тварин активність каталази в сироватці крові знизилась на 31 % на третю добу після введення препарату в організм, вміст відновленого глутатіону знизився на 25 %. Аналогічна тенденція до зниження активності цих ферментів відмічалась і в печінці тварин через 48 годин від початку експерименту.

Вірогідно підвищилась активність каталази та вміст відновленого глутатіону в сироватці крові вже після застосування дози 150 мг/кг.

У досліджуваний нами термін після отруєння щурів парацетамолом ми відмітили зростання активності АлАТ у 1,7 раза, АсАТ – у 1,3 раза в сироватці крові. У печінці спостерігалось незначне зниження активності цих ферментів – в обидвох випадках в 1,2 раза. Ефективний вплив на дані ензими проявили дози екстракту 150 мг/кг та 200 мг/кг маси тіла. При введенні 150 мг/кг екстракту до ураженого організму активність АлАТ у сироватці крові знизилась на 40 %, у печінці підвищилась на 11 %. Дослідження активності АсАТ після застосування екстракту показало її зниження на 22 % у сироватці крові і підвищення на 10 % у печінці щурів в порівнянні з ураженими тваринами.

Таким чином, нами встановлена мінімально діюча доза екстракту з надземної частини хрону – 150 мг/кг маси тіла тварин. Введення цієї дози викликало нормалізацію показників ПОЛ, антиоксидатної системи та активності амінотрансфераз.

Проведені дослідження дозволили припустити, що екстракту з надземної частини хрону в дозі 150 мг/кг маси тіла притаманні антиоксидантні та гепатопротекторні властивості, які проявляються відновленням проникності плазматичних мембран гепатоцитів. У подальших наших дослідженнях ми використовували саме цю дозу з метою вивчення її коригуючого впливу на організм в умовах медикаментозного та токсичного гепатитів.

Нами був проведений експеримент для виявлення алергенних та місцевоподразнювальних ефектів екстракту з хрону. В досліді на морських свинках, яким протягом 10 днів вводили 10 % екстракт і на 14-ий день закапували дослідний засіб під верхню повіку ока, доведена відсутність алергенної дії для даної лікарської форми. Ознак запальної реакції, набряку нами виявлено не було.

Результати наших спостережень показали, що внесення в кон'юнктивальний мішок ока кролика 1-ї краплі екстракту з надземної частини хрону звичайного не викликало реакції з боку слизової оболонки ока в усі періоди спостереження (протягом 24 год від початку аплікації). Це довело відсутність місцевоподразнювальних властивостей екстракту і підтвердило, що досліджуваний препарат не проявляє іритативної дії при контакті зі слизовою ока кролика.

З літератури відомо, що в складі хрону звичайного є речовини, які проявляють протизапальний та антимікробний ефекти. Сік із коренів хрону використовують для знезараження ран, завдяки присутності в ньому дизоїну. В коренях хрону міститься лізоцим, який має здатність розчиняти клітинну стінку бактерій, чим проявляється антибактеріальний та протизапальний ефекти цієї рослини [1].

На моделі карагенінового набряку лапи щурів ми дослідили протизапальну активність екстракту з надземної частини хрону. Спостереження проводили протягом 24 годин. У групі тварин, які отримували екстракт з листя хрону в дозі 150 мг/кг маси тіла вже на 1-й

годині від початку запалення спостерігався максимальний коригуючий ефект, який тривав протягом всього експерименту.

Результати проведених досліджень засвідчили виразний протизапальний ефект екстракту з надземної частини хрону звичайного, який може бути обумовлений пригніченням синтезу простагландинів у вогнищі запалення.

Вивчення антимікробної дії екстракту з хрону проводили на шести видах мікроорганізмів (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Salmonella enterica*), які мають різні біологічні властивості (морфологію, будову, ступінь патогенності, відношення до різних біотопів).

Отримані результати підтвердили бактеріостатичну дію екстракту з надземної частини хрону відносно *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Salmonella enterica*.

Таким чином, ми довели, що екстракту з хрону притаманні, в основному, бактеріостатичні властивості, які можуть бути використані при створенні нових лікарських засобів та застосовуватися в практичній медицині при лікуванні захворювань, викликаних мікроорганізмами.

У подальших дослідженнях для встановлення антиоксидантних та гепатопротекторних властивостей БАР з надземної частини хрону звичайного на моделі парацетамолового ураження тварин, ми використовували спиртовий екстракт. Мінімально діючою дозою, встановленою на моделі парацетамолового ураження на 3-ій день, виявилась доза 150 мг/кг маси тіла. Для порівняння вибрали антиоксидант, виготовлений з росторопші плямистої – силімарин. Силімарин використовували в дозі 50 мг/кг (виходячи із середньотерапевтичної дози на добу для людини).

Результати проведених досліджень показали, що ураження тварин парацетамолом призводить до активації процесів вільнорадикального окиснення, що підтверджується підвищенням у сироватці крові та печінці

вмісту ТБК-активних продуктів. Наші дані узгоджуються з результатами досліджень, в яких показано, що парацетамол активує процеси ліпопероксидації в організмі уражених тварин [143, 144, 145]. Показано, що активність процесів ПОЛ протягом 10 днів знаходиться практично на одному рівні (на 3-ю добу вміст ТБК-АП збільшується у 2,4 раза, на 10-у – у 2,2 раза у сироватці крові).

Аналогічна тенденція до збільшення спостерігалась у печінці уражених тварин. Застосування екстракту з надземної частини хрону призвело до нормалізації вмісту продуктів ліпопероксидації в обидвох досліджуваних органах, причому ефективність використаного нами засобу проявилась уже на початку експерименту (на 3-ю добу).

Відомо, що розвиток вільнорадикальних реакцій супроводжується не тільки активацією процесів ПОЛ, а й викликає порушення структури білкових компонентів, що підтверджується збільшенням продуктів окисної модифікації білків [63].

Ми відмітили підвищення вмісту продуктів ОМБ у сироватці крові та печінці тварин після парацетамолового отруєння. Введення екстракту з хрону призвело до достовірного зниження цього показника в ураженому організмі, до кінця експерименту він виявився на рівні контрольних тварин. Силімарин проявив позитивний вплив на вміст 2,4-ДНФГ тільки на початкових стадіях розвитку медикаментозного гепатиту.

Таким чином, використання екстракту з надземної частини хрону проявило позитивний ефект на окиснювальні процеси в організмі тварин за умов парацетамолового ураження, що підтверджує його антиоксидантні властивості, які можуть бути зумовлені наявністю значного вмісту в екстракті фенольних сполук, каротиноїдів, вітаміну С та пероксидази.

Активация вільнорадикальних процесів в організмі є причиною пошкодження мембранних та інших ліпопротеїнів, пригнічення та інактивації антиоксидантних ферментів, функціонально пов'язаних із неферментативною антиоксидантною системою.

Про пригнічення активності антиоксидантної системи свідчить зниження активності каталази ( в 1,4 раза) та вмісту відновленого глутатіону (в 1,3 раза) в сироватці крові уже на 3-ій день розвитку медикаментозного гепатиту.

При введенні в уражений організм екстракту з надземної частини хрону спостерігалось підвищення активності каталази та вмісту відновленого глутатіону (на 18 % в обидвох випадках) в сироватці крові щурів на початку дослідження, які вірогідно підвищувались протягом всього експерименту.

При порівнянні впливу препарату силімарин на показники антиоксидантної системи, можна сказати що дослідний екстракт був ефективнішим порівняно з відомим гепатопротектором.

Нами відмічено зниження активності антиоксидантних показників у печінці уражених парацетамолом тварин. Очевидно, це пов'язано з гепатотропністю парацетамолу та його пошкоджувальною дією на білоксинтетичні процеси у печінці. Після застосування екстракту активність каталази знаходилась майже на рівні контролю протягом всіх термінів дослідження. Аналогічна тенденція до збільшення спостерігалась при вивченні вмісту відновленого глутатіону, досліджуваний нами екстракт наблизив цей показник до рівня контрольних тварин. При порівнянні ефективності застосування екстракту з силімарином, досліджуваний засіб проявив більш ефективний вплив на показники антиоксидантної системи у печінці.

Отримані дані свідчать про виражену антиоксидантну активність екстракту з надземної частини хрону звичайного, що робить його перспективним у напрямку створення нових антиоксидантних препаратів.

Розвиток вільнорадикальних процесів в ураженому парацетамолом організмі призводить до нагромадження значної кількості недоокиснених продуктів, які чинять токсичний вплив на плазматичні та цитоплазматичні мембрани гепатоцитів. В результаті відбуваються порушення в їх структурі та зміна проникності, що викликає потрапляння внутрішньоклітинних

компонентів у кров. Підтвердженням цьому є підвищення активності амінотрансфераз у сироватці крові після ураження парацетамолом. Аналогічна тенденція до підвищення спостерігалась після ураження парацетамолом для лужної фосфатази. Введення в уражений організм екстракту з надземної частини хрону звичайного та силімарину призвело до зниження даних показників, проте до кінця експерименту ефективність досліджуваного екстракту на 4 % перевищувала ефективність силімарину.

У печінці уражених тварин ми відмітили достовірне зниження активності лужної фосфатази, яка поступово нормалізувалась до кінця експерименту після введення екстракту з хрону та силімарину.

Проведені дослідження підтвердили позитивний вплив екстракту з надземної частини хрону на проникність плазматичних мембран гепатоцитів в організмі тварин за умов парацетамолового ураження, що підтверджується нормалізацією активності мембранозалежних ферментів – амінотрансфераз та лужної фосфатази. Це свідчить про відновлення структури гепатоцитів та вказує на мембранопротекторні властивості даної лікарської форми.

Для підтвердження ефективності застосування екстракту з надземної частини хрону ми провели морфологічне вивчення органів тварин, уражених парацетамолом. Для досліджень ми обрали печінку, враховуючи гепатотропність парацетамолу, та шлунок, так як екстракт ми застосовували інтрагастрально.

Нами відмічено дистрофічно-некротичні зміни епітелію та пошкодження структури епітеліальних компонентів в органах тварин, яким моделювали парацетамолове ураження печінки. Результати наших експериментів узгоджуються з дослідженнями, які підтверджують порушення проникності та цитоліз гепатоцитів за парацетамолового ураження [110, 111, 112, 113].

Після застосування лікарських форм при морфологічному аналізі досліджуваних органів найменші пошкодження тканини печінки та шлунка ми спостерігали у тварин, лікованих екстрактом з надземної частини хрону

звичайного. Використання силімарину проявило позитивний вплив на структурну організацію клітин печінки та шлунка, але в порівнянні з досліджуваним нами екстрактом, він виявився менш ефективним. Це дозволяє рекомендувати нам екстракт з надземної частини хрону звичайного до використання як антиоксидантного, гепатопротекторного та мембранопротекторного засобу.

Після проведених досліджень виявилось необхідним підтвердити гепатопротекторний ефект досліджуваного екстракту. Для цього була вивчена жовчовидільна функція печінки. Токсичний медикаментозний гепатит, викликаний парацетамолом, супроводжувався вираженим порушенням жовчовидільної функції печінки у щурів, що підтверджується зменшенням об'єму жовчі та швидкості її секреції в уражених тварин. Використаний нами екстракт призвів до нормалізації показників жовчовиділення в отруєних щурів.

Позитивний вплив проявив екстракт з хрону на вміст холестеролу – знизив його вміст у сироватці крові та викликав збільшення у жовчі. Аналогічна тенденція відмічена при дослідженні жовчних кислот – після застосування екстракту їх вміст у жовчі підвищився порівняно з ураженими тваринами.

Очевидно, відновлення процесів жовчоутворення та жовчовиділення в уражених парацетамолом тварин, є одним із механізмів прояву гепатопротекторної активності екстракту з надземної частини хрону.

Важливою функцією печінки є участь її в процесах біотрансформації ксенобіотиків, знешкодження токсичних сполук за участю мікосомальних монооксигеназ. Про активність останніх судять за тривалістю гексеналового сну у тварин.

Ми відмітили, що через 24 год після останнього введення парацетамолу час біотрансформації гексеналу в печінці (тривалість сну) був на 27 хв довшим, ніж у контрольних щурів. Введення екстракту з надземної частини

хрону призводило до достовірного скорочення тривалості гексеналового сну, що вказує на відновлення детоксикаційної функції печінки.

Отже, проведені нами дослідження, в яких вивчався вплив екстракту з хрону на вільнорадикальні процеси та стан антиоксидантної системи організму тварин за умов ураження парацетамолом показали, що дана субстанція здатна інгібувати активовані процеси ПОЛ та ОМБ, а також ефективно нормалізувати показники ферментативної та неферментативної антиоксидантної системи. В основі такого впливу екстракту може бути його конкуренція з ендogenous антиоксидантами за вільні радикали. В результаті цього останні зберігаються в активній формі. Як наслідок, відбувається стабілізація структури та функцій біомембран, що призводить до нормалізації вільнорадикальних процесів та активації синтетичних процесів у гепатоцитах.

Отримані дані дозволяють стверджувати, що екстракт з хрону проявляє нормалізуючий вплив на окиснювальні процеси в організмі уражених тварин, стабілізуючий вплив на плазматичні та цитоплазматичні мембрани, позитивний вплив на антиоксидантну систему. Все це засвідчує, що середнику притаманні гепатопротекторні властивості.

Враховуючи, що за умов парацетамолового токсикозу першочергова роль належить розвитку вільнорадикальних процесів, токсичні продукти яких викликають деструкцію біомембран та нагромадження ендogenous токсинів в організмі, можна вважати, що запропонований нами середник, буде запобігати розвитку деструктивних процесів, покращить функціональний стан антиоксидантної системи. Все це призведе до нормалізації гомеостазу всього організму.

У даній роботі вивчено вплив токсичної дози парацетамолу на організм тварин. Відмічено, що після ураження щурів парацетамолом, протягом десяти днів проходить активація процесів вільнорадикального окиснення та нагромадження активних форм кисню, які посилюють процеси перекисного окиснення ліпідів та окиснювальну модифікацію білків.



Утворені токсичні продукти викликають деструкцію біомембран, що зумовлює вихід внутрішньоклітинних компонентів у кров. При цьому активуються кислі гідролази, які викликають деградацію білкових та ліпідних компонентів. В організмі нагромаджуються вторинні ендogenous токсини. Ендogenous інтоксикація зумовлює зміни в антиоксидантній системі захисту, зокрема знижується активність ферментативної антиоксидантної системи і зазнає змін неферментна глутатіонова система.

Нами виявлені зміни в мікросомальній монооксигеназній системі, зокрема зниження деметилазної та гідроксилазної активності печінки, що призводить до пригнічення процесів знешкодження ксенобіотиків за допомогою цитохрому Р-450 та нагромадження проміжних токсичних метаболітів. Дані порушення викликають тяжку інтоксикацію організму, яка потребує додаткового введення коригуючих чинників.

Отже, враховуючи дані літератури та отримані нами результати, можна запропонувати подальше дослідження екстракту з надземної частини хрону з метою використання для корекції метаболічних порушень, викликаних парацетамолом, та включити його в комплексну терапію за умов медикаментозного ураження печінки.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та комплексне вирішення актуального наукового завдання щодо патогенезу токсичного ураження печінки парацетамолом та досліджено вплив екстракту з надземної частини хрону на метаболічні порушення за даної патології, проведено вивчення антиоксидантних, гепато- та мембранопротекторних, властивостей цього коригуючого чинника. Отримані результати дозволили зробити наступні висновки:

1. Парацетамол в дозі 1250 мг/кг викликає активацію процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації білків, на що вказує достовірне ( $p < 0,05$ ) підвищення вмісту ТБК-активних продуктів та 2,4-динітрофенілгідразонів у сироватці крові та печінці на 3-ю та 10-у доби з моменту введення. Вміст продуктів ліпопероксидації на 10-у добу збільшується у сироватці крові в 2,2 раза, у печінці в 2,4 раза. Активність антиоксидантної системи в цей період пригнічується, про що свідчить зниження активності каталази (на 26 %), супероксиддисмутази (на 28 %) та вмісту відновленого глутатіону (на 24 %) у сироватці крові та достовірне зниження цих показників у печінці щурів.

2. Ураження печінки парацетамолом викликає пригнічення швидкості секреції жовчі на 3-ю добу від початку дії препарату (в 1,7 раза,  $p < 0,05$ ) та її об'єму (в 1,4 раза,  $p < 0,05$ ), зниження вмісту холестеролу в печінці (на 23 %,  $p < 0,05$ ) та підвищення – в сироватці крові (на 62 %,  $p < 0,05$ ), пригнічення детоксикаційної функції печінки, що підтверджується збільшенням тривалості гексеналового сну на 27 хв, пригніченням деметилазної та гідроксилазної активності системи мікросомального окиснення.

3. Нагромадження токсичних продуктів при ураженні печінки парацетамолом викликає розвиток ендогенної інтоксикації, що підтверджується достовірним ( $p < 0,05$ ) зростанням еритроцитарного індексу інтоксикації, збільшенням проникності мембран гепатоцитів, на що вказує

підвищення активності аланінамінотрансферази (на 92 %,  $p < 0,05$ ) та лужної фосфатази (на 52 %,  $p < 0,05$ ) у сироватці крові, зниження – в печінці (у 1,3 та 1,2 раза відповідно,  $p < 0,05$ ) на 10-ий день після введення парацетамолу.

4. Екстракт з надземної частини хрону проявляє антиоксидантні властивості, що в умовах ураження печінки парацетамолом підтверджується нижчим, ніж за відсутньої корекції, вмістом ТБК-активних продуктів в сироватці крові та продуктів окиснювальної модифікації білків, вищою активністю каталази (в 1,3 раза,  $p < 0,05$ ) та вмісту відновленого глутатіону (на 20 %,  $p < 0,05$ ) на 10-у добу розвитку гепатиту.

5. Екстракту з надземної частини хрону притаманна мембрано- та гепато-протекторна властивості. Про мембранопротекторну властивість свідчить менша, ніж без його застосування, активність амінотрансфераз та лужної фосфатази в сироватці крові щурів з ушкодженою парацетамолом печінкою, а про гепатопротекторну – нормалізація процесів жовчовиділення та відновлення детоксикаційної функції печінки.

6. При ураженні печінки парацетамолом в дозі 1250 мг/кг спостерігається структурна дезорганізація часточкової будови та дистрофічно-некротичні зміни гепатоцитів, лімфо-гістіоцитарна інфільтрація та гострі розлади коровообігу. Доведена ефективність застосування екстракту з надземної частини хрону, що підтверджено відновленням балкової організації гепатоцитів, різким зниженням дистрофічних змін та зменшенням периваскулярної лімфо-гістіоцитарної інфільтрації в перипортальних трактах.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Александрова Е. Ю. Фитохимическое изучение хрена обыкновенного : дис. ... канд. хим. наук : 15.00.02 / Е. Ю. Александрова. – М., 2004. – 131 с.
2. Арчаков А. И. Модификация белков активным кислородом и их распад / А. И. Арчаков, И. М. Михосоев // Биохимия. – 1998. – Т. 54, № 2. – С. 179-186.
3. Бабак О. Я. Лекарственные поражения печени: вопросы теории и практики / О. Я. Бабак // Ліки України. – 2008. – Т. 118, № 2. – С. 96-101.
4. Бабак О. Я. Современные представления о лекарственно-индуцированном поражении печени / О. Я. Бабак // Здоров'я України. – 2007. – № 20/1. – С. 34-36.
5. Барабой В. А. Биоантиоксиданты / В. А. Барабой. – К. : Книга плюс, 2006. – 462 с.
6. Батаков Е. А. Влияние масла расторопши и легалона на перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы печени крыс при отравлении четыреххлористым углеродом / Е. А. Батаков // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – № 4. – С. 53-55.
7. Бережной В. В. Использование суспензии нимегезика и парацетамола у детей при острых респираторных заболеваниях, сопровождающихся лихорадкой / В. В. Бережной, Н. К. Унич, В. А. Королева [и др.] // Новости медицины и фармации. – 2002. – № 2. – С. 43.
8. Бєленічев І. Ф. Антиоксиданти: сучасні уявлення, перспективи створення / І. Ф. Бєленічев, С. І. Коваленко, В. В. Дунаєв // Ліки. – 2002. – № 1-2. – С. 43-47.
9. Бєленічев І. Ф. Антиоксидантна система захисту організму (огляд) / І. Ф. Бєленічев, Є. Л. Левицький, Ю. І. Губський // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 3. – С. 24-29.

10. Беленічев І. Ф. Антиоксиданти: сучасне уявлення, перспективи створення / І. Ф. Беленічев, С. І. Коваленко, В. В. Дунаєв // Ліки.– 2002. – № 1. – С. 25–30.
11. Біологічна хімія: Лабораторний практикум / Я. І. Гонський, Н. П. Саюк, Л. М. Рубіна [та ін.]; під ред. Я. І. Гонського. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2001. – 288 с.
12. Блажиевская Г. И. Гепатотоксическое действие парацетамола у крыс с различной исходной активностью ферментов метаболизирующих ксенобиотики / Г. М. Блажиевская, А. П. Андреев, С. А. Качула [и др.] // Вісник Вінницького медичного університету. – 1997. – № 1. – С. 4-6.
13. Блюгер А. Ф. Исследование основных патогенетических линий пораженных клеток печени в условиях клинической и экспериментальной патологии и подходы к регуляции и купированию этих процессов / А. Ф. Блюгер, А. Я. Майоре // Успехи гепатологии : сб. науч. статей / под ред. А. Ф. Блюгера. – Рига, 1982. – Вып. 10. – С. 12–34.
14. Блюгер А. Ф. Моделирование патологических процессов в печени / А. Ф. Блюгер, О. Я. Карташева // Экспериментальная патология печени : сб статей / А. Ф. Блюгер, отв. ред. – Рига : Зинатне, 1983. – С. 7-16.
15. Богомолов П. О. Коррекция печеночной энцефалопатии: патофизиологические основы применения пребиотиков / П. О. Богомолов, А. В. Петраков, О. С. Кузьмина // Трудный пациент. – 2006. – № 7. – С. 37-40.
16. Болезни печени и желчевыводящих путей : руководство для врачей / под ред. В. Т. Ивашкина. – М. : М-Вести, 2002. – 416 с.
17. Большакова И. В. Антиоксидантные свойства растительных экстрактов / И. В. Большакова, Е. Л. Лозовская, И. И. Сапежинский // Биофизика. – 1998. – № 2. – С. 186-188.
18. Большая энциклопедия лекарственных растений / Г. А. Непокойчицкий, Е. М. Казина, Г. В. Балакирев [и др.]. – М. : Изд. дом АНС, 2006. – С. 328-331.

19. Буеверов А. О. Лекарственные поражения печени / А. О. Буеверов // Российский медицинский журнал. – 2001. – Т. 9, № 13-14. – С. 608-610.
20. Буеверов А. О. Лекарственный гепатит: если препарат нельзя отменить / А. О. Буеверов // Клини. перспективы гастроэнтерол. и гепатол. – 2007. – № 5. – С. 13-19.
21. Бурчинський С. Нові можливості антиоксидантної фармакотерапії / С. Бурчинський // Вісник фармації та фармакології. – 2005. – № 2. – С. 25-27.
22. Ватутін М. Т. Флавоноїд кверцетин: фармакологічні властивості та клінічне використання / М. Т. Ватутін, Т. С. Гончаренко, О. В. Склянна [та ін.] // Ліки. – 2005. – № 3-4. – С. 19-27.
23. Вашкеба Е. М. Вивчення гострої токсичності екстракту з надземної частини хрину звичайного / Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра // Фарм. часопис. – 2011. – № 2. – С. 67-69.
24. Вашкеба Е. М. Дослідження ульцерогенної дії густого екстракту з листя хрину звичайного (*Armoracia rusticana* L.) / Е. М. Вашкеба // ХУ Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, 27-29 квітня 2011р. : матеріали конференції. – Тернопіль, 2011. – С. 326.
25. Вашкеба Е. М. Підбір мінімально діючої дози екстракту з надземної частини хрину звичайного на моделі парацетамолового гепатиту / Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра // Укр. біофарм. журнал. – 2011. – № 4. – С. 28-31.
26. Вашкеба Е. М. Вивчення антимікробної активності екстракту з листків хрину звичайного (*Armoracia rusticana*) / Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра / Тези доповідей VI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю з клінічної фармакології, присв. 90-річчю проф. О. О. Столярчука. – Вінниця, 2010. – С. 167-169.
27. Вашкеба Е. М. Вивчення гепатозахисних властивостей екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту // Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра // Матеріали наук.-практ. конф. студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів, Суми, 21-22 квіт. 2011 р. – Суми, 2011. – С. 69.

28. Вашкеба Е. М. Вивчення протизапальної активності густого екстракту з листя хрину звичайного / Е. М. Вашкеба // 71 Всеукраїнська наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присв. Дню науки "Сучасні аспекти медицини і фармації", 12-13 трав. 2011 р. : тези доповідей. – Запоріжжя, 2011. – С. 167-168.
29. Вашкеба Е. М. Використання екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту / Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький // Мед. хімія. – 2011. – № 1. – С. 39–43.
30. Вашкеба Е. М. Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов парацетамолового гепатиту // Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький, В. П. Пида // Вісник морфології. – 2011. – № 3. – С. 532-534.
31. Вашкеба Е. М. Дослідження знешкоджувальної функції печінки за умов парацетамолового її ураження та корекції екстрактом з хрину звичайного / Е. М. Вашкеба, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький // Здобутки клін. та експерим. медицини. – 2011. – № 2. – С. 28-30.
32. Вашкеба Е. Вивчення жовчегінної активності густого екстракту з листя хрину звичайного в умовах парацетамолового гепатиту / Е. Вашкеба, П. Лихацький, Л. Фіра // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матер. IV наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 29-30 верес. 2011 р. – Тернопіль, 2011. – С. 169.
33. Венгеровский А. И. Механизмы гепатотоксичности парацетамола / А. И. Венгеровский, А. С. Саратиков // Фармакология и токсикология. – 1991. – № 1. – С. 76-80.
34. Венгеровский А. И. Методические указания по изучению гепатозащитной активности фармакологических веществ / А. И. Венгеровский, И. В. Маркова, А. С. Саратиков // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р. Ю. Хабриева. – 2-е изд. – М. : Медицина, 2005. – С. 683-691.

35. Висоцький І. Ю. Роль ендогенних ейкозаноїдів у патогенезі токсичної гепатопатії і фармакотерапія деякими лікарськими засобами / І. Ю. Висоцький // Ліки. – 2004. – № 3-4. – С. 74-81.
36. Владимиров Ю. А. Дигидрокверцетин (таксифолин) и другие флавоноиды как ингибиторы образования свободных радикалов на ключевых стадиях апоптоза / Ю. А. Владимиров, Е. В. Проскурнина, Е. М. Демин [и др.] // Биохимия. – 2009. – Т. 74, Вып. 3. – С. 372-379.
37. Воейков В. Л. Активные формы кислорода – патогенны или целители? / В. Л. Воейков // Клиническая геронтология. – 2003. – Т. 9, № 3. – С. 27-40.
38. Вороніна Л. М. Вивчення гепатопротекторної активності екстракту, отриманого з гички буряка звичайного / Л. М. Вороніна, І. В. Сенюк, К. В. Стрільченко // Медична хімія. – 2007. – Т. 9, № 4 – С. 92-95.
39. Вороніна Л. М. Вплив поліфенольних комплексів винограду на стан і функцію печінки в умовах гострого парацетамолового гепатиту / Л. М. Вороніна, А. Л. Загайко, С. В. Заїка [та ін.] // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 93-95
40. Высоцкий И. Ю. Метаболические реакции и механизмы повреждения биомембран гепатоцитов в условиях острого токсического повреждения печени летучими компонентами эпоксидных соединений / И. Ю. Высоцкий // Вісник СумДУ. – 2000. – № 18. – С. 3-11.
41. Генинг Т. П. Система «ПОЛ – антиоксидант эритроцитов и ткани печени» в условиях хронического токсического гепатита и его коррекции аскорбиновой кислотой / Т. П. Генинг, Л. А. Белозерова // Вестник новых медицинских технологий – 2005. – Т. 12, № 2 – С. 72-74.
42. Герасимова О. О. Експериментальне дослідження впливу на процеси вільнорадикального окислення нового гепатопротектора піфламіну / О. О. Герасимова // Медична хімія. – 2001. – Т. 3, № 1. – С. 44-47.
43. Гижларян М. С. Исследование функций печени методом "гексеналового сна" / М. С. Гижларян // Фармакология и токсикология. – 1976. – № 3. – С. 13-14.



44. Гистология : учебник для мед.ин-тов / под. ред. Ю. И. Афанасьева, Н. А. Юриной. – М. : Медицина, 1999. – 744 с.
45. Горчакова Н. О. Антиоксидантні засоби – необхідні компоненти комплексної фармакотерапії / Н. О. Горчакова, С. А. Олійник, К. Г. Гаркава // Фітотерапія в Україні. – 2000. – № 1. – С. 7-13.
46. Григоренко Ю. А. Замещенные аминифенолы и флавоноиды перспективные компоненты тест-систем общей антиоксидантной активности / Ю. А. Григоренко, Е. И. Карасева, Д. И. Метелица [и др.]. // Биомедицинская химия. – 2007. – Т. 53, Вып. 5. – С. 566-576.
47. Грицик А. Р. Пошук лікарських рослин, які застосовуються для лікування захворювань гепатобіліарної системи / А. Р. Грицик, Н. М. Гузьо, Н. М. Посацька // Фітотерапія. – 2007. – № 2. – С. 47-51.
48. Гріднев О. Є. Перекисне окиснення ліпідів і печінка / О. Є. Гріднев // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – Т. 25, № 5. – С. 80-83.
49. Громовая В. Ф. Антиоксидантные свойства лекарственных растений / В. Ф. Громовая, Г. С. Шаповал, И. Е. Миронюк, Н. В. Нестюк // Химико-фармацевтический журнал. – 2008. – Т. 42, № 1. – С. 26-29.
50. Гудима А. А. Вплив лансопризолу, метронідазолу і кларитроміцину на функціональний стан печінки в експерименті / А. А. Гудима, В. В. Підгірний // Вісник фармації. – 2008. – № 1. – С.63-66.
51. Гундерманн К. Й. Новейшие данные о механизмах действия и клинической эффективности эссенциальных фосфолипидов / К. Й. Гундерманн // Клини. перспективы гастроэнтерол. и гепатол. – 2002. – № 2. – С. 3-8.
52. Гуревич К. Г. Возможности применения эссенциале при лекарственных поражениях печени / К. Г. Гуревич // Фарматека. – 2007. – № 2. – С. 46-48.
53. Давидова Н. В. Вплив екстракту родіоли рідкого на функціональний стан печінки щурів за умов інтоксикації тетрахлорметаном / Н. В. Давидова, І. Ф. Мещинин // Медична хімія. – 2004. – Т. 6, № 2 – С. 35-38.

54. Данилова Ольга. Антиоксиданти – «пастки» для вільних радикалів / Ольга Данилова // Науковий світ. – 2008. – № 1. – С. 10-11.
55. Дегтярева І. І. Ефективність есенціале-Н, симепару і лактулози та їх комбінацій у комплексній терапії хронічних токсичних гепатитів / І. І. Дегтярева, І. М. Скрипник, С. В. Скопиченко // Новое в клинической фармакологии и фармакотерапии заболеваний внутренних органов : материалы III Республ. науч.-практ. конф., 16-17. дек. 2000 г. / под ред. Л. Т. Малой – Харьков, 2000..– С. 221-223.
56. Дегтярьова І. І. Застосування гепатопротекторів з різними механізмами дії для лікування хронічних токсичних гепатитів / І. І. Дегтярьова, І. М. Скрипник, С. В. Скопиченко // Гастроентерологія : міжвід. збірник. – Дніпропетровськ : УНДІГ, 2000. – Вип. 30. – С. 442–453.
57. Деримедвідь Л. В. Експериментальне обґрунтування застосування препаратів супероксиддисмутази при патологічних станах, обумовлених активацією процесів вільнорадикального окислення : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Л. В. Деримедвідь. – К., 2006. – 36 с.
58. Додонов Н. С. Влияние флавоноидов на перекисное окисление липидов и активность антиоксидантных систем при токсическом поражении печени : автореф. дис. на соискание учен. степени канд. фарм. наук : спец. 15.00.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» / Н. С. Додонов. – Самара, 2007. – 23 с.
59. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
60. Доклинические исследования лекарственных средств : методические рекомендации / под. ред. А. В. Стефанова. – К. : Авиценна, 2002. – 568 с.
61. Доркина Е. Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений / Е. Г. Доркина // Экспериментальная клиническая фармакология. – 2004. – Т. 67, № 6. – С. 41-44.

62. Дроговоз С. М. Современные подходы к терапии заболеваний гепатобилиарной системы / С. М. Дроговоз, Е. Г. Щекина, А. Ушакова // Провизор. – 2008. – № 8. – С. 19-22.
63. Дубініна О. Ю. Окислювальний стрес і окислювальна модифікація білків / О. Ю. Дубініна // Медична хімія. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 5-12.
64. Експериментальне вивчення жовчогінної, холеспазмолітичної, холелітіазної та гепатопротекторної активності нових лікарських засобів : методичні рекомендації / С. М. Дроговоз, Ю. І. Губський, М. П. Скакун [та ін.] // Доклінічні дослідження лікарських засобів / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 334-351
65. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В. М. Коваленко, О. В. Стефанов, О. В. Максимов [и др.] // Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 74-97.
66. Енциклопедія народної медицини / відп. ред. О. Михайлевський. – Львів : Сполом, 2005. – 1284 с.
67. Желіба Л.М. Гепатотоксичність вальпроату натрію, парацетамолу та тетрахлорметану при різній забезпеченості щурів ретинолом, токоферолом та тіаміном / Л. М. Желіба, Г. Й. Блажівська, О. В. Паламарчук [та ін.] // Вісник Вінницького медичного університету. – 2000. – Т. 4, № 1. – С. 20-22.
68. Иванченкова Р. А. Хронические заболевания желчевыводящих путей / Р. А. Иванченкова. – М. : Атмосфера, 2006. – 416 с.
69. Ивашкин В.Т. Основные принципы метаболизма лекарств и безопасное применение парацетамола / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская, В. П. Фисенко // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 1999. – № 2. – С. 86–87.
70. Ивашкин В. Т. Препараты растительного происхождения в лечении гепатита С / В. Т. Ивашкин, М. А. Морозова, М. В. Маевская, Е. А. Федосына // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2009. – Т. 19, № 3. – С. 70-75.

71. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте : методические рекомендации / под ред. П. И. Сидорова. – Архангельск, 2002. – 84 с.
72. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2-х т. / В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.; Т. 2. – 463 с.
73. Кинзирская Ю. А. Гепатотоксическое действие лекарственных препаратов некоторых фармакологических групп / Ю. А. Кинзирская, Т. А. Богущ, Н. В. Остапчук // Клиническая медицина. – 2003. – Т. 81, № 10. – С. 11-16.
74. Ковалев В. Н. Перспективные направления в области изучения лекарственных растений и создания отечественных фитопрепаратов / В. Н. Ковалев, В. С. Кисличенко, И. А. Журавель [и др.] // Провизор. – 1999. – № 12. – С. 39-40.
75. Коваленко В. М. Антиоксидантна ефективність похідного  $\alpha$ -токоферолацетату з вкороченим бічним ланцюгом за умов гострого отруєння щурів парацетамолом / В. М. Коваленко, Л. Б. Бондаренко, І. В. Кузьменко // Укр. біохім. журн. – 2000. – № 2. – С. 61- 67.
76. Коваленко В. М. Вплив похідного  $\alpha$ -токоферолу з укороченим бічним ланцюгом на процеси детоксикації в печінці щурів, отруєних парацетамолом / В. М. Коваленко, А. К. Вороніна, О. С. Волошина // Медична хімія. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 35-39.
77. Коваль М. І. Вміст цитолітичних ферментів у плазмі крові білих щурів при парацетамоловому гепатиті та їх корекція в експерименті / М. І. Коваль, О. С. Покотило, Т. Я. Ярошенко // Медична хімія – 2008. – Т. 10, № 4. – С. 77–80.
78. Ковальчук Л. Я. Лужна фосфатаза у хворих з обтураційною жовтяницею / Л. Я. Ковальчук, В. І. Максимлюк, І. І. Смачило // Мед. хімія. – 2000. – Т. 2, № 2. – С. 45-46.

79. Колісник М. І. Активні форми кисню та їх роль у метаболізмі клітин / М. І. Колісник, Г. В. Колісник, Є. Нідзюлка, в. В. Влізло // Біологія тварин. – 2009. – Т. 11, № 1-2. – С. 59-70.
80. Королева Л. Р. Современные гепатопротекторы / Л. Р. Королева // Российский медицинский журнал. – 2005. – № 2. – С. 35-37.
81. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарева // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
82. Корсун В. Ф. Энциклопедия фитотерапии: травы жизни проф. Корсуна / В. Ф. Корсун, Е. В Корсун. – М. : ЗАО Центрполиграф, 2008. – 443 с.
83. Корсун Е. В. Лекарственные растения в гепатологии / Е. В. Корсун, С. М. Николаев. – М., 2005. – 274 с.
84. Кулагіна М. А. Вивчення антимікробної активності полісахаридів вегетативних та генеративних органів *Duschekia viridis* (Chaix) Opiz / М. А. Кулагіна, А. Г. Сербін, О. В. Радько // Медична хімія. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 16-198
85. Лапач С. Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2000. – 320 с.
86. Лекарственные растения : энциклопедия / сост. И. Н. Пустырский, В. Н. Прохоров. – Минск : Книжный Дом, 2005. – 704 с.
87. Лесиовская Е. Е. Фармакотерапия с основами фитотерапии : учеб. пособие / Е. Е. Лесиовская, Л. В. Пастушенков // М. : Гэотар-Мед. – 2003. – С. 63-150.
88. Лісничук Н. Є. Дослідження параметрів вільнорадикального окиснення та стан антиоксидантної системи білих щурів з експериментальним токсичним ураженням печінки / Н. Є. Лісничук // Вісник проблем біології і медицини. – 2007. – Вип. 2. – С. 83-88.

89. Логинов А. С. Активность монооксигеназ при заболеваниях печени по данным метаболизма антипирина / А. С. Логинов, Э. А. Бендиков, Ж. А. Кельня, А. В. Петраков // Тер. архив. – 1987. – № 2. – С. 84-89.
90. Лушак В. І. Показники оксидативного стресу. 1. Тіобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків / В. І. Лушак, Т. В. Багнюкова, О. В. Лушак // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 76, № 3. – С. 136-141.
91. Макаренко О. А. Антиоксидантна активність біофлаваноїдів цитрусових / О. А. Макаренко // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 2. – С. 106-110.
92. Малоштан Л. М. Процеси перекисного окислення ліпідів у експериментальних тварин при отруєнні та дії природних антиоксидантів / Л. М. Малоштан, Н. П. Субота, П. П. Пашинський [и др.] // Вісник фармації. – 2007. – Т. 49, № 1. – С. 73-75.
93. Мансурова Ф. Х. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у больных с хроническим гепатитом С / Ф. Х. Мансурова, Х. Ш. Мутихова, С. О. Олимова // Клиническая медицина. – 2005. – Т. 83, № 5. – С. 33-42.
94. Мараховский Ю. Х. Гепатопротекторы : потенциальные возможности и ограничения защиты печени / Ю. Х. Мараховский, Ю. П. Рубенс // Медицина. – 2004. – № 1. – С. 9-13.
95. Маршалл В. Дж. Клиническая биохимия / В. Дж. Маршалл. – Пер. с англ. – СПб, 2002. – 383 с.
96. Мельник Л. В. Вивчення хімічного складу надземної частини хрону звичайного / Л. В. Мельник, Е. М. Вашкеба, П. Г. Лихацький [та ін.]// Фарм. часопис. – 2009. – № 1. – С. 10 – 12.
97. Мжельская Т. И. Биологические функции церулоплазмينا и их дефицит при мутации генов, регулирующих обмен меди и железа / Т. И. Мжельская // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – № 8. – С. 124-133.

98. Минушкин О. Н. Некоторые гепатопротекторы в лечении заболеваний печени / О. Н. Минушкин // Лечащий врач. – 2002. – № 6. – С. 55-58.
99. Місюрьова С. В. Вивчення гепатопротекторної активності флавонів, флавонолів і флаванонів на моделі гострого ураження печінки тетрахлорметаном / С. В. Місюрьова, І. А. Зупанець, І. О. Журавель [та ін.] // Вісн. фармації. – 2004. – № 3. – С. 66-71.
100. Моисеев С. В. Лекарственная гепатотоксичность / С. В. Моисеев // Клин. фармакол. и терапия. – 2005. – № 1. – С. 10–14.
101. Мойбенко А. Патогенетическое обоснование эффективности нового отечественного кардиопротектора корвитина (водорастворимого кверцетина) при остром инфаркте миокарда / А. Мойбенко // Вісн. фармакології та фармації. – 2007. – № 5. – С. 38-47.
102. Мусієнко М. М. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин / М. М. Мусієнко, Т. В. Паршикова, П. С. Славний. – К. : Фітосоціоцентр, 2001. – 200 с.
103. Ніколаєнко О. О. Вплив загальної вертикальної вібрації та парацетамолу на клітини печінки щурів / О. О. Ніколаєнко, О. В. Паламарчук // Таврический медико-биологический вестник. – 2002. – № 3. – С. 126-128.
104. Никитин И. Г. Гепатопротекторы: мифы и реальные возможности / И. Г. Никитин // Фарматека. – 2007. – № 13. – С. 14-18.
105. Новиков В. Е. Фармакология гепатопротекторов / В. Е. Новиков, Е. И. Климкина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2005. – Т. 4, № 1 – С. 2-20.
106. Осипова А. С. Растительные гепатопротекторы (Лив.52) в схеме лечения хронического гепатита / А. С. Осипова // Российский медицинский журнал. – 2005. – Т. 7, № 1 – С. 33-35.
107. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов //Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р. Ю. Хабриева. – М. : Ремедиум, 2000. – С. 349-354.

108. Паламарчук О. В. Особливості морфофункціональних змін печінки щурів під впливом парацетамолу і алілового спирту та в умовах застосування антиоксидантів : дис. ... канд. біол. наук : 14.03.01 / О. В. Паламарчук. – Вінниця, 2003. – 218 с.

109. Паламарчук О. В. Гепатопротекторна дія селеніту натрію при токсичному ураженні печінки / О. В. Паламарчук // Науковий вісник Волинського державного університету. Біологічні науки. – 2000. – № 7. – С. 8-11.

110. Паламарчук О. В. Морфометрические изменения гепатоцитов при воздействии парацетамола или аллилового спирта и их коррекции антиоксидантами / О. В. Паламарчук // Вісник морфології. – 2001. – № 1. – С. 72-75.

111. Паламарчук О.В. Морфофункціональні зв'язки в процесі фармакологічної корекції при токсичних ураженнях печінки / О. В. Паламарчук // Вісник морфології. – 2002. – № 8.1. – С. 73-78.

112. Паламарчук О. В. Зміни макрометричних показників печінки при її ураженні парацетамолом і аліловим спиртом та корекції цих змін антиоксидантами / О. В. Паламарчук // Вісник Вінницького медичного університету. – 2002. – № 6.2. – С. 409-411.

113. Паламарчук О. В. Морфологічна оцінка ефективності антиоксидантів в корекції токсичних уражень печінки / О. В. Паламарчук, Р. П. Пісун, О. О. Пентюк // Тези доповідей конференції „Актуальні питання регенерації”. – Луганськ, 2000. – С. 7.

114. Пальгова Л. К. Влияние антитоксической фракции печени (препарат гепадиф) на активность цитокиновых реакций при диффузных заболеваниях печени / Л. К. Пальгова, О. В. Рейман, Н. Б. Касенова, [и др.] // Проблемы гастроэнтерологии. – 2007. – № 4. – С. 189-109.

115. Пастушенко Т. В. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ / Т. В. Пастушенко, Л. Б. Маруший, А. А. Жуков // Гигиена и санитария. – 1985. – № 6. – С. 46-49.



116. Пентюк А. А. Поражение печени ксенобиотиками / А. А. Пентюк, Л. В. Мороз, О. В. Паламарчук // Современные проблемы токсикологии. – 2001. – № 2. – С. 8-16.

117. Пентюк О. О. Вплив гіперкетонемії на маркерні активності ізоформ цитохрому Р-450 та гепатотоксичність тетрахлорметану, парацетамолу та гідразину / О. О. Пентюк, А. П. Андреев, Г. Й. Блажівська [та ін.] // Ліки. – 1999. – № 2. – С. 72-75.

118. Пентюк О. О. Вплив інгібіторів цитохрому Р-450 на гепатотоксичність парацетамолу / О. О. Пентюк, А. П. Андреев, Г. Й. Блажівська [та ін.] // Ліки. – 2000. – № 5. – С. 26-31.

119. Пентюк О. О. Роль метаболізуючих ферментів у гепатотоксичності лікарських засобів та модельних ксенобіотиків / О. О. Пентюк, О. В. Тертишна, О. В. Паламарчук [та ін.] // Тези доповідей II Національного з'їзду фармакологів України. – Дніпропетровськ, 2001. – С. 13.

120. Передерий В. Г. Сравнительная эффективность применения гепатопротекторов при хронических диффузных заболеваниях печени / В. Г. Передерий, В. В. Чернявский, В. П. Шипулин // Сучасна гастроентерол. – 2008. – № 3. – С. 81-83.

121. Підгірний В. В. Вплив противиразкових препаратів на жовчовидільну функцію печінки в експерименті / В. В. Підгірний, А. А. Гудима // Здобутки клінічної і експериментальної медицини : матеріали XLVIII підс. наук.-практ. конф., 3 черв. 2005 р. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2005. – С. 204-206.

122. Подымова С. Д. Болезни печени : руководство для врачей / С. Д. Подымова. – 4-е изд. – М. : Медицина, 2007. – 705 с.

123. Полунина Т. В. Клиника, диагностика и коррекция острого лекарственного гепатита / Т. В. Полунина, И. В. Маев // Лечащий врач. – 2007. – № 1. – С. 88-89.

124. Полунина Т. В. Медикаментозные гепатиты / Т. В. Полунина, И. В. Маев // Фармакотерапия. – 2006. – № 12. – С.63-71.

125. Посохова К. А. Вплив тіотриазоліну на стан печінки при її ураженні парацетамолом / К. А. Посохова, А. С. Вольська // Медична хімія. – 2009. – № 3. – С. 160.
126. Посохова К. А. Вплив тіотриазоліну й ацетилцистеїну на стан печінки при її ураженні парацетамолом / К. А. Посохова, А. С. Вольська, І. А. Демчук // Запорожський медичний журнал. – 2010. – № 5. – С. 195–197.
127. Потапович А. И. Сравнительное исследование антиоксидантных свойств и цитопротекторной активности флавоноидов / А. И. Потапович, В. А. Костюк // Биохимия. – 2003. – Т. 68, Вып. 5. – С. 632–638.
128. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). – Л. : Изд-во ЛГУ, 1982. – 168 с.
129. Рыболовлев Ю. П. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. П. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – № 6. – С. 1513–1516.
130. Сахарова Т. С. Експериментальне дослідження антирадикальної активності елагової кислоти порівняно з біофлавоноїдними препаратами / Т. С. Сахарова, Ю. В. Нікітченко, В. Н. Дзюба // Медична хімія. – 2002. – № 2. – С. 56–58.
131. Сахарова Т. С. Експериментальне дослідження впливу рослинних препаратів поліфенольного складу на функціонування антипероксидної ферментативної системи печінки / Т. С. Сахарова, Ю. В. Нікітченко, В. Н. Дзюба // Медична хімія. – 2003. – Т. 5, № 1. – С. 52–55.
132. Сергеева Е. О. Влияние флавоноидов на механизмы развития окислительного стресса при токсических поражениях печени : автореф. дис. на соискание учен. степени канд.фарм. наук : спец. 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология» / Е. О. Сергеева. – Пятигорск, 2007. – 24 с.
133. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // Токсикология новых промышленных химических веществ : сборник. – М., 1973. – Вып. 13. – С. 47–57.

134. Скрипник І. М. Гепатопротектори: сучасні підходи до призначення і тактика їх вибору при хронічних дифузних захворюваннях печінки / І. М. Скрипник // Нова медицина. – 2004. – № 6. – С. 32-35.
135. Скрипник І. М. Гепатопротекторні засоби в сучасній гепатології / І. М. Скрипник // Consilium Medicum Ukraina. – 2007. - № 5. – С. 11-5.
136. Скрыпник И. Н. Медикаментозные гепатиты: роль и место эссенциальных фосфолипидов / И. Н. Скрыпник, Т. А. Ворошилова / Тезисы VIII съезда НОГР. – М. : Анахарсис, 2008. – 136 с
137. Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 53-57.
138. Султанов Г. А. Антиоксиданты и их применение в медицинской практике / Г. А. Султанов, Э. Х. Азимов, К. Г. Ибишов // Вестник хирургии. – 2004. – Т. 163, № 4. – С. 94-96.
139. Сур С. Проблеми та перспективи розробки і впровадження сучасних лікарських засобів рослинного походження / С. Сур, О. Гриценко // Ліки України. – 2002. – № 4. – С. 47-49.
140. Тефтыева Н. Б. Вплив настоянки перстачу прямостоячого на глутатионову систему печінки щурів за умов токсичного гепатиту / Н. Б. Тефтыева, І. М. Яремій, Н. П. Григор'єва // Мед. хімія. – 2002. – Т. 4, № 1. – С. 52-55.
141. Тефтыева Н. Б. Перекисне окиснення ліпідів та стан антиоксидної системи крові щурів за умов токсичного гепатиту та дії настоянки перстачу прямостоячого / Н. Б. Тефтыева, І. Ф. Мещишен // Медична хімія. – 2003. – № 4. – С. 75-79.
142. Тимошин А. А. Кверцетин и гесперидин подавляют образование радикалов оксида азота в печени и сердце крыс в условиях острого гепатоза / А. А. Тимошин, Е. Г. Доркина, Е. О. Паукова // Биофизика. – 2005. – Т. 50, № 6. – С. 1145-1149.

143. Трубич Н. Я. Вплив парацетамолу на стан мембран гепатоцитів білих щурів на фоні тривалої інтоксикації солями кадмію та свинцю. / Н. Я. Трубич // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 171.

144. Трубич Н. Я. Вплив парацетамолу на стан антиоксидантної системи організму білих щурів / Н. Я. Трубич // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 172.

145. Трубич Н.Я. Динаміка показників ендогенної інтоксикації щкрів за умов гострого отруєння парацетамолом на тлі хронічного ураження солями кадмію та свинцю. / Н. Я. Трубич, І. Я. Криницька // Наук. вісник Ужгород. університету. Сер. Медицина. – 2010. – Вип. 39. – С. 31-34.

146. Трубич Н. Я. Вплив ентеросорбенту «альгісорб» на показники ліпідної пероксидації і стан антиоксидантної системи організму щурів з гострим отруєнням парацетамолом на тлі тривалого введення солей кадмію та свинцю / Н. Я. Трубич // Клінічна та експериментальна патологія. – 2011. – № 2, Ч. 1. – С. 118-121.

147. Универсальная энциклопедия лекарственных растений // И. Путырский, В. Прохоров. – Минск : Книжный дом; М. : Махаон, 2000. – С. 240-241.

148. Ушкалова Е. А. Лекарственные поражения печени / Е. А. Ушкалова // Фарматека. – 2003. – № 10. – С. 94-103.

149. Ушкалова Е. А. Лекарственные поражения печени. / Е. А. Ушкалова / Врач. – 2007. – № 3. – С. 22–26.

150. Фролов В. М. Новый отечественный гепатопротектор глутаргин: клиническая эффективность и перспективность лечебного применения / В. М. Фролов // Новости медицины и фармации. – 2003. – № 8. – С. 5-6.

151. Хазанов А. И. Клинические особенности острых лекарственных гепатитов / А. И. Хазанов, С. В. Плюснин, А. П. Васильев [и др.] // Росс. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2009. – Т. 19, № 4. – С. 31-40.

152. Хазанов А. И. Острый лекарственный гепатит // Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение // Под ред. А. В. Калинина, А. И. Хазанова. – М. : Миклош, 2007. – С. 416-420.
153. Харченко Н. В. Сучасні гепатопротектори в лікуванні хворих із хронічними ураженнями печінки / Н. В. Харченко // Ліки України. – 2004. – № 3. – С. 14-18.
154. Чевари С. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
155. Чекман І. С. Флавоноїди – клініко-фармакологічний аспект / І. С. Чекман // Фітотерапія в Україні. – 2000. – № 2. – С. 3-7.
156. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія. Природа лікує. – К. : Рада, 2000. – 510 с.
157. Чекман І. С. Клінічна фармакологія комбінованого рослинного препарату гепабене / І. С. Чекман // Ліки України. – 2000. – № 1-2. – С. 30-31.
158. Чекман І. С. Клініко-фармакологічні властивості та особливості застосування комбінованого гепатопротекторного препарату “Гепадиф” як препарату терапії супроводу при прийомі статинів / І. С. Чекман, Н. В. Харченко, Г. А. Анохіна, В. В. Харченко // Сучасна гастроентерологія. – 2010. – № 4 (54). – С. 77-82.
159. Чернов Ю. Н. Полифенольные соединения структура, свойства и прикладные аспекты применения / Ю. Н. Чернов, А. В. Бузлама, Ю. М. Дронова // Фарматека. – 2004. – № 8. – С. 43-48.
160. Шаталова О. М. Вплив гідрофільного екстракту сої на ПОЛ на моделі експериментального гепатиту, викликаного тетрахлорметаном / О. М. Шаталова, Л. М. Малоштан, О. Ю. Яценко // Медична хімія. – 2007. – Т. 9, № 4 – С. 112-115.
161. Шеремета Л. М. Дослідження впливу ліпосомального кверцетину ("Ліпофлакону") на окиснення ліпідів та стан системи антиоксидантного

захисту при експериментальному парацетамоловому гепатиті / Л. М. Шеремета // Фармацевтичний журнал. – 2007. – № 4. – С. 88-92.

162. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей : практическое руководство / Ш. Шерлок, Дж. Дули.; пер. с англ. – М. : Гэотар Медицина, 1999. – 864 с.

163. Шифман Е. М. Парацетамол: терапевтическое применение и проблема острых отравлений. / Е. М. Шифман, А. Л. Ершов // Общая реаниматология. – 2007. – № 1. – С. 57-65.

164. Шманько В. В. Функционально-биохимическая характеристика поражений печени парацетамолом и изониазидом и их экспериментальная фармакотерапия : автореф. дис. на соискание учен. степени канд. мед. наук : спец. : / В. В. Шманько. – К., 1986. – 23 с.

165. Яковлева Л. В. Експериментальне дослідження гепатопротекторної активності оригінальних рослинних препаратів на основі елагової кислоти / Л. В. Яковлева, Є. М. Горбань, Т. С. Сахарова // Фармацевтичний журнал. – 2001. – № 3. – С. 100-103.

166. Action of quercetin in glycogen catabolism in the rat liver / R. S. Gasparin, C. L. Salqueiro-Pagadigorria, L. F. Brach.[ et al. ] // Xenobiotica. – 2003. – Vol. 33, № 6. – P. 587-602.

167. Anderson O. M. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications / O. M. Anderson, K. R. Markham // Taylor and Francis : CRC Press., 2005. – 256 p.

168. Anticancer potential of silymarin: from bench to bed side / R. Agarwal, C. Agarwal, H. Ichikawa [et al.] // Anticancer Res. – 2006. – Vol. 26, № 6. – P. 4457-4498.

169. Aubrun F. Adjunctive analgesia with intravenous propacetamol does not reduce morphine-related adverse effects / F. Aubrun, F. Kalfon, P. Mottet [et al.] // Br. J. Anaesth. – 2003. – Vol. 90, № 3. – P. 314-319.

170. Baugh J. A. Macrophage migration inhibitory factor / J. A. Baugh, R. Bucala // Crit. Care Med. – 2002. – Vol. 30, Supl.1. – P. S27-S35.

171. Bernal W. Blood lactate as an early predictor of outcome in paracetamol-induced acute liver failure: a cohort study / W. Bernal, N. Donaldson, D. Wyncoll, J. Wendon // *Lancet*. – 2002. – Vol. 359, № 9306. – P. 558-563.
172. Bessems J. G. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches / J. G. Bessems, N. P. Vermeulen // *Crit. Rev. Toxicol.* – 2001. – Vol. 31, № 1. – P. 55-138.
173. Bjornsson E. Outcome and prognostic markers in severe drug-induced liver disease / E. Bjornsson, R. Olsson // *Hepatology*. – 2005. – Vol. 42, № 2. – P. 481-489.
174. Bourdi M. Protection against acetaminophen-induced liver injury and lethality by interleukin 10: role of inducible nitric oxide synthase./ M. Bourdi, Y. Masubuchi., T. Reilly [et al.] // *Hepatology*. – 2002. – Vol. 35, № 2. – P. 289-298.
175. Btting R. M. Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3? / R. M. Btting // *Clin. Infect. Dis.* – 2000. – Vol. 31, № 5. – P. S202-S210.
176. Chandrasekharan N. V. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic / antipyretic drugs: cloning, structure, and expression / N. V. Chandrasekharan, H. Dai, K. L. Roos [et al.] // *Proc. Nation. Acad. Sci. USA*. – 2002. – Vol. 99, № 21. – P. 13926-13931.
177. Cranswick N. Paracetamol efficacy in children – the first 40 years / N. Cranswick., D. Cghlan // *Am. J. Ther.* – 2000. – Vol. 7, № 2. – P. 135-141
178. Dargan P. I. Measuring paracetamol concentrations in all patients with drug overdose or altered consciousness: does it change outcome? / P. I. Dargan, S. L. Ladhani, A. L. Jones // *Emerg. Med. J.* – 2001. – Vol. 18, № 3. – P. 178-182.
179. Dargan P. I. Accidental staggered paracetamol overdoses in the UK: epidemiology and outcome / P. I. Dargan, A. L. Jones // *Emerg. Med. J.* – 2000. – Vol. 19, № 3. – P. 202-205.

180. Davies N. M. Cyclooxygenase-3: axiom, dogma, anomaly, enigma or splice error? — Not as easy as 1, 2, 3. / N. M. Davies., R. L. Good, K. A. Roupe, J. A. Yanez // *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* – 2004 – Vol. 7, № 2. – P. 217-226.
181. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 82, № 1. – P. 70–77.
182. Flavonoid silibinin inhibits proliferation and promotes cell–cycle arrest of human colon cancer / F. S. Hogan, N. K. Krishnegowda, M. Mikhailova, M. S. Kahlenberg // *J. Surg. Res.* – 2007. – Vol. 143, № 1. – P. 58-65.
183. Flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers: Abstr. 9th Bicen. Meet. Int. Soc. Free Radic. Res. "Free radic. Res. 21st Century". – Sao Paulo, 7-11 Sept., 1998 / P. Cos, M. Calomme, I. Li [at al.] // *Rev. farm. e bioquim. Univ.* – Sao Paulo, 1998. – Vol. 34, Suppl. 1. – P. 206.
184. Fridovich I. Superoxide anion radical ( $O_2^-$ ), superoxide dismutases, and related matters / I. Fridovich // *J. Biol. Chem.* – 1997. – Vol. 272, № 30. – P. 18515-18517.
185. Graham G. G. Mechanisms of action of paracetamol and related analgesics / G. G. Graham., K. F. Scott // *Inflammopharmacology.* – 2003. – Vol. 11, № 4. – P. 401-413.
186. Graider N. Herbal drags and phitopharmaceuticals : a handbook for practice on a Scientific Basis / N. Graider. – London, 2001. – 780 p.
187. Gujral J. S. Mode of cell death after acetaminophen overdose in mice: apoptosis or oncotic necrosis? / J. S. Gujral, T. R. Knigh, A. Farhood [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2002. – Vol. 67, №2. – P. 322-328.
188. Gyamlani G. G. Acetaminophen toxicity: suicidal vs accidental / G. G. Gyamlani, C. R. Parikh // *Crit. Care.* – 2002. – Vol. 6, № 2. – P. 155-159.
189. HALT-C Trial Group. Herbal product use by persons enrolled in the hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment Against Cirrhosis (HALT-C) Trial / L. B. Seeff, T. M. Curto, G. Szabo [et al.] // *Hepatology.* – 2008. – Vol. 47, № 2. – P. 605-612.



190. Hepatoprotective activity of liposomal flavonoid against argentite-induced liver fibrosis / A. K. Mandal, S. Das, M. K. Basu [et al.] // *J. of Pharm. Exp. Therapeutics*. – 2007. – Vol. 320, № 3. – P. 994-1001.
191. Hogaboam C. M. Exaggerated hepatic injury due to acetaminophen challenge in mice lacking C-C chemokine receptor 2 / C. M. Hogaboam, C L Bone-Larson, M. L. Steinhauser [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2000. – Vol. 156, № 4. – P. 1245-1252.
192. Hollman P. C. H. Flavonols, flavones and flavanols nature, occurrence and dietary burden / P. C.H. Hollman, J.C.W Arts // *J. Sci. Food and Agr. [МФИШ]*. – 2000. – Vol. 80, № 7. – P. 1081-1093.
193. Hou L. Inhibition of free radical initiated peroxidation of human erythrocyte ghosts by flavanols and their glycosides / Hou L., Zhou B., Yang L., Z. L. Liu // *Org. Biomol. Chem.* – 2004. – Vol. 2, № 9. – P. 1419-1423.
194. Hunaiti A. A. Effect of lead concentration on the level of glutathione, glutathione S-transferase, reductase and peroxidase in human blood / A. A. Hunaiti, M. Soud // *Sci. Total. Environ.* – 2000. – Vol. 248, № 1. – P. 45-50.
195. Identification of hepatoprotective flavonolignans from silymarin / S. J. Polyak, C. Morishima, V. Lohmann [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2010. – Vol. 107, № 13 – P. 5995-5999.
196. James L. P. Measurement of acetaminophen-protein adducts in children and adolescents with acetaminophen overdoses. / L. P. James, H. C. Farrar, J. E. Sullivan [et al.] // *J. Clin. Pharmacol.* – 2001, - Vol. 41, № 8. – P. 846-851.
197. James L. P. Acetaminophen toxicity in mice lacking NADPH oxidase activity: role of peroxynitrite formation and mitochondrial oxidant stress / L. P. James, S. S. McCullough, T. R. Knight [et al.] // *Free Radic. Res.* – 2003. – Vol. 37, № 12. – P. 1289-1297.
198. James L. P. Effect of N-acetylcysteine on acetaminophen toxicity in mice: relationship to reactive nitrogen and cytokine formation / L. P. James, S. S. McCullough, L. W. Lamps, J. A.Q. Hinson // *Toxicol. Sci.* – 2003. – Vol. 75, № 2. – P. 458-467.

199. Jones A. L. Recent advances in the management of late paracetamol poisoning / A. L. Jones // *Emerg. Med. (Aust. )*. - 2000. – Vol. 12, № 1. – P. 14-21.
200. Ju C. Protective role of Kupffer cells in acetaminophen-induced hepatic injury in mice / C. Ju, T. P. Reilly, M. Bourdi [et al.] // *Chem. Res. Toxicol.* – 2002. – Vol. 15, № 12. – P. 1504-1513.
201. Kaplowitz N. Mechanisms of liver cell injury // *J. Hepatol.* -2000. -Vol. 32, № 1. – P. 39-47.
202. Kim H. P. Effects of naturally-occurring flavonoids and bioflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea-pigs / H. P. Kim, I. Mani, L. Iversen, V. A. Ziboh // *Prostagland., Leukotrienes and Essent. Fatty Acids.* – 1998. – Vol. 58, № 1. – P. 17-24.
203. Kolacinski Z. Paracetamol: therapeutic action, pathogenesis and treatment of acute poisonings complicated by severe liver damage/ Z. Kolacinski., P. Rusinski // *Pizegl. Lek.* – 2003. – Vol. 60, № 4. – P. 218-222.
204. Kren V. Silybin and silymarin – New effects and applications / V. Kren, D. Walterova // *Biomed. Papres.* – 2005. – Vol. 149, №1. – P. 29-41.
205. Kuntz L. *Hepatology. Principles and practice.* / L. Kuntz, H-D. Kuntz. – Berlin : Springer-Verlad, 2002. – P. 56–59.
206. La Grande L. Normalizing effects of ioflavonoids on EtOH-induced indices of lipid peroxidation in rat neonates and dams / L. La Grande, Z. Ding, M. Houston [et al.] // *Pharm. Biol.* – 2003. – Vol. 41, № 3. – P. 188-193.
207. Larrey D. Drug – induced liver disease / D. Larrey // *J. Hepatology.* – 2000. – Vol. 32. – P. 77-88.
208. Lawson J. A. The hepatic inflammatory response after acetaminophen overdose: role of neutrophils / J. A. Lawson, A. Farhood, R. D. Hopper [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2000. – Vol. 54, № 2. – P. 509-516.
209. Mayer K. E. Silymarin treatment of viral hepatitis: a systematic review / K. E. Mayer, R. P. Myers, S. S. Lee // *J. Viral. Hepat.* – 2005. – Vol. 12, № 6. – P. 559-567.

210. Miller N. J. Flavonoids and other plant phenols in the diet: their significance as antioxidants / N. J. Miller, M. B. Ruiz-Larrea // *J. Nutr. and Environ. Med.* – 2002. – Vol. 12, № 1. – P. 39-51.

211. Mimosz O. Analgesic efficacy and safety of nefopam vs. propacetamol following hepatic resection / O. Mimosz, P. Incagnoli, C. Josse [et al.] // *Anaesthesia.* – 2001. – Vol. 56, № 6. – P. 520-525.

212. Muldrew K. L. Determination of acetaminophen-protein adducts in mouse liver and serum and human serum after hepatotoxic doses of acetaminophen using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection / K. L. Muldrew, L. P. James, L. Coop [et al.] // *Drug Metab. Dispos.* – 2002. – Vol. 30, № 4. – P. 446-451.

213. Nakamura Y. Effects of quercetin and rutin on serum and hepatic lipid concentrations, fenol storied excretion and serum antioxidant properties / Y. Nakamura, S. Ishimitsu, I. Tonogai // *J. Health Sci.* – 2000. – Vol. 46, № 4. – P. 229-240.

214. Niederau C. Free radicals science: the long road from basic science to clinical medicine / C. Niederau // *Hepato-Gastroenterol.* – 1994. – Vol. 41, № 4. – P. 308-309.

215. Pawlikowska-Pawlega B. The study of the quercetin action on human erythrocyte membranes / B. Pawlikowska-Pawlega, W. J. Gruszecki, L. E. Misiak [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 66, № 4. – P. 605-612.

216. Pengelly A. The constituents of medicinal plants. An introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicines / A. Pengelly – 2-nd ed. Wallingford : CABI Publishing, 2004. – 184 p.

217. Pettersson P. H. Intravenous acetaminophen reduced the use of opioids compared with oral administration after coronary artery bypass grafting / P. H. Pettersson, J. Jakobsson, A. Owall // *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* – 2005. – Vol. 19, № 3. – P. 306-309.

218. Prescott L. F. Paracetamol: past, present and future / L. F. Prescott // *Am. J. Ther.* – 2000. – Vol. 7, № 2. – P. 143-147.

219. Ray S. D. A hepatotoxic dose of acetaminophen modulates expression of BCL-2, BCL-X(L), and BCL-X(S) during apoptotic and necrotic death of mouse liver cells in vivo / S. D. Ray, N. Jena // Arch. Toxicol. -2000. – V. 73, № 10-11. – P. 594-606.
220. Remy C. Effects of acetaminophen on morphine side-effects and consumption after major surgery: meta-analysis of randomized controlled trials/ C. Remy, E. Marret, F. Bonnet // Br. J. Anaesthesia. – 2005. – Vol. 94, № 4. – P. 505-513.
221. Role of glutathione and oxidative stress in phalloidin-induced cholestasis/ G. Bouchard, I. Yousef, C. Barriault, B. Tuchweber // J. Hepatol. – 2000. -V. 32, № 4. – P. 550-560.
222. Romsing J. Rectal and parenteral paracetamol, and paracetamol in combination with NSAIDs, for postoperative analgesia / J. Romsing, S. Moiniche, B. J. Dahl // Br. J. Anaesth. – 2002. – Vol. 88, № 2. – P. 215-226.
223. Saller R. The use of silymarin in the treatment of liver diseases / R. Saller, R. Meier, R. Brignoli // Drugs. – 2001. – Vol. 61, № 14. – P. 2035-2063
224. Scartezzini P. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity / P. Scartezzini, E. Speroni // Journal of Ethnopharmacology. – 2000. – Vol. 71, № 2. – P. 23-43.
225. Simmons D. L. Induction of an acetaminophensensitive cyclooxygenase with reduced sensitivity to nonsteroidal antiinflammatory drugs / D. L. Simmons, R. M. Botting, M. F. Robertson [et al.] // Proc. Nation. Acad. Sci. USA .– 1999. – Vol. 96, № 6. – P. 3275-3280.
226. Simon L. S. COX-2 inhibitors. Are they nonsteroidal anti-inflammatory drugs with a better safety profile? / L. S. Simon // Gastroenterol. Clin. North Am. – 2001. – Vol. 30, № 4. – P. 1011-1025.
227. Simpson K. J. Inhibition of tumor necrosis factor alpha does not prevent experimental paracetamol- induced hepatic necrosis./ K. J. Simpson, N. W. Lukacs, A. H. McGregor [et al.] // J. Pathol. – 2000. – Vol. 190, № 4. – P. 489-494.

228. Skulachev V. P. New data on biochemical mechanism of programmed senescence of organisms and antioxidant defense of mitochondria / V. P. Skulachev // *Biochemistry (Moscow)*. – 2009. – Vol. 74, № 12. – P. 1400-1403.
229. Stolyar O. The effects of lead on the antioxidant status and lipid peroxidation of carp hepatopancreas / O. Stolyar, A. Mudra // *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*. – Lublin. : Polonia. – 2002. – Vol. XV, № 31. – P. 391-394.
230. Teschke R. Drug-induced liver diseases / R. Teschke // *J. Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 40, № 5. – P. 305-26.
231. The hepatic inflammatory response after acetaminophen overdose: role of neutrophils / J. A. Lawson, A. N. Farhood., R. D. Hopper [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2000. – V. 54, № 2. – P. 509-516.
232. Wallace C. I. Paracetamol overdose: an evidence based flowchart to guide management / C. I. Wallace, P. I. Dargan., A. L. Jones // *Emerg. Med. J.* – 2002. – Vol. 19, № 3. – P. 202-205.
233. Weber L. W. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes : carbon tetrachloride as a toxicological model / L. W. Weber, M. Boll, A. Stampfl // *Crit. Rev. Toxicol.* – 2003. – Vol. 33, № 2. – P. 105-136.
234. Wiart C. *Ethnopharmacology of medicinal plants : Asia and Pacific* / C. Wiart. – Totowa, New Jersey : Humana Press, 2006. – 228 p.
235. Wichtl M. *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. A Handbook for Practice on a Scientific Basis* / M. Wichtl // Stuttgart : medpharm GmbH. – 2004. – P. 274-277.
236. Zhu X. Cyclooxygenase-1 in the spinal cord plays an important role in postoperative pain / X. Zhu, D. Conklin, J. Eisenach // *Pain.* – 2003. – Vol. 104, № 1-2. – P. 15-23.

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Перший проректор  
з науково - педагогічної роботи  
Львівського національного медичного  
університету імені Данила Галицького  
член. кор. НАМН, проф. М.Р. Гжегоцький  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2011 р.


**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов ураження парацетамолом
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського", кафедра фармацевтичної хімії, здобувач — Вашкеба-Бітлер Е.М.
3. **Джерела інформації:** 1. Вашкеба Е.М., Фіра Л.С., Лихацький П.Г., Пида В.П. Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов парацетамолового гепатиту / Вісник морфології. – 2011. – № 3 (Т.17). – С. 532 – 534. 2. Вашкеба Евеліна, Лихацький Петро, Фіра Людмила. Вивчення жовчегінної активності густого екстракту з листя хрину звичайного в умовах парацетамолового гепатиту // Мат. 4-ї науково-практичної конференції з міжнародною участю « Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» - Тернопіль, 2011. – С. 169.
4. **Де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Львівського національного медичного університету
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційний курс
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення функціонального стану печінки, а зокрема активність жовчовидільної функції в умовах токсичного ураження
7. **Строки впровадження:** 2011-2012 рік.

Завідувач кафедри  
патологічної фізіології

проф. Регеда М.С.

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Перший проректор  
з науково - педагогічної роботи  
Львівського національного медичного  
університету імені Данила Галицького  
член. кор. НАМН, проф. М.Р. Гжегоцький  
« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2011 р. 

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Вивчення показників вільнорадикального окиснення за умов ураження печінки парацетамолом.
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського", кафедра фармацевтичної хімії, здобувач — Вашкеба-Бітлер Е.М.
3. **Джерела інформації:** 1. Вашкеба Е.М., Фіра Л.С., Лихацький П.Г. Використання екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту // Мед. хімія. – 2011. - № 1. – С. 39 – 43. 2. Вашкеба Е.М. Вивчення гепатозахисних властивостей екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту // Матеріали науково-практичних конференцій студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів. – Суми, 21-22 квітня 2011 р. – С. 69.
4. **Де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Львівського національного медичного університету
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційний курс
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення окиснювальних процесів за умов медикаментозного ураження печінки
7. **Строки впровадження:** 2011-2012 рік.

Завідувач кафедри  
патологічної фізіології

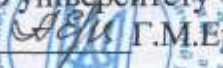


проф. Регеда М.С.







„Затверджую”  
 Перший проректор Івано-  
 Франківського національного  
 медичного університету  
 професор:  Г.М.Ерстенюк  
 ”\_\_\_\_\_” 2011 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов ураження парацетамолом
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського", кафедра фармацевтичної хімії, здобувач — Вашкеба-Бітлер Е.М.
3. **Джерела інформації:** 1. Вашкеба Е.М., Фіра Л.С., Лихацький П.Г., Пида В.П. Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов парацетамолового гепатиту / Вісник морфології. – 2011. – № 3 (Т.17). – С. 532 – 534. 2. Вашкеба Евеліна, Лихацький Петро, Фіра Людмила. Вивчення жовчегінної активності густого екстракту з листя хрину звичайного в умовах парацетамолового гепатиту // Мат. 4-ї науково-практичної конференції з міжнародною участю « Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» - Тернопіль, 2011. – С. 169.
4. **Де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційний курс
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення функціонального стану печінки, а зокрема активність жовчовидільної функції в умовах токсичного ураження
7. **Строки впровадження:** 2011-2012 рік.

Завідувач кафедри  
 патологічної фізіології

проф. Заяць Л.М.

„Затверджую”

Перший проректор Івано-  
Франківського національного  
медичного університету  
професор *Г.М.Ерстенюк*  
”\_\_\_” ”\_\_\_” 2011 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Вивчення показників вільнорадикального окиснення за умов ураження печінки парацетамолом.
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського", кафедра фармацевтичної хімії, здобувач — Вашкеба-Бітлер Е.М.
3. **Джерела інформації:** 1. Вашкеба Е.М., Фіра Л.С., Лихацький П.Г. Використання екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту // Мед. хімія. – 2011. - № 1. – С. 39 – 43. 2. Вашкеба Е.М. Вивчення гепатозахисних властивостей екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту // Матеріали науково-практичних конференцій студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів. – Суми, 21-22 квітня 2011 р. – С. 69.
4. **Де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційний курс
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення окиснювальних процесів за умов медикаментозного ураження печінки
7. **Строки впровадження:** 2011-2012 рік.

Завідувач кафедри  
патологічної фізіології

проф. Заяць Л.М.



Затверджую”  
 Перший проректор НфаУ  
 професор

І.С.Гриценко

” 2011 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов ураження парацетамолом
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського", кафедра фармацевтичної хімії, здобувач — Вашкеба-Бітлер Е.М.
3. **Джерела інформації:** 1. Вашкеба Е.М., Фіра Л.С., Лихацький П.Г., Пида В.П. Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов парацетамолового гепатиту / Вісник морфології. – 2011. – № 3 (Т.17). – С. 532 – 534. 2. Вашкеба Евеліна, Лихацький Петро, Фіра Людмила. Вивчення жовчегінної активності густого екстракту з листя хрину звичайного в умовах парацетамолового гепатиту // Мат. 4-ї науково-практичної конференції з міжнародною участю « Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» - Тернопіль, 2011. – С. 169.
4. **Де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології НфаУ
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційний курс
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення функціонального стану печінки, а зокрема активність жовчовидільної функції в умовах токсичного ураження
7. **Строки впровадження:** 2011-2012 рік.

Завідувач кафедри  
 патологічної фізіології

д.мед.н. Кононенко Н.М.



Затверджую”  
 Перший проректор НФаУ  
 професор \_\_\_\_\_ І.С.Гриценко

” 2011 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Вивчення показників вільнорадикального окиснення за умов ураження печінки парацетамолом.
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського", кафедра фармацевтичної хімії, здобувач — Вашкеба-Бітлер Е.М.
3. **Джерела інформації:** 1. Вашкеба Е.М., Фіра Л.С., Лихацький П.Г. Використання екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту // Мед. хімія. – 2011. - № 1. – С. 39 – 43. 2. Вашкеба Е.М. Вивчення гепатозахисних властивостей екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту // Матеріали науково-практичних конференцій студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів. – Суми, 21-22 квітня 2011 р. – С. 69.
4. **Де впроваджено:** кафедра патологічної фізіології НФаУ
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційний курс
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення окиснювальних процесів за умов медикаментозного ураження печінки
7. **Строки впровадження:** 2011-2012 рік.

Завідувач кафедри  
 патологічної фізіології

\_\_\_\_\_ проф. Кононенко Н.М.

„Затверджую”  
 Проректор з навчальної роботи  
 ДВНЗ "Ужгородський  
 національний університет"  
 професор О.Т. Сливка  
 "\_\_\_\_" \_\_\_\_\_ 2011 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов ураження парацетамолом.
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського", кафедра фармацевтичної хімії, здобувач — Вашкеба-Бітлер Е.М.
3. **Джерела інформації:** 1. Вашкеба Е.М., Фіра Л.С., Лихацький П.Г., Пида В.П. Дослідження жовчовидільної функції печінки за умов парацетамолового гепатиту / Вісник морфології. – 2011. – № 3 (Т.17). – С. 532 – 534. 2. Вашкеба Евеліна, Лихацький Петро, Фіра Людмила. Вивчення жовчегінної активності густого екстракту з листя хрину звичайного в умовах парацетамолового гепатиту // Мат. 4-ї науково-практичної конференції з міжнародною участю « Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» - Тернопіль, 2011. – С. 169.
4. **Де впроваджено:** кафедра фізіології та патологічної фізіології ДВНЗ "Ужгородський національний університет"
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційний курс з теми "Патофізіологія печінки".
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення функціонального стану печінки, а зокрема активність жовчовидільної функції в умовах токсичного ураження
7. **Строки впровадження:** 2011-2012 рік.

Завідувач кафедри фізіології  
 та патологічної фізіології

проф. Фекета В.П.

„Затверджую”  
 Проректор з навчальної роботи  
 ДВНЗ "Ужгородський національний університет"  
 професор Сливка  
 2011 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Вивчення показників вільнорадикального окиснення за умов ураження печінки парацетамолом.
2. **Установа, автор:** Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського", кафедра фармацевтичної хімії, здобувач — Вашкеба-Бітлер Е.М.
3. **Джерела інформації:** 1. Вашкеба Е.М., Фіра Л.С., Лихацький П.Г. Використання екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту // Мед. хімія. – 2011. - № 1. – С. 39 – 43. 2. Вашкеба Е.М. Вивчення гепатозахисних властивостей екстракту з надземної частини хрину звичайного за умов парацетамолового гепатиту // Матеріали науково-практичних конференцій студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів. – Суми, 21-22 квітня 2011 р. – С. 69.
4. **Де впроваджено:** кафедра фізіології та патологічної фізіології ДВНЗ "Ужгородський національний університет"
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційний курс з теми "Патофізіологія печінки".
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з вивчення окиснювальних процесів за умов медикаментозного ураження печінки
7. **Строки впровадження:** 2011-2012 рік.

Завідувач кафедри фізіології  
 та патологічної фізіології

проф. Фекета В.П.