

I. I. ГЕРАСИМЕЦЬ (<http://orcid.org/0000-0001-7108-3251>), канд. фарм. наук, доцент,

Л. С. ФІРА (<http://orcid.org/0000-0002-5325-0973>), д-р біол. наук, проф.,

I. I. МЕДВІДЬ (<http://orcid.org/0000-0003-4703-4438>), канд. мед. наук

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

АКТИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ У ЩУРИВ ІЗ ПАРАЦЕТАМОВИМ ГЕПАТИТОМ ТА КОРЕКЦІЄЮ ГУСТИМ ЕКСТРАКТОМ ІЗ ГРИБІВ ШИЇТАКЕ

Ключові слова: гриби шиїтаке, парацетамол, гепатит, густий екстракт, окиснювальний стрес, антиоксидантні властивості

I. I. HERASYMETS (<http://orcid.org/0000-0001-7108-3251>),

L. S. FIRA (<http://orcid.org/0000-0002-5325-0973>),

I. I. MEDVID (<http://orcid.org/0000-0003-4703-4438>)

Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine

ACTIVITY OF FREE RADICAL OXIDATION PROCESSES IN RATS WITH PARACETAMOL HEPATITIS AND CORRECTION WITH SHIITAKE MUSHROOMS THICK EXTRACT

Key words: shiitake mushrooms, paracetamol, hepatitis, thick extract, oxidative stress, antioxidant properties

Вміст продуктів вільнорадикального окиснення (ВРО) може вказувати на пошкодження тканин організму. Антиоксидантна система протидіє процесам перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окисної модифікації протеїнів (ОМП), тобто сповільнює саме утворення вільних радикалів [1–3]. За умов нормального функціонування організму активність ензимів антиоксидантної системи (АОС) та інтенсивність вільнорадикальних процесів знаходяться у стані рівноваги. Вплив патогенних чинників може призводити до порушення роботи АОС та зміщення цієї рівноваги в бік утворення продуктів ПОЛ та ОМП, що в подальшому спричинює розвиток різноманітних патологій [2–6].

Для зменшення інтенсивності процесів ВРО використовують антиоксиданти – сполуки, які в разі потрапляння в організм захищають його від шкідливого впливу екзо- та ендогенних чинників [7, 8]. Натуральні антиоксиданти, отримані з рослин чи грибів, містять у своєму складі фенольні та поліфенольні сполуки, каротиноїди, здатні швидко реагувати з пероксидними радикалами, руйнувати гідропероксида, не утворюючи при цьому вільні радикали, що призводить до розриву ланцюга і сповільнення швидкості окиснення [8, 9].

Гриби шиїтаке (*Lentinus edodes*) стали першими грибами, які вирощують штучно. Технологію їх вирощування на деревах ши китайці придумали ще в X столітті [9].

Шиїтаке застосовують для очищення організму, підвищення імунітету, активізації діяльності нервової системи, усунення хронічної втоми; гриби мають омолоджуючий ефект; позитивний вплив на стан серцево-судинної системи; спалювання відкладень жиру в організмі та нормалізацію обмінних процесів; виявляють противірусну, анти-мікробну та протипухлинну дію [10, 11].

Все це можливо завдяки унікальному поєднанню амінокислот, вітамінів, полісахаридів, харчових волокон. Найвищу ефективність виявляють сирі плоді тіла.

Слід зазначити, що в медичних і харчових цілях використовують різні сорти грибів. Більш корисні для здоров'я гриби виглядають непоказно та мають гіркуватий присмак. Спрощена технологія допомагає виростити так званий ресторанный вид. Виглядають ці гриби набагато привабливіше, та й смакові якості у них на висоті. Але корисні властивості при цьому значно скорочуються [12].

Метою нашої роботи було дослідити вплив густого екстракту з грибів шиїтаке на активність вільнорадикальних процесів та показники антиоксидантної системи за умов парацетамолового гепатиту у щурів.

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом дослідження слугував густий екстракт із грибів шиїтаке (ГЕГШ), виготовлений та наданий для досліджень кафедрою хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету та стандартизований за стероїдними сполуками відповідно до вимог Державної фармакопеї України.

Дослідження здійснювали на 60 білих безпородних щурах-самцях масою тіла 180–210 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, з дотриманням правил біоетики відповідно до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [13].

Моделлю токсичного ураження тварин слугувала інтоксикація парацетамолом, який вводили інтрагастрально у дозі 1 250 мг/кг 1 раз на добу протягом 2 діб у вигляді суспензії у 2%-му розчині крохмального гелю [14, 15]. Густий екстракт із грибів шиїтаке вводили інтрагастрально за 2 год до введення токсичного агента та щоденно після ураження в дозі 150 мг/кг маси тіла, яка попередніми нашими дослідженнями була встановлена як умовно терапевтична для цього екстракту. Препаратом порівняння слугував Силібор (виробник – ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»»), що застосовували за тією самою схемою, що і ГЕГШ, у дозі 20 мг/кг маси тіла тварини.

Тварин було поділено на 10 груп, кожна з яких включала 6 щурів: 1-ша – тварини інтактного контролю; 2-га, 3-тя та 4-та – тварини, отруєні парацетамолом, 3-тя, 7-ма та 10-та доби дослідження відповідно; 5-та, 6-та та 7-ма групи – уражені щури, яким вводили екстракт із грибів шиїтаке в дозі 150 мг/кг маси тіла, 3-тя, 7-ма та 10-та доби експерименту відповідно; 8-ій, 9-ій та 10-ій групам уражених тварин інтрагастрально вводили препарат Силібор, 3-тя, 7-ма та 10-та доби дослідження відповідно.

Евтаназію здійснювали з використанням барбамілу натрію на 3-тю, 7-му та 10-ту добу розвитку гепатиту. Експериментальним дослідженням піддавали печінку та сироватку крові. Кров брали із серця тварин. Вплив парацетамолового ураження на активність процесів ліпопероксидації та окиснення протеїнів, а також дію ГЕГШ на модельовану патологію, оцінювали за вмістом ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [16] та продуктів окисної модифікації протеїнів (ОМП) [17]. Стан антиоксидантної системи – за активністю супероксиддисмутази (СОД) [18] та каталази (Кат) [19].

Одержані дані статистично обробляли в програмі STATISTICA 12. Достовірність міжгрупових відмінностей визначали за допомогою критерію рангових сум Вілкоксона та критерію Манна–Уїтні. Результати дослідження вважали достовірними за $p \leq 0,05$ [20, 21].

Результати дослідження та обговорення

За результатами експерименту встановлено, що інтоксикація щурів парацетамолом спричинює зміну всіх досліджуваних параметрів.

Відмічено вірогідне ($p \leq 0,05$) зростання вмісту ТБК-АП у сироватці крові щурів на 3-тю, 7-му та 10-ту добу експерименту в 2,2, 2,6 та 2,7 рази відповідно порівняно з групою інтактного контролю (табл. 1), а це є одним із маркерів інтенсивності ПОЛ і розвитку окиснювального стресу. Введення ГЕГШ та Силібору тваринам за

парацетамолового гепатиту призвело до вірогідного зниження вмісту ТБК-АП – на 3-тю, 7-му та 10-ту доби дослідження на 31%, 31% та 41% після корекції екстрактом із грибів та на 27%, 30% і 39% після введення препарату порівняння відносно контрольної патології.

Т а б л и ц я 1

Вміст ТБК-АП у сироватці крові (мкмоль/л) та печінці (мкмоль/кг) щурів, уражених парацетамолом, та після застосування екстракту з грибів шийтаке ($M \pm m, n = 6$)

Групи тварин	Показники					
	3-тя доба		7-ма доба		10-та доба	
	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка
ІК	2,91 ± 0,32	16,77 ± 0,68	2,91 ± 0,32	16,77 ± 0,68	2,91 ± 0,32	16,77 ± 0,68
КП	6,51 ± 0,37*	25,03 ± 0,94*	7,62 ± 0,29*	27,72 ± 0,91*	7,97 ± 0,25*	28,77 ± 1,20*
КП + Силібор	4,75 ± 0,25**	21,32 ± 0,96**	5,33 ± 0,56**	22,20 ± 1,05**	4,88 ± 0,35**	23,11 ± 1,08**
КП+ГЕГШ	4,49 ± 0,25**	20,37 ± 0,52**	5,24 ± 0,25**	22,09 ± 0,68**	4,67 ± 0,29**	22,31 ± 0,90**

П р и м і т к а: тут і в наступних таблицях * – вірогідні зміни між показником контрольних та уражених парацетамолом тварин; ** – вірогідні зміни між показником уражених парацетамолом та лікованих тварин.

Процеси переокисного окиснення ліпідів (ПОЛ) протікають у всіх клітинах, однак найпотужнішим генератором вільних радикалів є лейкоцити, тромбоцити, а також гепатоцити [22].

На 3-тю, 7-му та 10-ту добу розвитку парацетамолового гепатиту у печінці щурів вміст ТБК-АП збільшився на 49%, 65% та 72% відносно щурів інтактного контролю. Після введення тваринам ГЕГШ спостерігали вірогідне його зниження уже на 3-тю добу від початку експерименту. Аналогічна тенденція до зменшення вмісту продуктів ліпопероксидації характерна і після введення в уражений організм Силібору. Як видно з табл. 1, усі коригуючі чинники проявили позитивний ефект на вміст ТБК-АП у гомогенаті печінки тварин, причому застосування досліджуваного екстракту виявилось ефективнішим.

Підвищення інтенсивності ПОЛ у печінці можна пояснити надлишком вільних радикалів та активних форм кисню, що утворилися внаслідок пошкодження мембран гепатоцитів парацетамолом. Це свідчить про розвиток оксидативного стресу в організмі щурів.

Внаслідок окиснювальної модифікації протеїнових компонентів під дією активних форм кисню (АФО) та токсичних метаболітів утворюються молекули середньої маси та пептиди, а також модифіковані макромолекули [9, 22].

Раннім маркером пошкодження органів і тканин є ОМП. Вона відіграє ключову роль у молекулярних механізмах розвитку оксидативного стресу та є пусковим механізмом до окиснювальної деструкції інших молекул, наприклад ліпідів та нуклеїнових кислот.

Тому наступним нашим завданням було вивчити вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів (2,4-ДНФГ) нейтрального (370 нм) та основного характеру (430 нм) у сироватці крові та печінці тварин із гепатитом та після корекції ГЕГШ і Силібором (табл. 2, 3).

Вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру (мкмоль/г протеїну) в сироватці крові та печінці щурів, уражених парацетамолом, та після застосування екстракту з грибів шиїтаке ($M \pm m; n = 6$)

Групи тварин	Показники					
	3-тя доба		7-ма доба		10-та доба	
	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка
ІК	0,032 ± 0,005	0,075 ± 0,005	0,032 ± 0,005	0,075 ± 0,005	0,032 ± 0,005	0,075 ± 0,005
КП	0,079 ± 0,007*	0,121 ± 0,007*	0,089 ± 0,005*	0,137 ± 0,007*	0,095 ± 0,004*	0,148 ± 0,007*
КП + Силібор	0,060 ± 0,008	0,101 ± 0,006	0,061 ± 0,006**	0,100 ± 0,007**	0,050 ± 0,005**	0,103 ± 0,005**
КП + ГЕГШ	0,053 ± 0,006**	0,098 ± 0,007	0,057 ± 0,007**	0,095 ± 0,008**	0,048 ± 0,004**	0,088 ± 0,011**

Визначення вмісту продуктів ОМП уражених парацетамолом тварин, показало їх вірогідне ($p \leq 0,05$) збільшення у крові та печінці у всі терміни дослідження.

Вміст 2,4-ДНФГ нейтрального характеру вірогідно збільшився у сироватці крові щурів на 3-тю, 7-му та 10-ту добу розвитку патології у 2,5, 2,8 та 3,0 раза відповідно відносно контролю. У печінці тварин із парацетамоловим ураженням вміст досліджуваного показника зріс у 1,6, 1,8 та 2,0 раза на 3-тю, 7-му та 10-ту добу експерименту відповідно відносно групи щурів інтактного контролю.

Ми дослідили вміст 2,4-ДНФГ основного характеру (430 нм) у сироватці крові та печінці щурів після ураження токсикантом. Встановлено, що на 3-тю, 7-му та 10-ту доби експерименту досліджуваний показник зріс у 3,5, 4,8 та 5,7 раза у сироватці крові та у 2,2, 2,6 та 2,8 раза у печінці уражених тварин відповідно відносно контрольної групи.

Вміст 2,4-ДНФГ основного характеру (мкмоль/г протеїну) в сироватці крові та печінці щурів, уражених парацетамолом, та після застосування екстракту з грибів шиїтаке ($M \pm m; n = 6$)

Групи тварин	Показники					
	3-тя доба		7-ма доба		10-та доба	
	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка
ІК	0,011 ± 0,002	0,037 ± 0,003	0,011 ± 0,002	0,037 ± 0,003	0,011 ± 0,002	0,037 ± 0,003
КП	0,039 ± 0,005*	0,080 ± 0,004*	0,053 ± 0,005*	0,095 ± 0,008*	0,063 ± 0,004*	0,104 ± 0,009*
КП + Силібор	0,034 ± 0,003	0,067 ± 0,006	0,035 ± 0,004**	0,054 ± 0,004**	0,032 ± 0,003**	0,052 ± 0,005**
КП + ГЕГШ	0,028 ± 0,004	0,066 ± 0,008	0,033 ± 0,005**	0,051 ± 0,005**	0,029 ± 0,004**	0,049 ± 0,006**

У разі застосування ГЕГШ мало місце вірогідне зниження вмісту 2,4-ДНФГ нейтрального та основного характеру у сироватці крові та печінці тварин із токсичним гепатитом. Відзначено, що до кінця експерименту більш виражений позитивний ефект на активність процесів ОМП проявив ГЕГШ відносно препарату порівняння.

Ключовим ензимом антиоксидантного захисту організму є супероксиддисмутаза, яка забезпечує переривання ланцюгів оксигензалежних вільнорадикальних реакцій, викликаючи дисмутацію супероксидного аніон-радикалу (O_2^-) із вивільненням пе-

роксида гідрогену, що може передувати утворенню найбільш токсичного гідроксильного радикала (ОН[•]) та триплетного кисню [8]. Щоб знешкодити пероксид гідрогену, клітини використовують каталазу – ензим, що перетворює пероксид гідрогену на воду та молекулярний кисень [22].

Важливо відзначити, що як зниження, так і підвищення активності СОД є причиною розвитку патологічних процесів. У першому випадку внаслідок недостатнього захисту від активних форм кисню, у другому – в результаті посилення цитотоксичної дії пероксиду гідрогену, що утворюється в результаті дисмутації супероксиду.

Про ураження антиоксидантної системи захисту організму тварин після введення парацетамолу свідчить значне зниження активності СОД в сироватці крові та печінці щурів (табл. 4). Зниження активності СОД за умов розвитку гепатиту підтверджують й інші автори [6, 23].

Т а б л и ц я 4

Супероксиддисмутазна активність у сироватці крові та печінці (мкат/г протеїну) щурів, уражених парацетамолом, та після застосування екстракту з грибів шиїґаке ($M \pm m; n = 6$)

Групи тварин	Показники					
	3-тя доба		7-ма доба		10-та доба	
	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка
КК	62,40 ± 1,76	52,08 ± 1,66	62,40 ± 1,76	52,08 ± 1,66	62,40 ± 1,76	52,08 ± 1,66
КП	43,72 ± 1,73*	39,49 ± 1,85*	41,33 ± 1,15*	37,42 ± 1,89*	40,07 ± 1,10*	37,86 ± 1,18*
КП+ Силібор	48,04 ± 2,86	41,28 ± 1,57	50,86 ± 2,36**	43,36 ± 2,25	52,94 ± 1,55**	44,81 ± 1,89**
КП+ГЕГШ	48,41 ± 2,99	41,94 ± 1,76	51,02 ± 2,03**	43,97 ± 2,72	53,23 ± 2,74**	45,01 ± 1,92**

За корекції гострого гепатиту ГЕГШ активність СОД у сироватці крові тварин характеризувалася тенденцією до зростання відносно уражених щурів. Так, на 7-му та 10-ту доби експерименту активність ензиму зросла на 23% та 33% відповідно відносно контрольної патології. Щодо активності СОД у гомогенаті печінки щурів із гепатитом після застосування ГЕГШ, то вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення активності ензиму спостерігали на 10-ту добу дослідження на 19% відносно уражених тварин.

Ефективність функціонування ензимної антиоксидантної системи захисту, ключовими ферментами якої є супероксиддисмутаза та каталаза, має важливе значення для збереження структурної цілісності гепатоцитів та запобігання перебігу в них процесів ПОЛ.

Наступні наші дослідження полягали у вивченні активності каталази – ензиму класу оксиредуктаз, що бере участь у дезінтоксикації нерадикальної активної форми кисню – H_2O_2 . Найбільша концентрація каталази відмічається у печінці. У пероксисомах гепатоцитів частина каталази становить 40% усіх білків, також висока її концентрація в мітохондріях та ендоплазматичному ретикулумі.

Після ураження щурів парацетамолом відмічено вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження активності КТ у сироватці крові тварин у 2,6, 2,8 та 3,1 раза на 3-тю, 7-му та 10-ту добу експерименту відповідно щодо тварин інтактного контролю. У печінці уражених щурів спостерігали аналогічну тенденцію до зниження активності ензиму в усі терміни дослідження (табл. 5).

Каталазна активність у сироватці крові (мкат/л) та печінці (мкат/кг) щурів, уражених парацетамолом, та після застосування екстракту з грибів шіітаке ($M \pm m; n = 6$)

Групи тварин	Показники					
	3-тя доба		7-ма доба		10-та доба	
	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка	сироватка крові	печінка
ІК	4,43 ± 0,36	7,16 ± 0,22	4,43 ± 0,36	7,16 ± 0,22	4,43 ± 0,36	7,16 ± 0,22
КП	1,71 ± 0,17*	3,24 ± 0,31*	1,60 ± 0,11*	3,05 ± 0,28*	1,41 ± 0,18*	2,86 ± 0,36*
КП+ Силібор	2,03 ± 0,26	4,20 ± 0,30	2,90 ± 0,26**	4,94 ± 0,39**	3,11 ± 0,18**	5,54 ± 0,50**
КП+ГЕГШ	2,09 ± 0,22	4,45 ± 0,36	3,01 ± 0,29**	5,13 ± 0,40**	3,05 ± 0,13**	5,75 ± 0,40**

Після використання для корекції гепатиту ГЕГШ спостерігали вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення активності каталази у сироватці крові щурів у 1,9 та 2,2 раза на 7-му та 10-ту добу розвитку гепатиту відповідно порівняно з ураженими тваринами. ГЕГШ проявив позитивний вплив на каталазну активність у печінці щурів із гострим гепатитом. Так, активність каталази на 7-му та 10-ту доби дослідження зросла під впливом екстракту шіітаке в 1,7 та 2,0 раза відповідно щодо контрольної патології. Вірогідне підвищення каталазної активності у печінці та крові уражених тварин на 7-му та 10-ту доби експерименту спричинило й застосування як коригуючого чинника препарату порівняння.

В и с н о в к и

1. Аналізуючи одержані результати, слід відзначити, що введення в організм парацетамолу спричинює біохімічні зміни в сироватці крові та печінці щурів, що підтверджується вірогідними змінами показників ТБК-АП, ОМП, СОД та каталази. Корекція ГЕГШ та Силібором позитивно вплинула на стан ПОЛ та систему антиоксидантного захисту організму за умов змодельованого гострого гепатиту, що супроводжуються зростанням активності СОД та каталази, зменшенням вмісту ТБК-АП та продуктів ОМП.

2. Одержані результати дають підставу стверджувати, що ГЕГШ виявляє антиоксидантні, гепатопротекторні властивості та, після проведення відповідних доклінічних і клінічних досліджень, може бути запропонований для профілактики та лікування захворювань печінки.

С п и с о к в и к о р и с т а н о ї л і т е р а т у р и

1. *Лавришин Ю. Ю., Вархоляк І. С., Мартишук Т. В. та ін.* Біологічне значення системи антиоксидантного захисту організму тварин // *Наук. вісн. Львів. нац. ун-ту ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького.* – 2016. – Т. 18, № 2 (66). – С. 100–111.
2. *Діордіца Я.* Антиоксидантна система печінки щурів за умов гострого гепатиту під час корекції комплексами антиоксидантів // *Вісн. Львівського ун-ту. Серія біологічна.* – 2019. – Вип. 89. – С. 12–20. <https://doi.org/10.30970/vbi.2019.81.02>
3. *Резніков О. Г., Полумбрик О. М., Бальон Я. Г.* Про- та антиоксидантна системи і патологічні процеси в організмі людини // *Вісн. НАН України.* – 2014. – № 10. – С. 17–29.
4. *Stanković M. N., Mladenović D., Nincjvić M.* The effects of α -lipoic acid on liver oxidative stress and free fatty acid composition in methionine-choline deficient diet-induced NAFLD // *J. Med. Food.* – 2014. – N 17 (2). – P. 254–261. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0111>
5. *Зверев Я. Ф.* Флавоноиды глазами фармаколога. Антиоксидантная и противовоспалительная активность // *Обзоры по клин. фармакологии и лекарственной терапии.* – 2017. – Т. 15, № 4. – С. 5–13. <https://doi.org/10.17816/RCF1545-13>
6. *Кравченко В. М., Шовкова З. В., Сенюк І. В. та ін.* Вивчення ліпотропної активності екстракту з плодів сливи домашньої «Прунофіт» на моделі алкогольного гепатиту // *Фармац. журнал.* – 2020. – Т. 75, № 6. – С. 86–91. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.6.20.09>

7. Бішко О. І. Вільнорадикальні процеси за введення щурам гістаміну та гіпохлориту натрію: дис. ... канд. біол. наук: 03.00.02. – Львів, 2016. – 170 с.
8. Вильчинская Т. Кверцетин и его роль как антиоксиданта, цитостатика и онкопротектора // Клін. імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2014. – № 1–2 (70–71). – С. 55–58.
9. Герасимець І. І., Фіра Л. С., Медвідь І. І. Дослідження гепатопротекторних властивостей густого екстракту грибів шиїтаке // Мед. клін. хімія. – Тернопіль, Укрмедкнига. – 2019. – № 4. – С. 28–34. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2019.v.i4.10845>
10. Ильинских Н. Н., Ильинских Е. Н., Глухова Л. Б. Антимутагенная активность экстрактов из мицелия грибов шиитаке (*Lentinula edodes*) при воздействии противоопухолевого препарата адриамицина на культуру лимфоцитов человека // Успехи мед. микологии. – 2015. – № 14 (14). – С. 423–427.
11. Li L., Qu M., Liu C. et al. Expression of a Recombinant *Lentinula edodes* Xylanase by *Pichia pastoris* and Its Effects on Ruminant Fermentation and Microbial Community in vitro Incubation of Agricultural Straws // *Frontiers in microbiology*. – 2018. – V. 9. – P. 2944. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02944>
12. Choi J. Y., Paik D. J., Kwon D. Y. et al. Dietary supplementation with rice bran fermented with *Lentinus edodes* increases interferon- γ activity without causing adverse effects: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study // *Nutrition J.* – 2014. – V. 13. – P. 35. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-13-35>
13. Gross D., Tolba R. Ethics in Animal-Based Research // *Eur. Surg. Res.* – 2015. – V. 55, N 1–2. – P. 43–57. <https://doi.org/10.1159/000377721>
14. Калько К. О., Дроговоз С. М. Циркадіанна залежність гепатопротекторної активності антралю на моделі гострого парацетамолового гепатиту у щурів // *Фармакол. лікарська токсикол.* – 2017. – № 2 (54). – С. 62–68.
15. Волошина Н. Б., Осипенко М. Ф., Литвинова Н. В. Фульминантний парацетамоловий гепатит // *Експерим. клін. гастроентерол.* – 2016. – № 9. – С. 103–106.
16. Луцзяк В. І., Багнокова Т. В., Луцзяк О. В. Показники оксидативного стресу. Тіобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків // *Укр. біохім. журн.* – 2004. – Т. 26. – С. 136–141.
17. Дубинина Е. Е. Окислительный стресс и окислительная модификация белков // *Med. Chemistry.* – 2001. – V. 2. – P. 5–12.
18. Babizhayev M. A. Mitochondria induce oxidative stress, generation of reactive oxygen species and redox state unbalance of the eye lens leading to human formation: disruption of redox lens organization by phospholipid hydroperoxides // *Cell Biochem. Funct.* – 2011. – V. 29, N 3. – P. 183–206. <https://doi.org/10.1002/cbf.1737>
19. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.
20. Шеламова М. А., Инсарова Н. И., Леценко В. Г. Статистический анализ медико-биологических данных с использованием программы EXCEL. – Минск: БГМУ, 2010. – 96 с.
21. Jannot A. S., Agoristas T., Gayet-Ageron A. et al. Citation bias favoring statistically significant studies was present in medical research // *J. Clin. Epidemiol.* – 2013. – V. 66, N 3. – P. 296–301. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2012.09.015>
22. Дроговоз С. М., Міщенко О. Я., Калько К. О. та ін. Циркадіанні ритми розвитку експериментального парацетамолового гепатиту та впливу гепатопротекторів на активність прооксидантно/антиоксидантних і цитолітичних процесів // *Клін. фармація.* – 2019. – Т. 23, № 2. – С. 15–24. <https://doi.org/10.24959/cphj.19.1485>

References

1. Lavryshyn Yu. Yu., Varkholiak I. S., Martyschuk T. V. et al. Biologichne znachennia systemy antyoksydantnoho zakhystu orhanizmu tvaryn // *Nauk. visn. Lviv. Nats. un-tu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnologii im. S. Z. Hzytskoho.* – 2016. – T. 18, № 2 (66). – S. 100–111.
2. Diorditsa Ya. Antyoksydantna systema pechinky shchuriv za umovy hostroho hepatytu pid chas korektsii kompleksamy antyoksydantiv // *Visn. Lvivskoho un-tu. Seriya biologichna.* – 2019. – Vyp. 89. – S. 12–20. <https://doi.org/10.30970/vbi.2019.81.02>
3. Ryznikov O. H., Polumbryk O. M., Baljon Ya. H. Pro- ta antyoksydantna systemy i patolohichni protsesy v orhanizmi lyudyny // *Visn. NAN Ukrainy.* – 2014. – № 10. – S. 17–29.
4. Stanković M. N., Mladenović D., Nincjvić M. The effects of α -lipoic acid on liver oxidative stress and free fatty acid composition in methionine-choline deficient diet-induced NAFLD // *J. Med. Food.* – 2014. – N 17 (2). – P. 254–261. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0111>
5. Zvyeryev Ya. F. Flavonoidy glazami farmacologa. Antioksidantnaya i protivovospalitel'naya aktivnost // *Obzory po klin. farmakologii i lyekarstvennoi terapii.* – 2017. – T. 15, № 4. – S. 5–13. <https://doi.org/10.17816/RCF1545-13>
6. Kravchenko V. M., Shovkova Z. V., Senyuk I. V. et al. Vychennia lipotropnoi aktyvnosti ekstraktu z plodiv slyvy domashnoi «Prunofit» na modeli alkoholnoho hepatytu // *Farmats. zhurn.* – 2020. – T. 75, № 6. – S. 86–91. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.6.20.09>
7. Bishko O. I. Vilnoradykalni protsesy za vvedennia shchuram histamine ta hipokhlorytu natriyu: dys. ... kand. boil. nauk: 03.00.02. – Lviv, 2016. – 170 s.
8. Vilchinskaya T. Kvyertsetin I yego rol kak antioksidanta, tsitostatika i onkoprotektora // *Klin. imunolohiya. Alerholohiya. Infektolohiya.* – 2014. – № 1–2 (70–71). – S. 55–58.

9. *Herasyms I. I., Fira L. S., Medvid I. I.* Doslidzhennia hepatoprotekornykh vlastyvostei hustoho ekstraktu hrybiv shiitake // *Med. klin. khimiya.* – 2019. – № 4. – S. 28–34. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2019.v.i4.10845>
10. *Iljinskikh N. N., Iljinskikh Ye. N., Glukhova L. B.* Antimutagennaya aktivnost' ekstraktov iz mitseliya gribov shiitake (*Lentinula edodes*) pri vozdyeystvii protivopukholyevoho preparata adriamitsina na kul'turu limfotsytov chyelovyeka // *Uspeky med. mikologii.* – 2015. – № 14 (14). – S. 423–427.
11. *Li L., Qu M., Liu C. et al.* Expression of a Recombinant *Lentinula edodes* Xylanase by *Pichia pastoris* and Its Effects on Ruminant Fermentation and Microbial Community in vitro Incubation of Agricultural Straws // *Frontiers in microbiology.* – 2018. – V. 9. – P. 2944. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02944>
12. *Choi J. Y., Paik D. J., Kwon D. Y. et al.* Dietary supplementation with rice bran fermented with *Lentinus edodes* increases interferon- γ activity without causing adverse effects: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study // *Nutrition J.* – 2014. – V. 13. – P. 35. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-13-35>
13. *Gross D., Tolba R.* Ethics in Animal-Based Research // *Eur. Surg. Res.* – 2015. – V. 55, N 1–2. – P. 43–57. <https://doi.org/10.1159/000377721>
14. *Kalko K. O., Drohovor S. M.* Tsyryadianna zalezhnist hepatoprotekornoj aktyvnosti antralyu na modeli hostroho parasetamolovoho hepatytu u shchuriv // *Farmakol. likarska toksykol.* – 2017. – № 2 (54). – S. 62–68.
15. *Voloshyna N. B., Osipyenko M. F., Litvinova N. V.* Ful'minantnyy parasetamolvyy gypatit // *Ekspyrim. klin. gastroenterol.* – 2016. – № 9. – S. 103–106.
16. *Lushchak V. I., Bahniukova T. V., Lushchak O. V.* Pokaznyky oksydatyvnoho stresu. Tiobarbituraktyvni produkty I karbonilni hrupy bilkiv // *Ukr. biokhim. zhurn.* – 2004. – T. 26. – S. 136–141.
17. *Dybinina Ye. Ye.* Okislityelnyy stress i okislityelnaya modifikatsiya belkov // *Med. Chemistry.* – 2001. – V. 2. – P. 5–12.
18. *Babizhayev M. A.* Mitochondria induce oxidative stress, generation of reactive oxygen species and redox state unbalance of the eye lens leading to human formation: disruption of redox lens organization by phospholipid hydroperoxides // *Cell Biochem. Funct.* – 2011. – V. 29, N 3. – S. 183–206. <https://doi.org/10.1002/cbf.1737>
19. *Korolyuk M. A., Ivanova L. I., Mayorova I. G.* Myetod opryedilyeniya aktivnosti katalazy // *Laboratormoye dyelo.* – 1988. – № 1. – S. 16–19.
20. *Shelamova M. A., Insarova N. I., Lieshchienko V. H.* Statisticheskii analiz miediko-biologichieskikh dannykh s ispolzovaniem programmy EXCEL. – Minsk: BGMU, 2010. – 96 s.
21. *Jannot A. S., Agoritsas T., Gayet-Ageron A.* Citation bias favoring statistically significant studies was present in medical research // *J. Clin. Epidemiol.* – 2013. – V. 66, N 3. – P. 296–301. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2012.09.015>
22. *Drohovor S. M., Mishchenko O. Ya., Kalko K. O. et al.* Tsyryadianni rytmy rozvytku eksperymentalnoho parasetamolovoho hepatytu ta vplyv hepatoprotektoriv na aktyvnistj prooksydantno/antyoksydantnykh I tsytolitychnykh protsesiv // *Klin. farmatsiya.* – 2019. – T. 23, № 2. – S. 15–24. <https://doi.org/10.24959/cphj.19.1485>

Надійшла до редакції 13 квітня 2021 р.
Прийнято до друку 10 травня 2021 р.

I. I. Герасимець (<http://orcid.org/0000-0001-7108-3251>),
Л. С. Фіра (<http://orcid.org/0000-0002-5325-0973>),
І. І. Медвідь (<http://orcid.org/0000-0003-4703-4438>)

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

АКТИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ У ЩУРІВ ІЗ ПАРАЦЕТАМОЛОВИМ ГЕПАТИТОМ ТА КОРЕКЦІЄЮ ГУСТИМ ЕКСТРАКТОМ ІЗ ГРИБІВ ШІІТАКЕ

Ключові слова: гриби шіітаке, парацетамол, гепатит, густий екстракт, окиснювальний стрес, антиоксидантні властивості

А Н О Т А Ц І Я

Антиоксидантна система захисту організму тварин контролює та гальмує всі етапи реакцій утворення вільних радикалів, починаючи від їх ініціації та закінчуючи утворенням гідроперексидів та малонового діальдегіду. Порушення в роботі системи антиоксидантного захисту організму можуть спричинювати як ендо- так і екзогенні чинники, призводячи до розвитку оксидативного стресу. З метою мінімізації негативного впливу та корекції наявних порушень застосовують антиоксиданти як природного, так і синтетичного походження. Перевагу надають антиоксидантам природного походження через м'яку дію та мінімальну кількість побічних ефектів.

Упродовж тисячоліть гриби шіітаке відомі в Японії та Китаї як продукт, що представляє живильну та медичну цінність. Вони мають у своєму складі надзвичайно багатий комплекс різних біологічно активних речовин, які можуть виявляти антиоксидантну, гепатопротекторну дію та здійснювати вплив на патогенез захворювань печінки.

Метою дослідження було вивчення впливу густого екстракту з грибів шиїтаке на активність вільнорадикальних процесів та показники антиоксидантної системи за умов парацетамолового гепатиту у щурів.

Експериментальну роботу здійснювали на білих щурах-самцях, яких розділили на 10 груп, по 6 тварин у кожній. Гострий гепатит моделювали шляхом інтрагастрального введення парацетамолу у дозі 1250 мг/кг 1 раз на добу (протягом 2 діб) у вигляді суспензії у 2%-му розчині крохмального гелю. Досліджували вплив густого екстракту грибів шиїтаке на модельовану патологію, який вводили інтрагастрально за 2 години до введення парацетамолу та щоденно після ураження в дозі 150 мг/кг маси тіла щура. Препаратом порівняння було обрано Силибор, який вводили за тією самою схемою, що і досліджуваний екстракт, в дозі 20 мг/кг маси тіла тварини. Евтаназію робили на 3-тю, 7-му та 10-ту добу від початку ураження. Дослідженню піддавали гомогенат печінки та сироватку крові тварин. Ефективність густого екстракту грибів шиїтаке за умов модельованої патології оцінювали за супероксиддисмутазою та каталазною активністю, а також за вмістом ТБК-активних продуктів та продуктів окисної модифікації протеїнів.

Про ураження печінки та розвиток гострого гепатиту у щурів свідчить підвищення вмісту ТБК-активних продуктів та продуктів окисної модифікації протеїнів у сироватці крові та печінці тварин після токсичного впливу парацетамолу. Також відзначали зниження активності таких ензимів антиоксидантного захисту як каталаза та супероксиддисмутаза.

Виконані нами дослідження дали змогу виявити позитивний вплив густого екстракту з грибів шиїтаке на активність процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів за умов ураження білих щурів парацетамолом.

И. И. Герасимец (<http://orcid.org/0000-0001-7108-3251>),

Л. С. Фира (<http://orcid.org/0000-0002-5325-0973>),

И. И. Медвидь (<http://orcid.org/0000-0003-4703-4438>)

Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МОЗ Украины

АКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ У КРЫС С ПАРАЦЕТАМОЛОВЫМ ГЕПАТИТОМ И КОРРЕКЦИЕЙ ГУСТЫМ ЭКСТРАКТОМ ИЗ ГРИБОВ ШИИТАКЕ

Ключевые слова: грибы шиитаке, парацетамол, гепатит, густой экстракт, окислительный стресс, антиоксидантные свойства

А Н Н О Т А Ц И Я

Антиоксидантная система защиты организма животных контролирует и тормозит все этапы реакций образования свободных радикалов, начиная от их инициации и заканчивая образованием гидроперексидов и малонового диальдегида. Нарушения в работе системы антиоксидантной защиты организма могут вызвать как эндо- так и экзогенные факторы, приводя к развитию оксидативного стресса. С целью минимизации негативного влияния и коррекции имеющихся нарушений применяют антиоксиданты как природного, так и синтетического происхождения. Предпочтение отдается антиоксидантам природного происхождения из-за мягкого действия и минимального количества побочных эффектов.

В течение тысячелетий грибы шиитаке известны в Японии и Китае как продукт, представляющий питательную и медицинскую ценность. Они имеют в своем составе чрезвычайно богатый комплекс различных биологически активных веществ, которые могут проявлять антиоксидантное, гепатопротекторное действие и оказывать влияние на патогенез заболеваний печени.

Целью исследования было изучение влияния густого экстракта грибов шиитаке на активность свободнорадикальных процессов и показатели антиоксидантной системы в условиях парацетамолового гепатита у крыс.

Экспериментальную работу выполняли на белых крысах-самцах, которых разделили на 10 групп, по 6 животных в каждой. Острый гепатит моделировали путем интрагастрального введения парацетамола в дозе 1250 мг/кг 1 раз в сутки (в течение 2 суток) в виде суспензии в 2%-м растворе крахмального геля. Исследовали влияние густого экстракта грибов шиитаке на вызванную патологию, который вводили интрагастрально за 2 часа до введения парацетамола и ежедневно после поражения в дозе 150 мг/кг массы тела крысы. Препаратом сравнения был выбран Силибор, который вводили по той же схеме, что и исследуемый экстракт, в дозе 20 мг/кг массы тела животного. Евтаназію выполняли на 3-и, 7-е и 10-е сутки от начала поражения. Исследованию подвергали гомогенат печени и сыворотку крови животных. Эффективность густого экстракта грибов шиитаке в условиях моделированной патологии оценивали по супероксиддисмутазной и каталазной активности, а также по содержанию ТБК-активных продуктов и продуктов окислительной модификации протеинов.

О поражении печени и развитии острого гепатита у крыс свидетельствует повышение содержания ТБК-активных продуктов и продуктов окислительной модификации протеинов в сыворотке крови и печени животных после токсического воздействия парацетамола. Также отмечали снижение активности таких энзимов антиоксидантной защиты как каталаза и супероксиддисмутаза.

Выполненные нами исследования дали возможность обнаружить положительное влияние густого экстракта грибов шиитаке на активность процессов липопероксидации и окислительной модификации протеинов в условиях поражения белых крыс парацетамолом.

I. I. Herasymets (<http://orcid.org/0000-0001-7108-3251>),

L. S. Fira (<http://orcid.org/0000-0002-5325-0973>),

I. I. Medvid (<http://orcid.org/0000-0003-4703-4438>)

Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine

ACTIVITY OF FREE RADICAL OXIDATION PROCESSES IN RATS WITH PARACETAMOL
HEPATITIS AND CORRECTION WITH SHIITAKE MUSHROOMS THICK EXTRACT

Key words: shiitake mushrooms, paracetamol, hepatitis, thick extract, oxidative stress, antioxidant properties
A B S T R A C T

The antioxidant defense system controls and inhibits all stages of free radical formation reactions, which start from their initiation and end with the formation of hydroperoxides and malonic dialdehyde. Disorders of the body's antioxidant defense system can be caused by both endogenous and exogenous factors and can lead to the oxidative stress development. For the purpose of the negative impact minimizing and correction of the existing disorders, both natural and synthetic origin antioxidants are used. Preference is given to antioxidants of natural origin, due to their mild action and minimal side effects.

Shiitake mushrooms are known in China and Japan as a product that has nutritional and medicinal value, for thousands of years. They contain an extremely rich complex of various biologically active substances that can have antioxidant, hepatoprotective effect and influence on the liver diseases pathogenesis.

The aim of the work was to investigate the effect of shiitake mushrooms thick extract on the activity of free radical processes and indicators of the antioxidant system under the conditions of paracetamol hepatitis in rats.

The experimental work was being conducted on the white male rats, which were divided into 10 groups of 6 animals each. Acute hepatitis was simulated by intragastric administration of paracetamol in a dose of 1250 mg/kg 1 time per day (for 2 days) as a suspension in 2% starch gel solution. We investigated the effect of shiitake mushrooms thick extract on the induced pathology, which was administered intragastrically 2 hours before the paracetamol introduction and daily after the lesion in a dose of 150 mg/kg of the rat's body weight. Silibor was selected as the comparison drug, which was administered according to the same scheme like the investigated extract in a dose of 20 mg/kg of the animal's body weight. Euthanasia was conducted on the 3rd, 7th and 10th day after the onset of the lesion. Liver homogenate and animal serum were examined. The effectiveness of shiitake mushrooms thick extract was evaluated under the conditions of the caused pathology by superoxide dismutase and catalase activity, as well as by the content of TBA-active and proteins oxidative modification products.

An increasing of the TBA-active products content and the products of proteins oxidative modification in the serum and liver of animals after the toxic paracetamol exposure testifies to the liver damage and the development of acute hepatitis in rats. Decreased activity of antioxidant enzymes such as catalase and superoxide dismutase was also noted.

An investigation, which was conducted by us, allowed us to reveal a positive effect of shiitake mushrooms thick extract on the activity of lipoperoxidation and oxidative modification of proteins under the conditions of white rats paracetamol lesion.

*Електронна адреса для листування з авторами: irunaherasymets@gmail.com
(Герасимець І. І.)*