

**DEPENDENCE OF THE INDICES OF THE RAT LIVER PRO- AND ANTIOXIDANT GLUTATHIONE SYSTEM ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE PINEAL GLAND***I.F.Meshchysheh, E.L.Lenga*

**Abstract.** A dependence of the indices of the prooxidant(malonic aldehyde, oxidative protein modification) and the activity of the antioxidant glutathione system of the rat liver has been studied under conditions of a varying photoperiod. By means of modeling a diverse duration of a photoperiod(complete light and complete darkness changes) of the epiphiseal functional activity were evoked. A dependence of changed parameters on the duration of the light period of a 24-hour period has been shown.

**Key words:** glutathione system, malonic aldehyde, oxidative protein modification, rat liver, chronorhythms, pineal gland.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. В.Ф.Мислицький

Buk. Med. Herald. – 2007. – Vol.11, №4.- P.111-115

Надійшла до редакції 7.08.2007 року

УДК 616.441 – 008.64 – 085:616.15

*О.А.Оленович***ВПЛИВ ЕСКУЗАНУ НА СТАН ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ТА ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГІПОТИРЕОЗІ**

Кафедра внутрішньої медицини, фізіотерапії, ендокринології та інфекційних хвороб (зав. – проф. О.І.Федів)  
Буковинського державного медичного університету, м.Чернівці

**Резюме.** Досліджено вплив ескузану на процеси пероксидного окиснення ліпідів, пероксидної модифікації білків та стан системи антиоксидантного захисту крові та щитоподібної залози за умов експериментального гіпотиреозу. Встановлено, що введення ескузану щурам із мерказоліловим гіпотиреозом сприяє зменшенню вмісту кінцевих продуктів ліпо- та протеїнопе-

роксидації, а також нормалізації активності ферментів протирадикального захисту в плазмі крові, еритроцитах і тканині щитоподібної залози.

**Ключові слова:** гіпотиреоз, пероксидне окиснення ліпідів, пероксидна модифікація білків, антиоксидантний захист, ескузан.

**Вступ.** Останнім часом велика увага приділяється дослідженню процесів вільнорадикального окиснення, які, з одного боку, можна розглядати, як неспецифічну адаптаційну реакцію організму, а з другого – як універсальний механізм пошкодження біоструктур при патології [1].

До широкого кола захворювань, у патогенезі яких важливе місце посідають порушення пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та пероксидної модифікації білків (ПМБ), без сумніву, належать і тиреопатії [1]. Разом з тим, робіт, присвячених впровадженню антиоксидантної терапії в комплекс лікування тиреопатій, небагато. З огляду на це, обґрунтування особливостей пероксидації під час формування тиреоїдної патології є актуальним і зумовлює пошук ефективних засобів патогенетичного лікування, до спектра дії яких входять антиоксидантні властивості. Так, препарати, виготовлені на основі кінського каштану, попри виражену вазопротекторну і вазотонізуючу, протизапальну і протинабрякову, антикоагулянтну та фібринолітичну дію, виявляють і виражений антиоксидантний вплив [2]. До них належить ескузан – екстракт насіння гіркокаштану, наявність у складі якого флавоноїдів кверцитрину та ізокверцитрину, аскорбінової кислоти та рутину, які є природними антиоксидантами, забезпечує знач-

ний позитивний його ефект на процеси ПОЛ та антиоксидантного захисту (АОЗ) [2,7].

**Мета дослідження.** Встановити характер дії дефіциту гормонів щитоподібної залози (ЩЗ) на процеси ліпо- та протеїнопероксидації, а також вивчити можливість застосування ескузану для їх корекції в комплексному лікуванні патології щитоподібної залози.

**Матеріал і методи.** Експерименти виконані на 48 статевозрілих нелінійних самцях білих щурів, які утримувалися за стандартних умов віварію. Експерименти проведені з дотриманням Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986).

Для моделювання гіпотиреозу 38 тваринам внутрішньошлунково вводили мерказоліл у дозі 10 мг/кг маси тіла. Через 14 діб від початку формування патології проводили евтаназію 18 експериментальних тварин та тварин контрольної групи (10) шляхом декапітації під легкою ефірною анестезією. Решті гіпотиреоїдних щурів впродовж наступних 14 діб вводили ескузан у дозі 100 мг  $\alpha$ -есцину/кг маси тіла [7] та відповідний об'єм розчинника (по 10 тварин у кожній експериментальній серії). Об'єктами дослідження в щурів були плазма крові, еритроцити та тканина

ЩЗ. Кров стабілізували гепарином, центрифугували 15 хвилин при 3000 об/хв, відокремлювали плазму від формених елементів. Суспензію еритроцитів отримували триразовим промиванням фізіологічним розчином натрію хлориду у співвідношенні 1:10. Тканину ЩЗ забирали одразу після декапітації щурів, відмивали від домішок крові і гомогенізували для подальшого аналізу.

Стан ПОЛ оцінювали за вмістом малонового альдегіду (МА) та дієнових кон'югатів (ДК) [3], системи АОЗ – за рівнем супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ) [6], глутатіонпероксидази (ГПО) [4], а також церулоплазміну (ЦП). Оцінку інтенсивності ПМБ проводили за рівнем динітрофенілгідрозонів (ДФГ) [8].

Одержані дані опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Стюдента [5].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Як свідчать дані таблиці 1, у плазмі крові гіпотиреоїдних щурів вірогідне пригнічення глутатіонпероксидазної та каталазної реакцій майже у 2 рази поєднується з недостатньою протирадикальною ємністю ЦП, що, незважаючи на компенсаторну дворазову активацію СОД, призводить до підвищення плазматичного вмісту вторинних продуктів ПОЛ.

Незважаючи на певну оптимізацію показників АОЗ у гіпотиреоїдних тварин, що замість ескузану отримували розчинник, всі вони не зазнавали вірогідних змін порівняно з показниками, отриманими на 14-у добу уведення мерказолілу.

Таблиця 1

**Вплив ескузану на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів та активність ферментів протирадикального захисту в плазмі крові щурів з експериментальним гіпотиреозом ( $X \pm Sx$ )**

Показник	Група, кількість тварин			
	Контроль, n=10	Гіпотиреоз, n=18	Гіпотиреоз + розчинник, n=10	Гіпотиреоз + ескузан, n=10
Малоновий альдегід, нмоль/мг білка	0,87±0,02	1,07±0,03 p<0,001	1,15±0,03 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,09	0,60±0,02 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	1,37±0,04	1,01±0,01 p<0,001	0,96±0,03 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,06	1,23±0,07 p=0,1 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,01
Активність супероксиддисмутази, од./мг білка	0,52±0,03	1,02±0,07 p<0,001	0,98±0,08 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,7	0,54±0,06 p>0,7 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
Активність глутатіон-пероксидази, мкмоль GSH/мг білка	0,41±0,04	0,22±0,02 p<0,001	0,19±0,02 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,3	0,32±0,02 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,001
Церулоплазмін, ΔЕ/г білка	82,37±1,27	89,11±2,23 p<0,05	90,46±2,96 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,7	88,41±3,54 p>0,1 p <sub>1</sub> >0,8 p <sub>2</sub> >0,6

Примітка. p – ступінь вірогідності різниці показників відносно контролю; p<sub>1</sub> – ступінь вірогідності різниці показників відносно таких у тварин групи “гіпертиреоз”; p<sub>2</sub> – ступінь вірогідності різниці показників у групах “гіпертиреоз+розчинник” та “гіпертиреоз+ескузан”

У наступних таблицях даного розділу p, p<sub>1</sub>, p<sub>2</sub> аналогічно.

Таблиця 2

**Вплив ескузану на вміст малонового альдегіду й активність каталази в еритроцитах щурів з експериментальним гіпотиреозом ( $X \pm Sx$ )**

Показник	Група, кількість тварин			
	Контроль, n=10	Гіпотиреоз, n=18	Гіпотиреоз + розчинник, n=10	Гіпотиреоз + ескузан, n=10
Малоновий альдегід, мкмоль/мл еритроцитів	9,59±0,36	15,43±0,52 p<0,001	14,71±0,45 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,3	11,27±0,40 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
Активність каталази, мкмоль/хв. •мл еритроцитів	165,68±6,11	171,57±2,36 p>0,3	173,60±3,01 p>0,2 p <sub>1</sub> >0,6	163,36±3,53 p>0,7 p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,05

Таблиця 3

**Вплив ескузану на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів і білків та активність ферментів протирадикального захисту в тканині щитоподібної залози щурів з експериментальним гіпотиреозом ( $X \pm Sx$ )**

Показник	Група, кількість тварин			
	Контроль, n=8	Гіпотиреоз, n=18	Гіпотиреоз + розчинник, n=10	Гіпотиреоз + ескузан, n=10
Малоновий альдегід, нмоль/мг білка	1,46±0,05	1,33±0,07 p>0,2	1,35±0,05 p>0,1 p <sub>1</sub> >0,8	1,45±0,06 p=0,9 p <sub>1</sub> >0,2 p <sub>2</sub> >0,2
Дієнові кон'югати, нмоль/мг білка	3,15±0,14	3,40±0,20 p>0,4	3,36±0,22 p>0,3 p <sub>1</sub> =0,9	2,90±0,20 p>0,3 p <sub>1</sub> >0,1 p <sub>2</sub> >0,1
Активність супероксиддисмутази, од./мг білка	0,68±0,05	1,14±0,08 p<0,001	1,20±0,06 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,6	0,66±0,05 p>0,7 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
Активність глутатіон-пероксидази, мкмоль GSH/хв на мг білка	1,32±0,09	1,87±0,13 p<0,02	1,92±0,10 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,7	1,42±0,14 p>0,5 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,01
Динітрофенілгідрозони нейтральні, ммоль/г білка, 370 нм	3,24±0,33	7,93±0,48 p<0,001	8,58±0,45 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,3	2,74±0,23 p>0,2 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001
Динітрофенілгідрозони основні, о.о.г./г білка, 430 нм	12,80±1,01	52,10±2,98 p<0,001	49,74±2,60 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,6	13,95±1,64 p>0,5 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001

Призначення ескузану гіпотиреоїдним тваринам призводило до зниження плазмового рівня МА на 43,9%, який зменшувався навіть щодо контролю (на 31,0%). Водночас вміст у плазмі крові ДК підвищувався на 21,8% і не відрізнявся від контрольних показників.

В еритроцитах щурів з експериментальним гіпотиреозом підвищений у 1,6 раза вміст МА під впливом ескузану зменшувався на 27,0%, однак залишався на 17,5% більшим, ніж у контролі. Активність КТ вірогідних змін не зазнавала і відповідала контролю (табл. 2).

У тканині щитоподібної залози тварин із мерказоліловим гіпотиреозом висока антиоксидантна активність СОД та ГПО, ймовірно, стримує і компенсує вільнорадикальні процеси, проте інтенсивність ПМБ набуває максимальних значень (табл. 3). Під впливом ескузану в тканині ЩЗ тварин з експериментальним гіпотиреозом змін вмісту МА та ДК не відбувалося – зазначені показники ПОЛ залишалися на контрольному рівні. Активність СОД за дії ескузану зменшувалася на 42,1%, активність ГПО – на 24,1%, що призводило до нормалізації даних параметрів протирадикального ферментативного захисту. Рівень ДФГ нейтрального характеру знижувався у 2,9 раза, кількість основних ДФГ – у 3,7 раза, внаслідок чого вміст у тканині ЩЗ зазначених похідних ПМБ відповідав контрольним величинам.

Отже, призначення ескузану щурам з експериментальним гіпотиреозом сприяє зменшенню плазмового вмісту МА та ДК, а також нормалізації активності СОД та ГПО, не впливає на рівень у крові ЦП. На клітинному рівні ефекти ескузану виражені меншою мірою, оскільки вміст в еритроцитах МА, хоча й зменшується, але не досягає контролю. У тканині ЩЗ гіпотиреоїдних щурів, які отримували ескузан, вміст МА, ДК, нейтральних і основних ДФГ, а також активність СОД та ГПО наближалися до контрольних значень.

Вказані позитивні ефекти ескузану підкреслюють можливість його застосування для оптимізації прооксидантно-оксидантного балансу крові та ЩЗ на фоні гіпотиреозу.

### Висновки

1. У гіпотиреоїдних тварин спостерігається зрив компенсаторної діяльності антиоксидантних ферментів: їх недостатня протирадикальна ємність зумовлює накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів чи пероксидно модифікованих білків у плазмі крові, еритроцитах і тканині щитоподібної залози.

2. Уведення ескузану щурам з експериментальним гіпотиреозом сприяє зменшенню вмісту первинних і вторинних продуктів ліпо- та протеїнопероксидації та нормалізації активності ферментів протирадикального захисту в плазмі крові, еритроцитах і тканині щитоподібної залози.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідження ефектів ескузану в клініці та його апробація в комплексному лікуванні захворювань ЩЗ.

#### Література

1. Аметов А.С., Белоножкіна Е.С., Павлюченко І.І. і др. Про- і антиоксидантна система у больных гіпотиреозом і її змінення під впливом препаратів ліпоєвої кислоти // Пробл. ендокринолог. – 2007. – Т.53, №2. – С.49-54.
2. Вандышев В.В. Старинное лекарственное растение – конский каштан обыкновенный – источник современных эффективных лекарственных средств // Мед. помощь. – 2002. – №5. – С.36-38.
3. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С.33-36.
4. Геруш І.В., Мецишен І.Ф. Стан глутатіонової системи за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настойки ехінацеї пурпурової // Вісн. проблем біол. і мед. – 1998. – №7. – С.10-15.
5. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459с.
6. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С.16-19.
7. Лакиза Т.Ю., Омеляненко З.П., Могирева Л.А. Изучение специфических свойств препарата венотон // Фармакол. вісник. – Листопад-грудень, 2000. – С.31-33.
8. Мецишен І.Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сирватки) крові // Бук.мед.вісник. – 1998. – Т.2, №1. – С.156-158.

### ВЛИЯНИЕ ЭСКУЗАНА НА СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ И ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ

*О.А.Оленович*

**Резюме.** Исследовано влияние эскузана на процессы перекисного окисления липидов, перекисной модификации белков и состояние системы антиоксидантной защиты крови и щитовидной железы в условиях экспериментального гипотиреоза. Установлено, что введение эскузана крысам с мерказолиловым гипотиреозом способствует уменьшению содержания конечных продуктов липо- и протеинопероксидации, а также нормализации активности ферментов противорадикальной защиты в плазме крови, эритроцитах и ткани щитовидной железы.

**Ключевые слова:** гипотиреоз, перекисное окисление липидов, перекисная модификация белков, антиоксидантная защита, эскузан.

### THE INFLUENCE OF ESKUSAN ON THE STATE OF THE PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE BLOOD AND THYROID GLAND IN CASE OF EXPERIMENTAL HYPOTHYROIDISM

*О.А.Оленович*

**Abstract.** The influence of eskusan on the lipoperoxidation, peroxide protein modification processes and the state of the antioxidant defense system of the blood and thyroid gland were investigated in experimental hypothyroidism. It was established, that the administration of eskusan to the rats with mercasolil-induced hypothyroidism promoted a decrease of the content of lipo- and proteinperoxidation end products and a normalization of the activity of antiradical defense enzymes in the blood plasma, erythrocytes and thyroid tissue.

**Key words:** hypothyroidism, lipoperoxidation, peroxide protein modification, antioxidant defense, eskusan.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. І.Ф.Мецишен

Buk. Med. Herald. – 2007. – Vol.11, №4.- P.115-118

Надійшла до редакції 21.11.2007 року