

О.П. Васецька, В.С. Лісовська, М.Г. Проданчук, Т.М. Верис

Державне підприємство «Науковий центр превентивної токсикології, харчової і хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», м. Київ, Україна

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ КОМПЛЕКСУ N-ОКСИД- 2,6-ДИМЕТИЛ ПІРИДИНУ З БУРШТИНОВОЮ КИСЛОТОЮ (ПОТЕЙТІНУ) НА МОДЕЛІ ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ, СПРИЧИНЕНОГО ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

РЕЗЮМЕ. Регулятори росту рослин (PPR), зокрема метильні похідні N-оксид піридину, знижують гостру токсичність пестицидів, за тривалого впливу нівелюють гепатотоксичні ефекти хлорпірифосу та полегшують перебіг інтоксикації. Роль захисних систем організму за комбінованої дії PPR і пестицидів ще недостатньо з'ясовано. Дослідження захисної дії PPR Потейтіну за умов токсичного ураження печінки тетрахлорметаном (ТХМ) дозволить з'ясувати його механізми комбінованої дії. Результати роботи будуть використані для розробки профілактичних заходів інтоксикації пестицидами.

Мета. Дослідити гепатопротекторні властивості комплексу N-оксид-2,6-диметил піридину з бурштиновою кислотою (Потейтіну) на моделі гострого гепатиту, спричиненого тетрахлорметаном.

Матеріали та методи. Моделювали гострий гепатит на щурах-самцях Wistar Han за підшкірного введення ТХМ (х.ч) у вазеліновій олії (0,8 мл/100 г маси тіла) протягом 2 діб. Потейтін вводили в дозах 23 і 0,23 мг/кг, референтну речовину Силібор 35 – у дозі 5 мг/кг. Інтактні щури отримували вазелінову олію в тому ж об'ємі. Потейтін та Силібор вводили в лікувально-профілактичному режимі, перорально за 1 годину до введення і через 2 години після введення ТХМ. У сироватці крові визначали активність ферментів цитолізу та холестази, показники, що відображають функцію печінки, вміст продуктів переокислення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантну активність. Робили гістологічні дослідження тканини печінки. Розраховували індекс ефективності захисної дії Потейтіну. Результати були статистично оброблені за допомогою параметричного однофакторного ANOVA з тестом Фішера LSD post-hoc.

Результати та обговорення. ТХМ спричиняв гостре ураження печінки, а саме: підвищення активності маркерів цитолізу та холестази, зниження низки функціональних тестів, активності каталази, накопичення продуктів ПОЛ, жирову і балонну дистрофію гепатоцитів, лімфо-лейкоцитарну інфільтрацію. Потейтін на тлі ТХМ сприяв нормалізації активності маркерів цитолізу і холестази, відновленню функціональних показників, знижував вміст продуктів ПОЛ, підвищував активність каталази, зменшував ураження печінки. За захисним ефектом Потейтін не поступався Силібору.

Висновки. 1. Тетрахлорметан за умов гострого гепатиту викликає помірне ураження печінки. 2. Потейтін у дозах 23 і 0,23 мг/кг має виражений гепатопротекторний ефект: нормалізує активність ферментів цитолізу та холестази, функціональних показників – рівня глюкози, холестерину, загального протеїну та білірубину, сечовини; знижує інтенсивність ПОЛ і активацію антиоксидантної системи. 3. За захисним ефектом Потейтін в обох досліджених дозах за показниками цитолізу та холестази, функціональними тестами і морфоструктурними змінами в печінці співставний з референтним препаратом Силібором. Захисна дія Потейтіну, визначена за інтенсивністю ПОЛ, більша, ніж Силібором.

Ключові слова: гострий гепатит, тетрахлорметан, гепатопротекторна дія, комплекс N-оксид-2,6-диметил піридину з бурштиновою кислотою.

O. Vasetska, V. Lisovska, M. Prodanchuk, T. Verys

L.I. Medved's Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), Kyiv, Ukraine

EXPERIMENTAL STUDY OF THE HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF THE 2.6-DIMETHYL PYRIDINE N-OXIDE COMPLEX WITH SUCCINIC ACID (POTEITIN) ON THE MODEL OF CARBON TETRACHLORIDE-INDUCED TOXIC HEPATITIS

ABSTRACT. Plant growth regulators (PGR), in particular, methyl derivatives of pyridine N-oxide, reduce the acute toxicity of pesticides, reduce the hepatotoxic effects of chlorpyrifos and ease the course of intoxication under long-term exposure. The role of the body's defence systems under the combined effects of PGR and pesticides has not yet been sufficiently elucidated. The study of the protective effect of PGR Poteitin under the conditions of toxic damage to the liver by carbon tetrachloride (CCl₄) will allow finding

out the mechanisms of its combined action. The results of the research will be used to develop preventive measures for pesticide poisoning.

Aim. Investigate the hepatoprotective properties of the 2,6-dimethylpyridine N-oxide complex with succinic acid (Poteitin) on the model of acute hepatitis caused by carbon tetrachloride.

Materials and Methods. Acute hepatitis was modelled on male Wistar Han rats with subcutaneous injection of CCl₄ (pure substance) in petroleum jelly oil (0.8 ml/100 g of body weight) for 2 days. Poteitin was administered at the doses of 23 and 0.23 mg/kg, reference substance Silybor 35 – at the dose of 5 mg/kg. Intact rats received petroleum jelly oil in the same volumes. Poteitin and Silybor were administered in a treatment-prophylactically regimen, orally 1 hour pre- and 2 hours post-CCl₄. The activity of enzymes of cytolysis and cholestasis, indicators reflecting liver function, the content of lipid peroxidation (LP) products and antioxidant activity were determined in blood serum. Histological studies of liver tissue were carried out. The index of effectiveness of the protective effect of Poteitin was calculated. The results were statistically processed using the one-way ANOVA followed by Fisher's LSD post-hoc test.

Results and Discussion. CCl₄ caused acute liver damage: increased activity of markers of cytolysis and cholestasis, decrease in a number of functional tests, activity of catalase, LP products accumulation, fatty and balloon dystrophy of hepatocytes, lympho-leukocyte infiltration. Poteitin on the background of CCl₄ contributed to the normalization of the activity of markers of cytolysis and cholestasis, the restoration of functional indicators, reduced the content of LP products, increased the activity of catalase, and reduced liver damage. The protective effect of Poteitin was not inferior to Silybor.

Conclusions. 1. Under the conditions of acute hepatitis, carbon tetrachloride causes moderate liver damage. 2. Poteitin at the doses of 23 and 0.23 mg/kg has a pronounced hepatoprotective effect: it normalizes the activity of enzymes of cytolysis and cholestasis, functional indicators – the level of glucose, cholesterol, total protein and bilirubin, urea; reduces the intensity of LP and activation of the antioxidant system. 3. The protective effect of Poteitin at both tested doses as cytolysis and cholestasis indicators, functional tests and morphostructural changes in the liver is comparable to the reference drug Silybor. The protective effect of Poteitin, determined by the intensity of LP, is greater than that of Silybor.

Keywords: acute hepatitis, carbon tetrachloride, hepatoprotective effect, 2,6-dimethylpyridine N-oxide complex with succinic acid.

Вступ. Серед забруднювачів довкілля важливе місце посідають пестициди, які при надходженні до організму разом з іншими ксенобіотиками, що знаходяться в навколишньому середовищі, можуть спричинити різні патологічні стани організму людини та призводити до тяжких віддалених наслідків [1–4]. Більшість пестицидів є гепатотропними речовинами, тому за їхнього впливу на організм ступінь порушення гепатобіліарної системи та гомеостазу організму в цілому залежать від функціональних можливостей печінки як основного органу біотрансформації та детоксикації ксенобіотиків [2, 5–8].

У сучасних системах захисту рослин від хвороб і шкідників широко використовуються комбіновані препарати та бакові суміші, у складі яких застосовуються і регулятори росту рослин (PPP). За комбінованого впливу на організм пестицидів у багатьох випадках спостерігається потенціювання або сумація токсичності [9–12]. Комбіновану дію пестицидів і PPP за гострого та хронічного впливу на організм ще недостатньо досліджено.

Нами раніше встановлено [13–15], що за сумісного однократного перорального впливу різних хімічних груп засобів захисту рослин і PPP на основі метильних похідних N-оксид піридину, значно знижується гостра токсичність пестицидів. За субхронічного перорального впливу інсектициду хлорпірифосу і PPP 2,6-диметил-N-оксид піридину (Івіну) на організм щурів показано, що Івін

Introduction. Pesticides occupy an important place among environmental pollutants, which, when entering the body together with other xenobiotics in the environment, can cause various pathological conditions in the human body and lead to serious long-term consequences [1–4]. Most pesticides are hepatotropic substances, therefore, under their influence on body, the degree of disruption of the hepatobiliary system and the homeostasis of the body as a whole depend on the functional capabilities of the liver as the main organ of biotransformation and detoxification of xenobiotics [2, 5–8].

In modern plant protection systems against diseases and pests, combined chemicals and tank mixtures are widely used, which also include plant growth regulators (PRR). Under the combined effect of pesticides on the body, potentiation or summation of toxicity is observed in many cases [9–12]. The combined effect of pesticides and PGR under acute and chronic effects on the body has not yet been sufficiently investigated.

We have previously established [13–15] that the acute toxicity of pesticides is significantly reduced with the combined single oral exposure to various chemical groups of plant protection agents and PGRs based on methyl derivatives of N-pyridine oxide. At subchronic oral exposure to the insecticide chlorpyrifos and 2,6-dimethylpyridine N-oxide (Ivin) PGR to the body of rats, it was

зменшує гепатотоксичні ефекти, спричинені хлорпірифосом, що сприяє більш легкому перебігу інтоксикації. Не виключено, що захисна дія метильних похідних N-оксид піридину може бути пов'язана як з гепатопротекторною, так і антиоксидантною дією, що потребує детального вивчення.

Отже, дослідження захисної дії Потейтіну за умов токсичного ураження печінки тетра-хлорметаном (ТХМ) – проблема актуальна. Це дозволить з'ясувати його механізми комбінованої дії. Результати роботи будуть використані для розробки профілактичних заходів інтоксикацій пестицидами.

Мета. Дослідити гепатопротекторні властивості комплексу N-оксид-2,6-диметил піридину з бурштиною кислотою (Потейтін) на моделі гострого гепатиту, спричиненого тетрахлорметаном.

Матеріали та методи. У роботі використаний РРР комплекс 2,6-диметил-N-оксид піридину з бурштиною кислотою (Потейтін), 99,9 % синтезований в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України імені В.П. Кухаря.

В якості референтної речовини був лікарський засіб гепатопротекторної дії на основі силімарину – Силібор-35 (партія UA/5114/01/01, ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»). Для моделювання гострого гепатиту використовували ТХМ, виробництва НВП «Альфарус».

Дослідження проведено на 30 статево-зрілих щурах-самцях Wistar Han (SPF), які були отримані зі SPF розплідника дрібних лабораторних тварин ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України» та переміщені до SPF віварію зі збереженням статусу тварин. Тварини споживали збалансований гранульований корм 1324 Р виробництва Альтромін (Німеччина) і отримували деіонізовану, незаражену УФ-опроміненням та очищену зворотним осмосом, фільтровану питну воду ad libitum. Періодично здійснювався мікробіологічний контроль води та підстилочного матеріалу.

Дослідження на тваринах проведені у відповідності з принципами біоетики та вимог Комісії з питань етики медичних та біологічних досліджень Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка

shown that Ivin reduces the hepatotoxic effects caused by chlorpyrifos, which contributes to an easier course of intoxication. It is possible that the protective effect of methyl derivatives of N-pyridine oxide may be associated with both hepatoprotective and antioxidant effects, which require detailed study.

Therefore, the study of the protective effect of Poteitin under the conditions of toxic damage to the liver by carbon tetrachloride (CCl₄) is an urgent problem. This will make it possible to find out its mechanisms of combined action. The results of the research will be used to develop preventive measures for pesticide poisoning.

Aim. Investigate the hepatoprotective properties of the 2.6-dimethylpyridine N-oxide complex with succinic acid (Poteitin) on the model of acute hepatitis caused by carbon tetrachloride.

Materials and Methods. The PGR 2.6-dimethylpyridine N-oxide complex with succinic acid (Poteitin), 99.9 %, produced by NE ISTC "Agrobiotech", Kyiv, Ukraine.

As a reference substance a well-known Silymarin-based hepatoprotective medicine – Silybor-35 was used (batch UA/5114/01/01, Pharmaceutical company "Zdorovia", LTD, Kharkiv, Ukraine). To simulate acute hepatitis, carbon tetrachloride (CCl₄) produced by SIE "Alfarus" was used.

The study was conducted on 30 sexually mature male Wistar rats Han (SPF), which were obtained from the SPF nursery of small laboratory animals of the "L.I. Medved's Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical, Ministry of Health, Ukraine" (State Enterprise) and transferred to the SPF vivarium with preservation of the status of animals. The animals consumed balanced granulated feed 1324 P manufactured by Altromin (Germany) and received deionized, UV-irradiated and purified with reverse osmosis filtered drinking water ad libitum. Water and bedding material were subject to periodic microbiological control.

Research on animals was conducted in accordance with the principles of bioethics and the requirements of the Medical and Biological Research Ethics Commission of the "L.I. Medved's Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical,

Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України».

Експериментальний токсичний гепатит моделювали згідно з Методичними рекомендаціями [16]. Для відтворення гострого токсичного ураження печінки ТХМ підшкірно вводили щурам-самцям у вигляді 50 % розчину у вазеліновій олії в дозі 0,8 мл/100 г маси тіла протягом 2 діб.

Потейтін та референтну речовину Силібор вводили в лікувально-профілактичному режимі, перорально за 1 годину до введення ТХМ і через 2 години після введення ТХМ. Досліджувані дози Потейтіну – 23 мг/кг і 0,23 мг/кг, що відповідає $1/100$ і $1/10000$ від LD_{50} , Силібору – 5 мг/кг (терапевтична доза для людини в перерахунку на щурів). Контрольній групі тварин підшкірно вводили вазелінову олію в тому ж об'ємі. У кожній піддослідній групі знаходилось по 6 тварин.

Дослідження показників сироватки крові та печінки проводили через 24 години після останнього введення ТХМ. Для біохімічних досліджень, кров забирали зі стегнової вени після знеболення вуглекислим газом. Кров збирали в центрифужні пробірки, зволожені гепарином (1:3). Для отримання сироватки кров центрифугували на центрифугі Elmi CM-6M (Латвія) протягом 10 хвилин при 3000 об/хв.

У сироватці крові визначали активність ферментів маркерів цитолізу – аланінамінотрансферази (АЛТ) і аспартатамінотрансферази (АСТ), розраховували коефіцієнт де Рітиса [17]. Вираженість холестази оцінювали за активністю лужної фосфатази (ЛФ). Для оцінки функціонально-метаболічної активності печінки досліджували вміст загального протеїну, холестерину, загального білірубину, глюкози. Зазначені показники визначали за допомогою стандартних наборів реактивів виробництва фірми BioSystems (Іспанія) на біохімічному аналізаторі Vitalab Flexor E (Нідерланди). Вміст сечовини та креатиніну визначали за допомогою наборів реактивів для клінічної біохімії ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна) на UVA-спектрофотометрі Thermo Spectronic Helios Alpha 9423 (Англія).

Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю одного з ключових ферментів – каталази (КФ 1.11.1.6, H_2O_2 : H_2O_2 -оксидо-

Ministry of Health, Ukraine" (State Enterprise).

Experimental toxic hepatitis was modelled according to Methodical recommendations [16]. To reproduce acute toxic liver damage, CCl_4 was injected subcutaneously into male rats in the form of a 50 % solution in petroleum jelly oil at a dose of 0.8 ml/100 g of body weight for 2 days.

Poteitin and the reference medicine Silybor were administered in a curative and prophylactic regimen, orally 1 hour pre- CCl_4 and 2 hours post- CCl_4 . The investigated doses of Poteitin were 23 mg/kg and 0.23 mg/kg, which corresponds to $1/100$ and $1/10000$ of LD_{50} , Silybor – 5 mg/kg (therapeutic dose for humans recalculated for rats). The control group of animals was injected subcutaneously with petroleum jelly oil in the same volume. There were six animals in each experimental group.

The study of blood serum and liver parameters was carried out 24 hours after the last injection of CCl_4 . For biochemical studies, blood was collected from the femoral vein after carbon dioxide sedation. Blood was collected in centrifuge tubes moistened with heparin (1:3). To retrieve serum, the blood was centrifuged on an Elmi CM-6M centrifuge (Latvia) for 10 minutes at 3000 rpm.

In blood serum, the activity of cytolysis marker enzymes – alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) was determined; the De Ritis ratio was calculated [17]. Cholestasis manifestation was assessed by the activity of alkaline phosphatase (AP). To assess the functional and metabolic activity of the liver, the content of total protein, cholesterol, total bilirubin, and glucose was studied. The specified indicators were determined using standard sets of reagents manufactured by BioSystems (Spain) on a biochemical analyser Vitalab Flexor E (Netherlands). The urea and creatinine contents were determined using sets of reagents for clinical biochemistry produced by company LLC NPP "Filisit-Diagnostics" (Ukraine) and Thermo Spectronic Helios Alpha 9423 UVA spectrophotometer (UK).

The state of the antioxidant system was assessed by the activity of one of the key enzymes – catalase (EC 1.11.1.6, H_2O_2 :

редуктаза). Активність ферменту каталази в сироватці крові визначали за здатністю перекису водню утворювати зі солями молібдату стійкий забарвлений комплекс жовтого кольору, інтенсивність забарвлення якого залежить від вмісту H_2O_2 в розчині незруйнованому каталазою. Спектрофотометрію проводили при довжині хвилі 410 нм [18].

Стан прооксидантної системи оцінювали за накопиченням у тканинах печінки первинних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів (ДК), вторинних – малонового діальдегіду (МДА), кетодієнів (КД) і зв'язаних трієнів (ЗТ), кінцевих – шифових основ (ШО), що утворюються в результаті взаємодії вторинних продуктів з амінами (амінокислотами, протеїнами та їхніми компонентами різних клітинних структур).

Спонтанний (неіндукований) рівень МДА в тканинах печінки визначали за реакцією утворення забарвленого рожевого триметинового комплексу за взаємодії малонового діальдегіду з 2-тіобарбітуровою кислотою. Спектрофотометрію супернатанту проводили при довжині хвилі – 532 нм [19]. Вміст ДК, КД і ЗТ, ШО визначали екстракційно-спектрофотометричним методом, екстракцію з тканин печінки проводили в гептан-ізопропаноловій фазі [20]. Спектрофотометрію гептанового та ізопропілового ліпідного екстракту проводили при довжині хвилі 220, 232, 278 і 400 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм проти відповідного контролю. Результати виражали в одиницях індексів окислення (од. ІО): E_{232}/E_{220} – відносний вміст ДК; E_{278}/E_{220} – відносний вміст КД і ЗТ; E_{400}/E_{220} – відносний вміст ШО [20].

Для гістологічних досліджень відбирали зразки печінки в 6 щурів-самців із кожної групи. Зразки фіксували в 10 % нейтральному формаліні, зневоднювали в батареї спиртів зростаючої концентрації та заливали в парафінові блоки. За допомогою мікротому Microm HM 325 робили зрізи завтовшки 5–7 мкм. Депарафіновані зрізи забарвлювали за стандартною методикою гематоксилином та еозином (Г&Е) загальноприйнятими в морфологічних дослідженнях методами [21]. Мікроскопію гістологічних препаратів проводили за допомогою світлооптичного мікроскопу OPTON Axioskop (West Germany), фотофіксацію – за допомогою цифрової камери Canon EOS 1000D (Japan).

H_2O_2 -oxidoreductase). The catalase activity in blood serum was determined by the ability of hydrogen peroxide to form a stable yellow coloured complex with molybdate salts, the intensity of colour depends on the H_2O_2 content in the solution not destroyed by catalase. Spectrophotometry was performed at a wavelength of 410 nm [18].

The state of the pro-oxidant system was assessed by the accumulation in the liver tissues of primary LP products – diene conjugates (DC), secondary – malondialdehyde (MDA), ketodienes (KD) and conjugated trienes (CT), final – Schiff bases (SB), formed as a result of the interaction of secondary products with amines (amino acids, proteins and their components of various cellular structures).

The spontaneous (non-induced) level of MDA in liver tissues was determined by the reaction of the formation of a coloured pink trimethine complex upon the interaction of malondialdehyde with 2-thiobarbituric acid. Spectrophotometry of the supernatant was performed at a wavelength of 532 nm [19]. The content of DC, KD and CT, SB was determined by the extraction-spectrophotometric method, extraction from liver tissues was carried out in the heptane-isopropanol phase [20]. Spectrophotometry of the heptane and isopropyl lipid extract was performed at a wavelength of 220, 232, 278 and 400 nm in a cuvette with a layer thickness of 10 mm against the corresponding control. The results were expressed in oxidation index units (o.i.u.): E_{232}/E_{220} – relative DC content; E_{278}/E_{220} – relative KD and CT content; E_{400}/E_{220} – relative SB content [20].

For histological studies, liver samples were taken from six male rats from each group. The samples were fixed in 10% neutral formalin, dehydrated in a battery of alcohols of increasing concentration and embedded in paraffin blocks. Using a Microm HM 325 microtome, sections with a thickness of 5–7 μ m were made. Deparaffinised sections were stained according to the standard method with haematoxylin and eosin (H&E) by methods generally accepted in morphological studies [21]. Microscopy of histological preparations was performed using a OPTON Axioskop light microscope (West Germany) and photographed using a Canon EOS 1000D digital camera (Japan).

Для визначення гепатопротекторної дії Потейтіну та референтного препарату Силібору розраховували індекс ефективності ІЕ (у %) щодо позитивного контролю (ТХМ) [22].

ІЕ гепатопротекторної дії визначали за формулою:

$$IE = (I_k - I_d) / I_k \times 100,$$

де ІЕ (у %) – дольова різниця показників тяжкості ураження печінки в контрольній групі та групах тварин, які отримували препарати, що досліджувалися;

I_k та I_d – середні значення показників у контрольній та дослідній групах відповідно.

ІЕ обчислювали окремо за показниками ферментативних маркерів ушкодження печінки (АЛТ, АСТ, ЛФ), даними функціональних показників (загальний білірубін, загальний протеїн, холестерин, глюкоза, сечовина), вмістом продуктів ПОЛ у тканинах печінки в гептановій фазі та активністю каталази.

Позитивне значення ІЕ (плюс-ефект) – свідчить про зниження показника ураженості. Негативне значення ІЕ (мінус-ефект) свідчить про збільшення показника ураженості.

Статистична обробка даних. Результати показані як середнє арифметичне (M) і стандартна помилка середнього ($\pm m$). Відмінності між групами були проаналізовані за допомогою параметричного однофакторного ANOVA з тестом Фішера LSD post-hoc. Рівень статистичної значущості

Результати та обговорення

Результати досліджень біохімічних показників стану організму щурів за ізольованої дії ТХМ, а також Потейтіну і Силібору на тлі введення ТХМ надані в табл. 1.

Як видно з наведених даних (табл. 1), за ізольованої дії ТХМ спостерігалось вірогідне підвищення активності ферментів цитолізу АЛТ і АСТ відповідно на 94,88 % і 39,23 %, коефіцієнт де Рітиса знижувався на 28,66 %. Порівнюючи з інтактним контролем, підвищувались активність ЛФ на 81,40 %, вміст загального білірубину на 31,19 %, холестерину на 38,83 %, сечовини на 8,05 %. Зниження вмісту загального протеїну сироватки крові становило 5,19 %, глюкози – 23,27 %. Змін вмісту креатиніну не виявлено.

To determine the hepatoprotective effect of Poteitin and the reference drug Silybor, the efficiency index EI (%) was calculated in relation to the positive control (CC14) [22].

EI of hepatoprotective action was determined by the formula:

$$EI = (I_{\text{control}} - I_{\text{study}}) / I_{\text{control}} \times 100, \text{ where}$$

EI (%) is the percentage difference in the severity of liver damage in the control group and groups of animals that received the studied substance;

I_{control} and I_{study} are the average values of indicators in the control and experimental groups, respectively.

EI was calculated separately based on indicators of enzymatic markers of liver damage (ALT, AST, and AP), data of functional indicators (total bilirubin, total protein, cholesterol, glucose, and urea), and the content of LP products in liver tissues in the heptane phase, and catalase activity.

A positive value of EI (plus effect) indicates a decrease in the rate of damage. A negative value of EI (minus effect) indicates an increase in the rate of damage.

Statistics. The results were shown as the arithmetic mean (M) and standard error of mean ($\pm m$). Data variables between groups were analysed by parametric one-way ANOVA followed by Fisher's LSD post-hoc test. The level of statistical significance was $p \leq 0.05$.

Results and Discussion

The results of studies of biochemical indicators of the state of the body of rats under the isolated effect of CC14, as well as Poteitin and Silybor against the background of the introduction of CC14 are given in Table 1.

As can be seen from the given data (Table 1), under the isolated action of CC14, a statistically significant increase in the activity of cytolysis enzymes ALT and AST was observed by 94.88% and 39.23%, respectively, and the De Ritis coefficient decreased by 28.66 %. Compared with the intact control, the AP activity increased by 81.40 %, the content of total bilirubin – by 31.19 %, cholesterol – by 38.83 %, and urea – by 8.05 %. The decrease in total serum protein was 5.19 %, in glucose – was 23.27 %. No changes in creatinine content were detected.

Біохімічні показники стану організму щурів-самців ($n_1 = 6$) при пероральному введенні Потейтіну за умов моделювання гострого гепатиту тетрахлорметаном

Biochemical indicators of male rats after oral administration of Poteitin under the conditions of acute hepatitis caused by carbon tetrachloride ($n_1 = 6$)

Показники Indicator	Контроль Control	ТХМ, 0,8 мл/100 г м.т. CCl ₄ , 0.8 ml/100g bw	Потейтін, 23 мг/кг Poteitin, 23 mg/kg	Потейтін, 0,23 мг/кг Poteitin, 0,23 mg/kg	Силібор, 5 мг/кг Silybor, 5 mg/kg
ЛФ, У/л AP, U/l	234,83 ± 10,23	426,00 ± 15,97 ²⁾	294,50 ± 24,69 ^{2,3)}	301,67 ± 27,87 ^{2,3)}	282,33 ± 17,64 ^{2,3)}
АЛТ, У/л ALT, U/l	54,88 ± 3,30	106,95 ± 8,35 ²⁾	80,66 ± 3,85 ^{2,3)}	78,71 ± 6,47 ^{2,3)}	75,64 ± 4,71 ^{2,3)}
АСТ, У/л AST, U/l	86,2 ± 4,93	120,02 ± 8,43 ²⁾	97,56 ± 9,24	99,97 ± 11,01	98,91 ± 13,15
Коефіцієнт де Рітіса De Ritis ratio	1,57	1,12	1,21	1,27	1,31
Загальні протеїни, г/л Total proteins, g/l	54,23 ± 0,90	51,08 ± 0,79 ²⁾	52,79 ± 0,84	50,99 ± 0,57 ²⁾	51,50 ± 0,75 ²⁾
Загальний білі- рубін, мкмоль/л Total bilirubin, μmol/l	6,99 ± 0,33	9,17 ± 0,67 ²⁾	7,64 ± 0,44	8,23 ± 0,44 ²⁾	7,40 ± 0,83
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/l	1,03 ± 0,05	1,43 ± 0,10 ²⁾	1,09 ± 0,05 ³⁾	1,11 ± 0,16	1,12 ± 0,08 ³⁾
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/l	7,82 ± 0,13	6,00 ± 0,34 ²⁾	6,89 ± 0,39 ²⁾	6,68 ± 0,45 ²⁾	7,05 ± 0,22 ^{2,3)}
Сечовина, ммоль/л Urea, mmol/l	9,57 ± 0,17	10,34 ± 0,26 ²⁾	8,83 ± 0,25 ^{2,3)}	8,09 ± 0,28 ^{2,3)}	9,08 ± 0,24 ³⁾
Креатинін, мкмоль/л Creatinine, μmol/l	108,36 ± 8,40	98,71 ± 6,00	144,43 ± 11,92 ^{2,3)}	130,09 ± 9,76 ³⁾	166,79 ± 12,01 ^{2,3)}

Примітка: ¹⁾ n – кількість тварин у групі, ²⁾ – $p \leq 0.05$ по відношенню до контролю, ³⁾ – $p \leq 0.05$ по відношенню до ТХМ ($p \leq 0.05$ – статистично значима різниця між групами за допомогою Fisher's LSD post-hoc test).

Note: ¹⁾ n – number of animals in the group; ²⁾ – $p \leq 0.05$ in relation to the control; ³⁾ – $p \leq 0.05$ in relation to CCl₄ ($p \leq 0.05$ – significantly different between group by using Fisher's LSD post-hoc test).

За сумісного впливу ТХМ і Потейтіну в дозі 23 мг/кг вірогідних змін активності ферменту ЛФ, АСТ, вмісту загального протеїну, загального білірубину, холестерину в сироватці крові не виявлено. Активність АЛТ підвищувалась на 46,98 % та 25,41% по відношенню до інтактного контролю відповідно. Коефіцієнт де Рітіса був зменшеним на 22,93 %. Спостерігалось вірогідне зниження вмісту глюкози на 11,89 %, сечовини на 7,73 % і підвищення вмісту креатиніну на 33,29 %.

За сумісного впливу ТХМ і Потейтіну в дозі 0,23 мг/кг вірогідних змін активності ферментів АСТ, вмісту холестерину і креатиніну не виявлено. Спостерігалось підвищення активності ферментів АЛТ і ЛФ відповідно на 43,42 % і 28,46 %. Коефіцієнт де Рітіса був зниженим на 19,1 %. Виявлено вірогідне зниження вмісту загального протеїну на 5,97 %, глюкози на 14,58 % і сечовини на 15,46 % та збільшення вмісту загального білірубину на 17,74 %.

За впливу референтної речовини Силібору в дозі 5 мг/кг ураження печінки, спричинене ТХМ, зменшувалось. Так, у порівнянні з інтактним контролем, активність ферментів АЛТ вірогідно збільшувалась на 37,83 %. Коефіцієнт де Рітіса становив 1,31, що на 16,6 % менше, ніж в інтактному контролі. Вірогідно збільшувався вміст креатиніну на 53,92 %, знижувався вміст глюкози на 9,85 % і загального протеїну в сироватці крові на 5,03 %. Змін інших досліджених біохімічних показників не виявлено.

Гістологічні зміни тканини печінки інтактних щурів-самців за ізольованого впливу ТХМ та Потейтіну і Силібору на тлі ТХМ наведено на рис. 1.А-Е.

У зразках тканини печінки щурів з групи інтактного контролю будь-яких гістоморфологічних ушкоджень не виявлено (рис. 1.А).

Після впливу ТХМ у дозі 0,8 мл/100 г маси тіла (рис. 1.В), у гепатоцитах центральної зони переважно спостерігалася дрібно- та середньокрапельна вакуолізація, мала місце балонна дегенерація та некроз поодиноких гепатоцитів, на місці некротизованих гепатоцитів виявлено запальні клітинні інфільтрати; у окремих зразках – незначний гепатоцелюлярний холестаза. Гепатоцити перипортальної та інтермедіальної зони в усіх досліджених зразках не мали виражених змін. При візуальній оцінці зразків печінки

No statistically significant changes in AST enzyme activity, total protein and total bilirubin, cholesterol in blood serum were detected under the combined effect of CCl₄ and Poteitin at a dose of 23 mg/kg. The activity of ALT and AP increased by 46.98 % and 25.41 %, respectively, compared to the intact control. The De Ritis coefficient reduced by 22.93 %. A statistically significant decrease in glucose content by 11.89 %, urea by 7.73 % and an increase in creatinine content by 33.29 % was observed.

Under the combined effect of CCl₄ and Poteitin at a dose of 0.23 mg/kg, no statistically significant changes in the activity of AST enzymes, cholesterol and creatinine content were detected. An increase in the activity of ALT and AP enzymes by 43.42 % and 28.46 %, respectively, was observed. The De Ritis coefficient reduced by 19.1 %. A statistically significant decrease in the content of total protein by 5.97 %, glucose by 14.58 % and urea by 15.46 % and an increase in the content of total bilirubin by 17.74 % were observed.

The reference medicine Silybor at a dose of 5 mg/kg decreased CCl₄-caused liver damage. Thus, in comparison with the intact control, the activity of ALT and AP enzymes statistically significant increased by 37.83 % and 20.23 %, respectively. The De Ritis coefficient was 1.31, which is 16.6 % less than in the intact control. Creatinine content statistically significant increased by 53.92 %, glucose content decreased by 9.85 %, and total protein in serum by 5.03 %. Changes in other investigated biochemical indicators were not detected.

Histological changes in the liver tissue of intact male rats under isolated exposure to CCl₄ and exposure Poteitin and Silybor on the background of CCl₄ are shown in Figure 1.A-E.

No histomorphological damage was detected in the liver tissue samples of rats from the intact control group (Fig. 1.A).

After exposure to CCl₄ at a dose of 0.8 ml/100 g of body weight (Fig. 1.B), in hepatocytes in the centrilobular zone, mainly small- and medium-droplets vacuolization, balloon degeneration and necrosis of individual hepatocytes was observed; inflammatory cell infiltrates were found at the site of necrotized hepatocytes; a slight hepatocellular cholestasis in individual samples was

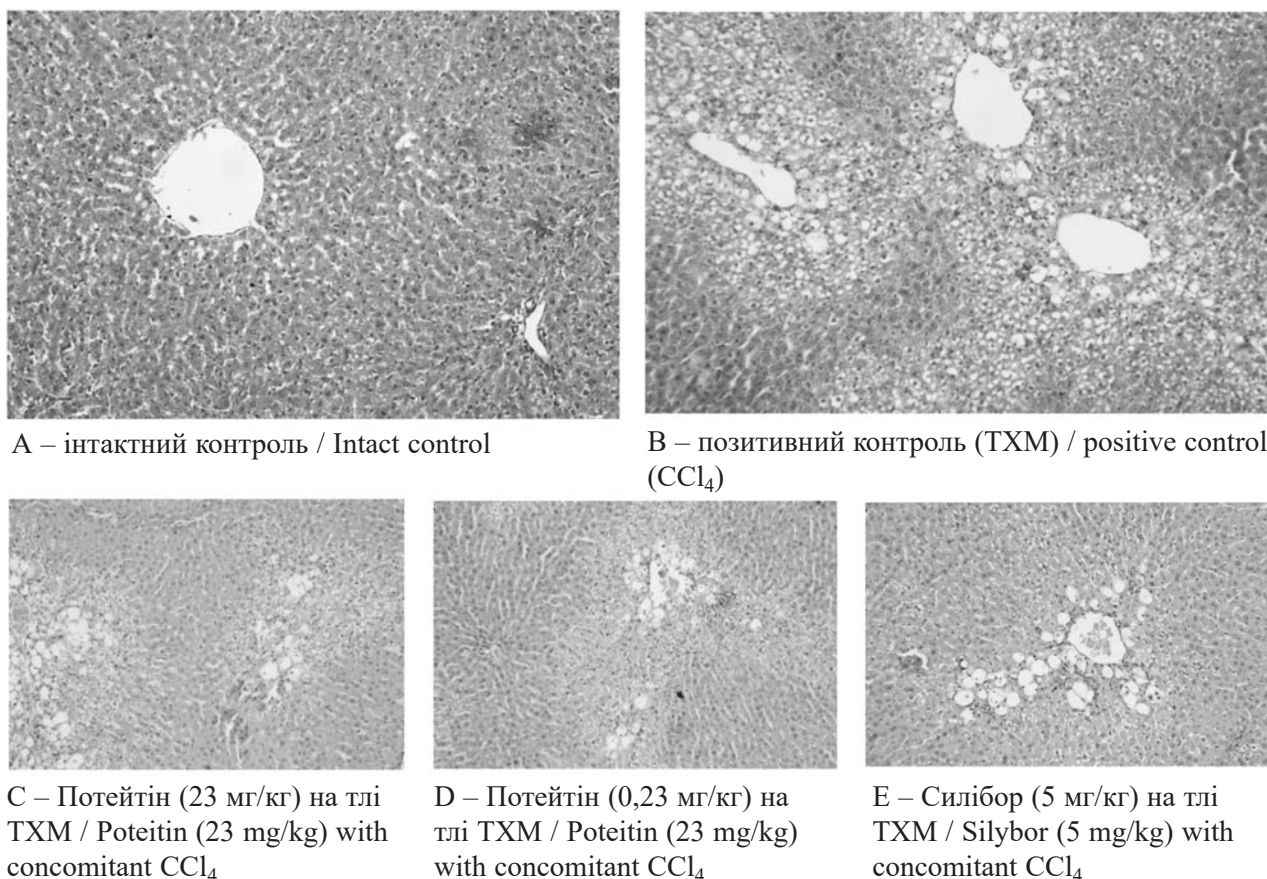


Рис. 1. Типовий гістологічний аналіз печінки контрольних щурів (А), щурів з ТХМ-індукованим гепатитом (В), щурів, які отримували Потейтін (С, D), та щурів, які отримували референтну речовину Силібор (Е) на тлі введення ТХМ (Г&Е, x200). А – інтактний контроль, без патологічних змін, В – позитивний контроль (ТХМ), виражені дистрофічні зміни гепатоцитів навколо центральних вен, С – Потейтін у дозі 23 мг/кг на тлі ТХМ, D – Потейтін в дозі 0,23 мг/кг на тлі ТХМ, Е – Силібор у дозі 5 мг/кг на тлі ТХМ: CV – центральна вена, PT – портальний тракт, BD – балонна дегенерація гепатоцитів, V – вакуолізація гепатоцитів, I – запальний клітинний інфільтрат.

Fig. 1. Typical histological picture of the liver of control model rats (A), rats with CCl_4 -induced hepatitis (B), rats administered Poteitin at doses of 23 mg/kg (C) and 0.23 mg/kg (D), and rats treated with reference medicine Silybor (E) with concomitant CCl_4 (H&E, x200). A – intact control, no pathological changes, B – positive control (CCl_4), pronounced dystrophic changes of hepatocytes around the central veins, C – Poteitin in a dose of 23 mg/kg with concomitant CCl_4 , D – Poteitin at a dose of 0.23 mg/kg with concomitant CCl_4 , E – Silybor at a dose of 5 mg/kg with concomitant CCl_4 : CV – central vein, PT – portal tract, BD – ballooning degeneration of hepatocytes, V – vacuolization of hepatocytes, I – inflammatory cellular infiltrate.

площа ураження тканини становила: 30–40 % у 2-х тварин; 40 % у 2-х тварин і 40–50 % ще у 2-х тварин.

За дії Потейтіну в обох досліджуваних дозах (рис. 1. С і D) та референтного препарату Силібору (рис. 1. Е) на тлі ТХМ гістологічні зміни структури печінки були аналогічними щодо змін, спричинених ТХМ, вони мали односпрямований характер, але дещо менше за ступенем виразності та площею

observed. Hepatocytes of periportal and intermediate zones in all the studied samples had no pronounced changes. At the visual assessment of liver samples, the area of tissue damage was: 30–40 % in 2 animals, 40% in 2 animals and 40–50 % in another 2 animals.

Under the action of Poteitin at both studied doses (Fig. 1.C and D) and the reference medicine Silybor (Fig. 1.E) on the background of CCl_4 , the histological changes in the liver

ураження печінки. Отже, при візуальній оцінці зразків печінки площа ураження тканини за дії Потейтіну в дозі 23 мг/кг становила 20–30 % у 1 тварини; 30–40 % у 3 тварин і 40–50 % у 2 тварин. За впливу Потейтіну в дозі 0,23 мг/кг площа ураження тканини становила: 20–30 % у 3 тварин і 40–50 % також у 3 із 6 тварин. За дії Силібору площа ураження тканини складала: 10–20 % у 1 тварини, 20–30 % у 1 тварини і 30–40 % у 4 була дещо меншою, ніж за ізольованого впливу ТХМ і Потейтіну в дозі 23 мг/кг на тлі ТХМ.

Одержані дані свідчать, що ТХМ за гострого впливу в досліджуваній дозі спричиняє ураження печінки, яке характеризується підвищенням активності ферментів маркерів цитолізу – АЛТ і АСТ, зниженням коефіцієнту де Рітіса, підвищенням активності ЛФ, що є результатом порушення структури гепатоцитів і розвитку внутрішньопечінкового холестазу. Зниження в сироватці крові вмісту загального протеїну, глюкози, підвищення вмісту холестерину вказує на порушення білок-синтетичної функції печінки, вуглеводного та ліпідного обмінів. Підвищення вмісту загального білірубину може вказувати на порушення метаболічної функції печінки. На розвиток помірного гострого гепатиту за впливу ТХМ свідчать дані гістоморфологічних досліджень, що характеризуються формуванням дрібно- і середньокпельної жирової дистрофії гепатоцитів в поєднанні з гідропічною дистрофією з переважанням жирової, спостерегались мікроегнища лімфо-лейкоцитарної інфільтрації, що вказує на запальні процеси в печінці. Ступінь виразності альтерації від слабо- до помірно вираженої. Характер, направленість і вираженість змін функціонального стану та структури печінки за гострого впливу ТХМ співставний з даними літератури [23].

За впливу Потейтіну в досліджених дозах на тлі ТХМ зміни активності маркерів цитолізу та холестазу були виражені менше, ніж за ізольованої дії ТХМ і практично не відрізнялись від даних референтної речовини. Спостерегались відновлення активності АСТ за впливу Потейтіну та Силібору. Підвищення активності АЛТ і зниження коефіцієнта де Рітіса свідчить

structure were similar to the changes caused by sole CCl₄, were unidirectional in nature, but they had less degree of manifestation and the area of liver damage. Therefore, upon visual assessment of liver samples, the area of tissue damage under the action of Poteitin at a dose of 23 mg/kg was 20–30 % in one animal; 30–40 % in three animals and 40–50 % in two animals. Under the influence of Poteitin at a dose of 0.23 mg/kg, the area of tissue damage was 20–30 % in 3 animals and 40–50 % also in 3 out of 6 animals. Under the influence of Silybor, the area of tissue damage was: 10–20 % in one animal, 20–30 % in one animal, and 30–40 % in four animals was somewhat smaller than under the isolated effect of CCl₄ and Poteitin at a dose of 23 mg/kg on the background of CCl₄.

The obtained data indicate that acute exposure to CCl₄ at the studied dose causes liver damage, which is characterized by an increase in the activity of enzymes of cytolysis markers – ALT and AST, a decrease in the De Ritis coefficient, an increase in the activity of AP, which is the result of a violation of the structure of hepatocytes and the development of intrahepatic cholestasis. A decrease in the content of total protein, glucose, and an increase in cholesterol in the blood serum indicate a violation of the protein-synthetic function of the liver, carbohydrate and lipid metabolism. An increase in the content of total bilirubin may indicate a violation of the metabolic function of the liver. The development of moderate acute hepatitis under the influence of CCl₄ is evidenced by the data of histomorphological studies, which are characterized by the formation of small- and medium-drop fatty dystrophy of hepatocytes in combination with hydropic dystrophy with a predominance of a fatty one; micro foci with lympho-leukocyte infiltration was observed, which indicates inflammatory processes in the liver. The degree of manifestation of the alteration is from weak to moderately pronounced. The nature, direction, and severity of changes in the functional state and structure of the liver under acute exposure to CCl₄ are comparable to the data in the literature [23].

Under the influence of Poteitin at the studied doses on the background of CCl₄, changes in the activity of the markers of cytolysis and cholestasis were less pronounced than under the isolated effect of CCl₄ and practically did not

про ураження структури гепатоцитів, але менше, ніж за впливу ТХМ. У порівнянні з інтактним контролем і Силібором Потейтін незначно знижує вміст сечовини, а підвищення вмісту креатиніну більше виявлялося за впливу Силібору, ніж Потейтіну. Виразність ефекту за показниками загального протеїну, холестерину, глюкози за впливу Потейтіну була співставною з Силібором, за винятком вмісту загального білірубину за впливу Потейтіну в дозі 0,23 мг/кг, який був дещо вищим, ніж за впливу референтної речовини. Отже, за більшістю досліджених функціональних тестів Потейтін не відрізнявся від Силібору. Виявлені структурні зміни гепатоцитів за впливу Потейтіну в дозі 0,23 мг/кг і Силібору були виражені прирізом однаково і проявлялися менше, ніж за впливу ТХМ. За впливу Потейтіну в дозі 23 мг/кг прояви дистрофічних змін у гепатоцитах були дещо слабшими, ніж за впливу ТХМ і більш помірними, ніж за впливу Силібору.

Відомо [24, 25], що основним у механізмі токсичної дії ТХМ, як і більшості пестицидів, є стимуляція вільнорадикальних процесів, накопичення продуктів ПОЛ і пригнічення активності ферментів антиоксидантної системи, що сприяє розвитку окисного стресу, ушкодженню цілісності біомембран і порушенню функції різних систем організму.

Стан прооксидантної та антиоксидантної систем за впливу ТХМ, і його сумісного впливу з Потейтіном або Силібором надані в табл. 2.

Як видно із табл. 2, за гострого впливу ТХМ рівень МДА в тканинах печінки вірогідно підвищувався на 86,50 %, у гептановій фазі спостерігалось збільшення вмісту ДК на 280,30 %, КД і ЗТ на 142,22 %, ШО на 370,00 %. В ізопропаноловій фазі накопичення продуктів ПОЛ було меншим. Спостерігалась тенденція до збільшення вмісту ДК на 25,71 %, вміст КД і ЗТ вірогідно підвищувався на 130,00 %, і ШО – на 180,00 %. Спостерігалось вірогідне збільшення вмісту ДК на 25,71 %, КД і ЗТ – на 130,00 % та і ШО – на 180,00 %. Активність каталази в сироватці крові вірогідно знижувалась на 23,86 %.

differ from the data of the reference substance. Recovery of AST activity was observed under the influence of Poteitin and Silybor. An increase in the activity of ALT and a decrease in the De Ritis coefficient indicate damage to the structure of hepatocytes, but less than under the influence of CCl₄. Compared with the intact control and Silybor, Poteitin slightly reduces the content of urea, and the increase in creatinine content was more pronounced under the influence of Silybor than Poteitin. The manifestation of the effect in indicators of total protein, cholesterol, glucose under the influence of Poteitin was comparable to Silybor, except for the content of total bilirubin under the influence of Poteitin at a dose of 0.23 mg/kg, which was slightly higher than under the influence of the reference substance. Therefore, according to the majority of the studied functional tests, Poteitin did not differ from Silybor. The revealed structural changes of hepatocytes under the influence of Poteitin at a dose of 0.23 mg/kg and Silybor were expressed, for example, in the same way and were manifested less than under the influence of CCl₄. Under the influence of Poteitin at a dose of 23 mg/kg, the manifestations of dystrophic changes in hepatocytes were somewhat weaker than under the influence of CCl₄ and more moderate than under the influence of Silybor.

It is known [24, 25] that the main mechanism of the toxic effect of CCl₄, like of most pesticides, is the stimulation of free radical processes, the accumulation of lipid products and inhibition of the activity of enzymes of the antioxidant system, which contributes to the development of oxidative stress, damage to the integrity of biomembranes, and disruption of the function of various body systems.

The state of the pro-oxidant and antioxidant systems under the influence of CCl₄ and its combined influence with Poteitin or Silybor are given in Table 2.

As can be seen from the Table 2, under acute exposure to CCl₄, the level of MDA in liver tissues statistically significant increased by 86.50 %, in the heptane phase an increase in the content of DC by 280.30 %, KD and CT by 142.22 %, and SB by 370.00 % was observed. In the isopropanol phase, the accumulation of LP products was smaller. There was an increase tendency in the content of DC by 25.71 %, the content of KD and CT probably increased by 130.00 % and SB – by 180.00 %. The activity of catalase in blood serum probably decreased by 23.86 %.

Вплив Потейтіну на інтенсивність ПОЛ і активність антиоксидантної системи при моделюванні гострого гепатиту тетрахлорметаном ($n^1 = 6$)

Table 2

Effect of Poteitin with concomitant carbon tetrachloride on the intensity of LP and the activity of the antioxidant system ($n^1 = 6$)

Показники Indicator	Контроль Control	ТХМ, 0,8 мл/100 г м.т. CCl ₄ , 0.8 ml/100g bw	Потейтін, 23 мг/кг Poteitin, 23 mg/kg	Потейтін, 0,23 мг/кг Poteitin, 0,23 mg/kg	Силібор, 5 мг/кг Silybor, 5 mg/kg
Каталаза, мкат/л Catalase, mkat/l	1189,19 ± 67,21	905,41 ± 58,63 ²⁾	1259,91 ± 57,68 ³⁾	1239,19 ± 51,48 ³⁾	1250,45 ± 66,26 ³⁾
МДА, моль/г тканини печінки MDA, nmol/g of tissue	6,97 ± 0,66	12,99 ± 0,47 ²⁾	8,03 ± 0,72 ³⁾	7,50 ± 0,75 ³⁾	7,76 ± 0,66 ³⁾
<i>Гептанова фаза/ Heptane phase</i>					
ДК, од.ІО DC, o.i.u.	0,66 ± 0,07	2,51 ± 0,62 ²⁾	0,87 ± 0,15 ³⁾	1,20 ± 0,28 ³⁾	1,14 ± 0,28
КД і ЗТ, од.ІО KD і СТ, o.i.u.	0,45 ± 0,11	1,09 ± 0,31	0,24 ± 0,04 ³⁾	0,27 ± 0,01	0,75 ± 0,12
ШО, од.ІО SB, o.i.u.	0,040 ± 0,011	0,188 ± 0,057 ²⁾	0,020 ± 0,008 ³⁾	0,027 ± 0,012 ³⁾	0,099 ± 0,011 ²⁾
<i>Ізопропанолова фаза/ Isopropanol phase</i>					
ДК, од.ІО DC, o.i.u.	0,35 ± 0,05	0,44 ± 0,03	0,40 ± 0,01	0,39 ± 0,02	0,36 ± 0,02
КД і ЗТ, од.ІО KD і СТ, o.i.u.	0,10 ± 0,04	0,23 ± 0,04 ²⁾	0,19 ± 0,01 ²⁾	0,20 ± 0,03	0,14 ± 0,02
ШО, од.ІО SB, o.i.u.	0,010 ± 0,002	0,028 ± 0,002 ²⁾	0,008 ± 0,003 ³⁾	0,007 ± 0,002	0,016 ± 0,003 ³⁾

Примітка: ¹⁾ n – кількість тварин в групі, ²⁾ – $p \leq 0.05$ по відношенню до контролю, ³⁾ $p \leq 0.05$ по відношенню до ТХМ ($p \leq 0.05$ – статистично значима різниця між групами за допомогою Fisher's LSD post-hoc test)

Note: ¹⁾ n – number of animals in the group; ²⁾ – $p \leq 0.05$ in relation to control; ³⁾ – $p \leq 0.05$ in relation to CCl₄ ($p \leq 0.05$ – significantly different between group by using Fisher's LSD post-hoc test).

Отже, за гострої інтоксикації ТХМ збільшувався вміст первинних (ДК), вторинних (МДА, КД і ЗТ) і кінцевих (ШО) продуктів ПОЛ, знижувалась активність каталази – ферменту, який утилізує перекисні радикали (H₂O₂), що сприяло формуванню патології печінки. Виявлені ефекти за гострого впливу ТХМ узгоджуються з даними літератури [26].

Therefore, during acute CCl₄ intoxication, the content of primary (DC), secondary (MDA, KD and CT) and final (SB) LP products increased, the activity of catalase, an enzyme that utilizes peroxide radicals (H₂O₂), decreased, which contributed to the formation of liver pathology. The revealed effects of acute exposure to CCl₄ are consistent with literature data [26].

За впливу Потейтіну в дозах 23 мг/кг і 0,23 мг/кг, а також Силібору вірогідних змін вмісту МДА, щодо інтактного контролю, не виявлено, в гептановій фазі спостерігалась тенденція до збільшення вмісту ДК за впливу Потейтіну та вмісту ДК, КД і ЗТ, ШО за впливу Силібору. Разом з тим, у порівнянні з ТХМ, Потейтін значною мірою знижував накопичення продуктів ПОЛ, набагато більше, ніж Силібор. В ізопропаноловій фазі вірогідних змін вмісту продуктів ПОЛ не виявлено, за винятком того, що за впливу Потейтіну в дозах 23 мг/кг і 0,23 мг/кг спостерігалось статистично значиме збільшення вмісту КД і ЗТ відповідно на 90 % і 100 %.

Активність каталази в сироватці крові була дещо вищою ніж у контролі, але різниця не була вірогідною, проте щодо позитивного контролю (ТХМ) активність даного ферменту збільшувалась ($p < 0,05$) за сумісного впливу з Потейтіном у дозі 23 мг/кг на 39,15 %, у дозі 0,23 мг/кг на 36,87 % і Силібору на 38,11 %.

Оскільки в гептан екстрагуються в основному нейтральні ліпіди, а в ізопропанол – фосфоліпіди, то вміст продуктів ПОЛ у гептановій фазі свідчить про активацію або гальмування ПОЛ у нейтральних ліпідах, а в ізопропаноловій фазі – у фосфоліпідах [20]. Виходячи з результатів досліджень, можна вважати, що ТХМ інтенсифікує ПОЛ більше в нейтральних ліпідах, ніж у фосфоліпідах мембран гепатоцитів.

Одержані дані свідчать, що Потейтін і Силібор попереджають накопичення продуктів ПОЛ у тканинах печінки та інтенсифікують розклад перекису водню, що сприяє балансу про- і антиоксидантної систем організму та зменшенню ураження тканини печінки за гострого впливу ТХМ.

Ефективність захисної дії Потейтіну та Силібору за гострого ураження печінки ТХМ відображено в табл. 3. Як видно з табл. 3, найбільший захисний ефект при ураженнях печінки ТХМ спостерігається за його сумісного впливу з Потейтіном в обох досліджених дозах, про що свідчать ІЕ визначені за вмістом всіх досліджених продуктів ПОЛ (ІЕ від + 38,18 до + 89,36) і за активністю каталази (ІЕ – 36,87 і – 39,15). За дії Потейтіну ІЕ за показником

Under the influence of Poteitin at doses of 23 mg/kg and 0.23 mg/kg, as well as Silybor, no statistically significant changes in the MDA content were detected, compared to the intact control, in the heptane phase there was an increase tendency in the content of DC, KD and CT, SB, with the exception of a statistically significant increase in SB content (by 147.50 %) under the influence of Silybor. However, in comparison with CCl₄, Poteitin significantly reduced the accumulation of LP products, much more than Silybor. In the isopropanol phase, no probable changes in the content of LP products were detected, except that under the influence of Poteitin at doses of 23 mg/kg and 0.23 mg/kg, a significant increase in the content of KD and CT, was observed respectively by 90% ($p < 0.05$) and 100 % ($p > 0.05$).

The activity of catalase in blood serum was slightly higher than in the control, but the difference was not probable, however, in relation to the positive control (CCl₄), the activity of this enzyme increased ($p < 0.05$) under simultaneous exposure to Poteitin at a dose of 23 mg/kg by 39.15 %, at a dose of 0.23 mg/kg by 36.87 % and Silybor by 38.11 %.

Since neutral lipids are mainly extracted in heptane, and phospholipids in isopropanol, the content of LP products in the heptane phase indicates the activation or inhibition of LP in neutral lipids, and in the isopropanol phase – in phospholipids [20]. Based on the research results, it can be assumed that CCl₄ intensifies LP in neutral lipids more than in phospholipids of hepatocyte membranes.

The obtained data indicate that Poteitin and Silybor prevent the accumulation of LP products in liver tissues and intensify the decomposition of hydrogen peroxide, which contributes to the balance of the body's pro- and antioxidant systems and the reduction of liver tissue damage due to acute exposure to CCl₄.

The effectiveness of the protective action of Poteitin and Silybor for acute liver damage by CCl₄ is shown in the Table 3. As can be seen from the Table 3, the greatest protective effect in liver lesions of CCl₄ is observed under its combined effect with Poteitin at both tested doses, as evidenced by the EI determined by the content of all investigated LP products (EI from +38.18 to +89.36) and by the activity of catalase (EI -36.87 and -39.15). Under the action of Poteitin, EI is comparable to Silybor in terms of

Індекси ефективності (ІЕ) гепатопротекторної дії Потейтіну та Силібору, розраховані за дослідженими показниками

Table 3

An efficiency index (EI) range measuring the hepatoprotective effect of Poteitin and Silybor, by studied indicators

Показники / Indicators	Потейтін, 23 мг/кг / Poteitin, 23 mg/kg	Потейтін, 0,23 мг/кг / Poteitin, 0,23 mg/kg	Силібор, 5 мг/кг / Silybor, 5 mg/kg
ЛФ/ AP	+ 30,87	+ 29,19	+ 33,73
АЛТ/ALT	+ 24,58	+ 26,40	+ 29,28
АСТ/AST	+ 18,71	+ 16,71	+ 17,59
Загальні протеїни / Total proteins	- 3,35	+ 0,18	- 0,82
Загальний білірубін / Total bilirubin	+ 16,68	+ 10,25	+ 19,30
Холестерин/ Cholesterol	+ 30,09	+ 22,38	+ 21,68
Глюкоза/ Glucose	- 14,83	- 11,33	- 17,50
Сечовина/ Urea	+ 14,60	+ 21,76	+ 12,19
Креатинін / Creatinin	- 46,32	- 31,79	- 68,97
МДА/ MDA	+ 38,18	+ 42,26	+ 40,26
ДК/ DC	+ 65,34	+ 52,19	+ 54,58
КД і ЗТ/ KD and CT	+ 77,98	+ 75,23	+ 31,19
ШО/ SB	+ 89,36	+ 85,64	+ 47,34
Каталаза/ Catalase	39,15	- 36,87	- 38,11

каталази співставний зі Силібором, за показниками ПОЛ значно вищий, ніж за впливу Силібору. Це вказує на те, що Потейтін краще, ніж Силібор гальмує вільнорадикальні процеси в тканинах печінки, що призводить до значно меншого накопичення продуктів ПОЛ.

Потейтін в обох досліджених дозах чинить стабілізуючу дію на ферменти цитолізу та холестази. Середній ІЕ за активністю трьох показників (АЛТ, АСТ і ЛФ) для Потейтіну в дозах 23 мг/кг і 0,23 мг/кг становить + 24,72 і + 24,10 відповідно і практично не відрізняється від Силібору (+ 26,87). Потейтін, як і Силібор, сприяє нормалізації вмісту холестерину, глюкози, загального про-

catalase, and significantly higher in terms of LP than under the influence of Silybor. This indicates that Poteitin inhibits free radical processes in liver tissues better than Silybor, which leads to significantly less accumulation of lipid products.

Poteitin at both tested doses has a stabilizing effect on enzymes of cytolysis and cholestasis. The average EI according to the activity of three indicators (ALT, AST and AP) for Poteitin at doses of 23 mg/kg and 0.23 mg/kg is +24.72 and +24.10, respectively, and practically does not differ from Silybor (+26.87). Poteitin, like Silybor, contributes to the normalization of cholesterol, glucose, total protein and total bilirubin con-

теїну і загального білірубину, що свідчить про відновлення функціональної активності печінки. Що стосується підвищення вмісту креатиніну як за впливу Потейтіну, так і Силібору на тлі ТХМ, то не виключено, що це пов'язано з порушенням фільтраційної функції нирок. Отримані дані в цілому свідчать про те, що за захисним ефектом Потейтін не поступається Силібору.

Висновки

1. Тетрахлорметан при підшкірному двократному введенні щурам-самцям у дозі 0,8 мл/100 г маси тіла за умов гострого гепатиту спричиняє помірне ураження печінки.

2. Потейтін у дозах 23 і 0,23 мг/кг проявляє виражений гепатопротекторний ефект, який характеризується нормалізацією активності ферментів цитолізу та холестази, функціональних показників – рівня глюкози, холестерину, загального протеїну та білірубину, сечовини; зниженням інтенсивності ПОЛ і активацією антиоксидантної системи.

3. За захисним ефектом Потейтін у обох досліджених дозах за показниками цитолізу та холестази, функціональними тестами й морфоструктурними змінами в печінці співставний з референтним препаратом Силібором. Захисна дія Потейтіну, визначена за інтенсивністю ПОЛ, проявляється більше, ніж у Силібору.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота є фрагментом НДР «Наукове обґрунтування сучасних нормативних вимог до застосування пестицидів і агрохімікатів; прогнозування віддалених ефектів дії (канцерогенної, мутагенної, тератогенної активності, репродуктивної токсичності, хронічних інтоксикацій)», номер державної реєстрації 0112U001133.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

tent, which indicates the restoration of the functional activity of the liver. As for the increase in creatinine content both under the influence of Poteitin and Silybor on the background of CCl₄, it cannot be ruled out that it is linked to a kidney filtration function failure. The obtained data in general indicate that Poteitin is not inferior to Silybor in terms of its protective effect.

Conclusions

1. Carbon tetrachloride, when administered twice subcutaneously to male rats at a dose of 0.8 ml/100 g of body weight under conditions of acute hepatitis, causes moderate liver damage.

2. Poteitin at doses of 23 and 0.23 mg/kg has a pronounced hepatoprotective effect, which is characterized by the normalization of the activity of cytolysis and cholestasis enzymes, functional indicators – the level of glucose, cholesterol, total protein and bilirubin, urea; decrease in the intensity of LP and activation of the antioxidant system.

3. The protective effect of Poteitin at both tested doses as cytolysis and cholestasis indicators, functional tests and morphostructural changes in the liver are comparable to the reference medicine Silybor. The protective effect of Poteitin, determined by the intensity of LP, is more pronounced than that of Silybor.

Connection of the research with scientific programs, plans, topics. The work is a fragment of the SR Scientific substantiation of modern regulatory requirements for the use of pesticides and agrochemicals, prediction of remote effects of action (carcinogenic, mutagenic, teratogenic activity, reproductive toxicity, and chronic intoxications), state registration number 0112U001133.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ/REFERENCES

1. DSouza UJA. Pesticide toxicity and oxidative stress: a review. *Borneo Journal of Medical Sciences*. 2017;11(2):3-13. DOI: 10.51200/bjms.v11i2.466.
2. Lushchak VI, Matviishyn NM, Husak VV, Storey JV, Storey KB. Pesticide toxicity: a mechanistic approach. *EXCLI Journal*. 2018;17:1101–36. DOI: 10.17179/excli2018-1710.
3. Kocaman AY, Topaktas M. Genotoxic effects of a particular mixture of acetomiprid and alpha-cypermethrin on chromosome aberration, sister chromatid exchange, and micronucleus formation in human peripheral blood lymphocytes. *Environmental Toxicology*. 2010;25(2):157–68. DOI: <https://doi.org/10.1002/tox.20485>.
4. Илюшина НА, Ревазова ЮА. Генотоксическая активность смесей пестицидов. *Токсикологический вестник*. 2020;(3):9–13. [Илюшина НА, Ревазова ЮА. Genotoxic activity of the pesticide mixtures. *Toxicological Review*. 2020;(3):9–13]. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2020-3-9-13>.
5. Karami-Mohajeri S, Ahmadipour A, Rahimi HR, Abdollahi

- M. Adverse effects of organophosphorus pesticides on the liver: a brief summary of four decades of research. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. 2017;68(4):261–75. DOI: 10.1515/aiht-2017-68-2989
6. Туйчиєва Д, Мирхамидова П, Бабаханова Д, Парпиева М, Алімова Р. Влияние пестицидов на активность некоторых ферментов печени крыс и пути их коррекции. *Norwegian Journal of Development of the International Science*. 2020;45(2):8–14. [Tujchieva D, Mirhamidova P, Babahanova D, Parpieva M, Alimova R. Influence of pesticides on the activity of some enzymes of rat liver and ways of its correction. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020; 45(2): 8–14].
 7. Korolova D, Gryshchenko V, Chernyshenko T, Platonov O, Hornytska O, Chernyshenko V, et al. Blood coagulation factors and platelet response to drug-induced hepatitis and hepatosis in rats. *Animal Model Exp Med*. 2023;6(1):66–73. doi: 10.1002/ame2.12301. Epub 2022 Dec 27. PMID: 36574273; PMCID: PMC9986226.
 8. Грищенко ВА, Томчук ВА, Литвиненко ОМ, Чернищенко ВО, Гришук ВІ, Платонова ТМ. Оцінка протеїнсинтезуючої функції печінки за експериментального гепатиту. *Укр. біохім. журн.*, 2011;83(1),63–7. [Hryshchenko VA, Tomchuk VA, Lytvynenko OM, Chernyshenko VO, Hryshchuk VI, Platonova TM. Assessment of the protein synthesizing function of the liver in experimental hepatitis. *Ukraine biochem. Journal*, 2011;83(1),63–7.]
 9. Palkhade R, Yadav S, Mishra S, Muhamed J. Acute oral toxicity of pesticide combination (acephate 50 % and imidacloprid 1.8 % as active ingredients) in Sprague-Dawley rats. *Veterinary World*. 2018;11(9):1291–7. DOI: 10.14202/vetworld.2018.1291-1297.
 10. Rizzati V, Briand O, Guillou H, Gamet-Payrastré L. Effects of pesticide mixtures in human and animal models: An update of the recent literature. *Chemico-biological interactions*. 2016;254:231–46. DOI: 10.1016/j.cbi.2016.06.003V.
 11. Пельо ІМ, Бардов ВГ, Омельчук СТ, Сасінович ЛМ. Кумулятивні властивості та характер токсикодинаміки сумішей пестицидів, що застосовуються в овочівництві. *Современные проблемы токсикологии (Український журнал сучасних проблем токсикології)*. 2010;4:19–28. [Pelo IM., Bardov VH, Omelchuk ST, Sasinovych LM. Cumulative properties and toxicodynamics of pesticide mixtures used in vegetable growing. *Modern problems of toxicology*. 2010;4:19–28].
 12. Kolesnyk SD, Ryabukha OS, Bubalo NM, Zhminko PG, Prodanchuk MG. Acute toxicity estimation of multicomponent plant protection products using calculations, in Silico and in vivo methods, perspectives for updating approaches to classification and risk assessment. *Bulletin of problems biology and medicine*. 2020;4(158):54–60. DOI: 10.29254/2077-4214-2020-4-158-54-60.
 13. Васецька ОП. Комбінована дія регуляторів росту рослин на основі похідних N-оксид піридину та деяких пестицидів різних хімічних груп. *Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки (Український журнал сучасних проблем токсикології)*. 2017;3:26–33. [Vasetska OP. Combined effect of plant growth regulators based on pyridine n-oxide derivatives and some pesticides of different chemical groups. *Modern problems of toxicology, food and chemical safety (Ukrainian journal of modern problems of toxicology)*. 2017;3:26–33.]
 14. Васецька ОП, Жмілько ПГ. Біологічна активність і токсикологічні властивості регуляторів росту рослин – метильних похідних піридин-N-оксиду. *Монографія Синтез і біоактивність функціональних азотвмісних гетероциклів*. За ред. АІ Вовка. Київ: Інтерсервіс, 2021. С. 288–324. [Vasetska OP, Zhminko PH. Biological activity and toxicological properties of plant growth regulators – methyl derivatives of N-oxidepyridine. *Book: Synthesis and bioactivity of functional izednitrogen-containing heterocycles*, Eds. AI Vovk. Kyiv: Interservice, 2021. p. 288–324].
 15. Vasetska OP. Toxicodynamics of Chlorpyrifos and «Ivin» combined action under prolonged admission. *Ukrainian journal of modern problems of toxicology*. 2020;2(89):5–13. DOI 10.33273/2663-4570-2020-89-2-5-13
 16. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації), за редакцією член-кор. АМН України О.В. Стефанова. К.: Авіцена, 2001. 528 с. [Stefanova OV. Preclinical studies of medicinal products: methodical recommendations. Kyiv: Avicena, 2001. 528 p.]
 17. Макаренко ТМ, Радченко ОМ. Співвідношення біохімічних показників крові в медичній практиці: клініко-діагностичне значення. *Практикуючий лікар*. 2017;6(2):49–53. [Makarenko TM, Radchenko OM. Correlation of blood biochemical parameters in medical practice: clinical-diagnostic importance. *The Praktitioner*. 2017;6(2):49–53].
 18. Королюк МА, Іванова ЛІ, Майорова ІГ, Токарев ВЕ. Метод определения активности каталазы. *Лаб. дело*. 1988;1:16–9. [Koroljuk MA, Ivanova LI, Majorova IG, Tokarev VE. The method for determining the activity of catalase. *Laboratornoye delo*. 1988;(1):16–19.
 19. Стальная ИД, Гаришвили ТГ. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. *Современные методы в биохимии*. М.: Медицина, 1977. С. 66–8. [Stal'naja ID, Garishvili TG. The method for determining of malondialdehyde level using thiobarbituric acid. In: *Modern Methods in Biochemistry*. М.: Medicine, 1977. p.66–8.
 20. Волчегорский ИА, Налимов АГ, Яровинский БГ, Лифшиц РИ. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. *Вопросы медицинской химии*. 1989;35(1):127–31. [Volchegorskij IA, Nalimov AG, Jarovinskij BG, Lifshic RI. Comparison of different approaches to measurement of lipidperoxidation products in heptane-isopropanol blood extracts. *Questions of Medical Chemistry*. 1989;35(1):127–31].
 21. Горальський ЛП, Хомич ВГ, Кононський ОІ. Основи гістологічної техніки і морфологічних методів досліджень у нормі та при патології. *Житомир: Полісся*, 2015. 286 с. [Horalskyi LP, Khomych VH, Kononyskiy OI. Foundations of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions. *Zhytomyr: Polissya*, 2015. 286 p].
 22. Мышкин ВА, Бакиров АБ, Репина ЭФ, Тимашева ГВ, Хуснутдинова НЮ, Смолянкин ДА. Изучение эффективности оксиметилурацила в качестве гепатопротективного средства. *Медицина труда и экология человека*. 2015;2:55–60. [Myshkin VA, Bakirov AB, Repina JeF, Timasheva GV, Husnutdinova NJu, Smoljankin DA. Study of the efficacy of oxymethyluracil as a hepatoprotective agent. *Occupational medicine and human ecology*. 2015;2:55–60].
 23. Галенова ТІ, Ракша НГ, Савчук ОМ. Зміна біохімічного профілю організму за умов тетрахлорметан-індукова-

- ного ураження печінки у щурів. ScienceRise. Biological science. 2016;2:47–54. [Halenova TI, Raksha NH, Savchuk OM. Changes in the biochemical profile under tetrachloromethane-induced liver damage in rats. Science Rise. Biological science. 2016;2:47–54].
24. Скакун НП, Писько ГТ, Мосейчук ИП. Поражение печени четыреххлористым углеродом. М.: НИИТЭХИМ, 1989. 107 с. [Skakun NP, Pis'ko GT, Mosejchuk IP. Hepatic damage caused by carbontetrachloride. М.: НИТЕХИМ, 1989. 107 p].
25. Летняк НЯ, Корда ММ. Нанотрубки посилюють викликаний тетрахлорметаном оксидативний та нітрооксидантний стрес. Вісник проблем біології і медицини. 2018;1(1):140–14. [Letniak NIa, Korda MM. Nanotubs exaggerate oxidative and nitrooxidative stress induced by tetrachloromethane. Bulletin of problems biology and medicine. 2018;1(1):140–4]. DOI: 10.29254/2077-4214-2018-1-1-142-140-144.
26. Геруш ІВ. Стан пероксидного окислення ліпідів і активність ферментів антиоксидантної системи печінки за умов гострого токсичного гепатиту та дії настоянки ехінацеї пурпурової. Клінічна фармація. 2001;15(4):49–52. [Herush IV. The state of lipid peroxidation and the activity of enzymes of the antioxidant system of the liver under the conditions of acute toxic hepatitis and the effect of Echinaceapurple tincture. Clinical pharmacy. 2001;15(4):49–52].

Відомості про авторів

Васецька Олеся Петрівна – кандидат біологічних наук, завідувачка відділу «Інститут екотоксикологічних досліджень» Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України». Адреса: вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна. o.vasetska.medved@gmail.com. ORCID 0000-0002-1919-8593.

Лісовська Вікторія Семенівна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України». Адреса: вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна. ORCID: 0009-0004-1040-708X.

Проданчук Микола Георгійович – доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАМН України, директор Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України». Адреса: вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна. ORCID 0000-0002-9229-9761.

Верис Тетяна Миколаївна – інженер 1 категорії відділу «Інститут експериментальної токсикології і медико-біологічних досліджень» Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України». Адреса: вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна.

Стаття надійшла до редакції 03.05.2023

Information about the authors

Olesia Vasetska – Candidate of Biological Sciences, Head of the Department “Institute of Ecotoxicological Research” of the L.I. Medved’s Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise). Address: 6 Heroiv Oborony str., 03127, Kyiv, Ukraine; ORCID 0000-0002-1919-8593.

Viktoriya Lisovska – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the L.I. Medved’s Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety of the Ministry of Health of Ukraine (State Enterprise). Address: 6 Heroiv Oborony str., 03127, Kyiv, Ukraine. ORCID: 0009-0004-1040-708X

Mykola Prodanchuk – Doctor of Medicine Sciences, Professor, Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Ukraine, Director of the L.I. Medved’s Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise). Address: 6 Heroiv Oborony str., 03127, Kyiv, Ukraine. ORCID 0000-0002-9229-9761.

Tetiana Verys – Engineer 1 category of the Department “Institute of Experimental Toxicology and Medical and Biological Research” of the the L.I. Medved’s Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise). Address: 6 Heroiv Oborony str., 03127, Kyiv, Ukraine.

The article received by the editors 05.03.2023