

А. Я. Никифору¹, В. Д. Фіра², В. А. Сятиня¹, І. Б. Куртяк³, Л. С. Фіра²
УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ¹

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ²

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ І БІОТЕХНОЛОГІЙ
ІМЕНІ С. З. ГЖИЦЬКОГО³

ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ ЗІ ШПИНАТУ ГОРОДНЬОГО ЛИСТЯ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ

Вступ. Печінка є бар'єром на шляху надходження токсичних речовин в організм, оскільки саме в ній відбуваються метаболізм і знешкодження їх, тобто вона є органом-мішенню для дії токсичних хімічних речовин. Пошук потенційних гепатопротекторів проводять в останні роки серед великої кількості лікарських речовин, що мають різні походження і структуру, проте найперспективнішими виявились препарати природного, переважно рослинного, походження.

Мета дослідження – вивчити вплив густого екстракту зі шпинату городнього листя на розвиток оксидативного стресу в організмі щурів при тетрахлорметановому ураженні печінки.

Методи дослідження. Антиоксидантні властивості густого екстракту зі шпинату городнього листя вивчали на моделі ураження печінки щурів тетрахлорметаном, який вводили у вигляді 50 % олійного розчину в дозі 1,0 мл/кг маси тіла тварини. Тваринам однієї з груп дослідний екстракт вводили у дозі 150 мг/кг маси тіла. Препаратом порівняння слугував гепатопротектор рослинного походження "Силімарин", який щури отримували у вигляді 1 % крохмальної суспензії в дозі 100 мг/кг маси тіла. Щурів виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом, дотримуючись усіх правил роботи з хребетними тваринами. У сироватці крові та печінці визначали вміст продуктів окисної модифікації протеїнів і відновленого глутатіону, в печінці – супероксиддисмутазна активність. Для статистичної обробки даних використовували параметричні (за Стьюдентом) та непараметричні (за Вілкоксоном) методи дослідження.

Результати й обговорення. Протягом 10 діб у сироватці крові щурів, уражених тетрахлорметаном, спостерігали прогресуюче зростання вмісту продуктів окисної модифікації протеїнів як основного, так і нейтрального характеру. До кінця дослідження вміст окисномодифікованих протеїнів нейтрального характеру в сироватці крові збільшився у 2 рази, в печінці – в 1,4 рази. Протягом експерименту вміст відновленого глутатіону ($p < 0,05$) та супероксиддисмутазна активність у печінці знижувалися (в 1,65 рази на 10-ту добу дослідження). Використання екстракту зі шпинату городнього листя привело до нормалізації досліджуваних показників, і його ефективність не відрізнялася від ефективності силімарину. Застосування його в уражених тетрахлорметаном тварин спричинило пригнічення окисних процесів, зокрема окисної модифікації протеїнів, і підвищення супероксиддисмутазної активності та вмісту відновленого глутатіону, що вказує на відновлення активності антиоксидантної системи.

Висновок. Густий екстракт зі шпинату городнього листя проявив виражений антиоксидантний вплив за умов тетрахлорметанового ураження печінки, що робить доцільними подальші дослідження його як антиоксидантного засобу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: густий екстракт зі шпинату городнього листя; окисна модифікація протеїнів; антиоксидантна система; супероксиддисмутазна активність; відновлений глутатіон.

ВСТУП. На сучасному етапі у вивченні патогенезу багатьох захворювань важливу роль відводять оксидативному стресу, зараз ця проблема є одним з головних напрямків як клінічних, так і доклінічних досліджень [1–3].

Оксидативний стрес провокує розвиток багатьох захворювань різних органів і систем, зокрема шлунково-кишкового тракту, печінки, мозку,

© А. Я. Никифору¹, В. Д. Фіра, В. А. Сятиня, І. Б. Куртяк, Л. С. Фіра, 2023.

серцево-судинної системи, нирок, легень тощо [4, 5].

Окисно-відновний стан є важливим фоном численних уражень печінки та бере участь у перебізі запальних, метаболічних і проліферативних захворювань. Гострі та хронічні захворювання печінки майже завжди характеризуються підвищеним оксидативним стресом незалежно від причини її ураження [6].

З огляду на наведене, актуальним на сьогодні є пошук нових лікарських засобів, які можна було б використовувати при станах з підвищеним розвитком вільнорадикальних процесів [7, 8]. Пошук таких потенційних ліків проводять в останні роки серед великої кількості речовин, що мають різні походження і структуру, проте найперспективнішими виявились препарати природного, переважно рослинного, походження. З численних засобів, представлених в Україні, лікарські рослинні препарати популярні завдяки багатому вмісту біологічно активних речовин, широкому спектру фармакологічної активності, високому рівню безпеки, низькій токсичності та вартості.

Лікування уражень печінки різної етіології та її захист вимагають фармакотерапії, що включає використання засобів, які б діяли комплексно, завдяки гепатопротекторному, антиоксидантному, протизапальному й іншим механізмам, тому поповнення ринку України такими препаратами стає одним з основних напрямків розвитку фармацевтичної галузі [9, 10].

Як перспективну сировину для створення нових препаратів ми обрали шпинату городнього листя, що містить фенольні сполуки, вітаміни А, С, Е, фолієву кислоту, магній, манган, залізо, кальцій, хлорофіли, каротиноїди, протеїни та інші біологічно активні речовини, які здатні забезпечити гепатопротекторну й антиоксидантну дію [11–13].

Серед фармакологічних активностей шпинату можна виділити антиоксидантну активність, захист від гамма-випромінювання, протиракову, гепатопротекторну активність, пригнічення кластогенності, депресивний ефект на ЦНС, пригнічення проліферації клітин аденокарциноми шлунка людини й антигельмінтну активність [12], що зробило його перспективним і актуальним засобом для проведення фармакологічних досліджень.

Мета дослідження – вивчити вплив густого екстракту зі шпинату городнього листя на розвиток оксидативного стресу в організмі щурів при тетрахлорметановому ураженні печінки.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Антиоксидантні властивості густого екстракту зі шпинату городнього листя (ГЕШЛ) вивчали на моделі ураження печінки щурів тетрахлорметаном (CCl_4), який вводили дворазово (через день) у вигляді 50 % олійного розчину в дозі 1,0 мл/кг маси тіла тварини [14].

Піддослідних тварин поділили на чотири групи: 1-ша – інтактний контроль; 2-га – уражені тетрахлорметаном щури; 3-тя – уражені тетрахлорметаном щури після застосування густо-

го екстракту зі шпинату городнього листя; 4-та – уражені тетрахлорметаном щури після використання силімарину. Густий екстракт зі шпинату городнього листя вводили у попередньо встановленій мінімально діючій дозі 150 мг/кг маси тіла [15]. Препаратом порівняння було обрано еталонний гепатопротектор рослинного походження “Силімарин” під торговою маркою “Карсил” виробництва фірми “Sopharma” (Болгарія), який щури отримували у вигляді 1 % крохмальної суспензії в дозі 100 мг/кг маси тіла [16].

Щурів виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом на 4-ту, 7-му і 10-ту доби дослідження з дотриманням усіх правил роботи з хребетними тваринами [17]. Для дослідження використовували сироватку крові та печінку експериментальних тварин. У сироватці крові та печінці визначали вміст продуктів окисної модифікації протеїнів (ОМП) [18] і відновленого глутатіону [19], у печінці – супероксиддисмутазу (СОД) активність [20].

Для статистичної обробки даних використовували параметричні (за Стьюдентом) та непараметричні (за Вілкоксоном) методи дослідження. Зміни вважали вірогідними при $p \leq 0,05$ [21].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Відомо, що зростання вмісту прооксидантів, у тому числі активних форм кисню, призводить до активації процесів вільнорадикального окиснення та, як наслідок, посилення пероксидного окиснення ліпідів, окисної модифікації протеїнів, деструкції нуклеїнових кислот, вуглеводів, що спричиняє токсичний вплив на клітини як безпосередньо, так і через деградацію гідропероксидів до високотоксичних гідроксильних радикалів [22].

На противагу вільнорадикальним процесам в організмі існує антиоксидантна система, представлена насамперед системою антиоксидантних ензимів: супероксиддисмутазою, яка зв'язує активні форми кисню з утворенням гідрогену пероксиду; глутатіонпероксидазою, що редукує ліпідні гідропероксиди за рахунок окиснення глутатіону; глутатіонредуктазою, яка відновлює глутатіон шляхом окиснення НАДФН [23, 24].

Ми визначали вміст продуктів окисної модифікації протеїнів (2,4-динітрофенілгідразонів – 2,4-ДНФГ) як основного, так і нейтрального характеру в сироватці крові та печінці щурів, уражених CCl_4 , і після застосування коригувальних чинників.

Після потрапляння в організм щурів тетрахлорметану в сироватці крові вірогідно ($p \leq 0,05$) зростав вміст 2,4-ДНФГ (370 нм) нейтрального характеру, який у всі терміни дослідження перебував на одному рівні й тільки наприкінці експерименту був дещо більшим від попередніх по-

казників (перевищував рівень контролю на 95 %). У печінці тварин після ураження токсикантом він прогресуюче зростає і досягнув у останній термін дослідження 144 % щодо норми (табл. 1).

Застосування ГЕШЛ призвело до вірогідного ($p \leq 0,05$) зниження даного показника у сироватці крові та печінці щурів в останні терміни дослідження. На 10-ту добу це зниження становило 43 % у сироватці крові та 27 % у печінці. Ефективнішим виявився силімарин, після застосування якого даний показник зменшувався в усі терміни експерименту.

Дослідження вмісту 2,4-ДНФГ (430 нм) основного характеру показало аналогічне його збільшення у сироватці крові щурів з тетрахлорметановим ураженням печінки (рис. 1). У печінці тварин, уражених тетрахлорметаном, він прогресуюче зростає, досягнувши максимуму на 10-ту добу експерименту.

Відомо, що ОМП відіграє провідну роль у деструкції клітинної мембрани, тому що призводить до незворотного ушкодження мембранних

структур, порушення їх проникності та загибелі клітин [25]. На думку багатьох дослідників, кисневозалежне окиснення протеїнів є раннім індикатором ушкодження органів і тканин [26].

Застосування коригувальних чинників призвело до зменшення вмісту продуктів ОМП (430 нм) у сироватці крові, причому найбільшу їх ефективність спостерігали наприкінці експерименту. На 10-ту добу цей показник знизився на 39 % після введення в організм токсикованих тварин дослідного екстракту та на 69 % після корекції силімарином.

У печінці найефективніший вплив ГЕШЛ на вміст продуктів ОМП (430 нм) відмічено на 10-ту добу дослідження. У цей термін ефективність застосування екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину виявилась майже на одному рівні щодо даного показника.

Зважаючи на результати експериментальних досліджень з вивчення окисних процесів за умов тетрахлорметанового ураження печінки, ми дослідили деякі показники антиоксидантної системи і вплив на них густого екстракту зі шпинату

Таблиця 1 – Вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів (370 нм) у сироватці крові та печінці (мкмоль/г протеїну) щурів, уражених тетрахлорметаном, і після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Термін дослідження, доби		
	4-та	7-ма	10-та
Сироватка крові			
Інтактний контроль		0,44±0,03	
Уражені CCl_4	0,82±0,02*	0,83±0,02*	0,86±0,02*
Уражені CCl_4 +ГЕШЛ	0,74±0,02	0,70±0,02**	0,67±0,02**
Уражені CCl_4 +силімарин	0,73±0,02	0,65±0,01**	0,58±0,01**
Печінка			
Інтактний контроль		0,59±0,01	
Уражені CCl_4	0,75±0,02*	0,80±0,02*	0,85±0,007*
Уражені CCl_4 +ГЕШЛ	0,71±0,01	0,75±0,03	0,69±0,01**
Уражені CCl_4 +силімарин	0,66±0,01**	0,69±0,02**	0,62±0,01**

Примітка. Тут і в таблицях 2, 3, на рисунках 1, 2: * – вірогідні зміни між показниками інтактних тварин та уражених тетрахлорметаном щурів ($p \leq 0,05$); ** – вірогідні зміни між показниками уражених тетрахлорметаном щурів і лікованих тварин ($p \leq 0,05$); n – кількість тварин у групі.

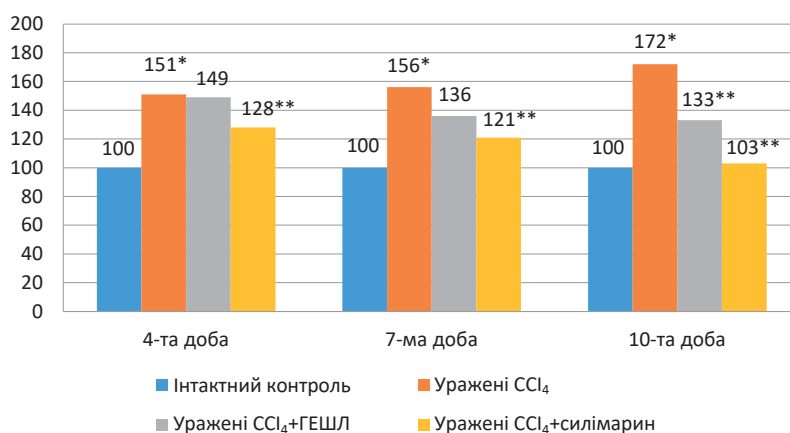


Рис. 1. Вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів (430 нм) основного характеру в сироватці крові щурів, уражених тетрахлорметаном, і після корекції густим екстрактом зі шпинату городнього листя та силімарином, %.

городнього листя та порівняли його ефективність з ефективністю відомого гепатопротектора – силімарину.

Ключовим ферментом антиоксидантного захисту організму є супероксиддисмутаза, що забезпечує переривання ланцюгів кисневозалежних вільнорадикальних реакцій за допомогою дисмутації супероксидного аніон-радикала ($\cdot\text{O}_2$) з утворенням гідроген пероксиду, який може бути попередником найбільш токсичного гідроксильного радикала ($\text{OH}\cdot$) і триплетного кисню [27].

У нашому експерименті протягом 10 діб розвитку тетрахлорметанового гепатиту спостерігали прогресуюче зниження СОД активності в печінці щурів (табл. 2). До кінця дослідження вона зменшилася в 1,7 рази щодо рівня показників тварин інтактного контролю.

На початкових етапах тетрахлорметанового гепатиту застосування обох коригувальних чинників (ГЕШЛ та силімарину) призвело до незначного підвищення СОД активності, яке не було вірогідним. На 7-му добу експерименту вона достовірно ($p \leq 0,05$) зросла після використання силімарину. Підвищення активності цього ферменту після застосування ГЕШЛ становило 15 % щодо показника в уражених тетрахлорметаном щурів.

В останній термін дослідження (10-та доба) відмічено вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення СОД активності після використання обох коригувальних чинників (до 91 і 95 % після потрапляння в організм ГЕШЛ та силімарину відповідно).

Отже, застосування ГЕШЛ призвело до відновлення активності антиоксидантного ферменту

в печінці. До кінця експерименту цей дослідний екстракт за ефективністю практично не поступався силімарину.

Глутатионова система бере участь в інактивації гідроген пероксиду і ліпопероксидів, виконує захисну функцію для тіолових груп у протеїнах мембран та є функціональною основою системи антиоксидантного захисту [28]. Однією зі складових цієї системи є глутатіон. Як носій активної тіолової групи у формі залишку цистеїну він діє як антиоксидант або безпосередньо взаємодіючи з активними видами кисню/азоту та електрофілів, або діючи як кофактор для різних ферментів [29].

Результати, одержані при визначенні відновленого глутатіону, показали, що в групах щурів, уражених тетрахлорметаном, даний показник знижувався в усі терміни дослідження (табл. 3). Це може вказувати на надлишкову кількість вільних радикалів в організмі уражених тварин. Після використання ГЕШЛ і силімарину вміст відновленого глутатіону значно збільшувався у сироватці крові та печінці щурів у всі три терміни експерименту.

Застосування ГЕШЛ призвело до вірогідного ($p \leq 0,05$) збільшення вмісту відновленого глутатіону в сироватці крові та печінці тварин на 7-му і 10-ту доби експерименту. В печінці щурів, які отримували силімарин, спостерігали достовірне підвищення цього показника в усі терміни дослідження, у сироватці крові – на 7-му і 10-ту доби експерименту. На кінець дослідження (10-та доба) після використання ГЕШЛ вміст

Таблиця 2 – Супероксиддисмутазна активність у печінці (од./мг) щурів, уражених тетрахлорметаном, і після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Термін дослідження, доби		
	4-та	7-ма	10-та
Інтактний контроль	0,58±0,03		
Уражені CCl_4	0,48±0,03	0,40±0,02*	0,35±0,02*
Уражені CCl_4 +ГЕШЛ	0,50±0,04	0,49±0,03	0,53±0,03**
Уражені CCl_4 +силімарин	0,50±0,03	0,54±0,04**	0,55±0,04**

Таблиця 3 – Вміст відновленого глутатіону в сироватці крові (ммоль/л) та печінці (ммоль/кг) щурів, уражених тетрахлорметаном, і після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листя та силімарину ($M \pm m$, $n=60$)

Група тварин	Термін дослідження, доби		
	4-та	7-ма	10-та
Печінка			
Інтактний контроль	1,79±0,03		
Уражені CCl_4	1,48±0,03*	1,36±0,02*	1,32±0,02*
Уражені CCl_4 +ГЕШЛ	1,52±0,03	1,63±0,03**	1,68±0,03**
Уражені CCl_4 +силімарин	1,62±0,02**	1,70±0,02**	1,76±0,02**
Сироватка крові			
Інтактний контроль	1,25±0,03		
Уражені CCl_4	1,01±0,04*	0,87±0,03*	0,82±0,03*
Уражені CCl_4 +ГЕШЛ	1,03±0,02	1,03±0,03**	1,16±0,02**
Уражені CCl_4 +силімарин	1,06±0,03	1,17±0,01**	1,21±0,02**

відновленого глутатіону в сироватці крові збільшився на 27 % відносно уражених тварин. Для силімарину підвищення цього показника в даний період дослідження становило 31 % відносно уражених щурів (рис. 2).

У печінці уражених тварин вміст відновленого глутатіону (10-та доба) збільшився на 20 % після застосування ГЕШЛ та на 25 % після використання силімарину (щодо показника уражених щурів).

Таким чином, встановлено, що ураження щурів токсичними дозами тетрахлорметану призводить до значних порушень антиоксидант-

ної системи. За цих умов відмічали пригнічення супероксиддисмутазної активності та зменшення вмісту відновленого глутатіону в організмі уражених тварин.

Застосування за умов тетрахлорметанового гепатиту ГЕШЛ викликало відновлення захисно-компенсаторних сил організму та зниження активованих окисних процесів.

Отримані результати дозволяють стверджувати, що екстракту зі шпинату городнього листа притаманні антиоксидантні властивості, які підтверджує пригнічення оксидативного стресу за умов токсичного ураження печінки.

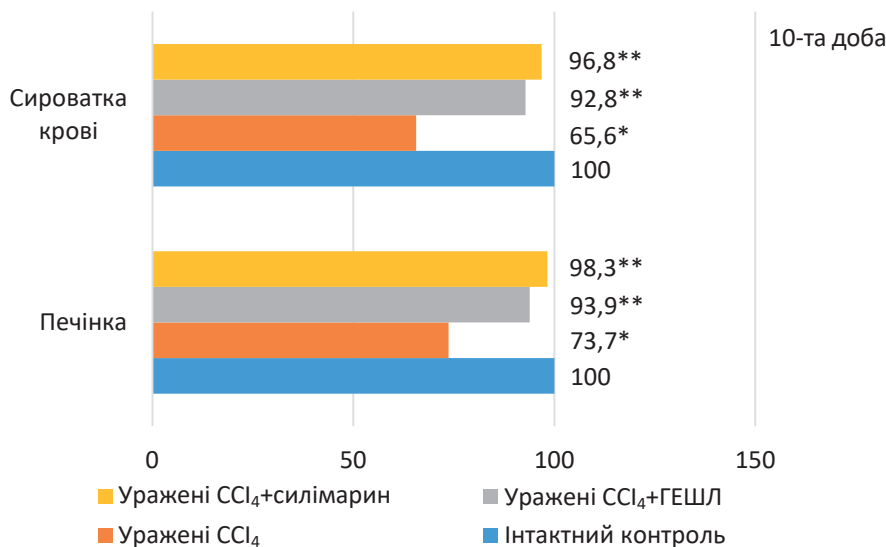


Рис. 2. Вміст відновленого глутатіону в сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, і після застосування густого екстракту зі шпинату городнього листа та силімарину (10-та доба), %.

ВИСНОВКИ. 1. За умов отруєння щурів тетрахлорметаном вірогідно ($p \leq 0,05$) збільшується вміст продуктів окисної модифікації протеїнів як нейтрального, так і основного характеру в сироватці крові та печінці щурів протягом усіх термінів дослідження.

2. На тлі активації процесів окисної модифікації протеїнів спостерігають зміни в антиоксидантній системі, на що вказує зниження протягом експерименту супероксиддисмутазної активності в печінці тварин (в 1,7 раза на 10-ту добу розвитку тетрахлорметанового гепатиту), а також вмісту відновленого глутатіону (в печінці – в 1,4 раза, у сироватці крові – в 1,5 раза в кінці дослідження).

3. Застосування густого екстракту зі шпинату городнього листа призводить до пригнічення процесів вільнорадикального окиснення, зокрема окисної модифікації протеїнів, та відновлення показників антиоксидантної системи (супероксиддисмутазної активності в печінці та вмісту відновленого глутатіону в сироватці крові й печінці уражених тетрахлорметаном тварин), що підтверджує його антиоксидантні властивості.

4. Отримані результати експерименту роблять перспективними подальші дослідження густого екстракту зі шпинату городнього листа як антиоксидантного засобу з метою застосування його при патологіях, що супроводжуються оксидативним стресом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Максів Х. Я. Роль оксидативного стресу в розвитку хронічного обструктивного захворювання легень / Х. Я. Максів, М. І. Марущак // Мед. та клініч. хімія. – 2019. – **21**, № 1 (78). – С. 120–125.
2. Albasher G. Ameliorative effect of beta vulgaris root extract on chlorpyrifos-induced oxidative stress, inflammation and liver injury in rats / G. Albasher, R. Almeer, F. O. Al-Otibi [et al.] // *Biomolecules*. – 2019. – **9** (7). – P. 261.
3. Katerji M. Approaches and methods to measure oxidative stress in clinical samples: Research applications in the cancer field / M. Katerji, M. Filippova, P. Duerksen-Hughes // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2019. – 1279250.
4. Дейнега В. Г. Вплив оксидативного стресу на серцево-судинні показники у хворих з поєднаним перебігом хронічного обструктивного захворювання легень і гіпертонічної хвороби / В. Г. Дейнега, В. В. Кривенко // *Патологія*. – 2013. – № 1. – С. 20–23.
5. Liguori I. Oxidative stress, aging, and diseases / I. Liguori, G. Russo, F. Curcio [et al.] // *Clin. Interv. Aging*. – 2018. – No. 13. – P. 757–772.
6. Cichoż-Lach H. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases / H. Cichoż-Lach, A. Michalak // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – No. 20 (25). – P. 8082–8091.
7. Середюк К. М. Дослідження антиоксидантної активності екстрактів лікарських рослин / К. М. Середюк, Н. Є. Стадницька, О. С. Яремкевич // *Вісн. нац. ун-ту “Львівська політехніка”*. – 2016. – № 841. – С. 228–232.
8. Lalhminghlui K. Evaluation of the free-radical scavenging and antioxidant activities of Chilauni, Schima wallichii Korth in vitro / K. Lalhminghlui, G. C. Jagetia // *Future Sci. OA*. – 2018. – **4** (2). – FSO272.
9. Гудзенко О. П. Дослідження асортименту гепатопротекторів, представлених на вітчизняному фармацевтичному ринку / О. П. Гудзенко, І. О. Левченко, К. І. Козицька // *Укр. мед. альм.* – 2013. – № 16 (2). – С. 114–116.
10. Осьодло Г. В. Комбінований захист печінки – основа сучасної гепатопротекції / Г. В. Осьодло, О. О. Федорова // *Рациональная фармакотерапия*. – 2016. – № 2. – С. 45–52.
11. Gaikwad P. S. Spinacia oleracea Linn: a pharmacognostic and pharmacological overview / P. S. Gaikwad, R. V. Shete, K. V. Otari // *International Journal of Research in Ayurveda Pharmacy*. – 2010. – No. 1 (1). – P. 78–84.
12. Metha D. Pharmacological activity of spinacia oleracea linn. – a complete overview / D. Metha, S. Bellemkar // *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. – 2014. – No. 2 (1). – P. 83–93.
13. Ko S. H. Antioxidant effects of spinach (*Spinacia oleracea* L.) supplementation in hyperlipidemic rats / S. H. Ko, J. H. Park, S. Y. Kim [et al.] // *Preventive Nutrition and Food Science*. – 2014. – No. 19 (1). – P. 19–26.
14. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / О. В. Стефанов. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
15. Никифорок А. Я. Встановлення ефективної дози густого екстракту з листя шпинату городнього на моделі токсичного ураження печінки / А. Я. Никифорок, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький // *Фітотерапія. Часопис*. – 2018. – № 3. – С. 38–42.
16. Линда О. С. Вплив настойки з хости ланцетолистої на показники цитолізу клітинних мембран у щурів, уражених тетрахлорметаном / О. С. Линда, Л. С. Фіра, І. П. Кузьмак // *Укр. біофармац. журн.* – 2017. – № 6. – С. 56–60.
17. Gross D. Ethics in animal-based research / D. Gross, R. Tolba // *Eur. Surg. Res.* – 2015. – No. 55 (1–2). – P. 43–57.
18. Дубініна Є. Є. Окиснювальна модифікація протеїнів, їх роль при патологічних станах / Є. Є. Дубініна, А. В. Пустигіна // *Укр. біохім. журн.* – 2008. – № 80 (6). – С. 5–18.
19. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – **82** (1). – P. 70–77.
20. Чевари С. Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // *Лаб. дело*. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
21. Okeh U. Statistical problems in medical research / U. Okeh // *East. Afr. J. Public. Health*. – 2009. – No. 6 (1). – P. 1–7.
22. Gamkrelidze N. Changes of lipoperoxidation and antioxidative enzymes during crush-syndrome modelling / N. Gamkrelidze, T. Sanikidze, N. Pavliashvili [et al.] // *Georgian med. news*. – 2016. – No. 251. – P. 84–88.
23. Трохимович А. А. Вільнорадикальне окислення і антиоксидантна система в серцево-судинній патології / А. А. Трохимович, А. А. Кишко, Я. І. Сливка // *Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Серія “Медицина”*. – 2011. – № 2. – С. 361–364.
24. Діордіца Я. В. Антиоксидантна система печінки щурів за умов гострого гепатиту під час корекції комплексами антиоксидантів / Я. В. Діордіца // *Вісн. Львів. ун-ту : зб. наук. пр.* – 2019. – Вип. 81. – С. 12–20.
25. Mazur O. O. Role of active forms of oxygen in the aging process (literature review) / O. O. Mazur // *Deutscher Wissenschaftsherold*. – 2016. – No. 3. – P. 24–28.
26. Маніщенкова Ю. О. Окислювальна модифікація білків у хворих з коморбідною патологією / Ю. О. Маніщенкова, О. А. Орлова, Л. В. Шкала // *Укр. журн. клініч. та лаб. медицини*. – 2010. – № 5 (1). – С. 126–129.
27. Галенова Т. І. Зміна біохімічного профілю організму за умов тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у щурів / Т. І. Галенова, Н. Г. Ракша, О. М. Савчук // *ScienceRise. Biological science*. – 2016. – № 2. – С. 47–54.
28. Лавришин Ю. Ю. Біологічне значення системи антиоксидантного захисту організму тварин / Ю. Ю. Лавришин, І. С. Вархоляк, Т. В. Мартишук // *Наук. вісн. Львів. нац. ун-ту ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*. – 2016. – № 18 (2). – С. 100–111.
29. Belcastro E. Oxidative stress enhances and modulates protein S-nitrosation in smooth muscle cells exposed to S-nitrosoglutathione / E. Belcastro, W. Wu, I. Fries-Raeth [et al.] // *Nitric Oxide Biol. Chem.* – 2017. – (69). – P. 10–21.

REFERENCES

- Maksiv, H.Ya. & Marushchak, M.I. (2019). The role of oxidative stress in the development of chronic obstructive pulmonary disease. *Medical and Clinical Chemistry*, 21 (1), 120–125 [in Ukrainian].
- Albasher, G., Almeer, R., Al-Otibi, F.O. & Al-Kubaisi, N., Mahmoud, A.M. (2019). Ameliorative effect of beta vulgaris root extract on chlorpyrifos-induced oxidative stress, inflammation and liver injury in rats. *Biomolecules*, 9 (7), 261.
- Katerji, M., Filippova, M. & Duerksen-Hughes, P. (2019). Approaches and methods to measure oxidative stress in clinical samples: Research applications in the cancer field. *Oxid. Med. Cell. Longe*, 1279250.
- Deinega, V.G. & Kryvenko, V.V. (2013). The effect of oxidative stress on cardiovascular indicators in patients with a combined course of chronic obstructive pulmonary disease and hypertension. *Pathology*, 1, 20-23 [in Ukrainian].
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F. & Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin. Interv. Aging*, 13, 757-772.
- Cichoż-Lach, H. & Michalak, A. (2014). Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World J. Gastroenterol*, 20(25), 8082-8091.
- Seredyuk, K.M., Stadnytska, N.E. & Yaremkevich, O.S. (2016). Study of antioxidant activity of extracts of medicinal plants. *Visn. National Lviv Polytechnic University*, 841, 228-232 [in Ukrainian].
- Lalhmingshui, K. & Jagetia, G.C. (2018). Evaluation of the free-radical scavenging and antioxidant activities of Chilauni, Schima wallichii Korth in vitro. *Future Sci. OA*, 4 (2), FSO272.
- Gudzenko, O.P., Levchenko, I.O. & Kozytska, K.I. (2013). Study of the range of hepatoprotectors presented on the domestic pharmaceutical market. *Ukrainian medical almanac*, 16 (2), 114-116 [in Ukrainian].
- Osodlo, G.V. & Fedorova, O.O. (2016). Combined protection of the liver is the basis of modern hepatoprotection. *Rational Pharmacotherapy*, 2, 45-52 [in Ukrainian].
- Gaikwad, P.S., Shete, R.V. & Otari, K.V. (2010). Spinacia oleracea Linn: a pharmacognostic and pharmacological overview. *International Journal of Research in Ayurveda Pharmacy*, 1 (1), 78-84.
- Metha, D. & Belemkar, S. (2014). Pharmacological activity of spinacia oleracea linn. – a complete overview. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 2 (1), 83-93.
- Ko, S.H., Park, J.H., Kim, S.Y., Lee, S.W. & Chun, S.S., Park, E. (2014). Antioxidant Effects of Spinach (Spinacia oleracea L.) supplementation in hyperlipidemic rats. *Preventive Nutrition and Food Science*, 19 (1), 9-26.
- Stefanov, O.V. (Ed.). (2001). Preclinical research of medicines: method. rec. Kyiv: *Avicenna* [in Ukrainian].
- Nikiforuk, A.J., Fira, L.S. & Lykhatskyi, P.G. (2018). Establishing an effective dose of a thick extract from spinach leaves in a model of toxic liver damage. *Phytotherapy Journal*, 3, 38-42 [in Ukrainian].
- Lunda, O.S., Fira, L.S. & Kuzmak, I.P. (2017). The influence of tincture of hosta lanceolata on cytolysis indicators of cell membranes in rats affected by tetrachloromethane. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*, 6, 56-60 [in Ukrainian].
- Gross, D. R. & Tolba, R. (2015). Ethics in animal-based research. *Eur. Surg. Res.*, 55 (1-2), 43-57.
- Dubinina, E.E. & Pustigina, A.V. (2008). Oxidative modification of proteins, their role in pathological conditions. *Ukr. Biochem. Journal*, 80 (6), 5-18 [in Ukrainian].
- Ellman, G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82 (1), 70–77.
- Chevary, S., Chaba, I. & Sekey, I. (1985). The role of superoxide dismutase in the oxidative processes of the cell and the method of determining it in biological materials. *Laboratornoe Delo*, 11, 678-681.
- Okeh, U. (2009). Statistical problems in medical research. *East. Afr. J. Public. Health*, 6 (1), 1-7.
- Gamkrelidze, N., Sanikidze, T., Pavliashvili, N. & Petriashvili, T., Topuridze, M. (2016). Changes of lipo-peroxidation and antioxidant enzymes during crush-syndrome modelling. *Georgian Med. News*, 251, 84-88.
- Trokhymovich, A.A., Kishko, A.A. & Slyvka, Ya.I. (2011). Free radical oxidation and the antioxidant system in cardiovascular pathology. *Scientific Bulletin of the Uzhhorod University. Ser: Medicine*, 2, 361-364 [in Ukrainian].
- Diorditsa, Ya.V. (2019). The antioxidant system of the liver of rats under conditions of acute hepatitis during correction with antioxidant complexes. *Bulletin of Lviv University: Coll. of Science Pr.*, 81, 12-20 [in Ukrainian].
- Mazur O.O. (2016). Role of active forms of oxygen in the aging process (literature review). *Deutscher Wissenschaftsherold*, 3, 24-28.
- Manishchenkova, Yu.O., Orlova, O.A. & Scale, L.V. (2010). Oxidative modification of proteins in patients with comorbid pathology. *Ukrainian Journal of Clinical and Laboratory Medicine*, 5(1), 126-129 [in Ukrainian].
- Galenova, T.I., Raksha, N.G. & Savchuk O.M. (2016). Changes in the biochemical profile of the organism under tetrachloromethane-induced liver damage in rats. *ScienceRise. Biological Science*, 2, 47-54 [in Ukrainian].
- Lavryshyn, Yu.Yu., Varkholyak, I. S. & Martyshuk, T.V. (2016). Biological significance of the system of antioxidant protection of the animal organism. *Scientific Bulletin of S. Z. Gzhitsky Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology*, 18(2), 100-111 [in Ukrainian].
- Belcastro, E., Wu, W., Fries-Raeth, I. & Corti, A., Pompella, A., Leroy, P., Lartaud, I., Gaucher C. (2017). Oxidative stress enhances and modulates protein S-nitrosation in smooth muscle cells exposed to S-nitrosoglutathione. *Nitric Oxide Biol. Chem.*, 69, 10-21.

STUDY OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF THICK EXTRACT FROM GARDEN SPINACH LEAVES IN THE CONDITIONS OF TOXIC LIVER DAMAGE

Summary

Introduction. The liver is a barrier to the entry of toxic substances into the body, since it is in it that metabolism and their neutralization take place, that is, it is a target organ for the action of toxic chemicals. The search for potential hepatoprotectors has been carried out in recent years among a large number of medicinal substances of various origins and structures, but the most promising were natural, mostly plant-derived, agents.

The aim of the study – to investigate the effect of a thick extract from spinach garden leaves on the development of oxidative stress in the body of rats with tetrachloromethane liver damage.

Research Methods. The study of the antioxidant properties of a thick extract from spinach garden leaves was carried out on a model of rat liver damage with tetrachloromethane, which was administered in the form of a 50 % oil solution at a dose of 1.0 ml/kg of animal body weight. One of the groups of animals was injected with the experimental extract at a dose of 150 mg/kg of body weight. The herbal hepatoprotector silymarin, which rats received in the form of a 1 % starch suspension at a dose of 100 mg/kg of body weight, served as a comparison drug. The animals were removed from the experiment under thiopental anesthesia in compliance with all rules for work with vertebrate animals. The content of products of oxidative modification of proteins and reduced glutathione was determined in blood serum and liver, and superoxide dismutase activity was determined in the liver. Parametric (according to Student) and non-parametric (according to Wilcoxon) research methods were used for statistical data processing.

Results and Discussion. It was established that during 10 days in the blood serum of rats affected by tetrachloromethane, the content of products of oxidative modification of proteins, both basic and neutral, increased progressively. By the end of the study, the content of neutral OMP in blood serum increased by 2 times, in the liver – by 1.4 times. During the experiment, the content of reduced glutathione decreased ($p < 0.05$) and superoxide dismutase activity in the liver (by 1.65 times on the 10th day of the study). The spinach extract used by us led to the normalization of the studied indicators and its effectiveness was practically no different from silymarin. Its use in tetrachloromethane-affected animals led to inhibition of oxidative processes, in particular oxidative modification of proteins, and an increase in superoxide dismutase activity and the content of reduced glutathione, which indicates the restoration of the activity of the antioxidant system.

Conclusion. A thick extract from spinach garden leaves showed a pronounced antioxidant effect under the conditions of tetrachloromethane damage to the liver, which makes it appropriate to further research it as an antioxidant agent.

KEY WORDS: thick extract from spinach leaves; oxidative modification of proteins; antioxidant system; superoxide dismutase activity; reduced glutathione.

Отримано 27.01.23

Адреса для листування: Л. С. Фіра, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: fira@tdmu.edu.ua.