



УДК 577.1

## Вплив ліпосомального препарату Бутаінтервіт на протеїнсинтезувальну функцію печінки щурів за отруєння тетрахлорметаном

М.І. Харів, Б.В. Гутий

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Львів, Україна*

Наведено результати досліджень впливу комплексного ліпосомального препарату Бутаінтервіт на протеїнсинтезувальну функцію печінки щурів за отруєння тетрахлорметаном. Тетрахлорметан за внутрішньом'язового уведення в організм щурів (0,25 мл/100 г маси тіла) спричиняє антигенне навантаження на організм, викликає порушення протеїнсинтезувальної функції печінки. Про це свідчить зниження у крові концентрації протеїну. В умовах оксидативного стресу у щурів рівень альбумінів у сироватці крові на 70% нижчий, ніж у клінічно здорових тварин, а концентрація загальних протеїнів у сироватці крові лише на 10% нижча. Поряд зі зниженням вмісту альбумінів у сироватці крові підвищився рівень глобулінової фракції (ра 8,8%). Це викликало альбуміно-глобулінову диспропорцію в сироватці крові хворих тварин. Унаслідок цього відношення альбуміни/глобуліни склало  $0,28 \pm 0,03$ , проти  $0,52 \pm 0,02$  у клінічно здорових щурів. Для нормалізації функціонального стану печінки за оксидативного стресу доцільно застосовувати ліпосомальний препарат Бутаінтервіт, який містить бутафосфан, інтерферон, розторопша плямиста, вітаміни А, D і Е. За оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату в щурів другої дослідної групи виявлене підвищення рівня загальних протеїнів і альбумінів та зниження концентрації глобулінів у сироватці крові на п'яту та десяту добу досліджень. На чотирнадцяту добу досліджень за оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату в щурів спостерігали нормалізацію показників протеїнсинтезувальної функції печінки. Показники загальних протеїнів, альбумінів, глобулінів і співвідношення концентрації альбумінів і глобулінів порівняно з контрольною групою тварин перебували у межах норми.

*Ключові слова:* альбуміни; глобуліни; бутафосфан; інтерферон; розторопша плямиста; вітаміни

## Influence of the liposomal preparation Butaintervite on protein synthesis function in the livers of rats under the influence of carbon tetrachloride poisoning

M.I. Hariv, B.V. Gutyj

*Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyj, Lviv, Ukraine*

This article presents the results of research into the influence of the complex liposomal preparation Butaintervite on protein synthesis function in the livers of rats under the influence of carbon tetrachloride poisoning. Intramuscular injection of carbon tetrachloride into rats at a dose of 0.25 ml per 100 g of body weight causes antigenic load on the body and leads to disruption of protein synthesis function in the liver. This is shown by reduction in blood levels of total protein and its fractions. Thus, the level of albumin in the serum of rats under the conditions of oxidative stress was 70% lower than in clinically healthy animals. However, the level of total protein in the serum was only 10% lower. This is because, along with the decrease of albumin content in the serum, the levels of globulin protein fraction increased by 8.8%. This has led to albumin/globulin disparities in the serum of sick animals. As a result, the value of A/G coefficient was  $0.28 \pm 0.03$ , compared to  $0.52 \pm 0.02$  in clinically healthy rats. For the normalization of functional state of the liver under oxidative stress it is advisable to apply the liposomal preparation Butaintervite, which in its structure contains butafosfan, interferon, thistle and vitamins A, D and E. Under conditions of oxidative stress and under the action of the liposomal preparation in the rats from the second experimental group we have found significant increase in the levels of total protein and albumins and a decrease in serum globulin in the animals on the fifth and tenth

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, Львів, 79010, Україна*

*Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyi, Pekarska Str., 50, Lviv, 79010, Ukraine  
Tel.: +38-068-136-20-54. E-mail: bvh@ukr.net*

days of the experiment. On the fourteenth day of the experiment under the conditions of oxidative stress and under the action of the liposomal preparation in the rats from the second experimental group the normalization of protein synthesis function in the liver was observed. The level of indicators of total protein, albumin, globulin and the coefficient of albumin/globulin compared with the control group of animals were within normal values.

*Keywords:* albumin; globulin; butafosfan; interferon; milk thistle; vitamins

## Вступ

Найбільші проблеми ветеринарної медицини – зниження імунологічної реактивності у постнатальний період розвитку та дія антропогенних чинників, які дестабілізують метаболічні процеси в організмі, викликають зниження природної резистентності, пригнічують протеїнсинтезувальну активність печінки (Chumachenko et al., 2004; Gutuj et al., 2016). Стійкість організму тварин і людини до захворювань забезпечує імунна система, головна функція якої – розпізнавання та знешкодження чужорідних речовин для підтримання стабільності гомеостазу організму. Велику роль у цих процесах відіграє печінка, де синтезуються протеїни, особливо глобулінові фракції. Крім цього, у печінці відбувається синтез ензимів-амінотрансфераз, що підтримують загальний гомеостаз в організмі (Germanyuk and Martynyuk, 1964; Hariv, 2012). Серед багатьох факторів, які негативно впливають на імунну систему, протеїнсинтезувальну та ензимну функцію печінки тварин важливе місце посідають різні імундепресанти, які пригнічують вищезгадані функції (Hariv, 2013). У цих умовах розвивається імунodefіцитний стан. Власне тому організм може уражатися вторинними бактеріальними або вірусними інфекціями (Devanto et al., 2002; Kurkin et al., 2003; Meyers et al., 2003). Для підвищення адаптаційної здатності та імунобіологічної реактивності організму, посилення протеїнсинтезувальної та ензимної функції тварин останніми роками з успіхом використовують нові комплексні препарати (Batakov, 2001; Liu and Finley, 2005; Rababah et al., 2005). Окремі автори встановили стимулювальний вплив бутафосфану, розторопша та вітамінів на активність імунної та антиоксидантної систем тварин (Batakov, 2001; Khariv et al., 2016; Martyshuk et al., 2016). Однак метаболічна дія цих препаратів на функцію печінки та імунну систему нині в науковій літературі висвітлена недостатньо.

Наведене вище обґрунтовує доцільність дослідження впливу комплексного ліпосомального препарату Бутаінтервіт, до складу якого входять бутафосфан, інтерферон, розторопша та вітаміни, на формування імунітету та забезпечення високої природної резистентності у тварин, їх впливу на функцію печінки, позитивного впливу на обмін речовин, прискорення росту та збереження поголів'я.

## Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на молодих білих лабораторних щурах-самцях лінії Вістар масою 180–200 г, яких утримували у стандартних умовах інститутського віварію Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок. Упродовж експерименту щурів утримували на збалансованому раціоні, який містив усі необхідні компоненти. Питну воду тварини отримували без обмежень. Для досліджень сформовано три групи щурів по 20 тва-

рин у кожній. Щурам I і II дослідних груп для отримання оксидативного стресу на першу та третю добу досліджень вводили внутрішньом'язово 50% тетра-хлорметан у формі олійного розчину (0,25 мл/100 г маси тіла) за методикою О.В. Стефанова. Масу тіла щурів визначали їх щоденним зважуванням, що дозволило чітко дотримуватися дії препарату у вказаній вище дозі протягом усього експерименту. Тварини контрольної групи отримували ін'єкції аналогічного об'єму фізіологічного розчину. Теоретично можливий вплив води на аналізовані гематологічні та біохімічні показники однаковий у дослідній і контрольній групах. Тваринам II дослідної групи на 1-шу і 3-тю добу досліджень через годину після введення тетрахлоретану додатково вводили ліпосомальний препарат (2 мл/кг маси тварини). До складу даного препарату входять бутафосфан, інтерферон, розторопша ін'єкційна та вітаміни А, Е і D<sub>3</sub>. Кров для біохімічних і гематологічних досліджень забірали з яремної вени на 2, 5, 10 та 14-ту добу експерименту під слабким ефірним наркозом. Досліджували концентрацію протеїну загального, його фракції, рівень сечовини, креатиніну та білірубину загального за методикою Vlizlo (2012).

Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Страсбург, 1986 р.).

Статистичне опрацювання даних проводили із застосуванням програми Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA) з визначенням середнього арифметичного (M) та його стандартної похибки (m). В усіх випадках вірогідними вважали відмінності між групами за P < 0,05 (ANOVA).

## Результати та їх обговорення

Важливий показник протеїнсинтезувальної функції печінки – рівень загального протеїну та його фракцій у сироватці крові. Він відображає зміни, що настають в організмі за різних патологічних станів. За оксидативного стресу у щурів рівень альбумінів у сироватці крові знижувався на 70% порівняно з клінічно здоровими тваринами (табл.). Але рівень загального протеїну в сироватці крові був лише на 10% нижчим: поряд зі зниженням вмісту альбумінів у сироватці крові підвищився рівень глобулінової фракції протеїну (на 8,8%). Це викликало альбуміно-глобулінову диспропорцію у сироватці крові хворих тварин. Унаслідок цього величина коефіцієнта альбуміни/глобуліни склала  $0,28 \pm 0,03$ , проти  $0,52 \pm 0,02$  у клінічно здорових щурів.

На 5-ту і 10-ту добу досліджень показники загальних протеїнів і альбумінів у I дослідній групі залишалися низькими. На 14-ту добу у I дослідній групі показники загальних протеїнів і альбумінів незначно підвищилися, проте були нижчими від показників контрольної групи (відповідно рівень загальних протеїнів на 5%, рівень

альбумінів – на 24%). Рівень глобулінів перебував у межах контрольних величин. Досить показова величина коефіцієнта альбуміни/глобуліни на 14-ту добу досліджень у I дослідної групи ( $0,41 \pm 0,04$  проти контролю  $0,52 \pm 0,02$ ,  $P < 0,05$ ). Така величина коефіцієнта, безсумнівно, вказує на пригнічення протеїнсинтезувальної функції печінки на даний період досліджень. В умовах оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату у щурів другої дослідної групи встановлено вірогідне підвищення рівня загаль-

них протеїнів та альбумінів, зниження рівня глобулінів у крові щурів 5- та 10-ту добу досліджень. На 14-ту добу досліджень за оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату у щурів II дослідної групи спостерігаємо нормалізацію показників протеїнсинтезувальної функції печінки. У межах нормальних величин перебували показники загальних протеїнів, альбумінів, глобулінів і коефіцієнт альбуміни/глобуліни порівняно з контрольною групою тварин.

Таблиця

Показники функціонального стану печінки щурів за оксидативного стресу та за дії ліпосомального препарату ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ )

Показник	Дослідна група	Доба досліджень			
		2-га	5-га	10-га	14-га
Протеїн загальний, г/л	К	$65,4 \pm 1,87$			
	D <sub>1</sub>	$59,6 \pm 1,33^*$	$58,2 \pm 2,05^*$	$60,8 \pm 1,98$	$62,8 \pm 2,13$
	D <sub>2</sub>	$58,8 \pm 1,76^*$	$62,7 \pm 1,09$	$64,4 \pm 0,87$	$66,2 \pm 1,26$
Альбуміни, г/л	К	$22,4 \pm 1,24$			
	D <sub>1</sub>	$13,1 \pm 1,65^*$	$12,9 \pm 2,21^*$	$15,2 \pm 1,94^*$	$18,1 \pm 1,85^*$
	D <sub>2</sub>	$13,7 \pm 1,94^*$	$19,1 \pm 1,37$	$20,9 \pm 1,64$	$22,9 \pm 0,89$
Глобуліни, г/л	К	$43,1 \pm 1,41$			
	D <sub>1</sub>	$46,5 \pm 2,25^*$	$45,3 \pm 2,65$	$45,6 \pm 1,87$	$44,7 \pm 2,26$
	D <sub>2</sub>	$46,1 \pm 1,82^*$	$43,6 \pm 2,24$	$43,5 \pm 1,64$	$43,3 \pm 1,75$
Коефіцієнт, А/Г	К	$0,52 \pm 0,02$			
	D <sub>1</sub>	$0,28 \pm 0,03^*$	$0,31 \pm 0,04^*$	$0,33 \pm 0,03^*$	$0,41 \pm 0,04^*$
	D <sub>2</sub>	$0,29 \pm 0,03^*$	$0,45 \pm 0,03^*$	$0,48 \pm 0,02$	$0,53 \pm 0,03$

Отже, встановлено позитивну дію ліпосомального препарату на організм щурів, інтоксикованих тетрахлорметаном, що проявляється в нормалізації протеїнсинтезувальної функції печінки. Токсична дія тетрахлорметану на печінку супроводжується порушенням її функціонального стану, що характеризується порушенням протеїнсинтезувальної функції печінки, накопиченням амінотрансфераз у сироватці крові лабораторних тварин (Chen et al., 2000; Usha et al., 2007; Saba et al., 2010). Згідно з літературними даними, підвищення активності цих ензимів після ураження печінки тісно корелює зі ступенем деструкції гепатоцитів (Wolf, 1999; Sato et al., 1999; Longo et al., 2007; Morita et al., 2009; Khariv, 2016). Окремі науковці (Wolf 1999; Cherkashina and Petrenko, 2006; Morita et al., 2009) вважають, що показники активності ензимів у сироватці крові не завжди об'єктивно відображають функціональний і морфологічний стани печінки.

Отруєння тетрахлорметаном супроводжується порушенням гемопоетичної функції кісткового мозку щурів, що характеризується зміною морфологічних показників крові (Calabrese et al., 1999; Weber et al., 2003; Lee et al., 2004; Usha et al., 2007; Saba et al., 2010; Vyshtakaliuk et al., 2015). Зміна морфологічних показників крові тісно пов'язана з порушенням еритропоетичної функції кісткового мозку (Wolf, 1999; Sato et al., 1999; Longo et al., 2007; Morita et al., 2009; Kumarappan et al., 2011). У тварин за інтоксикації тетрахлорметаном настає пригнічення кровотвірної функції кісткового мозку. На це вказує зменшення кількості еритроцитів та зниження вмісту гемоглобіну у крові. Після цього настає тканинна гіпоксія, внаслідок чого уповільнюються окисно-відновні процеси та погіршується обмін речовин у тканинах організму, зокрема, печінки.

## Висновки

У разі отруєння щурів тетрахлорметаном у печінці настають глибокі деструктивні зміни клітинних оболонок гепатоцитів та мітохондріальних мембран, що проявляється пригніченням протеїнсинтезувальної функції печінки. Відповідно рівень альбумінів у сироватці крові знижується на 70% порівняно з клінічно здоровими щурами, а рівень загального протеїну у сироватці крові – на 10%. Рівень глобулінів зростає на 8,8%, що викликає альбуміно-глобулінову диспропорцію у сироватці крові хворих тварин. Унаслідок цього величина альбуміни/глобуліни складає  $0,28 \pm 0,03$  проти  $0,52 \pm 0,02$  у клінічно здорових щурів. На 14-ту добу досліджень у I дослідній групі концентрація загальних протеїнів і альбумінів знижується на 5% та 24% порівняно з контрольною групою. Показова величина коефіцієнта альбуміни/глобуліни на 14-ту добу досліджень у I дослідної групи:  $0,41 \pm 0,04$  проти  $0,52 \pm 0,02$  у контролі ( $P < 0,05$ ). Така величина коефіцієнта вказує на пригнічення протеїнсинтезувальної функції печінки на даний період досліджень.

Під час застосування ліпосомального препарату за оксидативного стресу в сироватці крові щурів настає нормалізація протеїнсинтезувальної функції печінки: на 14-ту добу вона повертається до фізіологічної норми за показниками загального протеїну, альбумінів та глобулінів.

## Бібліографічні посилання

Batakov, E.A., 2001. Effect of *Silibum marianum* oil and legalon on lipid peroxidation and liver antioxidant systems rats

- intoxicates with carbon tetrachloride. *Eksp. Klin. Farmakol.* 64, 53–55.
- Calabrese, E.J., Leonard, D.A., Zhao, X., Lakshmanan, K., 1999. Role of tissue repair in carbon tetrachloride hepatotoxicity in male and female Sprague–Dawley and Wistar rats. *Int. J. Toxicol.* 15, 62–69.
- Chen, W., Kennedy, D.O., Kojima, A., Matsui–Yuasa, I., 2000. Polyamines and thiols in the cytoprotective effect of L-cysteine and L-methionine on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Amino Acids* 18(4), 319–327.
- Cherkashina, D.V., Petrenko, A.Y., 2006. Hepatoprotective effect of fetal tissue cytosol and its thermostable fraction in rats with carbon tetrachloride–induced hepatitis. *Bull. Exp. Biol. Med.* 141(4), 544–547.
- Devanto, V., Wu, X., Liu, R.H., 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Agric. Foat. Chem.* 50(17), 4959–4964.
- Gutyj, B.V., Mursjka, S.D., Hufrij, D.F., Hariv, I.I., Levkivska, N.D., Nazaruk, N.V., Haydyuk, M.B., Priyma, O.B., Bilyk, O.Y., Guta, Z.A., 2016. Vplyv kadmijevogo navantazhennja na systemu antyoksydantnogo zahystu organizmu bugajciv [Influence of cadmium loading on the state of the antioxidant system in the organism of bulls]. *Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.* 24(1), 96–102 (in Ukrainian).
- Khariv, M., Gutyj, B., Butsyak, V., Khariv, I. (2016). Gematologichni pokaznyky organizmu shhuriv za umov oksydacijnogo stresu ta za dii' liposomal'nogo preparatu [Hematological indices of rat organisms under conditions of oxidative stress and liposomal preparation action]. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytsky Melitopol State Pedagogical University* 6(1), 276–289.
- Khariv, M.I., 2016. Dynamika aktyvnosti aminotransferaz syrovatky krovi shhuriv za oksydacijnogo stresu ta dii' liposomal'nogo preparatu [Dynamics of indices of aminotransferase activity in the blood serum of rats under conditions of oxidative stress and effect of liposomal medicinal product]. *Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Med.* 7(1), 3–7.
- Lee, J.Y., Lee, J.H., Kim, H.J., 2004. The preventive inhibition of chondroitin sulfate against the CCl<sub>4</sub>–induced oxidative stress of subcellular level. *Arch. Pharm. Res.* 27(3), 340–345.
- Liu, R.H., Finley, J., 2005. Potential cell culture models for antioxidants research. *J. Agric. Food Chem.* 53(10), 4311–4314.
- Longo, V., Chirulli, V., Giovanni Gervasi, P., Pellegrini, M., 2007. Lisosan G, a powder of grain, does not interfere with the drug metabolizing enzymes and has a protective role on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Biotechnol. Lett.* 29(8), 1155–1159.
- Martysjuk, T.V., Gutyj, B.V., Vishchur, O.I., 2016. Riven' produktiv perekysnogo oksyennja lipidiv u krovi shhuriv za umov oksydacijnogo stresu ta za dii' liposomal'nogo preparatu Butaselmevit [Level of lipid peroxidation products in the blood of rats under the influence of oxidative stress and under the action of liposomal preparation of Butaselmevit]. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytsky Melitopol State Pedagogical University* 6(2), 22–27 (in Ukrainian).
- Meyers, K.K., Watkins, C.B., Pritts, M.P., Liu, R.H., 2003. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *Agric. Foat. Chem.* 23, 6887–6892.
- Morita, M., Akai, S., Hosomi, H., Tsuneyama, K., Nakajima, M., Yokoi, T., 2009. Drug-induced hepatotoxicity test using  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase knockdown rat. *Toxicol. Lett.* 189(2), 159–165.
- Rababah, T.M., Ereifei, K.I., Howard, L., 2005. Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and color in fruits. *J. Agric. Foat. Chem.* 53(11), 4444–4447.
- Saba, A. B., Oyagbemi, A.A., Azeez, O.I., 2010. Amelioration of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity and haemotoxicity by aqueous leaf extract of *Cnidioscolus acontitifolius* in rats. *Nig. J. Physiol. Sci.* 25, 139–147.
- Dai, W., Sato, S., Asano, G., 1999. The protective effect of hepatocyte growth-promoting factor (pHGF) against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats: An ultrastructural study. *J. Nippon Med. Sch.* 68(2), 154–164.
- Usha, K., Mary Kasturi, G., Hemalatha, P., 2007. Hepatoprotective effect of *Hygrophila spinosa* and *Cassia occidentalis* on carbon tetrachloride induced liver damage in experimental rats. *Indian J. Clin. Biochem.* 22(2), 132–135.
- Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S., Ratyck, I.B., 2012. Laboratorni metody doslidzhen u biolohiyi, tvarynytstvi ta veterynarniy medytsyni [Laboratory methods of investigation in biology, stock-breeding and veterinary]. *Dovidnyk.* (in Ukrainian).
- Vyshtakaliuk, A.B., Nazarov, N.G., Porfiriev, A.G., Zueva, I.V., Minnechanova, O.A., Mayatina, O.V., Reznik, V.S., Zobov, V.V., Nicolskyi, E.E., 2015. The influence of the Xymedon preparation (Hydroxyethylmethylidihydropyrimidine) on the rat liver recovery under toxic damage induced by carbon tetrachloride. *Dokl. Biochem. Biophys.* 462, 143–146.
- Weber, L., Boll, M., Stampfl, A., 2003. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: Carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit. Rev. Toxicol.* 33(2), 105–136.
- Wolf, P.L., 1999. Biochemical diagnosis of liver disease. *Indian J. Clin. Biochem.* 14(1), 59–90.

Надійшла до редколегії 26.09.2016