

UDC 616.314:664.315

Anatoly LEVYTSKY

Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of Grain and compound feed Technology, Odesa National Technological University, Kanatna str., 112, Odesa, Ukraine, 65039 (irina.selivanskaya@gmail.com)

ORCID: 0000-0002-1966-542X

SCOPUS: 7004258441

RESEARCHER ID: B-2672-2016

Iryna SELIVANSKA

Candidate of Technical Sciences, senior lecturer of the Department of Clinical Chemistry and Laboratory Diagnostics, Odesa National Medical University, Valikhovsky Lane 2, Odesa, Ukraine, 65000 (irina.selivanskaya@gmail.com)

ORCID: 0000-0002-9273-4401

SCOPUS: 57223324301

RESEARCHER ID: HWR-8720-2023

Vladyslav VELYCHKO

Candidate of Medical Sciences, physician-surgeon, Department of invasive methods of diagnosis and treatment of the Odesa Regional Clinical Hospital, Akademika Zabolotny str., 26/32, Odesa, Ukraine, 65000 (vlvelichko13@gmail.com)

ORCID: 0000-0001-5038-8312

To cite this article: Levitsky A., Selivanska I., Velychko V. (2024). Kompleksne biohimichne vyznachennja likuval'no-profilaktychnoi' efektyvnosti fitozasobiv pry urazheni pechinky shhuriv, jaki spozhyvaly smazhenu sonjashnykovu oliju [Integrated biochemical determination of the therapeutic and preventive effectiveness of herbal remedies for liver damage in rats that consumed fried sunflower oil]. *Fitoterapiia. Chasopys – Phytotherapy. Journal*, 3, 86–91, doi: <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-3-86>

INTEGRATED BIOCHEMICAL DETERMINATION OF THE THERAPEUTIC AND PREVENTIVE EFFECTIVENESS OF HERBAL REMEDIES FOR LIVER DAMAGE IN RATS THAT CONSUMED FRIED SUNFLOWER OIL

Actuality. For an objective assessment of the therapeutic and preventive effectiveness of phytopreparations, especially when developing new drugs, it is necessary to use several markers of pathogenicity. It is established that a number of factors take part in the development of the pathological process in the body: microbes, peroxidation processes, activation of proteolysis, reduction of the level of protective systems (antioxidant, protease inhibitors, immune system). The nature of changes in indicators of these systems and factors makes it possible to evaluate the therapeutic and preventive effect of herbal preparations for various diseases.

The aim of the study. To conduct a comparative assessment of the therapeutic and preventive effectiveness of new multifunctional anti-dysbiotic phytopreparations in the liver of rats that consumed fried sunflower oil.

Material and methods. Fried sunflower oil (FSO) was obtained by thermal peroxidation in the presence of a catalyst. FSO was added to the feed in the amount of 2 g/kg. As phytopreparations, we used multifunctional anti-dysbiotic agents with the content of prebiotics, antioxidants, protease inhibitors and lysozyme, namely kvvertulin, lequin, lekasil and lysozyme-forte.

Rats received FSO during the 75 days of the experiment, and herbal preparations in a dose of 300 mg/kg, starting from the 31st day of the experiment. After euthanasia of the animals, on the 76th day of the experiment, the level of biochemical indicators of pathogenicity was determined in the liver: activity of urease, elastase, and malondialdehyde (MDA) content, as well as the level of biochemical indicators of protective systems: activity of lysozyme, catalase, and the antioxidant-prooxidant index of API. The percentage of increase in the level of pathogenicity markers and the percentage of decrease in the level of protection markers were calculated. The sum of these indicators (in%) testified to the state of pathology of the liver under the conditions of the action of FSO. Similarly, the state of pathology was determined under the action of phytopreparations against the background of consumption of FSO. Therapeutic and preventive effectiveness (TPE) was estimated according to the formula $TPE = \frac{PE_1 - PE_2}{PE_1} \cdot 100\%$, where: PE_1 – is the pathogenic effect of FSO; PE_2 – is the pathogenic effect of FSO against the background of the phytopreparation.

Research results. The use of phytopreparations to a certain extent reduces the growth of pathogenicity indicators, inhibits the decrease in the level of protection markers. According to the sum of these indicators, lysozym-forte (32,8%), followed by kvvertulin (20,4%) and lekasil (18,9%) revealed the largest TPE.

Conclusion. It is recommended to use phytopreparations lysozyme-forte or kvvertulin for the prevention of liver damage when consuming FSO. Further research is needed to develop more effective phytopreparations.

Key words: liver; fried oil, phytopreparations, methods of determining therapeutic and preventive effectiveness.

Анатолій ЛЕВИЦЬКИЙ

доктор біологічних наук, професор, професор кафедри зерна і комбікормів, Одеський національний технологічний університет, вул. Канатна, 112, Одеса, Україна, 65039 (irina.selivanskaya@gmail.com)

ORCID: 0000-0002-1966-542X

SCOPUS: 7004258441

RESEARCHER ID: B-2672-2016

Ірина СЕЛІВАНСЬКА

кандидат технічних наук, старший викладач кафедри медичної біології та хімії, Одеський національний медичний університет, Валіховський провулок, 2, Одеса, Україна, 65000 (irina.selivanskaya@gmail.com)

ORCID: 0000-0002-9273-4401

SCOPUS: 57223324301

RESEARCHER ID: HWR-8720-2023

Владислав ВЕЛИЧКО

кандидат медичних наук, лікар-хірург відділення інвазійних методів діагностики та лікування, КНП «Одеська обласна клінічна лікарня», вул. Академіка Заболотного, 26/32, Одеса, Україна, 65000 (vlvelichko13@gmail.com)

ORCID: 0000-0001-5038-8312

Бібліографічний опис статті: Левицький А., Селіванська І., Величко В. (2024). Комплексне біохімічне визначення лікувально-профілактичної ефективності фітозасобів при ураженні печінки щурів, які споживали смажену соняшникову олію. *Фітотерапія. Часопис*, 3, 86–91, doi: <https://doi.org/10.32782/2522-9680-2024-3-86>

КОМПЛЕКСНЕ БІОХІМІЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ФІТОЗАСОБІВ ПРИ УРАЖЕННІ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ, ЯКІ СПОЖИВАЛИ СМАЖЕНУ СОНЯШНИКОВУ ОЛІЮ

Актуальність. Для об'єктивної оцінки лікувально-профілактичної ефективності фітопрепаратів, особливо під час розроблення нових препаратів, необхідно використовувати декілька маркерів патогенності. Установлено, що у розвитку патологічного процесу в організмі бере участь низка чинників: мікроби, процеси пероксидації, активація протеолізу, зниження рівня захисних систем (антиоксиданти, інгібітори протеаз, імунна система). Характер змін показників цих систем і чинників дає можливість оцінювати лікувально-профілактичну дію фітопрепаратів при різних захворюваннях.

Мета дослідження – провести порівняльну оцінку лікувально-профілактичної ефективності нових поліфункціональних антидисбіотичних фітопрепаратів у печінці щурів, які споживали смажену соняшникову олію.

Матеріал і методи. Смажену соняшникову олію (ССО) отримували шляхом термопероксидації у присутності каталізатора. ССО вводили до складу корму в кількості 2 г/кг. Як фітопрепарати використано розроблені нами поліфункціональні антидисбіотичні засоби з умістом пребіотиків, антиоксидантів, лізоциму та інгібіторів протеаз, а саме: квертулін, леквін, лекасил і лізоцим-форте.

Щурі отримували ССО впродовж 75 днів досліджу, а фітопрепарати – у дозі 300 мг/кг, починаючи з 31-го дня досліджу. Після евтаназії тварин на 76-й день досліджу в печінці визначали рівень біохімічних показників патології: активність уреази, еластази та вміст малонового діальдегіду (МДА), а також рівень біохімічних показників захисних систем: активність лізоциму, каталази і антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ. Розраховували відсоток збільшення рівня маркерів патології та відсоток зниження рівня маркерів захисту. Сума цих показників (у%) свідчила про стан патології печінки в умовах дії ССО. Аналогічно визначали стан патогенності за дії фітопрепаратів на тлі споживання ССО. Лікувально-профілактичну ефективність (ЛПЕ) оцінювали за формулою $ЛПЕ = \frac{ПД_1 - ПД_2}{ПД_1} \cdot 100\%$, де: $ПД_1$ – патогенна дія ССО; $ПД_2$ – патогенна дія ССО на тлі фітопрепарату.

Результати дослідження. Установлено, що під час споживання ССО у печінці щурів значно (у сотні разів) зростає активність уреази, що свідчить про мікробне обсіменіння, і суттєво зростає рівень процесів пероксидації ліпідів, про яке свідчить збільшення вмісту МДА та зниження рівня індексу АПІ.

Застосування фітопрепаратів певною мірою знижує ріст показників патогенності, гальмує зниження рівня маркерів захисту. За сумою цих показників найбільшу ЛПЕ виявив лізоцим-форте (32,8%), потім – квертулін (20,4%) і найменшу – лекасил (18,9%).

Висновок. Рекомендовано використовувати для профілактики уражень печінки під час споживання ССО фітопрепарати лізоцим-форте або квертуліну. Необхідні подальші дослідження для розроблення більш ефективних фітопрепаратів.

Ключові слова: печінка, смажена олія, фітопрепарати, методи визначення лікувально-профілактичної ефективності.

Actuality. High-temperature fatty cooking always leads to the formation of various toxic products (trans isomers, aldehydes, ketones) from unsaturated fatty acids (Levitsky, 2021). It has been shown that these products cause the development of pathological inflammatory processes in the animal body, activation of lipid peroxidation (LPO), disruption of histo-hematic barriers, and a decrease in the level of non-specific immunity.

In our previous studies, it was established that the consumption of thermoperoxide fats, especially fried sunflower oil, causes damage to almost all organs and tissues, and the liver is the most affected (Levitsky, 2021). As a result of the consumption of fried sunflower oil in the liver, LPO and proteolysis are activated, the level of protective systems decreases: antioxidant, antimicrobial, non-specific immunity, reparation (Marcellin, Kutala, 2018).

In this work, we used the following biochemical indicators of the pathological state: elastase enzyme activity, urease enzyme activity, and malondialdehyde (MDA) content (Levitsky et al., 2018).

In a pathological condition, the level of biochemical markers of pathology not only increases, but also decreases the level of biochemical markers of protective systems, the total reduction of which (PE_{pr}) is also determined by this formula, but in this case, the indicator in the pathological condition is subtracted from the control indicator.

For the prevention and treatment of complications arising from the consumption of thermoperoxide fats, we offered the so-called polyfunctional anti-dysbiotic agents (PFADA), which include prebiotics, antioxidants, protease inhibitors, vitamins and calcium salts (Gozhenko et al., 2013; Levitsky et al., 2014).

In this work, we used 4 PFADA preparations, namely kvertulin, lequin, lekasil and lysozyme-forte, the composition of which is presented in table 1.

The aim of the study. The purpose of this work was to determine the therapeutic and preventive effective-

ness of the above drugs in relation to liver damage in rats that received fried sunflower oil with food.

Material and methods. White Wistar rats (males, 7–8 months, 240–260 g) were used in the work, which were fed fried sunflower oil (FSO) at a dose of 2 g/kg for 75 days. Fried sunflower oil was obtained according to the method (Levitsky, 2021). There were a total of 6 groups of rats with 7 heads in each: 1st – intact control, 2nd, 3rd, 4th, 5th and 6th groups received food with FSO from the first to the 75th day of the experiment. The 3rd group additionally received the drug Kvertulin from the 31st day of the experiment until the 75th day, the 4th group similarly received the drug Lequin, the 5th – the drug Lekasil, and the 6th – the drug lysozyme-forte. All drugs were administered with food at a dose of 300 mg/kg body weight.

After euthanasia of the animals on the 76th day of the experiment under thiopental anesthesia, by total bleeding from the heart. In the homogenate of liver, the activity of elastase, urease, catalase, lysozyme, MDA content was determined, and the antioxidant-prooxidant index of API was calculated based on the ratio of catalase activity and MDA content. All these methods were carried out in accordance with the methods described in the monograph (Levitsky et al., 2018).

Based on the obtained results, the percentage of increase in the level of pathogenicity markers (elastase, urease, MDA) and the percentage of decrease in the level of protection markers (lysozyme, catalase, API) were calculated.

The therapeutic and preventive effectiveness (TPE) of phytopreparations was calculated according to the formula

$$TPE = \frac{PE_1 - PE_2}{PE_1} \cdot 100\%, \text{ where:}$$

PE_1 – the sum $PE_p + PE_{pr}$ in the liver of rats that received FSO for 75 days (2nd group);

PE_2 – the sum $PE_p + PE_{pr}$ in the liver of rats, which additionally received a phytopreparation from the 31st day of the experiment.

Statistical processing of the research results was carried out on a computer using the licensed software product Statistica 7.0. The Student's t test was used for comparative analysis of the results of independent groups of experiments. Results with $p < 0.05$ were considered reliable.

Research results. Tables 2 and 3 presents the results of determining the level of biochemical markers of pathogenicity, which indicate a significant increase in the activity of the microbial enzyme urease in the liver of rats after long-term consumption of FSO. Urease is an indicator of microbial insemination. To a lesser extent, indicators of the inflammatory process increase, namely the content of MDA and the activity of the proteolytic enzyme elastase.

All investigated herbal preparations inhibited the growth of elastase activity and MDA content, but had

Table 1

**Characteristics of tableted forms
of polyfunctional antidysbiotic remedies**

Product	Composition	Regulatory documentation
Kvertulin	Quercetin, inulin, calcium citrate	TC 10.8-13903778-040:2012 Conclusion MPU № 05.03.02-06/44464 от 17.05.2012
Lequin	Lecithin, quercetin, inulin, calcium citrate	TC 10.8-37420386-003:2016 Conclusion MPU № 05.03.02-08/8400 от 21.03.2016
Lekasil	Lecithin, milk thistle meal, calcium citrate	TC 10.8-37420386-005:2017 Conclusion MPU № 602-123-20-2/12102 от 25.04.2017
Lysozyme-forte	Lysozyme, quercetin, inulin, gelatin, calcium citrate	TC 10.8-37420386-004:2016 Conclusion MPU № 602-123-20-2/5734 от 22.12.2016

little effect on the growth of urease activity, with the exception of the drug lysozyme-forte, which reduces the increase in the activity of this bacterial enzyme by 1.5 times. Lysozym-forte proved to be the most effective in terms of the total pathogenic effect of FSO on the liver.

Tables 4 and 5 presents the results of determining the influence of FSO and herbal preparations on biochemical indicators of protective systems. It can be seen that the antioxidant-prooxidant index of API decreases to the greatest extent, and catalase activity to the least. The use of the drug kvertulin even increased the level of API, which is probably due to the ability of quercetin, which is part of this drug,

to inhibit LPO (Levitsky et al., 2014). Kvertulin turned out to be better in terms of the amount of pathogenic effect of SFO on indicators of protection markers.

Table 6 presents the results of determining the total pathogenic effect on the state of the liver of rats consuming FSO and herbal preparations. From these data, it can be seen that the drugs lysozyme-forte and kvertuli reduce the pathogenic effect of FSO to the greatest extent.

The figure shows the results of determining the therapeutic and preventive effectiveness of the herbal preparations used by us, from which it can be seen that the use of the drug lysozyme-forte reduces the pathogenic effect

Table 2
The effect of herbal preparations on the level of biochemical markers of pathogenicity in the liver of rats that received of fried sunflower oil

№ №	Group	Elastase, mk-kat/kg	Urease, mk-kat/kg	MDA, mmol/kg
1	Control	335,4±16,8	0,032±0,014	24,98±2,10
2	Fried sunflower oil (FSO)	445,0±21,6 p<0,01	0,176±0,023p<0,05	52,12±1,32p<0,001
3	FSO + kvertulin	343,8±20,1p>0,3; p1<0,01	0,127±0,026 p<0,05; p1>0,05	38,02±2,76 p<0,05; p1<0,05
4	FSO + lequin	359,6±25,0 p>0,3; p1<0,05	0,129±0,017 p<0,05; p1>0,3	40,00±1,37 p<0,05; p1<0,05
5	FSO + lekasil	360,3±9,8 p>0,3; p1<0,05	0,100±0,021 p<0,05; p1>0,05	35,02±2,10 p<0,05; p1<0,01
6	FSO+ lysozyme-forte	354,1±17,9 p>0,3; p1<0,05	0,091±0,024 p>0,05; p1<0,05	38,97±1,17 p<0,05; p1<0,01

p – in comparison with group № 1; p₁ – in comparison with group № 2.

Table 3
Increase in the level (%) of biochemical markers of pathogenicity in the liver of rats treated with phytopreparations against the background of consumption of fried sunflower oil (FSO)

Indexes	FSO	FSO + kvertulin	FSO + lequin	FSO + lekasil	FSO+ lysozyme-forte
Elastase	32,8	10,1	13,7	13,7	12,4
Urease	450	422,2	423,3	406,8	340,3
MDA	108,4	81,3	85,1	75,6	75,2
PEp	591,2	513,6	522,1	496,1	427,9

Table 4
The effect of herbal preparations on the level of biochemical markers of protection in the liver of rats that received of fried sunflower oil

№ №	Group	Lysozyme, unit/kg	Catalase, mkat/kg	API, unit/kg
1	Control	86,0±4,0	5,56±0,07	2,23±0,13
2	Fried sunflower oil (FSO)	52,4±4,0 p<0,01	4,87±0,08 p<0,01	0,93±0,11 p<0,01
3	FSO + kvertulin	60,0±5,0 p<0,05; p1>0,05	5,54±0,08 p>0,3; p1<0,05	1,45±0,14 p<0,05; p1<0,05
4	FSO + lequin	62,0±8,0 p<0,05; p1>0,05	5,15±0,07 p<0,05; p1<0,05	1,29±0,10 p<0,05; p1<0,05
5	FSO + lekasil	55,0±3,0 p<0,01; p1>0,3	5,26±0,13 p<0,05; p1<0,05	1,50±0,13 p<0,05; p1<0,05
6	FSO+ lysozyme-forte	72,0±6,0 p>0,05; p1<0,05	5,54±0,08 p>0,5; p1<0,01	1,42±0,11 p<0,05; p1<0,01

p – in comparison with group № 1; p₁ – in comparison with group № 2.

Table 5
Decrease in the level (%) of biochemical markers of protection in the liver of rats that received phytopreparations against the background of consumption of fried sunflower oil (FSO)

Indexes	FSO	FSO + kvertulin	FSO + lequin	FSO + lekasil	FSO+ lysozyme-forte
Lysozyme	39,5	24,1	20,3	33,7	1,0
Catalase	10,6	+2,5	4,8	5,1	5,1
API	58,3	33,6	42,1	22,7	36,3
PEpr	108,4	43,2	67,2	61,5	42,4

Table 6
The effect of herbal preparations on the total pathogenic effect on the liver fried sunflower oil (FSO)

Group	Phytopreparation	Σ PEp+PEpr
2	FSO	699,6
3	FSO + kvertulin	556,8
4	FSO + lequin	589,3
5	FSO + lekasil	567,6
6	FSO + lysozyme-forte	470,3

of FSO by 32,8%, kvvertulin by 20,4%, and Lekasil by only 18,9%, possibly due to the absence of quercetin in its composition (fig. 1).

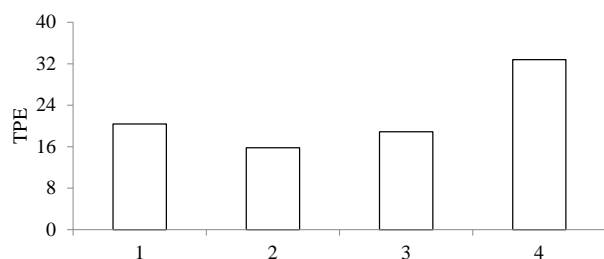


Fig. 1. Therapeutic and prophylactic effectiveness (TPE) of phytopreparations on the pathological condition of the liver of rats that consumed fried sunflower oil (1 – kvvertuline, 2 – lequin, 3 – lekasil, 4 – lysozyme-forte)

Discussion. Different body systems take part in the development of pathological processes, the state of which is determined mainly by biochemical indicators.

In our work, we used the following indicators as markers of the pathogenic state: the activity of the bacterial enzyme urease, which is an indicator of microbial insemination (Levitsky, 2019), the activity of the proteolytic enzyme elastase, which is secreted by leukocytes (Levitsky, 2019) and the content of the final product of lipid peroxidation – malondialdehyde (MDA). All these indicators reliably increase in the liver of rats that consumed fried sunflower oil (FSO).

As biochemical markers of protective systems, we used the following indicators: the activity of the antimicrobial enzyme lysozyme, the activity of the antioxidant enzyme catalase, and the complex indicator antioxidant-prooxidant index API.

All these markers are significantly reduced in the liver of rats that consumed FSO.

Guided by the law of dialectical philosophy about the transition of quantity into quality, we determined the total change of biochemical markers for the purpose of greater objectivity in the assessment of the pathological condition.

All four phytopreparations that were used in our work contained calcium citrate, prebiotic inulin, and a polyphenolic compound, the most effective of which was quercetin (Levitsky et al., 2014). Only one remedy, namely Lysozyme-forte, contained lysozyme. This drug turned out to be the most effective, which gives reason to consider the microbial factor as the main reason for the development of the pathological process in the liver of rats that consumed FSO (Levitsky, 2021).

Conclusions

1. Long-term consumption of thermoperoxide sunflower oil by rats significantly increases the level of biochemical markers of the pathological condition in the liver, namely elastase activity by 32.8%, MDA content by 108.4%, and urease activity by 450%.

2. Long-term consumption of thermoperoxide sunflower oil by rats significantly reduces the level of biochemical markers of protection in the liver, namely the activity of catalase by 10.6%, lysozyme by 39.5%, and the API index by 58.3%.

3. The proposed complex biochemical method (CBM) for determining the therapeutic and preventive effectiveness of new phytopreparations.

4. Lysozyme-forte was the most effective of the tested phytopreparations due to the presence of quercetin bioflavonoid and lysozyme enzyme in it.

5. It is necessary to continue the work on the development of new phytopreparations with greater therapeutic and preventive effectiveness.

BIBLIOGRAPHY

- Gozhenko A. I., Levchenko E. M., Levitsky A. P. The hepatoprotective effect of quertulin in rats with disbiosis after high-fat diet. *Journal of Health Sciences*, 2013, 3(9), 339–346.
- Левицкий А. П. Дисбиотический синдром: этиология, патогенез, клиника, профилактика и лечение. *Вестник стоматологии*. 2019. № 10. С. 14–20.
- Левицкий А. П. Жареное масло: польза или вред? Одесса : Экология, 2021. 48 с.
- Левицкий А. П., Макаренко О. А., Демьяненко С. А. Методы экспериментальной стоматологии. Симферополь : Тарпан, 2018. 78 с.
- Левицкий А. П., Макаренко О. А., Левченко Е. М., Демьяненко С. А. Биофлавоноидные гепатопротекторы. Одесса : КП ОМД, 2014. 86 с.
- Marcellin P., Kutala B. K. Liver diseases: A major, neglected global public health problem requiring urgent actions and large-scale screening. *Liver Int*, 1, 2018, 382–386. DOI: 10.1111/liv.13682.

REFERENCES

- Gozhenko, A. I., Levchenko, E. M. & Levitsky, A. P. (2013). The hepatoprotective effect of quertulin in rats with disbiosis after high-fat diet. *Journal of Health Sciences*, 3(9), 339–346.
- Levitsky, A. P. (2019). Disbiotic syndrome: etiology, pathogenesis, clinic, prevention and treatment. *Dentistry Bulletin*, 10, 14–20.
- Levitsky, A. P. (2021). *Zharenoe maslo: pol'za ili vred? [Fried butter: benefit or harm?]*. Odessa: Ecology.
- Levitsky, A. P., Makarenko, O. A. & Demyanenko, S. A. (2018). *Metody eksperimentalnoi stomatologii [Methods of experimental dentistry]*. Simferopol: Tarpan.

Levitsky, A. P., Makarenko, O. A., Levchenko, O. M. & Demyanenko, S. A. (2014). *Bioflavonoidnye gepatoprotektory [Bioflavonoid hepatoprotectors]*. Odessa: KP OGT.

Marcellin, P. & Kutala, B. K. (2018). Liver diseases: A major, neglected global public health problem requiring urgent actions and large-scale screening. *Liver Int*, 1, 382–386. doi: 10.1111/liv.13682

Стаття надійшла до редакції 07.05.2024.

Стаття прийнята до друку 05.08.2024.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Внесок авторів:

Левицький А. – збір та аналіз матеріалів – усі автори;

Селіванська І. – редагування; затвердження остаточного варіанта статті, відповідальність за цілісність усіх частин статті – усі автори;

Величко В. – проведення досліджень, література.

Електронна адреса для листування з авторами: irina.selivanskaya@gmail.com