

А.В. Федоров, С.М. Николаев, З.Г. Самбуева, Я.Г. Разуваева, А.А. Торопова, Е.В. Ферубко

ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА *LOMATOGONIUM CARINTHIACUM* ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ

ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (Улан-Удэ)

ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» (Улан-Удэ)

ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования»

Минздрава России (Иркутск)

Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)

Проводили исследования фармакотерапевтической эффективности сухого экстракта *Lomatogonium carinthiacum* при токсическом гепатите. Экспериментальный гепатит вызывали введением тетрациклина гидрохлорида белым крысам (линия Wistar) в дозе 1,0 г/кг массы 1 раз в сутки в течение 7 дней. Экстракт *L. carinthiacum* вводили *per os* в дозе 100 мг/кг в течение 26 дней. Установлено, что экстракт *L. carinthiacum* при тетрациклиновом гепатите у белых крыс оказывает выраженное гепатопротекторное влияние, характеризующееся ингибированием нарушений желчеобразовательной, холатосинтетической функции печени: увеличение скорости секреции желчи, сохранение концентрации холатов в ней, снижение содержания холестерина, триацилглицеридов и активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови животных во все сроки исследований. Исследуемое средство уменьшает дистрофические и некротические процессы в гепатоцитах, снижает интенсивность воспалительной инфильтрации печени и стимулирует регенерацию печеночных клеток при тетрациклиновом гепатите. О выраженном антиоксидантном действии *L. carinthiacum* свидетельствуют снижение в гомогенате печени животных содержания МДА и повышение активности каталазы по отношению к показателям контрольных животных.

Ключевые слова: *Lomatogonium carinthiacum* (Wulf.) Reichenb., экстракт, гепатопротекторное действие

PHARMACOTHERAPEUTIC ACTIVITY *LOMATOGONIUM CARINTHIACUM* EXTRACT AT EXPERIMENTAL HEPATITIS

A.V. Fedorov, S.M. Nikolaev, Z.G. Sambuyeva, Ya.G. Razuvaeva, A.A. Toropova, E.V. Ferubko

Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude

Buryat State University, Ulan-Ude

Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

Russian Institute of Medicinal and Aromatic plants, Moscow

Pharmacotherapeutic efficiency of the dry extract from *Lomatogonium carinthiacum* in toxic hepatitis was studied. Experimental hepatitis was caused by the introduction of tetracycline hydrochloride to Wistar white rats in the dose of 1,0 g/kg of the animal weight once a day during 7 days. The extract from *L. carinthiacum* was administered *per os* in the dose of 100 mg/kg during 26 days. It was established that the extract from *L. carinthiacum* had a marked hepatoprotective effect in the case of tetracycline hepatitis in white rats that is characterized by inhibition of the disturbances in choleretic and cholate-synthetic functions of the liver: the increase of bile secretion rate, preservation of cholate concentration in the bile, the decrease in the content of cholesterol triacylglycerides and alkaline phosphatase activity in the animal blood serum during the whole period of experiments. The tested remedy diminishes dystrophic and necrotic processes in hepatocytes, decreases the intensity of inflammatory infiltration in the liver and stimulates regeneration of liver cells in tetracycline hepatitis. The decrease of MDA content in the liver homogenate and increase in catalase activity against the same indices in control animals testify the marked antioxidant effect of *L. carinthiacum*.

Key words: *Lomatogonium carinthiacum* (Wulf.) Reichenb., extract, hepatoprotective effect

Применение лекарственных средств различных групп (антибиотики, цитостатики и др.) с лечебной целью при заболеваниях нередко сопровождается гепатотоксическим эффектом, что обусловлено особенностями кровоснабжения печени и метаболизмом указанных препаратов [10, 11]. В частности антибиотики тетрациклинового ряда оказывают прямое повреждающее действие на печень, в патогенезе которого преобладают проявления синдрома холестаза [1, 14, 15]. Вследствие этого нарушаются многие функции печени, повреждаются клеточные и субклеточные мембраны, снижается резистентность гепатоцитов, наблюдается истощение эндогенной антиоксидантной системы организма [6].

В связи с этим актуальным представляется поиск средств, способных повышать резистентность печени

к повреждающему действию лекарственных препаратов. Особого внимания заслуживают средства природного происхождения, отличающиеся, как правило, широтой фармакотерапевтического действия, малой токсичностью и связанной с этим возможностью их длительного применения. Кроме этого, многие фитопрепараты могут использоваться в качестве средств вспомогательной терапии [9].

Нами были проведены исследования по оценке влияния экстракта сухого *Lomatogonium carinthiacum* (Wulf.) Reichenb. (ломатогониум каринтийский) на течение тетрациклинового повреждения печени у белых крыс. Экстракт *L. carinthiacum* получали спиртово-водным экстрагированием. В полученном экстракте ломатогониума каринтийского установлено значительное содержание флавоноидов, кумаринов,

три萜пеновых сапонинов, каротиноидов, ксантоновых агликонов, иридоидов, аскорбиновой кислоты, водорастворимых полисахаридов [7].

Цель работы: оценить фармакотерапевтическую эффективность экстракта *L. carinthiacum* при экспериментальном гепатите.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальный гепатит воспроизводили на белых крысах линии Wistar обоего пола с массой 170–200 г путем внутрижелудочного введения тетрациклина гидрохлорида в дозе 1,0 г/кг массы 1 раз в сутки в течение 7 дней [9]. Крысам опытной группы, наряду с введением тетрациклина, вводили *per os* экстракт *L. carinthiacum* в дозе 100 мг/кг (экспериментально-терапевтическая доза) в виде водного раствора, 1 раз в сутки, на протяжении всего опыта. Отдельной группе крыс в качестве препарата сравнения вводили карсил в дозе 50 мг/кг по аналогичной схеме. Животным контрольной группы на фоне введения им тетрациклина вводили эквивалентное количество очищенной воды в аналогичном режиме. Интервалы между введениями тетрациклина гидрохлорида и лекарственных веществ, а также воды в соответствующих группах животных составляли 4–5 часов. Исследования проводили на 14-е и 26-е сутки с начала опыта. Функциональное состояние печени оценивали по скорости секреции и общему количеству выделенной желчи у наркотизированных крыс, а также по содержанию в желчи основных ее ингредиентов: билирубина [12], желчных кислот и холестерина [8]. В сыворотке крови определяли содержание холестерина, триацилглицеридов и активность щелочной фосфатазы [5]. Кроме того, в гомогенате печени определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [13] и активность каталазы [4]. Для оценки морфофункционального состояния печени подопытных животных использовали ряд гистологических, гистохимических и гистоэнзимологических методик. Для гистологического исследования

кусочки печени крыс фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином [3]. Для выявления активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) свежемороженные срезы печени, приготовленные на криостате, окрашивали тетразолиевым синим (по Нахласу), а содержания гликогена – ШИК-реакцией и нейтральных жиров – Суданом IV [3]. Значимость различий между указанными параметрами среди экспериментальных групп оценивали с помощью непараметрического критерия U Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что введение животным тетрациклина в высоких дозах угнетает функциональное состояние печени. Сравнение показателей холерической реакции у крыс интактной и контрольной групп отражало холестатическое действие тетрациклина, что проявлялось в снижении скорости секреции желчи, а также содержания в ней желчных кислот и билирубина (табл. 1, 2), а также в повышении уровня содержания холестерина, триацилглицеридов и активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови животных (табл. 3). Наряду с этим наблюдали активацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), о чем свидетельствовало повышение МДА и снижение активности фермента антиоксидантной защиты – каталазы (табл. 4).

Курсовое введение животным экстракта *L. carinthiacum* в указанной дозе характеризовалось выраженным фармакотерапевтическим влиянием на течение гепатита. У крыс, получавших указанный экстракт, на 14-е сутки наблюдения скорость секреции желчи превышала показатели крыс контрольной группы на 25,4 %, 27,3 %, 26,4 % и 35,6 % соответственно на 1–4-е часы опыта. Общее количество выделенной желчи у животных указанной группы превышало контроль на 23,6 %. При биохимическом исследовании желчи установлено, что экстракт *L. carinthiacum* ограничивает нарушения холатосинте-

Таблица 1
Влияние экстракта *L. carinthiacum* на скорость секреции желчи у белых крыс при тетрациклиновом гепатите

Группа животных	Скорость секреции желчи в течение 4 часов, мг/мин на 100 г			
	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч
14-е сутки				
Интактная (H ₂ O), n = 6	7,2 ± 0,4	6,9 ± 0,3	6,7 ± 0,5	6,0 ± 0,4
Контрольная (тетрациклин + H ₂ O), n = 6	5,5 ± 0,1	5,5 ± 0,2	5,3 ± 0,3	4,5 ± 0,3
Опытная (тетрациклин + <i>L. carinthiacum</i>), n = 6	6,9 ± 0,3*	7,0 ± 0,2*	6,7 ± 0,2*	6,1 ± 0,2*
Опытная (тетрациклин + карсил), n = 6	6,7 ± 0,2*	6,6 ± 0,3*	6,2 ± 0,1*	5,9 ± 0,1*
26-е сутки				
Интактная (H ₂ O), n = 6	6,9 ± 0,3	7,0 ± 0,5	6,8 ± 0,4	6,2 ± 0,2
Контрольная (тетрациклин + H ₂ O), n = 6	6,0 ± 0,1	6,1 ± 0,2	6,0 ± 0,2	5,7 ± 0,1
Опытная (тетрациклин + <i>L. carinthiacum</i>), n = 6	6,9 ± 0,2*	7,2 ± 0,2*	6,7 ± 0,4	6,2 ± 0,2*
Опытная (тетрациклин + карсил), n = 6	6,8 ± 0,1	6,3 ± 0,2	6,2 ± 0,3	5,8 ± 0,3

Примечание: * – здесь и далее различия значимы, по сравнению с данными у животных контрольной группы при $p \leq 0,05$; n – количество животных в группе.

Таблица 2

Влияние экстракта *L. carinthiacum* на общее количество и биохимический состав желчи у белых крыс при тетрациклиновом гепатите

Группа животных	Общее количество желчи за 1–4 ч опыта, мг/100 г	Желчные кислоты, мг/ %	Билирубин, мг/%	Холестерин, мг/%
14-е сутки				
Интактная (H ₂ O), n = 6	1614 ± 64,3	1117,2	36,0	163,1
Контрольная (тетрациклин + H ₂ O), n = 6	1296 ± 73,8	769,5	27,0	112,7
Опытная (тетрациклин + <i>L. carinthiacum</i>), n = 6	1602 ± 58,6*	1140,0	32,0	155,0
Опытная (тетрациклин + карсил), n = 6	1536 ± 22,6*	1083,0	30,0	156,0
26-е сутки				
Интактная (H ₂ O), n = 6	1614 ± 81,3	1500,8	33,0	111,7
Контрольная (тетрациклин + H ₂ O), n = 6	1428 ± 50,0	1288,2	18,0	85,5
Опытная (тетрациклин + <i>L. carinthiacum</i>), n = 6	1620 ± 61,2*	1504,8	24,0	97,4
Опытная (тетрациклин + карсил), n = 6	1506 ± 48,8	1389,0	19	111,8

Таблица 3

Влияние экстракта *L. carinthiacum* на выраженность холестатического синдрома у белых крыс при тетрациклиновом гепатите

Группа животных	Холестерин, ммоль/л	Триацилглицериды, ммоль/л	Щелочная фосфатаза, ед.
14-е сутки			
Интактная (H ₂ O), n = 6	2,16 ± 0,07	0,51 ± 0,04	214,0 ± 17,2
Контрольная (тетрациклин + H ₂ O), n = 6	3,00 ± 0,23	0,95 ± 0,04	287,1 ± 16,4
Опытная (тетрациклин + <i>L. carinthiacum</i>), n = 6	2,54 ± 0,16	0,77 ± 0,03*	156,0 ± 7,8*
Опытная (тетрациклин + карсил), n = 6	2,78 ± 0,21	0,80 ± 0,02*	168,5 ± 11,5*
26-е сутки			
Контрольная (тетрациклин + H ₂ O), n = 6	2,66 ± 0,10	0,66 ± 0,03	235,3 ± 13,2
Опытная (тетрациклин + <i>L. carinthiacum</i>), n = 6	2,10 ± 0,07*	0,54 ± 0,02*	141,2 ± 12,5*
Опытная (тетрациклин + карсил), n = 6	2,24 ± 0,05*	0,60 ± 0,02	158,8 ± 11,0*

Таблица 4

Влияние экстракта *L. carinthiacum* на содержание МДА и активность каталазы в ткани печени у белых крыс при тетрациклиновом гепатите

Группа животных	МДА, нмоль/г ткани	Каталаза, мкат/мг белка
14-е сутки		
Интактная (H ₂ O), n = 6	3,7 ± 0,2	7,2 ± 0,1
Контрольная (тетрациклин + H ₂ O), n = 6	5,9 ± 0,3	4,7 ± 0,3
Опытная (тетрациклин + <i>L. carinthiacum</i>), n = 6	4,6 ± 0,2*	6,0 ± 0,4*
Опытная (тетрациклин + карсил), n = 6	4,8 ± 0,3*	5,8 ± 0,5
26-е сутки		
Контрольная (тетрациклин + H ₂ O), n = 6	4,3 ± 0,2	5,9 ± 0,3
Опытная (тетрациклин + <i>L. carinthiacum</i>), n = 6	3,6 ± 0,1*	6,9 ± 0,2
Опытная (тетрациклин + карсил), n = 6	3,8 ± 0,3	6,5 ± 0,4

тической функции печени, о чем свидетельствовало сохранение концентрации холатов в желчи. На этом фоне содержание билирубина в желчи было выше контроля на 18,5 % и холестерина – на 37,5 %. На 26-е сутки опыта у крыс, получавших экстракт *L. carinthiacum*, сохранялась положительная динамика холеретической реакции. При этом скорость секреции

желчи возрастала на 13,4 %, а содержание холатов в желчи превышало контроль на 16,8 %, холестерина – на 13,9 %. Под влиянием указанного экстракта содержание билирубина в желчи превышало в 1,3 раза таковое у крыс контрольной группы, у которых продолжалось снижение уровня содержания билирубина в желчи (табл. 2).

На 14-е сутки опыта у крыс, получавших экстракт *L. carinthiacum*, снижение содержания холестерина и триацилглицеридов, а также активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови составило 15,3 %, 18,9 % и 45,6 %, а на 26-е сутки – на 19,2 %, 18,1 % и 39,9 % соответственно, по сравнению с контролем (табл. 3). Указанные изменения наблюдали на фоне торможения свободнорадикальных реакций в биологических мембранах гепатоцитов при стимуляции антиоксидантного потенциала (табл. 4). На фоне введения указанного экстракта содержание МДА в гомогенате печени на 14-е сутки наблюдения снижалось, по сравнению с данным показателем у крыс контрольной группы, на 22,0 %, а на 26-е сутки – на 16,3 %; активность каталазы повышалась на 27,6 % и 16,9 % соответственно (табл. 4).

Патоморфологическими исследованиями показано, что на 14-е сутки наблюдения в печени животных контрольной группы выявлялись выраженные нарушения микроциркуляции в виде полнокровия центральных и портальных вен, капилляров с интенсивной периваскулярной клеточной инфильтрацией. Отмечали диффузное распределение участков со слабо выраженной белковой, мелко- и среднекапельной жировой дистрофией. В зоне портальных трактов усиливалась мезенхимально-клеточная инфильтрация. В печени животных, получавших экстракт *L. carinthiacum* на фоне введения тетрациклина, на 14-е сутки наблюдения отмечались менее выраженные структурные изменения, по сравнению с контролем, характеризующиеся нарушениями микроциркуляции, умеренно выраженными дистрофическими процессами клеток печени. Единично встречались гепатоциты с жировой дистрофией. Гликоген в гепатоцитах был расположен равномерно, и его содержание было значительно выше такового в печени контрольных животных. О репаративных процессах в клетках печени животных опытных групп свидетельствовала также высокая активность СДГ, по сравнению с таковой в контроле. На 26-е сутки наблюдения структурные изменения в печени животных контрольной группы характеризовались лишь нарушениями микроциркуляции, дистрофических процессов в клетках печени выявлено не было. Печень животных опытных групп уже не отличалась от интактной. Подтверждением этому служили данные ШИК-реакции и активности СДГ: содержание гликогена и активность СДГ в печени животных, получавших экстракт *L. carinthiacum*, соответствовали таковым у животных интактной группы.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о выраженной фармакотерапевтической эффективности экстракта *L. carinthiacum*, под влиянием которого ограничивается негативное действие тетрациклина гидрохлорида на функциональное состояние печени. Установленное влияние исследуемого средства обусловлено широким спектром фармакологических свойств полученного экстракта, что связано с преимущественным содержанием в нем указанных выше биологически активных веществ. В частности, полифенолы, являясь природными антиоксидантами [2, 9], обеспечивая стабилизацию биомембран, повышая энергетиче-

ский потенциал гепатоцитов, ингибируют процессы перекисного окисления липидов. Нормализация процессов желчеобразования и желчевыделения на фоне введения указанного экстракта связана со свойствами содержащихся в экстракте биофлавоноидов – активизировать энергетический обмен в гепатоцитах. Определено, что биофлавоноиды, ингибируя процессы перекисного окисления липидов, предотвращают дезинтеграцию холестерингидроксилазы – основного фермента утилизации холестерина в желчные кислоты. Наряду с этим полифенолы способствуют транспорту холатов, экскреции билирубина и холестерина, а также ускоряют регенерацию и восстановление функциональной активности гепатоцитов. Установленные холеретические и гепатопротекторные свойства экстракта *L. carinthiacum* являются весьма ценными и представляют большой интерес для использования его в комплексном лечении и профилактике заболеваний печени и желчевыводящих путей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей / Под ред. В.Т. Ивашкина. – М., 2002. – 416 с.
2. Катикова О.Ю., Костин Я.В., Тишкин В.С. Гепатопротекторное действие препаратов растительного происхождения // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – № 1. – С. 41–43.
3. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. – СПб., 2010. – 95 с.
4. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Б., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая и др. – М., 1987. – 368 с.
6. Лазебник Л.Б., Звенигородская Л.А., Хомерики С.Г., Ефремов Л.И., Черкашова Е.А. Лекарственный (статиновый) гепатит // Экспериментальная и клиническая гепатология. – 2009. – № 3. – С. 110–115.
7. Лубсандоржиева П.Б. Биологически активные вещества и антиоксидантная активность *in vitro* полиэкстракта *Lomatogonium carinthiacum* (Wulfen) A. Br. // Химия растительного сырья. – 2008. – № 1. – С. 101–105.
8. Мирошниченко В.П., Громашевская Л.Л., Касаткина М.Г. и др. Определение содержания желчных кислот и холестерина в желчи // Лабораторное дело. – 1978. – № 3. – С. 149–153.
9. Николаев С.М. Растительные лекарственные препараты при повреждениях гепатобилиарной системы. – Новосибирск, 1992. – 155 с.
10. Онучина Е.В., Рожанский А.А., Казакова Р.В., Пошкайте И.А. Лекарственное поражение печени // Сибирский медицинский журнал. – 2007. – № 3. – С. 88–91.
11. Полунина Т.Е., Маяв И.В. Медикаментозные гепатиты // Фарматека. – 2006. – № 12 (127). – С. 63–71.
12. Скакун Н.П. Нейрогуморальный механизм желчегонного действия инсулина // Проблемы эндокринологии. – 1956. – № 6. – С. 75–78.
13. Современные методы биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М., 1977. – С. 66–68.

14. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей: практическое руководство. – М., 1999. – 864 с.

15. Schentko K.U., Subat S. Leberschaden durch Medicamente // D.M.W.: Dtsch. Med. Wochenschr. – 1995. – Vol. 120, N 25–26. – P. 923–925.

Сведения об авторах

Федоров Андрей Витальевич – аспирант лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: 8 (3012) 43-37-13)

Николаев Сергей Матвеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН

Самбуева Зинаида Гомбожаповна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН

Разуваева Янина Геннадьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН

Торопова Анюта Алексеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН

Ферубко Екатерина Владимировна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории фармакологии Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (117216, г. Москва, ул. Грина, 7; тел.: 8 (495) 712-10-72)