

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 615.747.+615.379-008.61

Ж.Б. Дашинамжилов, С.К. Банзаракшеева

ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА «ПАНКРЕОФИТ» ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПЕЧЕНИ

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

Установлено гепатопротекторное действие растительного средства при экспериментальном гепатите. Показано, что растительное средство «Панкреофит» снижает активность трансаминасфераз и содержание билирубина в сыворотке крови, ингибирует процессы перекисного окисления липидов в печени и повышает мощность эндогенной антиокислительной системы организма. Благодаря этому обеспечивается стабилизация мембранных структур гепатоцитов и нормализуется функционирование мембраносвязанных ферментных систем печени, в том числе монооксигеназной системы, обеспечивающей дезинтоксикацию поступающих ксенобиотиков.

Ключевые слова: Панкреофит, перекисное окисление липидов, экспериментальный гепатит

PHARMACOTHERAPEUTIC EFFICIENCY OF THE COMPLEX PLANT REMEDY “PANCREOPHYT” IN EXPERIMENTAL LIVER INJURY

Zh.B. Dashinamzhirov, S.K. Banzaraksheeva

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

We determined hepatoprotective effect of the plant remedy “Pancreophyt” at experimental hepatitis. It was showed that “Pancreophyt” decreased transaminotransferase activity and the content of bilirubin in the blood serum, inhibited the processes of lipid peroxidation in the liver and increased the capacity of endogenic antioxidant system of an organism. These properties promote stabilization of hepatocytes’ membrane structure and normalize functioning of the membrane-bound enzyme systems of the liver including monooxygenase system that provides deintoxication of xenobiotics.

Key words: Pancreophyt, lipid peroxidation, experimental hepatitis

ВВЕДЕНИЕ

Проблема заболеваний печени остается крайне актуальной ввиду их широкой распространенности и роста инфицирования вирусным гепатитом лиц молодого возраста.

В настоящее время в Российской Федерации болезни органов пищеварения занимают третье место по распространенности среди основных классов болезней, сразу после болезней органов дыхания и системы кровообращения [7, 11].

Несмотря на то, что в последние годы достигнут значительный прогресс в диагностике и лечении заболеваний печени, связанных с развитием молекулярно-биологических методов диагностики, появлением возможности этиотропного лечения вирусных гепатитов и фармакологических препаратов, тормозящих развитие фиброза печени, лечение в целом представляет собой сложную проблему [1, 6].

В связи с этим возрастает актуальность поиска новых лекарственных препаратов, обладающих гепатопротекторными свойствами, в частности, средств растительного происхождения, которые имеют широкий диапазон действия и обладают такими важными преимуществами, как малая токсичность,

высокая эффективность, доступность, взаимозаменяемость и возможность длительного применения без побочных проявлений. При применении фитопрепаратов действует целый комплекс биологически активных веществ, которые, благодаря их оптимальному сочетанию, оказывают благотворное влияние на функциональное состояние всего организма в целом [1, 15].

МЕТОДИКА

Экспериментальная работа выполнена на 96 белых крысах линии Вистар обоего пола массой 160–180 г. Животные находились в стандартных условиях содержания в виварии Института общей и экспериментальной биологии СО РАН на обычном рационе (Приказ МЗ СССР № 1179 от 10.10.83 г.). Эксперименты осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г.). Эвтаназию животных осуществляли методом мгновенной декапитации под легким эфирным наркозом.

Объектом исследования служило фитосредство «Панкреофит», полученное в лаборатории химико-

фармацевтических исследований Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (г. Улан-Удэ).

Острый токсический гепатит воспроизводили путем подкожного введения 50%-го масляного раствора четыреххлористого углерода (CCl_4) в объеме 0,4 мл/100 г массы животных 1 раз в день в течение 4 дней [3].

Животным опытной группы интрагастрально вводили водный раствор экстракта сухого (ЭС) «Панкреофит» в дозе 200 мг/кг массы тела, начиная с 1-го дня от начала эксперимента, 1 раз в день в течение 21 дня. Животным другой группы по аналогичной схеме вводили препарат сравнения – водный раствор сиропа «Холосас» в объеме 1,0 мл на 100 г массы животного (доза, проявляющая оптимальный фармакотерапевтический эффект, установленный опытным путем). Животным контрольной группы внутрижелудочно вводили в аналогичном объеме дистиллированную воду.

Для оценки гепатопротекторной активности ЭС «Панкреофит» определяли биохимические показатели, характеризующие функциональное состояние печени лабораторных животных: активность аланинаминотрансферазы (АлТ), аспартатаминотрансферазы (АсТ), содержание общего билирубина и щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови определяли общепринятыми методами [6]; экскреторно-поглотительную функцию печени оценивали по скорости выведения бромсульфалеина с желчью – концентрацию бромсульфалеина определяли при 540 нм. Содержание бромсульфалеина определяли в сецернируемой желчи. У животных, находящихся на протяжении 4–5 часов под наркозом (1%-й водный

раствор барбитала в объеме 1,0 мл на 100 г массы животных), желчь собирали с помощью полиэтиленовой канюли, вставленной в общий проток, через каждые 10 минут. Животным с интервалом 10 минут в бедренную вену вводили бромсульфалеин в дозе 50 мг/кг в виде 5%-го водного раствора. Желчь начинали собирать непосредственно после инъекции красителя, перемещая мерные пробирки таким образом, чтобы в течение 10-минутного интервала желчь поступала от одной крысы. Таким образом, в каждый интервал времени желчь поступала от одной группы животных, а концентрация бромсульфалеина в каждой пробе желчи являлась средней от исследуемой группы крыс. Определение бромсульфалеина проводили фотометрически. Для этого к замеренному количеству желчи (0,5 мл) приливали 0,1 мл 10%-го раствора гидроксида калия (КОН) и доводили водой до 25,0 мл. Интенсивность окраски определяли при 540 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см против контроля, не содержащего биологического материала [10]. О функциональной состоятельности монооксигеназной системы печени судили по данным антипиринового теста. Основанием для использования антипирина в качестве индикатора активности цитохрома Р-450 – монооксигеназной системы – является его преимущественный метаболизм ферментами микросомального окисления, высокая биодоступность (97–100 %), равномерное распределение в организме, а также малая токсичность [2, 4]. Антипирин вводили белым крысам внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг массы, определение антипирина в сыворотке крови проводили через 1, 2, 3 и 4 часа с расчетом периода полувыведения анти-

Таблица 1

Влияние ЭС «Панкреофит» на биохимические показатели сыворотки крови белых крыс при повреждении печени тетрахлорметаном ($M \pm m$; $n = 10$)

Показатели	Группы животных			
	Интakтная (H_2O)	Контрольная ($\text{CCl}_4 + \text{H}_2\text{O}$)	Опытная ($\text{CCl}_4 + \text{Холосас}$)	Опытная ($\text{CCl}_4 + \text{ЭС «панкреофит»}$)
7-е сутки				
АлТ (мкМ)	$1,5 \pm 0,10$	$2,7 \pm 0,10$	$2,0 \pm 0,10$	$1,5 \pm 0,10^*$
АсТ (мкМ)	$1,1 \pm 0,02$	$1,7 \pm 0,01$	$1,5 \pm 0,10$	$1,0 \pm 0,01^*$
ЩФ (ед. Бод.)	$15,0 \pm 1,30$	$25,0 \pm 1,20$	$19,5 \pm 1,90^*$	$16,0 \pm 1,20^*$
Билирубин общий (мг%)	$5,2 \pm 0,50$	$15,0 \pm 0,10$	$14,0 \pm 1,10$	$10,0 \pm 1,0^*$
14-е сутки				
АлТ (мкМ)	$0,7 \pm 0,10$	$4,0 \pm 0,20$	$3,0 \pm 0,20$	$1,9 \pm 0,08^*$
АсТ (мкМ)	$0,5 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,13$	$1,9 \pm 1,91$	$1,0 \pm 0,05^*$
ЩФ (ед. Бод.)	$14,2 \pm 1,20$	$26,9 \pm 1,5$	$18,0 \pm 1,50^*$	$15,5 \pm 1,10^*$
Билирубин общий (мг%)	$1,4 \pm 0,03$	$5,6 \pm 0,15$	$3,0 \pm 0,12$	$2,0 \pm 0,05^*$
21-е сутки				
АлТ (мкМ)	$0,6 \pm 0,11$	$3,3 \pm 0,12$	$2,1 \pm 0,11$	$1,0 \pm 0,01^*$
АсТ (мкМ)	$0,4 \pm 0,02$	$1,9 \pm 0,03$	$1,5 \pm 0,20$	$0,8 \pm 0,01^*$
ЩФ (ед. Бод.)	$12,5 \pm 1,7$	$21,9 \pm 2,5$	$15,0 \pm 2,15^*$	$13,0 \pm 2,0^*$
Билирубин общий (мг%)	$1,0 \pm 0,03$	$2,0 \pm 0,05$	$1,5 \pm 0,04$	$1,1 \pm 0,02^*$

Примечание (здесь и далее): * – различия достоверны по отношению к данным в контроле при $p \leq 0,05$.

пирина [14]. Время периода полувыведения антипирина определяли по формуле: $T_{1/2} = 0,693 / K$, где K – константа скорости, вычисляемая как тангенс угла наклона прямой, построенной в координатах \ln [антипирин в плазме] – [время]. Для оценки антиоксидантной активности определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА) в гомогенатах тканей [12]. О состоянии антиоксидантной системы судили по активности каталазы [5] и по содержанию SH-групп [13].

Полученные данные обработаны статистически с использованием U-критерия Уилкоксона – Манна – Уитни [9]. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные в ходе экспериментов данные свидетельствуют, что повреждение печени крыс четыреххлористым углеродом сопровождается развитием синдрома цитолиза (табл. 1).

Как следует из приведенной таблицы 1, под влиянием указанного гепатотропного яда отмечается повышение активности мембраносвязанных ферментов сыворотки крови белых крыс: активность АлТ к 7-м суткам исследования возрастает на 38 %, АсТ – на 36 %, по сравнению с данными интактных крыс. При курсовом введении испытуемого средства в дозе 200 мг/кг на фоне токсического гепатита активность указанных ферментов снижается, по сравнению с контролем, соответственно, на 41 % и 30 %. При исследовании на 14-е и 21-е сутки эксперимента активность аминотрансфераз у крыс опытной группы, получавших ЭС «Панкреофит», также была достоверно ниже, чем у животных контрольной группы. Установлено также, что интоксикация тетрахлорметаном сопровождается развитием холестатического синдрома. В частности, на 7-е сутки у животных контрольной группы в сыворотке крови активность щелочной фосфатазы повышается на 40 %, а содержание общего билирубина – в

2,8 раза, по сравнению с данными интактных крыс. При курсовом назначении «Панкреофита» активность щелочной фосфатазы и содержание билирубина в сыворотке крови снижаются, соответственно, на 32 % и 20 %, по сравнению с показателями в контроле. Такая же тенденция сохраняется и в последующие сроки наблюдения (14-е и 21-е сутки). При применении препарата сравнения «Холосас» активность щелочной фосфатазы и билирубина на 7-е сутки эксперимента в сыворотке крови снижалась, соответственно, на 22 % и 7 %.

В таблице 2 приведены результаты исследований, свидетельствующие о резком нарушении секреторной функции печени крыс при введении гепатотропного яда.

Из данных, приведенных в таблице 2, следует, что введение тетрахлорметана белым крысам сопровождается резко выраженным нарушением экскреторно-выделительной функции печени, на что указывает задержка элиминации ксенобиотиков из организма. Так, скорость выведения бромсульфалеина (БСФ) и антипирина с желчью у животных, получавших гепатотропный яд, резко снижается, период их полувыведения на 47 % и 27 % соответственно превышает показатели интактных крыс. На фоне курсового введения «Панкреофита» скорость элиминации БСФ и антипирина с желчью повышается, соответственно, на 23 % и 14 %, по сравнению с показателями у крыс контрольной группы, тогда как при применении «Холосаса» – только на 12 % и 8 %. Полученные данные свидетельствуют об активации экскреторной функции печени под влиянием испытуемого средства «Панкреофит».

Как следует из таблицы 3, повреждение печени тетрахлорметаном вызывает резкую активацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), о чем свидетельствует повышение концентрации продуктов перекисидации липидов в тканях, а также угнетение активности эндогенной антиокислитель-

Таблица 2
Влияние ЭС «Панкреофит» на антитоксическую функцию печени крыс при остром токсическом гепатите (7-е сутки) ($M \pm m$; $n = 7$)

Группы животных	Период полувыведения антипирина (%)	Период полувыведения БСФ (%)
Интактная (H_2O)	100	100
Контрольная ($CCL_4 + H_2O$)	127	147
Опытная ($CCL_4 + \text{Холосас}$)	118	130
Опытная ($CCL_4 + \text{ЭС «Панкреофит»}$)	110	118

Таблица 3
Влияние ЭС «Панкреофит» на содержание продуктов ПОЛ в тканях и состояние эндогенной антиокислительной системы белых крыс при остром повреждении печени тетрахлорметаном (7-е сутки) ($M \pm m$; $n = 7$)

Группы животных	МДА в гомогенате печени (нмоль/г)	Каталаза (мкат/л)	SH-группы (моль/л)
Интактная (H_2O)	$0,5 \pm 0,03$	$1,5 \pm 0,10$	$23,5 \pm 2,20$
Контрольная ($CCL_4 + H_2O$)	$0,9 \pm 0,02$	$1,2 \pm 0,20$	$20,5 \pm 1,12$
Опытная 1 ($CCL_4 + \text{Холосас}$)	$0,8 \pm 0,02^*$	$2,0 \pm 0,20^*$	$24,0 \pm 2,50$
Опытная 1 ($CCL_4 + \text{ЭС «Панкреофит»}$)	$0,6 \pm 0,02^*$	$3,5 \pm 0,18^*$	$28,0 \pm 2,0^*$

ной системы организма животных контрольной группы. В частности, под влиянием указанного гепатотоксина в гомогенате ткани печени отмечается накопление одного из конечных продуктов процесса перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА), снижение активности каталазы и уменьшение концентрации SH-групп в сыворотке крови крыс контрольной группы. Установлено, что курсовое введение ЭС «Панкреофит» крысам с токсическим гепатитом сопровождается снижением интенсивности процессов ПОЛ. Так, концентрация МДА в гомогенате печени животных этой группы снижается на 34 %, по сравнению с аналогичными показателями крыс контрольной группы. Одновременно с этим под влиянием испытуемого средства отмечается повышение мощности антиокислительной системы организма: активность каталазы возрастает в 2,5 раза, а содержание SH-групп в сыворотке крови повышается на 25 %, по сравнению с таковыми у крыс контрольной группы. В данном случае препарат сравнения «Холосас» по фармакотерапевтической эффективности несколько уступал исследуемому средству «Панкреофит».

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что ЭС «Панкреофит» при курсовом введении в дозе 200 мг/кг обладает выраженной фармакотерапевтической эффективностью при остром повреждении печени животных тетрахлорметаном, о чем свидетельствует нормализация функционального состояния печени животных на более ранних сроках патологического процесса. В частности, на фоне введения испытуемого препарата уменьшаются признаки развития цитолитического и холестатического синдромов; ускоряется элиминация ксенобиотиков благодаря повышению дезинтоксикационной функции печени, а также нормализуются обменные процессы в печени животных. Установлено, что гепатопротекторное действие испытуемого препарата на фоне острого токсического гепатита обусловлено его способностью ингибировать процессы перекисного окисления липидов и повышать мощность эндогенной антиокислительной системы организма, благодаря чему обеспечивается стабилизация мембранных структур гепатоцитов и нормализуется функционирование мембраносвязанных ферментных систем печени, в том числе монооксигеназной системы, обеспечивающей дезинтоксикацию поступающих ксенобиотиков.

ВЫВОДЫ

1. ЭС «Панкреофит» при курсовом введении в дозе 200 мг/кг обладает выраженной фармакотерапевтической эффективностью при остром повреждении печени животных тетрахлорметаном, уменьшает признаки развития цитолиза и холестаза, ускоряет элиминацию ксенобиотиков благодаря повышению дезинтоксикационной функции печени, а также нормализует обменные процессы в печени животных.

2. Гепатопротекторное действие испытуемого препарата на фоне острого токсического гепатита обусловлено его способностью ингибировать процессы

перекисного окисления липидов и повышать мощность эндогенной антиокислительной системы организма, благодаря чему обеспечивается стабилизация мембранных структур гепатоцитов и нормализуется функционирование мембраносвязанных ферментных систем печени, в том числе монооксигеназной системы, обеспечивающей дезинтоксикацию поступающих ксенобиотиков.

3. При остром повреждении печени животных тетрахлорметаном исследуемое средство «Панкреофит» по гепатозащитному действию не уступает «Холосасу», а в некоторых случаях превышает его по фармакотерапевтическому эффекту.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Апросина З.Г. Хронические вирусные заболевания печени // Тер. архив. – 1995. – № 5. – С. 77–80.
Aprosina Z.G. Chronic liver viral diseases // Ter. arhiv. – 1995. – N 5. – P. 77–80. (in Russian)
2. Аширметов Л.Х., Краковский М.Э. Использование антипирина для оценки активности ферментов монооксигеназной системы печени // Лаб. дело. – 1990. – № 1. – С. 23–43.
Ashirmetov L.Kh., Krakovskiy M.E. Using antipyrine for the estimation of activity of enzymes of liver monooxygenase system // Lab. delo. – 1990. – N 1. – P. 23–43. (in Russian)
3. Венгеровский А.И., Саратиков А.С. Механизм действия гепатопротекторов при токсических поражениях печени // Фармакология и токсикология. – 1988. – Т. II. – С. 89–93.
Vengerovskiy A.I., Saratikov A.S. Mechanism of action of hepatoprotectors at toxic liver injuries // Farmakologiya i toksikologiya. – 1988. – Vol. II. – P. 89–93. (in Russian)
4. Заводник Л.В., Лукиенко П.И., Бушма М.И. Оценка монооксигеназной функции печени по кинетике антипирина и его метаболитов в жидких средах организма // Фармакология и токсикология. – 1989. – Т. 5, № 3. – С. 95–101.
Zavodnik L.V., Lukienko P.I., Bushma M.I. Estimation of monooxygenase function of liver by the kinetics of antipyrine and its metabolites in fluid media of an organism // Farmakologiya i toksikologiya. – 1989. – Vol. 5, N 3. – P. 95–101. (in Russian)
5. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 6. – С. 16–19.
Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.E. Method of determination of catalase activity // Lab. delo. – 1988. – N 6. – P. 16–19. (in Russian)
6. Корсун В.Ф. Фитотерапия хронического вирусного гепатита // Врач. – 2006. – № 14. – С. 48–51.
Korsun V.F. Phytotherapy of chronic viral hepatitis // Vrach. – 2006. – N 14. – P. 48–51. (in Russian)
7. Лемза С.В., Ажунова Т.А., Мондодоев А.Г., Николаев С.М. и др. Фармакотерапевтическая эффективность комплексного растительного средства «гепатон» при экспериментальном повреждении печени // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 2 (72). – С. 181–184.

Lemza S.V., Azhunova T.A., Mondodoev A.G., Nikolaev S.M. et al. Pharmacotherapeutic effectiveness of complex plant remedy "Hepatone" at experimental liver injury // Bjull. VSNC SO RAMN. – 2010. – N 2 (72). – P. 181–184. (in Russian)

8. Меньшиков В.В. и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. – М., 1987. – 368 с.

Menshikov V.V. et al. Laboratory methods of research in clinic: Guide. – Moscow, 1987. – 368 p. (in Russian)

9. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М., 2000. – 263 с.

Sergienko V.I., Bondareva I.B. Mathematical statistics in clinical researches. – Moscow, 2000. – 263 p. (in Russian)

10. Соловьев В.И., Егоренко Г.Г., Фирсов А.А. Использование математической модели фармакокинетики при изучении функции печени у белых крыс методом бромсульфалеиновой пробы // Лаб. дело. – 1976. – № 9. – С. 538.

Solovyov V.I., Egorenko G.G., Firsov A.A. Use of mathematical model of pharmacokinetics while studying liver function in white rats by bromsulfalein test // Lab. delo. – 1976. – N 9. – P. 538. (in Russian)

11. Сологуб Т.В., Романцев М.Г., Коваленко С.Н. и др. Комбинированная терапия хронического вирусного гепатита В и ее влияние на качество жизни // Вестник Санкт-Петербургской государственной

медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2006. – № 1. – С. 7–14.

Sologub T.V., Romantsev M.G., Kovalenko S.N. et al. Combined therapy of chronic viral hepatitis B and its effect on life quality // Vestnik Sankt-Peterburgskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii im. I.I. Mechnikova. – 2006. – N 1. – P. 7–14. (in Russian)

12. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.

Stalnaya I.D., Gariashvili T.G. Method of determination of malonaldehyde using thiobarbituric acid // Sovremennye metody v biohimii. – Moscow: Medicine, 1977. – P. 66–68. (in Russian)

13. Фоломеев В.Ф. Количественное определение в тканях тиоловых и дисульфидных групп // Лаб. дело. – 1980. – № 11. – С. 17–20.

Folomeev V.F. Quantitation of thiol and disulfide groups in tissues // Lab. delo. – 1980. – N 11. – P. 17–20. (in Russian)

14. Broddie B.B., Axelrod J., Soberman R., Levy B.B. The estimation of antipyrine in biological materials // J. Biol. Chem. – 1949. – Vol. 179. – P. 25–29.

15. Pradhan B.C., Girish C. Hepatoprotective herbal drug Silimarin: from experimental pharmacology to clinical medicine // Ind. J. Ved. Res. – 2006. – N 124. – P. 491–504.

Сведения об авторах

Дашинамжилов Жаргал Балдуевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (670031, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: 8 (3012) 43-37-13; e-mail: dzharg@mail.ru)
Банзаракшеева Сирена Константиновна – врач-эндокринолог, аспирант лаборатории экспериментальной фармакологии Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Information about the authors

Dashinamzhilov Zhargal Balduevich – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (Sakhyanovoy str., 6, Ulan-Ude, 670031; tel.: +7 (3012) 43-37-13; e-mail: dzharg@mail.ru)
Banzaraksheeva Sirena Konstantinovna – endocrinologist, Postgraduate of the Laboratory of Experimental Pharmacology of Institute of General and Experimental Biology SB RAS