

УДК 615.32:616.36-002:547.412.133

ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА КОРЫ БЕРЕЗЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ, ВЫЗВАННОМ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ

¹Иванова В.В., ¹Лигостаева Ю.В., ^{1,2}Потеряева О.Н., ²Русских Г.С., ¹Грек О.Р.,
¹Шарапов В.И., ³Геворгян М.М.

¹Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск;

²НИИ биохимии СО РАМН, Новосибирск;

³Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН,
Новосибирск, e-mail: Vik02051982@ya.ru

Целью исследования было изучение и сравнение гепатопротекторного действия карсила и сухого экстракта бересты березы повислой – *Betula pubescens* на модели токсического повреждения печени, вызванного четыреххлористым углеродом (CCl_4) у крыс. Четыреххлористый углерод вводили внутривентриально в 50% масляном растворе однократно в дозе 0,2 мл/100 г массы тела животного. Сухой экстракт бересты березы в крахмальной слизи вводили внутривентриально в дозе 100 мг/кг в течение 3-х дней предварительно перед введением CCl_4 . В качестве препарата сравнения использовали карсил («Sopharma») в дозе 100 мг/кг. Исследовали показатели белкового обмена, Алт, билирубин, мочевины и активность ММП-2,7 в сыворотке крови крыс. Введение растительных экстрактов улучшало биохимические показатели функционального состояния печени: снижалась активность АЛТ, содержание общего белка и альбуминов восстанавливалось; подавлялась активность ММП.

Ключевые слова: экстракт коры березы, карсил, четыреххлористый углерод, повреждение печени

STUDY OF HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF PLANT EXTRACTS OF BIRCH BARK WITH CCl_4 -INDUCED EXPERIMENTAL HEPATITIS

¹Ivanova V.V., ¹Ligostaeva U.V., ^{1,2}Poteryaeva O.N., ²Russkikh G.S.,
¹Grek O.R., ¹Sharapov V.I., ³Gevorgyan M.M.

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk;

²Institute of Biochemistry SB RAMS, Novosibirsk;

³Scientific center of clinical and experimental medicine SB RAMS, Novosibirsk,
e-mail: Vik02051982@ya.ru

The aim was to study and comparison of hepatoprotective action of Karsil and dry birch bark extract – *Betula pubescens* on the model of toxic liver injury induced by carbon tetrachloride (CCl_4) in rats. Carbon tetrachloride was injected intraperitoneally at 50% oil solution once at a dose of 0,2 ml/100 g of animal body weight. Dry extract of birch bark in starch mucus injected intraperitoneally at a dose of 100 mg/kg for 3 days in advance before entering CCl_4 . As a reference drug used Karsil («Sopharma») at a dose of 100 mg/kg. Investigated the performance of protein metabolism, ALT, bilirubin, urea, and the activity of MMP-2, 7 in the serum of rats. Introduction of plant extracts improved biochemical indices of liver function: decreased activity of ALT, the content of total protein and albumin remained normal; inhibited the activity of MMPs.

Keywords: birch bark extract, Karsil, carbon tetrachloride, liver damage

Четыреххлористый углерод (CCl_4) используют в экспериментальных работах как модель острого токсического повреждения печени. Развивающаяся печеночная недостаточность, связанная с интенсификацией процессов перекисного окисления, продукцией и накоплением высокотоксичных метаболитов, приводит к некрозу гепатоцитов и фиброзу печени [1]. Одним из способов коррекции токсических повреждений является применение гепатопротекторов растительного происхождения [3]. Гепатопротекторное действие растительных экстрактов обеспечивается присутствием в их составе фенолкарбоновых кислот, кумаринов, флавоноидов, обладающих фармакологической активностью [4]. В связи с этим изучение гепатопротекторного действия экстрактов, полученных

из растительного сырья, на данной модели является актуальной задачей.

Цель исследования – изучение биохимических параметров, характеризующих токсическое повреждение печени, при остром гепатотоксическом действии CCl_4 . Сравнивали гепатопротекторное действие карсила и сухого экстракта бересты березы повислой – *Betula pubescens*.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнялись на самцах крыс Вистар массой 200–250 г ($n = 45$), полученных из вивария Новосибирского медицинского университета. Протокол исследования соответствовал правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. и приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.). Экстракт бересты березы из воздушно-сухого сырья получали этанолом различной концен-

трации исчерпывающей экстракцией при нагревании на водяной бане.

Четыреххлористый углерод вводили внутрибрюшинно в 50% масляном растворе однократно в дозе 0,2 мл/100 г массы тела животного. Контрольной группе животных вместо CCl_4 вводили 50% масляный раствор. Сухой экстракт березы березы в крахмальной слизи вводили внутривенно в дозе 100 мг/кг в течение 3-х дней предварительно перед введением CCl_4 . В качестве препарата сравнения использовали карсил («Solpharma») внутривенно в дозе 100 мг/кг в течение 3-х дней предварительно перед введением CCl_4 . Материал для исследования забирали через сутки после введения CCl_4 .

Исследования проводили в сыворотке крови крыс. Белковые фракции оценивали методом электрофореза на ацетат-целлюлозных пленках, содержание общего белка определяли биуретовым методом. Концентрацию общего и прямого билирубина, мочевины и активность АлТ, ЩФ определяли с использованием наборов (PLIVA-Lachema Diagnosticum,

Чехия), активность ММП-2,7 – по методу Nagase et al. [5] с использованием флуоресцентного субстрата (Calbiochem, США).

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием пакета программ «Statistica, ver. 6.0». Определяли среднее арифметическое (M), ошибку среднего (m); различия между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента и считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Введение CCl_4 снижало содержание общего белка сыворотки крови до $45,7 \pm 5,15$ г/л ($64,0 \pm 3,97$ г/л) соотношение альбуминов к глобулинам до $1,0 \pm 0,09$ ($1,5 \pm 0,15$), возрастала доля α_1 -, β_2 -глобулинов и снижалась доля γ -глобулинов по сравнению с интактными животными (таблица).

Процентное содержание белковых фракций в сыворотке крови крыс при введении CCl_4 , карсила и экстракта березы

Группы	Альбумины, %	Глобулины, %				
		α_1	α_2	β_1	β_2	g
1. Интактные (n = 20)	$48,8 \pm 0,97$	$11,3 \pm 0,54$	$5,5 \pm 0,31$	$5,9 \pm 0,33$	$15,3 \pm 0,33$	$13,2 \pm 0,57$
2. CCl_4 (n = 20)	$47,5 \pm 1,92$	$15,6 \pm 0,59$ $P_{1-2} < 0,05$	$6,0 \pm 1,18$	$5,97 \pm 0,55$	$18,0 \pm 0,50$ $P_{1-2} < 0,05$	$6,9 \pm 0,81$ $P_{1-2} < 0,05$
3. CCl_4 + карсил (n = 8)	$47,8 \pm 1,02$	$13,15 \pm 0,47$ $P_{2-3} < 0,05$	$5,46 \pm 0,46$	$8,37 \pm 0,05$	$17,0 \pm 0,24$	$8,2 \pm 0,77$
4. CCl_4 + береза 100 мг (n = 12)	$42,8 \pm 2,08$ $P_{1-4} < 0,05$	$16,04 \pm 0,61$	$8,35 \pm 1,21$	$6,5 \pm 0,45$	$16,2 \pm 0,59$ $P_{2-4} < 0,05$	$10,0 \pm 1,18$ $P_{2-4} < 0,05$

Предварительное введение карсила сохраняло содержание общего белка в норме $66,9 \pm 5,3$ г/л, снижало только процентное содержание α_1 -глобулинов, а введение экстракта березы достоверно снижало процентное содержание β_2 -глобулинов и увеличивало содержание γ -глобулинов по сравнению с группой 2.

При введении CCl_4 активность АлТ в сыворотке крови повышалась в 3,3 раза по сравнению с контрольной группой ($1,8 \pm 0,27$ и $0,55 \pm 0,05$ ммоль/л·ч, $P < 0,05$ соответственно) и возрастала активность ЩФ ($5696,4 \pm 530,90$ и $800,2 \pm 80,12$ нмоль/с·л, $P < 0,05$ соответственно). При этом увеличивалась концентрация общего билирубина ($26,2 \pm 3,14$ и $7,5 \pm 0,69$ мкмоль/л, $P < 0,05$ соответственно) и прямого билирубина ($8,5 \pm 4,55$ и $2,5 \pm 0,22$ мкмоль/л, $P < 0,05$ соответственно). На фоне предварительного введения карсила активность АлТ и ЩФ оставалась на высоком уровне ($1,6 \pm 0,21$ ммоль/л·ч и $7032,9 \pm 653,38$ нмоль/с·л соответственно). При введении экстрак-

та коры березы активность АлТ и ЩФ снижалась ($0,8 \pm 0,05$ ммоль/л·ч и $3264,7 \pm 368,15$ нмоль/с·л соответственно, $P < 0,05$). Введение карсила и экстракта березы не изменяло показатели общего и прямого билирубина. Определение мочевины в сыворотке крови не выявило достоверных изменений в исследуемых группах животных.

Активность ММП контрольной группы составила $190,4 \pm 11,35$ мкмоль/л·ч. Введение CCl_4 крыс приводило к развитию токсического гепатита, которое сопровождалось повышением активности ММП ($252,0 \pm 11,84$ мкмоль/л·ч). Введение CCl_4 на фоне карсила снижало активность ММП до контрольного уровня ($202,8 \pm 19,23$ мкмоль/л·ч, $P < 0,05$). Введение сухого экстракта березы также приводило к достоверному снижению активности ММП ($200,3 \pm 12,25$ мкмоль/л·ч, $P < 0,05$).

Нами показано, что в условиях токсического повреждения печени, вызванного CCl_4 , происходит нарушение проницаемости мембран гепатоцитов (увеличение ак-

тивности цитоплазматического фермента АЛТ), белок-синтетической функции печени (снижение общего белка), секреции билирубина в желчь (увеличение прямого билирубина), структуры межклеточного матрикса (увеличение активности ММП); подавление функции иммунокомпетентных клеток (снижение γ -глобулинов). Нарастание активности ММП идет параллельно с экспрессией белков острой фазы (возрастала доля α_1 -, β_2 -глобулинов).

Ранее нами было изучено гепатопротекторное действие карсила и экстракта коры березы при экспериментальном повреждении печени, вызванном парацетамолом. Было показано, что карсил и экстракт коры березы сохраняли нормальные показатели процентного содержания общего белка, за счет альбуминов; снижали активность АЛТ, концентрацию прямого билирубина (показано только для экстракта березы) и активность ММП [2].

Исследование гепатопротекторного действия карсила и экстракта коры березы при экспериментальном повреждении печени, вызванном CCl_4 , показало, что карсил сохранял содержание общего белка в норме и снижал долю α_1 -глобулинов. Наибольшим эффектом обладал экстракт березы: в отличие от карсила он снижал долю β_2 -и увеличивал долю γ -глобулинов, снижал активность АЛТ и ЩФ. Карсил и экстракт коры березы, улучшая состояние межклеточного матрикса, снижали активность ММП.

Выводы

1. Через 24 часа после внутривенного введения CCl_4 в дозе 0,2 мл/100 г массы тела животного развивалась выраженная гипопропротеинемия и увеличивалось процентное содержание белков острой фазы (α_1 , β_2 -глобулинов), снижалась доля γ -глобулинов в сыворотке крови крыс.

2. Карсил сохранял концентрацию общего белка и снижал долю α_1 -глобулинов и активность ММП в сыворотке крови крыс.

3. Экстракт березы снижал долю β_2 - и увеличивал долю γ -глобулинов, снижал активность АЛТ, ЩФ и активность ММП.

Список литературы

1. Кравченко Л.В. Характеристика острого токсического действия четыреххлористого углерода как модели окислительного стресса // Токсикологический вестник. – 2009. – № 1. – С. 12–18.

2. Потеряева О.Н., Русских Г.С., Иванова В.В. // Медицина и образование в Сибири. – 2012. – № 4. – http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=782.

3. Шабанов П.Д. Эффекты полипрепарата ропрен при токсическом поражении печени и головного мозга у крыс: изучение функционального состояния печени, поведения и метаболизма моноаминов в мозге // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2010. – Т. 8, № 3. – С. 7–30.

4. Eesha B.R. Hepatoprotective activity of Terminalia paniculata against paracetamol induced hepatocellular damage in Wistar albino rats // Asian.Pac. J. Trop. Med. – 2011. – Vol. 4. – № 6. – P. 466–469.

5. Nagase H. Design and characterization of a fluorogenic substrate selectively hydrolyzed by stromelysin 1 (matrix metalloproteinase-3) / H. Nagase, C.G. Fields, G.B. Fields // J. Biol. Chem. – 1994. – Vol. 269. – № 33. – P. 20952–20957.

References

1. Kravchenko L.V. Kharakteristika ostrogo toksicheskogo destruktivnogo CCl_4 kak modeli oksislitel'nogo stressa // Toksilogicheskii vestnik. 2009. no. 1. pp. 12–18.

2. Poteryaeva O.N., Russkikh G.S., Ivanova V.V., Medicina i obrazovanie v Sibiri. Internet-zhurnal, 2012, no. 4, http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=782.

3. Shabanov P.D. Effecty poliprenolnogo preparata Ropren pri toksicheskom porazhenii pecheni i golovnogo mozga u kryс: izuchenie funktsionalnogo sostoyaniya pecheni, povedeniya i metabolizma monoaminov v mozge // Obzory po clin. Pharmacol. i lec.terapii. 2010. T.8, no. 3. pp. 7–30.

4. Eesha B.R. Hepatoprotective activity of Terminalia paniculata against paracetamol induced hepatocellular damage in Wistar albino rats // Asian.Pac. J. Trop. Med. 2011. Vol. 4. no. 6. pp. 466–469.

5. Nagase H. Design and characterization of a fluorogenic substrate selectively hydrolyzed by stromelysin 1 (matrix metalloproteinase-3) / H. Nagase, C.G. Fields, G.B. Fields // J. Biol. Chem. 1994. Vol. 269. no. 33. pp. 20952–20957.

Рецензенты:

Поляков Л.М., д.м.н., профессор, зам. директора по научной работе ФГБУ «НИИ биохимии» СО РАМН, г. Новосибирск;

Пустоветова М.Г., д.м.н., профессор, зав. Центральной научно-исследовательской лабораторией ГБОУ ВПО НГМУ, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 07.03.2013.