

АНТИОКСИДАНТНОЕ И ЭНЕРГОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЕПАТОЗАЩИТНОГО ФИТОПОЛИЭКСТРАКТА ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

Е.А. Убеева

к.м.н., старший преподаватель, Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова (г. Улан-Удэ, Россия)
E-mail: ubeeva.ip@mail.ru

А.А. Торопова

к.б.н., старший преподаватель, Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова;
науч. сотрудник, Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения РАН (г. Улан-Удэ, Россия)

С.М. Николаев

д.м.н., профессор, Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова;
гл. науч. сотрудник, Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения РАН (г. Улан-Удэ, Россия)

Я.Г. Разуваева

д.б.н., доцент, Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова;
ст. науч. сотрудник, Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения РАН (г. Улан-Удэ, Россия)
E-mail: tatur75@mail.ru

И.П. Убеева

д.м.н., профессор, Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова (г. Улан-Удэ, Россия)

Актуальность. Распространение заболеваний печени определяет необходимость разработки новых гепатопротективных средств. Фармакотерапевтическое действие данной группы препаратов связано с повышением устойчивости гепатоцитов к патологическим воздействиям, уменьшением выраженности основных патогенетических синдромов повреждения печени, ускорением процессов регенерации.

Цель работы. Определение антиоксидантных и энергопротективных свойства экстракта сухого комплексного фитосредства (*Hypocoum erectum* L.; *Hedysarum alpinum* L.; *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; *Calendula officinalis* L.; *Scutellaria baicalensis* Georgi.) в опытах на белых крысах линии Wistar на модели острого тетрахлорметанового гепатита.

Материал и методы. Исследования выполняли на 72 белых крысах Wistar обоего пола с исходной массой 160–180 г. Определение интенсивности процесса перекисного окисления липидов проводили по приросту конечного продукта перекисадиции малонового диальдегида в гомогенате печени животных. Состояние антиоксидантной системы оценивали по активности каталазы в ткани печени, а также по содержанию восстановленного глутатиона в крови и по активности глутатионпероксидазы в гомогенате печени лабораторных животных. Состояние энергетического метаболизма в ткани печени определяли по содержанию аденозинтрифосфата, лактата и пирувата.

Результаты. Введение сухого фитозэкстракта в дозе 100 мг/кг белым крысам при экспериментальном гепатите сопровождалось уменьшением интенсивности процессов перекисного окисления липидов, значительным снижением содержания малонового диальдегида, отчетливым увеличением активности ферментов антиоксидантной системы – каталазы и глутатионпероксидазы, а также ростом содержания восстановленного глутатиона. На фоне введения фитозэкстракта в гомогенате печени отмечалось повышение содержание аденозинтрифосфата и нормализация соотношения лактат/пируват. Наиболее выраженные антиоксидантные и энергопротективные свойства полифитозэкстракта проявил в дозе 100 мг/кг. Введение фитозэкстракта животным в дозах 200 и 300 мг/кг в меньшей степени способствовало коррекции баланса между про- и антиоксидантными системами организма на всех сроках исследования.

Выводы. При определении базисного действия комплексного сухого фитозэкстракта, обладающего гепатопротективными свойствами, на модели экспериментального гепатита у белых крыс установлены коррекция развития окислительного стресса, нормализация баланса окислительно-восстановительных реакций в организме и энергопротективное действие при токсическом повреждении печени.

Ключевые слова: фитополиэкстракт, гепатопротективное действие, экспериментальный гепатит, антиоксидантный и энергопротективный эффект.

Для цитирования: Убеева Е.А., Торопова А.А., Николаев С.М., Разуваева Я.Г., Убеева И.П. Антиоксидантное и энергопротективное действие гепатозащитного фитополиэкстракта при остром токсическом гепатите. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021;24(9):41–46. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-09-06>

Необходимость создания и разработки новых гепатопротективных средств связана с увеличением частоты токсических, алкогольных, аутоиммунных, метаболических повреждений печени, длительным периодом реконвалесценции при вирусных гепатитах [1, 2]. Лекарственные растения являются перспективным источником для получения биологически активных веществ, обладающих гепатопротективным действием. Сочетание содержания флавоноидов, сапонинов, алкалоидов, витаминов позволяет получить широкий спектр фармакотерапевтического воздействия на патологический процесс.

Определяя гепатопротективное действие используемых препаратов, авторы подчеркивают необходимость повышения устойчивости гепатоцитов к патологическим воздействиям, ускорение регенерации и восстановление функциональной активности клеток [3, 4].

В связи с этим разработана растительная композиция в состав которой входят *Hypocoum erectum* L., *Hedysarum alpinum* L., *Calendula officinalis* L., *Glycyrrhiza uralensis* Fisch и *Scutellaria baicalensis* Georgi. На основании данной фитокомпозиции получен экстракт сухой, который продемонстрировал выраженные гепатопротективные свойства на модели D-галактозаминового гепатита [4].

Ц е л ь р а б о т ы – определение антиоксидантных и энергопротективных свойств фитополиэкстракта на модели острого повреждения печени тетрахлорметаном.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования выполняли на 72 белых крысах Wistar обоего пола с исходной массой 160–180 г. Экспериментальные исследования проводили согласно принципам гуманного отношения к животным в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (GLP), Приказом МЗ РФ № 199К от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986). Протокол исследования согласован с комитетом по этике БГУ (№ 2 от 04.12.2016).

Острое токсическое повреждение печени вызвали введением 50%-ного масляного раствора

тетрахлорметана в дозе 4 мл/кг 1 раз в сутки в течение четырех дней подряд, подкожно [5].

В эксперименте было сформировано пять групп животных:

интактная (животные не подвергались токсическому воздействию; получали воду очищенную);

контрольная (животных подвергали токсическому воздействию тетрахлорметаном; получали воду очищенную);

опытные группы I–III (животных подвергали токсическому воздействию тетрахлорметаном; получали полифитоэкстракт в соответствующих дозах 100 (I), 200 (II), 300 (III) мг/кг массы).

Для определения биохимических параметров животных декапитировали под легким эфирным наркозом на 7-е и 14-е сутки после начала введения полифитоэкстракта.

В гомогенате печени определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА) [6], активность каталазы [7], глутатионпероксидазы (ГП) [8], в крови – содержание восстановленного глутатиона (ВГ) [9]. Об энергетическом состоянии судили по содержанию аденозинтрифосфата (АТФ), концентраций молочнокислой и пировиноградных кислот [10].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия Стьюдента. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что при остром токсическом воздействии тетрахлорметана у животных контрольной группы отмечается активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), о чем свидетельствует повышение на 7-е сутки эксперимента содержания МДА в гомогенате печени в 2,9 раза ($p < 0,05$) по сравнению с таковым у животных интактной группы (рис. 1).

На фоне интенсификации ПОЛ при введении гепатотоксина у контрольных животных в данные сроки эксперимента происходит мобилизация антиоксидантной системы (АОС) организма, вследствие чего отмечается выраженное снижение только активности ГП в гомогенате печени (на 48%; $p < 0,05$), при этом активность каталазы и содержание ВГ не имеют значимых различий с показателями интактных животных (рис. 2–4).

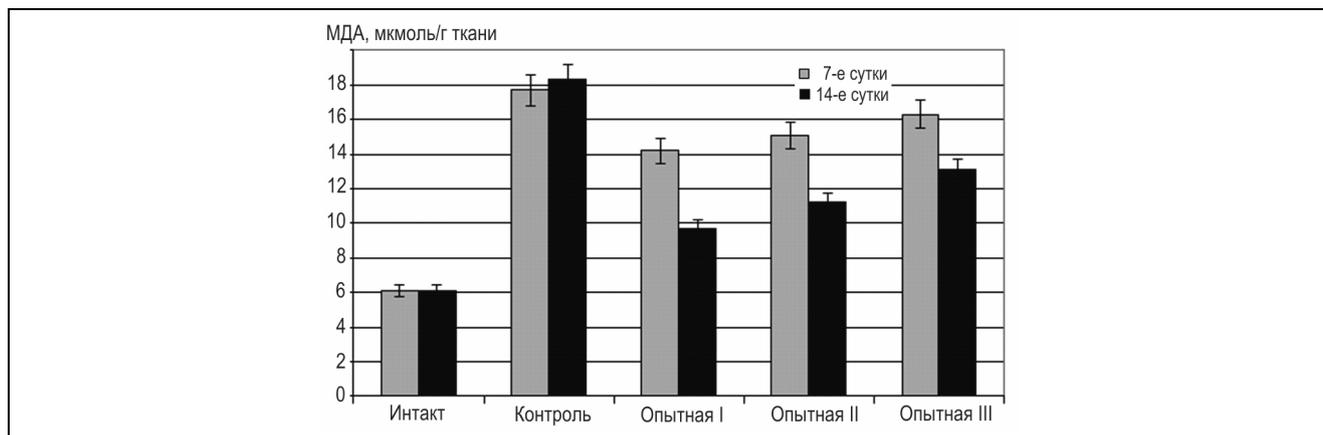


Рис. 1. Влияние полифитоэкстракта на концентрацию малонового диальдегида в гомогенате печени белых крыс при остром токсическом гепатите

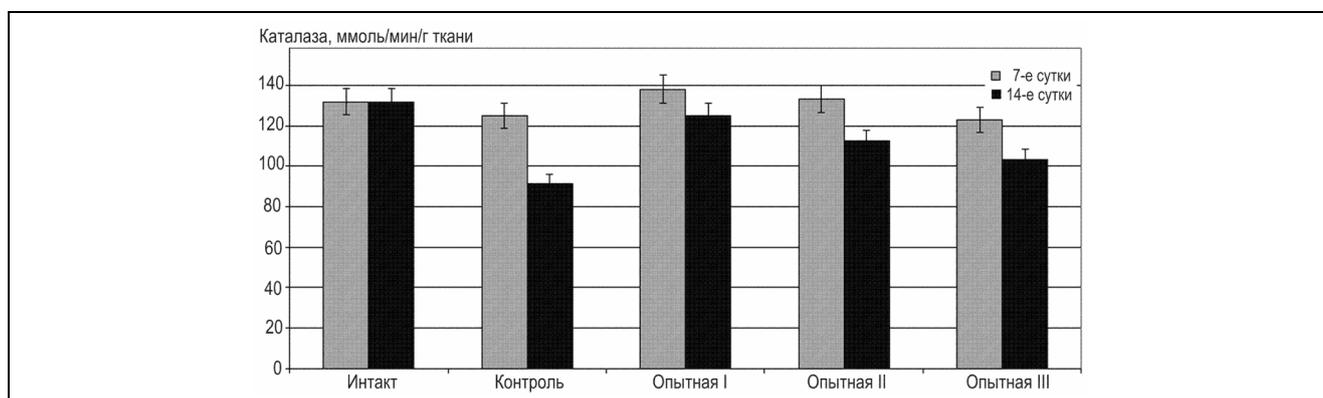


Рис. 2. Влияние полифитоэкстракта на активность каталазы в гомогенате печени белых крыс при остром токсическом гепатите

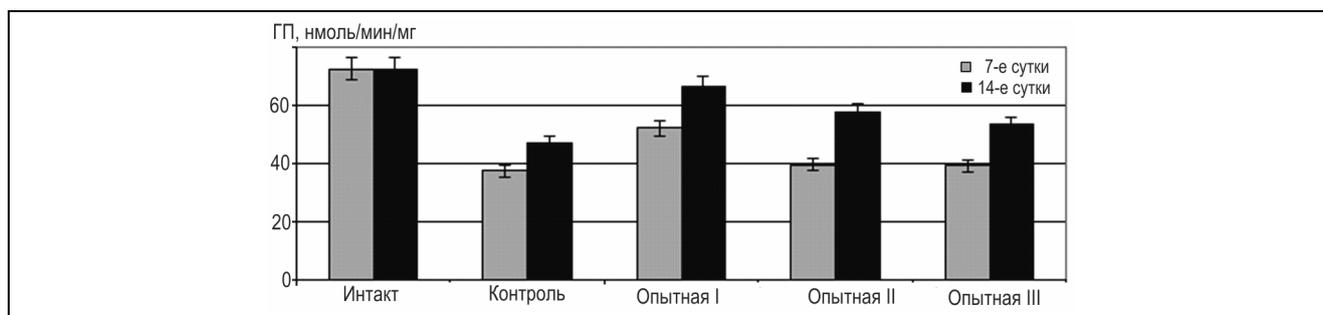


Рис. 3. Влияние полифитоэкстракта на активность глутатионпероксидазы в гомогенате печени белых крыс при остром токсическом гепатите

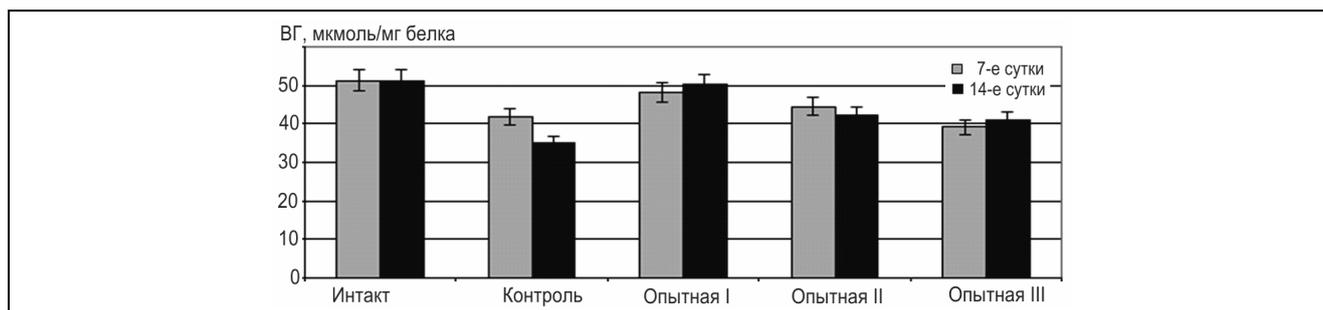


Рис. 4. Влияние полифитоэкстракта на содержание восстановленного глутатиона в крови белых крыс при остром токсическом гепатите

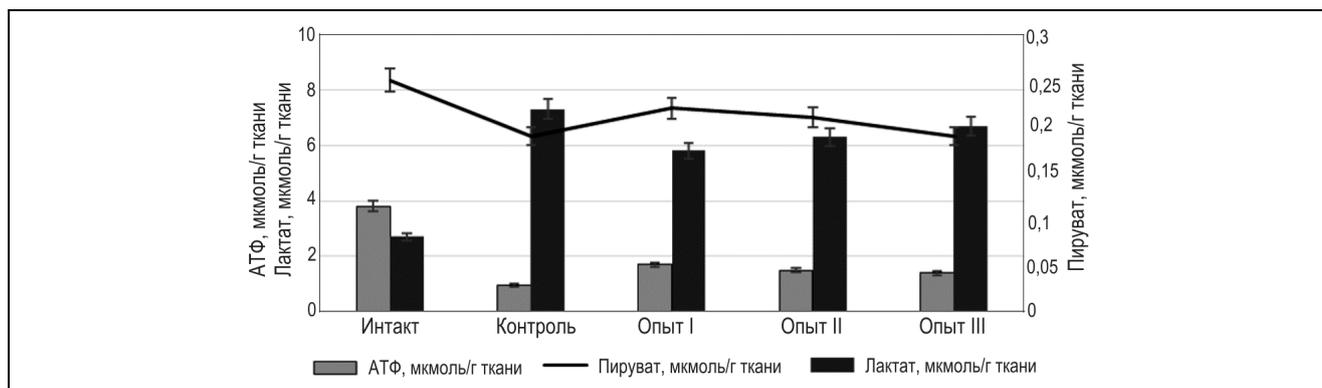


Рис. 5. Влияние полифитоэкстракта на показатели энергетического метаболизма в печени белых крыс при остром токсическом гепатите (7-е сутки эксперимента)

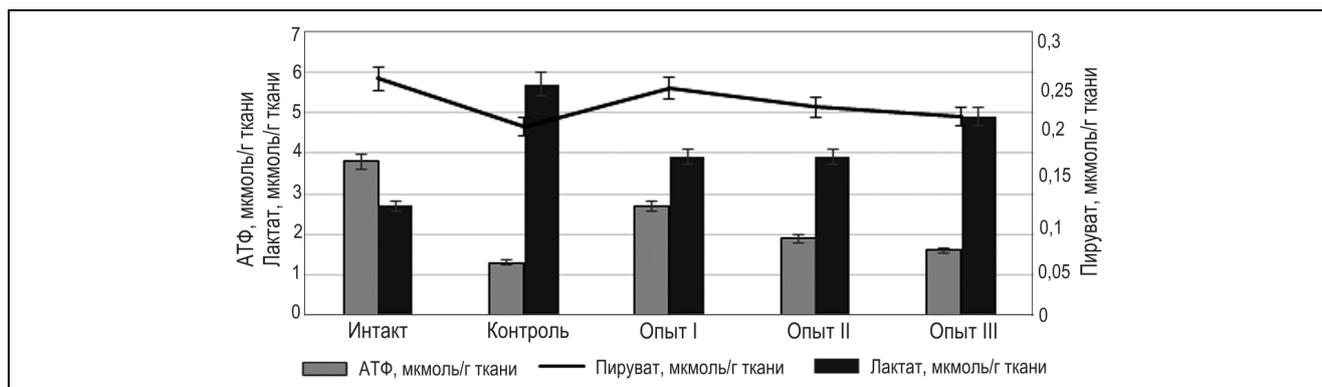


Рис. 6. Влияние полифитоэкстракта на показатели энергетического метаболизма в печени белых крыс при остром токсическом гепатите (14-е сутки эксперимента)

Токсическое повреждение печени тетрахлометаном сопровождается нарушением энергетического обмена в гепатоцитах у животных контрольной группы. Так, на ранних сроках исследования в контрольной группе животных наблюдается четырехкратное снижение содержания АТФ по сравнению со значением у животных интактной группы (рис. 5). При этом на фоне незначительного снижения содержания в гомогенате печени пирувиноградной кислоты (на 24%), выявляется значимое повышение молочной кислоты (в 2,7 раза; $p < 0,05$), и, как следствие, в контрольной группе соотношение лактат/пируват составляет 38/1, против 11/1 в интактной группе, что свидетельствует о развитии гипоксического процесса в органе-мишени, возникновении энергодефицита с переходом на анаэробный гликолиз и усилении глюконеогенеза (рис. 5).

Данные, представленные на рис. 1, показывают, что на 7-е сутки эксперимента наиболее выраженное снижение МДА (на 20%; $p < 0,05$) в гомогенате печени относительно контрольного показателя отмечается на фоне применения исследуе-

мого полифитоэкстракта в дозе 100 мг/кг (I опытная группа). Более выраженное ингибирование ПОЛ в опытной группе I обусловлено тем, что введение фитоэкстракта в указанной дозе способствует сохранению и поддержанию активности эндогенной АОС организма при остром токсическом гепатите у белых крыс. Так, у животных опытной группы I активность каталазы поддерживается на уровне таковой животных интактной группы, содержание ВГ и активность ГП повышается в 1,2 и 1,4 раза ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с данными у животных контрольной группы. С увеличением дозы исследуемого средства отмечается снижение его антиоксидантных свойств. У животных, получавших полифитоэкстракт в дозе 300 мг/кг, показатели активности антиоксидантной системы соответствовали значениям животных контрольной группы (рис. 1–4).

При оценке энергопротективных свойств установлено, что у животных, получавших полифитоэкстракт в дозах 200 и 300 мг/кг, концентрация АТФ в гепатоцитах в 1,5 раза ниже аналогичного

показателя в контроле (рис. 5). Соотношение лактат/пируват в опытных группах II и III составляет 30/1 и 35/1 соответственно по сравнению с 38/1 в контроле. Наиболее выраженное энергопротективное влияние полифитоэкстракт проявляет в дозе 100 мг/кг: концентрация АТФ в гепатоцитах выше в 1,8 раза ($p < 0,05$) таковой контрольных животных, соотношение лактат/пируват составляет 26/1, что существенно ниже, чем в контроле, а также данного показателя у животных опытных групп II и III.

На 14-е сутки эксперимента у животных контрольной группы наблюдается истощение резерва эндогенной антиоксидантной системы (рис. 2–4), о чем свидетельствует снижение активности каталазы и ГП в гомогенате печени, а также содержания ВГ в крови на 31–35 % по сравнению с данными у интактных животных. Содержание МДА в гомогенате печени контрольных животных сохраняется на высоком уровне и трехкратно превышает интактный показатель (рис. 1). Сохраняется угнетение процессов окисления и фосфорилирования, что выражается в снижении концентрации АТФ на 65% ($p < 0,05$) относительно интактного значения, соотношение лактат/пируват составляет 29/1, что выше в 2,6 раза такового у интактных животных.

Введение животным фитополиэкстракта в исследуемых дозах на 14-е сутки эксперимента характеризуется снижением выраженности окислительного стресса, что выражается в угнетении интенсивности процессов ПОЛ и повышении активности АОС организма при остром токсическом повреждении печени (рис. 1–5). Так, у животных опытных групп II и III концентрация МДА ниже на 39 и 28% ($p < 0,05$), ферментативная активность каталазы выше на 23 и 13%, активность ГП и содержание ВГ в среднем на 21 и 17% соответственно по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе животных. Введение исследуемого экстракта в дозе 100 мг/кг оказывает более выраженное антиоксидантное действие на состояние эндогенной АОС и значительной мере снижает интенсивность перекисного окисления. Достоверно снижается содержание МДА на 47% ($p < 0,05$), повышается активность каталазы и ГП, а также содержание ВГ на 37, 41 и 43% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с данными показателями у контрольных животных.

У животных, получавших полифитоэкстракт в дозах 100 и 200 мг/кг, на 14-е сутки эксперимента содержание АТФ в гомогенате печени выше в 2,1 и 1,5 раза ($p < 0,05$) такового у интактных; соотноше-

ние лактат/пируват составляет 16/1 и 18/1, против 29/1 в контрольной группе. Фитополиэкстракт в дозе 300 мг/кг не вызывал значимого корригирования показателей энергетического статуса организма белых крыс на всех сроках эксперимента.

ВЫВОДЫ

Полифитоэкстракт в дозе 100 мг/кг, в состав которого входят *H. erectum*, *H. alpinum*, *C. Officinallis*, *G. uralensis* и *S. baicalensis*, на фоне острого тетрахлорметанового гепатита, ограничивает развитие ПОЛ, повышает ферментативную активность белков эндогенной антиоксидантной системы, а также сопряженность окислительного фосфорилирования, увеличивая энергопродукцию в ткани печени. Показано, что увеличение дозы исследуемого фитоэкстракта не проявлялось в повышении его антиоксидантной и энергопротективной активностей.

Таким образом, экстракт сухой комплексного растительного средства в дозах 100 и 200 мг/кг на фоне острого тетрахлорметанового гепатита обладает антиоксидантными свойствами.

Исследуемый полифитоэкстракт корригирует процессы окисления и фосфорилирования в печени на фоне острого токсического гепатита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Инфекционные болезни: национальное руководство. Под ред. Н.Д. Ющука, Ю. Я. Венгерова. М.: ГЭОТАР–Медиа. 2019. 11054 с. (Серия «Национальные руководства»).
2. Шерлок Ш., Дули Д. Заболевания печени и желчных путей: Пер. с англ. Под ред. З.Г. Апросиной, Н.А. Мухина. М.: ГЭОТАР-МЕД. 2002. 864 с.
3. Лесиовская Е.Е. Доказательная фитотерапия. М.: Медицина. 2014. Ч. 1, 214 с.; ч. 2, 684 с.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. М. 2012; 832 с.
5. Убеева Е.А., Разуваева Я.Г., Оленников Д.Н., Убеева И.П., Николаев С.М., Дымшиева Л.Д. Экспериментальная фитокоррекция острого D-галактозаминового гепатита у белых крыс. Якутский медицинский журнал. 2018; 4:33–36.
6. Стальная И.Д., Горишвили Т.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977; 66–68.
7. М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова и др. Метод определения активности каталазы. Лабораторное дело. 1988; 1:16–19.
8. Akerboom T.P.M., Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. Methods Enzymol. 1981; 77:373–382.
9. Pinto R.E., Bartley W. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathioneoxidation in rat liver homogenates. Biochemistry journal. 1969; 109–115.
10. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований: липидный и энергетический обмен. Под ред. М.И. Прохоровой. Ленинград. 1982; 272 с.

Поступила 2 апреля 2021 г.

ANTIOXIDANT AND ENERGY PROTECTIVE EFFECTS OF HEPATOPROTECTIVE PHYTOPOLYEXTRACT IN ACUTE TOXIC HEPATITIS

© Authors, 2021

E.A. Ubeeva

Ph.D. (Med.), Senior Lecturer, Banzarov Buryat State University (Ulan-Ude, Russia)
E-mail: ubeeva.ip@mail.ru

A.A. Toropova

Ph.D. (Med.), Senior Lecturer, Banzarov Buryat State University;
Chief Research Scientist, Institutes of General and Experimental Biology at the Siberian Branch of the RAS (Ulan-Ude, Russia)

Y.G. Razuvaeva

Dr.Sc. (Biol.), Associate Professor, Banzarov Buryat State University;
Senior Research Scientist, Institutes of General and Experimental Biology at the Siberian Branch of the RAS (Ulan-Ude, Russia)

S.M. Nikolaev

Dr.Sc. (Med.), Professor, Banzarov Buryat State University;
Principal Research Scientist, Laboratory of Experimental Pharmacology,
Institutes of General and Experimental Biology at the Siberian Branch of the RAS (Ulan-Ude, Russia)

I.P. Ubeeva

Dr.Sc. (Med.), Professor, Banzarov Buryat State University (Ulan-Ude, Russia)

Relevance. The widespread of conditions associated with the liver damage sets the demand for the development of new hepatoprotective agents. Their pharmacotherapeutic activity is mediated through the enhancement of hepatocytes' resistance to pathological processes, fastened regeneration, and the inhibition of pathogenetic syndromes of liver damage.

Aim. The aim of our study is to determine the mechanisms of hepatoprotective and antioxidant ability along with the ability to correct the bioenergetic deficit in hepatocytes of the complex plant supplement comprised of *Hypocoum erectum* L.; *Hedysarum alpinum* L.; *Glycyrrhiza Uralensis* Fisch.; *Calendula officinalis* L.; *Scutellaria baicalensis* Georgi. in a series of experiments with Wistar line white rats as subjects.

Material and methods. To assess peroxidation intensity detection of malondialdehyde in homogenized rat liver samples. Concentrations of glutathione (GSH) in blood and catalase in liver in conjunction with glutathione peroxidase activity in liver were used to evaluate the activity of the antioxidant defense system while ATP, lactate and pyruvate served as indicators of energy metabolism.

Results. The complex plant supplement used in dose of 100 mg/kg demonstrated the most pronounced positive effect on antioxidant system and significantly lowered lipid peroxidation intensity while in the groups of 200 mg/kg and 300 mg/kg the effects were not as drastic and were proportionate to that of the comparison drug Karsil.

Conclusions. Thus, determining the effects of the complex dry phytoextract with hepatoprotective properties in the rat model of experimental hepatitis the correction of oxidative stress, the normalization of the balance of redox reactions in the body, and the energy-protective effect in toxic liver damage were established.

Key words: complex herbal supplement, hepatoprotective effect, experimental hepatitis, antioxidant activity, energy metabolism.

For citation: Ubeeva E.A., Toropova A.A., Razuvaeva Y.G., Nikolaev S.M., Ubeeva I.P. Antioxidant and energy protective effects of hepatoprotective phytopolyextract in acute toxic hepatitis. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2021;24(9):41-46. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-09-06>

REFERENCES

1. Infekcionnye bolezni: nacional'noe rukovodstvo. Pod red. N.D. Jushhuka, Ju. Ja. Vengerova. M.: GJeOTAR-Media. 2019. 11054 s. (Serija «Nacional'nye rukovodstva»).
2. Sherlok Sh., Duli D. Zabolevanija pečeni i zhelchnyh putej: Per. s angl. Pod red. Z.G. Arosinoj, N.A. Muhina. M.: GJeOTAR-MED. 2002. 864 s.
3. Lesiovskaja E.E. Dokazatel'naja fitoterapija. M.: Medicina. 2014. Ch. 1, 214 s.; ch. 2, 684 s.
4. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologičeskikh veshhestv. Pod red. R.U. Habrieva. M. 2012; 832 s.
5. Ubeeva E.A., Razuvaeva Ja.G., Olennikov D.N., Ubeeva I.P., Nikolaev S.M., Dymshcheva L.D. Jeksperimental'naja fitokorrekcija ostrogo D-galaktozaminovogo gepatita u belyh krys. Jakutskij medicinskij zhurnal. 2018; 4:33-36.
6. Stal'naja I.D., Gorishvili T.D. Metod opredelenija malonovogo dial'degida s pomoshh'ju tiobarbiturovoj kisloty. Sovremennye metody v biohimii. M.: Medicina, 1977; 66-68.
7. M.A. Koroljuk, L.I. Ivanova, I.G. Majorova i dr. Metod opredelenija aktivnosti katalazy. Laboratornoe delo. 1988; 1:16-19.
8. Akerboom T.P.M., Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. Methods Enzymol. 1981; 77:373-382.
9. Pinto R.E., Bartley W. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathioneoxidation in rat liver homogenates. Biochemistry journal. 1969; 109-115.
10. Prohorova M.I. Metody biohimicheskikh issledovanij: lipidnyj i jenergetičeskij obmen. Pod red. M.I. Prohorovoj. Leningrad. 1982; 272 s.