

УДК [615.451.16.012:582.794].015.4

ИЗУЧЕНИЕ ЛИТОЛИТИЧЕСКОЙ И ДИУРЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ КОРНЯ ПОДСОЛНЕЧНИКА ОДНОЛЕТНЕГО (*HELIANTHUS ANNUUS*)

Мелик-Гусейнов В.В.¹, Герасименко С.В.¹, Тимченко Л.Д.², Писков С.И.²

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ МЗ РФ (357532, Россия, Ставропольский край, Пятигорск, пр. Калинина, 11), e-mail: pgfa@megalog.ru

²ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет», Ставрополь, Россия (355009, г. Ставрополь, ул. Пушкина, 1), e-mail: timlab@stavsu.ru

Реализован эксперимент по изучению литолитического и диуретического свойств корня подсолнечника, обладающего рядом ценных фармакологических свойств. Исследован литолиз мочевых камней *in vitro* под влиянием экстрактов корня подсолнечника. Изучены диуретическое и литолитическое действие различных экстрактов корня подсолнечника в условиях экспериментальной модели мочекаменной болезни животных. Результаты исследования показали, что при оксалатном уролитиазе у белых крыс корень подсолнечника однолетнего обладает литолитической активностью, которая проявляется уменьшением размера микролитов и снижением кристаллурии. Механизм литолитического действия обусловлен не столько за счет вероятной потенции растворения кальциевых депозитов, сколько вызван возможным содержанием веществ в корне подсолнечника, ингибирующих рост кристаллов оксалата кальция, а также активным мочегонным действием, препятствующем агрегации кристаллов в канальцевом аппарате почек.

Ключевые слова: корень подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus*), уролитиаз, литолитические свойства, диуретическая активность.

THE STUDY LITOLITIC AND DIURETIC ACTIVITY OF SUNFLOWER ANNUAL ROOT (*HELIANTHUS ANNUUS*) EXTRACTS

Melik-Guseynov V.V.¹, Gerasimenko S.V.¹, Timchenko L.D.², Piskov S.I.²

¹ Filial of Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia (357532, Pyatigorck, street Kalinin,11) e-mail: pgfa@megalog.ru

² North-Caucasian Federal University, Stavropol, Russia (355009, Stavropol, street Pushkin, 1), e-mail: timlab@stavsu.ru

Conducted experience of lithol urinary stones *in vitro* under the influence of root sunflower extracts. Studied diuretic and litholitic the action of various extracts the root of sunflower in the conditions of experimental model of urolithiasis animals. The results show that when oxalate urolithiasis in white rats root sunflower annual had litholitic activity, accompanied by a reduction in the size of microliths and reduction of crystalluria. The mechanism lethalties actions are not caused by the dissolution of calcium deposits. It is possibly connected with the content of substances in the root of sunflower that inhibit the growth of crystals of calcium oxalate, and also with active diuretic action. It prevents aggregation of crystals in renal tubule.

Keywords: root annual sunflower (*Helianthus annuus*), urolithiasis, litholytic action, diuretic activity.

Мочекаменная болезнь занимает третье место по распространенности среди патологий мочевыводящей системы. Проблема лечения и профилактики камнеобразования, несмотря на широкое внедрение в клиническую практику новых методов разрушения и удаления мочевых конкрементов, остается чрезвычайно актуальной [2, 4, 5].

Изучение литолиза мочевых камней является важным, так как может уберечь больных от хирургического вмешательства или уменьшить количество процедур литотрипсии, тем

самым предоставляя возможность избежать осложнений, связанных с повреждением тканей почки, рецидива уролитиаза, а также развития острого пиелонефрита.

В связи с этим в традиционной медицине нередко прибегают к использованию растительных средств, обладающих литолитической активностью и снижающих частоту рецидивов образования уролитов, не оказывая при этом каких-либо побочных действий.

Сегодня в отечественной и зарубежной медицинской науке осуществляется активный поиск и подбор растительных средств и компонентов, обладающих такими свойствами [5, 7 и др.].

Интересным представилось изучение в этой роли подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus*), антимикробное, противовоспалительное, болеутоляющее и антиоксидантное свойства разных вегетативных частей которого уже неоднократно клинически и фармакологически доказаны [8, 10 и др.].

Целью настоящей работы явилось изучение литолитических свойств корня подсолнечника *in vitro* и *in vivo* в условиях экспериментальной модели мочекаменной болезни у животных.

Материалы и методы исследования

Первый этап исследования был посвящен литолиту (растворению) *in vitro* мочевых камней. Для оценки литолитической активности различных экстрактов корня подсолнечника использовали мочевые конкременты больного, находившегося на лечении в урологическом отделении Ставропольской краевой клинической больницы с диагнозом – Мочекаменная болезнь. Относительно одинаковые по размерам кусочки одного образца почечного камня высушивали и взвешивали на анализаторе влагосодержания МВ 25 (Ohaus). Учитывались показатели массы при 0 %-ной влажности и нагреве до температуры 37°C. Одна часть кусочков уролита как контрольная была помещена в дистиллированную воду. Вторая и третья заливались исследуемыми 10 %-ми водной взвесью высушенного спиртового экстракта и отваром измельченного сухого корня подсолнечника. Все образцы помещались в термостат (ТС-1/80 СПУ) при температуре 37°C на 14 дней. Исследуемые жидкости периодически помешивались и обновлялись. Оценка растворимости мочевых камней проводилась после высушивания путем сравнения их массы до и после экспозиции.

Второй этап исследования заключался в изучении литолитических свойств корня подсолнечника *in vivo*. Использовалась «этиленгликолевая модель» уролитиаза животных, которая сегодня широко применяется в современных исследованиях и имитирует наиболее часто встречающийся кальций-оксалатный тип камнеобразования [2, 4].

В исследовании использовались самцы крыс линии Вистар массой 180–200 г., полученные из питомника лабораторных животных «Рапполово» РАМН (ветеринарное свидетельство №0135872). Крысы прошли двухнедельный карантин и содержались в стандартных условиях лабораторного вивария. Животные были условно разделены на три группы (контрольная, 1-я опытная, 2-я опытная) по шесть животных в каждой. Все работы выполнялись в соответствии с общепринятыми этическими нормами обращения с животными.

Модель уролитиаза воспроизводилась у всех трех групп животных выпаиванием 1 % раствором этиленгликоля путем свободного доступа в течение 21 дня. С четвертой недели исследования на протяжении 14 дней контрольная группа продолжала получать раствор этиленгликоля. Животным 1-й и 2-й опытных групп ежедневно на фоне приема этиленгликоля в течение двух недель перорально вводились экстракты корня подсолнечника из расчета 50 мг на 1 кг веса животного. Крысы 1-й опытной группы получали водную взвесь сухого спиртового экстракта корня подсолнечника. Животных 2-й опытной группы выпаивали отваром сухого измельченного корня подсолнечника.

Диуретическую активность животных оценивали по общепринятому методу без нагрузки [1]. Сбор мочи осуществляли в метаболических клетках за 12 часов.

Общий анализ мочи проводили на автоматическом анализаторе мочи Урискан Оптима (YD Diagnostics).

Наличие соединений кальция в тканях почки определяли гистохимическим методом Косса, заключающемся в импрегнации тканей серебром [3]. Содержание ионизированного кальция определяли по методу Лилли с использованием щавелевой кислоты [6].

Изучение гистологических срезов и микроскопию осадка мочи проводили с использованием лабораторного микроскопа Axio Imager 2 (A2) при различных увеличениях с фиксацией обнаруженных изменений путем получения цифровых фотографий с помощью специализированной фотокамеры AxioCam MRc5 (Carl Zeiss Microscopy) с использованием программного обеспечения Zena 2012 Pro. Все результаты подвергались статистической обработке с помощью критерия Стьюдента. Различия считали статистически достоверными, начиная со значений $P \leq 0,05$.

Результаты исследований

Экспозиция мочевых конкрементов в исследуемых растворах на протяжении 14 дней проявилась снижением их массы в присутствии 10 % отвара сухого корня подсолнечника на 11,8 % (табл. 1).

Таблица 1

Оценка литолитического действия экстрактов корня подсолнечника *in vitro*

| Исследуемый раствор | Масса мочевого конкремента (г) (M±m) | |
|---|--------------------------------------|------------------|
| | До экспозиции | После экспозиции |
| 10% отвар сухого корня подсолнечника | 0,715±0,12 | 0,630±0,24 |
| 10% водная взвесь сухого спиртового экстракта корня подсолнечника | 0,670±0,23 | 0,585±0,21 |
| Дистиллированная вода | 0,675±0,16 | 0,625±0,13 |

Динамика уменьшения массы кусочков уrolита, помещенного в 10 % водную взвесь сухого спиртового экстракта корня подсолнечника, составила 12,6 %. Масса образцов мочевого камня, выдержанных в дистиллированной воде, уменьшилась на 7,4 %.

Приведенные значения указывают на некоторую степень контактного воздействия изучаемых экстрактов на растворимость уrolитов. Однако в сравнении с данными исследований подобного характера [5 и др.] полученные результаты носят незначительный характер и тем самым ставят под сомнение вопрос эффективности антеградного использования корня подсолнечника в виде моносредства.

Изучение диуреза животных опытных групп выявило, что однократное введение отвара измельченного корня подсолнечника оказывает выраженное мочегонное действие, увеличивая водовыделительную функцию почек в 2,3 раза по сравнению с показателями диуреза у животных контрольной группы (табл. 2).

Таблица 2

Влияние корня подсолнечника на диуретическую активность почек крыс

| Группы | Диурез в мл/100г (M±m) |
|--|------------------------|
| Контрольная группа (физ. раствор) (n=6) | 4,84±0,23 |
| Опытная группа 1 (водная взвесь сухого спиртового экстракта корня подсолнечника) (n=6) | 5,16±0,14 |
| Опытная группа 2 (отвар высушенного корня подсолнечника) (n=6) | 11,30±0,21* |

Примечание: * – достоверные отличия по сравнению со значениями контрольной группы при $P \leq 0,05$.

Это свидетельствует в пользу соответствия отвара корня подсолнечника разряду литолитических средств, которые, по мнению ряда авторов [5 и др.], должны включать в свой состав соединения не только обладающие способностью разрушать органическую

матрицу уролита, но и обладать мочегонным свойством. При этом важно отметить, что диуретическое действие водной взвеси сухого спиртового экстракта корня подсолнечника у опытных животных не имело столь значимых отличий от группы контроля.

При микроскопировании осадка мочи у всех животных к концу третьей недели формирования экспериментального уролитиаза выявлено большое количество солевых кристаллов, что свидетельствует о развивающемся нарушении выделительной функции почек и развитии мочекаменной болезни.

Это подтверждалось и характером изменений ряда свойств мочи у всех экспериментальных животных в динамике моделирования патологии мочевыводящих путей, а именно – протеинурией, гематурией и ростом количества лейкоцитов в моче.

В группе опытных животных, получавших водную взвесь сухого спиртового экстракта корня подсолнечника, как и в контрольной, сохранилось большое количество крупных кристаллов солей в осадке мочи. Образовавшиеся кристаллы в моче крыс, которым вводился отвар корня подсолнечника, были маленьких размеров, что указывает на меньшую их агрегацию.

Микроморфологическое исследование почек в контрольной группе животных, которая выступала группой чистой модельной патологии, выявило наличие «кальций-позитивного материала» (более 100 включений в поле зрения) в виде диффузной инкрустации ионизированного кальция в клеточных элементах интерстиции. Обнаруживались отложения микролитов кальция в почечных канальцах. Размеры кальцинатов были различными вплоть до крупных, обтурирующих просвет канальца.

Гистологическая оценка почек выявила вышеназванные изменения и у животных 1-й и 2-й опытных групп. Однако следует отметить, что во 2-й опытной группе животных перечисленные изменения оказались менее выражены. Диффузная инкрустация кальция в интерстиции вещества почек у животных контрольной группы сменяется очаговыми скоплениями в почках крыс опытных групп. Причем в тканях почек животных 2-й опытной группы количество «кальций-позитивного материала» было минимальным и составляло не более 50 включений в поле зрения.

Обособленно 2-я опытная группа стоит также по количеству и размерам кальциевых микролитов в канальцах нефрона. Если в контрольной группе встречаемость довольно крупных кальциевых депозитов с обтурацией просвета почечных канальцев составляла 50 % наблюдений, а в 1-й опытной группе около 30 %, то во 2-й группе опыта на гистологических

срезах встречались только микролиты небольших размеров, которые, кроме того, что немало важно, имели более рыхлую консистенцию.

Результаты исследования показали, что при оксалатном уролитиазе у белых крыс корень подсолнечника однолетнего обладал литолитической активностью, которая проявилась уменьшением размера микролитов и снижением кристаллурии. Механизм литолитического действия обусловлен не столько за счет вероятной потенции растворения кальциевых депозитов, сколько вызван возможным содержанием веществ в корне подсолнечника, ингибирующих рост кристаллов оксалата кальция, а также активным мочегонным действием, препятствующем агрегации кристаллов в канальцевом аппарате почек.

Исследование проведено при финансовой поддержке Минобрнауки России, в рамках выполнения базовой части государственного задания (2014/2016).

Список литературы

1. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. Методы экспериментального исследования почек и водносолевого обмена. — Барнаул, 1972. — 132 с.
2. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В. и др. Функция почек в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза // Нефрология. — 2008. — Т.12, №1. — С. 69-74.
3. Вайль С.С. Руководство по патолого-гистологической технике. — Л., 1947. — 264 с.
4. Жариков А.Ю., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В. и др. Применение викасола как перспективного средства фармакологической коррекции экспериментального нефролитиаза // Бюллетень сибирской медицины. — № 1. — 2012. — С. 18-25.
5. Чабан Н.Г., Букин В.И., Рапопорт Л.М., Цариченко Д.Г. Литолиз in vitro нефролитов ксидифоном и его смесями с калганом // Вестник МИТХТ. — 2007. — Т. 2. — № 6 — С. 48-53.
6. Ягода А.В. Клиническая цитохимия / под ред. А.В. Ягоды, Н.А. Локтева. — Ставрополь, 2005. — 485 с.
7. Ajij Ahmed. Efficacy of Adiantum capillus veneris Linn in chemically induced urolithiasis in rats // Journal of Ethnopharmacology, 2013.Vol. 146. — P. 411-416.
8. Dilipkumar Pa Chapter 130 – Sunflower (Helianthus annuus L.) Seeds in Health and Nutrition // Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention 2011. — P. 1097–1105.
9. Lotan Y. Management of ureteral calculi: a cost comparison and decision making analysis // J

Urol 167 (4), 2002. — P. 1621–1629.

10. Pablo R. Exploration of the antioxidant and antimicrobial capacity of two sunflower protein concentrate films with naturally present phenolic compounds // Food Hydrocolloids, 2012. Vol. 29. — P. 374–381.

Рецензенты:

Попова О.И., д.фарм.н., профессор кафедры фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ГБОУ ВПО Волгоградского государственного медицинского университета МЗ РФ, г. Пятигорск.

Федько Н.А., д.м.н., профессор, декан факультета гуманитарного и медико-биологического образования ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет», г. Ставрополь.