

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ПОРТУЛАКА ОГОРОДНОГО НА БИЛИРУБИНОВЫЕ ФРАКЦИИ В КРОВИ КРОЛИКОВ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

Шейхова Р.Г.¹, Нурмагомедова П.М.¹, Гасанова З.У.¹

¹ФГБОУ ВПО «Дагестанский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, Махачкала, e-mail: Sharg2006@mail.ru

Исследовали влияние водного экстракта портулака огородного на билирубиновые фракции в сыворотке крови кроликов при экспериментальном токсическом гепатите. Для сравнения и анализа параллельно исследовались группы кроликов, которые получали общепринятую медикаментозную витаминотерапию, а также комбинацию с водным экстрактом портулака. Полученные результаты сравнивали как с контролем, так и с показателями 1-й группы кроликов с модулированным токсическим гепатитом, без последующей терапии. Эксперимент проводился в течение 10 дней. Отмечается повышение в крови концентрации общего билирубина, преимущественно за счет прямого. Наивысший уровень билирубиновых фракций отмечен на 4-й день в 1-й группе животных без применения терапии. Самый низкий уровень общего и прямого билирубина наблюдается на 10-й день в 4-й группе с комбинированной терапией. Содержание билирубиновых фракций во 2, 3 и 4-й группах кроликов достоверно не отличается.

Ключевые слова: экстракт портулака огородного, острый токсический гепатит, билирубиновые фракции.

INFLUENCE OF EXTRACT OF PURSLANE ON BILIRUBIN FRACTIONS IN A BLOOD OF RABBITS WITH TOXIC HEPATITIS

Sheyhova R.G.¹, Nurmagomedova P.M.¹, Gasanova Z.U.¹

¹Dagestansky State University, Makhachkala, e-mail: Sharg2006@mail.ru

There was investigated the influence of an aqueous extract of purslane on bilirubin fractions in blood serum of rabbits with experimental toxic hepatitis. For comparison and analysis, in parallel there were investigated the group of rabbits, that received conventional medical vitamin therapy, and combination with water extract of purslane. The obtained results were compared with the control and with indicators of the 1st group of the rabbits with modulated toxic hepatitis without the further therapy. The experiments carried out for 10 days. There is an increase concentration of total bilirubin in a blood, mainly due to the direct. The highest level of bilirubin fractions marked in 4-th day in the 1 St group of animals without the use of therapy. The lowest level of total and direct bilirubin observed in the 10th day in the groups where we applied a therapy. The content of bilirubin fractions in the 2nd, 3rd and 4th groups of rabbits were not significantly different. In the 10th day of a study a content of total bilirubin in the groups with the therapy varies in the norm of limits.

Keywords: extract of purslane, acute toxic hepatitis, bilirubin fractio.

Поражение печени при острых экзогенных интоксикациях является распространенной патологией, которая, по клиническим данным, встречается более чем у 30% больных [5].

Из-за ухудшения экологической обстановки различные промышленные и сельскохозяйственные яды попадают в организм человека как через воздух, так и вместе с пищей, тем самым вызывая интоксикацию организма. Токсическое поражение печени вызывают как различные химические вещества, в том числе и лекарственные, при их случайном попадании или введении в организм, так и промышленные яды при нарушении техники безопасности.

Четыреххлористый углерод широко используется в промышленности как растворитель масел, жиров, каучука и т.д., для экстрагирования жиров и алкалоидов, для очистки и обезжиривания одежды в быту и в производственных условиях. Метаболические

превращения CCl_4 являются основой его гепатотоксического действия [4]. Поэтому для исследования в качестве гепатотропного яда нами был выбран CCl_4 .

При токсическом и инфекционном поражении печени наблюдается изменение пигментного, углеводного, белкового обмена и т.д.

Недостаточная эффективность современных лекарственных средств, рекомендованных для лечения поражений печени, определяет необходимость поиска новых препаратов, в том числе среди природных соединений [6].

За последние 20 лет выявлены гепатопротекторные свойства препаратов многих лекарственных растений, таких как арника горная, арника облиственная, ромашка аптечная и т.д. [8; 11]. Встречаются литературные данные о том, что экстракт портулака огородного (*Portulaca Oleracea*) используется в тибетской медицине для лечения гепатита [2]. Широкий спектр действия веществ, входящих в состав портулака огородного (флавоноиды, коричные кислоты, слизистые и смолистые вещества, органические кислоты, витамины С, РР, Е и т.д.), способствовал нашему выбору этого растения в качестве модели протекторного вещества при токсическом поражении печени.

Цель и задачи исследования

Целью нашего эксперимента явилось исследование влияния водного экстракта портулака огородного (*Portulaca oleracea*) на содержание билирубиновых фракций при экспериментальном токсическом гепатите, с последующим сравнительным анализом результатов, полученных после стандартного метода лечения.

Научная новизна

Сравнительный анализ содержания билирубиновых фракций в сыворотке крови кроликов при использовании водного экстракта портулака огородного и стандартного метода лечения при остром токсическом гепатите проведен впервые.

В качестве объекта исследования были взяты кролики породы шиншилла, которые широко используются в длительных экспериментах из-за удобства многократного взятия крови.

В эксперименте были использованы половозрелые самцы в возрасте 5-6 месяцев и массой 2,5-3 кг. У них вызывали токсический гепатит однократным подкожным введением четыреххлористого углерода в дозе 0,2 мл на 1 кг массы тела. В указанной дозе четыреххлористый углерод вызывает токсический гепатит у кроликов [1].

Постановка эксперимента

Животные были разбиты на 4 группы:

1-я группа – интактные животные (контроль), которых после интоксикации CCl_4 не лечили;

2-я группа – животные, которые через 3 часа после введения CCl_4 получали водный экстракт портулака огородного (ЭПО) 3 раза в день перорально через зонд, в дозе 2 мл на 1 кг массы тела;

3-я группа – животные, которые через 3 часа после введения CCl_4 проходили курс лечения витаминами (B_1 , B_2 , B_6 , B_{12} , PP, E, C) ежедневно в одно и то же время;

4-я группа – животные, которые через 3 часа после введения CCl_4 проходили курс витаминотерапии в комплексе с водным экстрактом портулака огородного.

Кровь брали ежедневно из краевой вены уха кролика по методу, описанному у Западнюка [1], для определения в ней содержания билирубиновых фракций. Сыворотку получали без использования противосвертывающих средств.

Для этого кровь держали в холодильнике в течение 20 мин и центрифугировали в течение 15 минут при 3000 об/мин. Сыворотку хранили в холодильнике.

Ежедневно животным внутримышечно вводили витамины в терапевтических дозах по методике Западнюка И.О. [1]. Дозы: B_1 – 0,1 мл 5% раствора на 1 кг массы (5 мг/кг); B_2 – 0,2 мл 1% р-ра на 1 кг массы (2 мг/кг); B_6 – 0,1 мл 5% р-ра на 1 кг массы (5 мг/кг); B_{12} – 0,1 мл (2 мг/кг); PP – 0,2 мл 1% р-ра на 1 кг массы (3 мг/кг); C – 0,2 мл 5% р-ра на 1 кг массы (10 мг/кг).

По схеме витамины B_1 , B_{12} и C – назначают с утра в 9 ч, а витамины B_2 , B_6 , PP – назначают после 15 ч.

Биохимические методы исследования

Определение содержания билирубина тест-методом «Лахема».

Принцип метода

Билирубин вступает в реакцию азосочетания с диазтированной сульфаниловой кислотой с образованием раствора азокрасителя, который фотометрируют.

Определение общего (неконъюгированного и прямого) билирубина проводят в растворе акцелератора, определение прямого (конъюгированного) билирубина – без акцелератора.

Статистическую обработку проводили по t-критерию Стьюдента, методом малой выборки [3]. Резко отклоняющиеся наблюдения отбрасывали с использованием критерия Шовенэ. Различия считали достоверными при значениях $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Токсическое поражение печени, вызванное однократным введением CCl_4 , приводит к изменению интенсивности желчеобразования и химического состава желчи, что сопровождалось глубоким нарушением пигментного обмена, о чем свидетельствовало повышение содержания билирубиновых фракций в сыворотке крови кроликов. Однако это повышение не однозначно для общего и прямого билирубина.

Из полученных данных видно, что содержание общего билирубина относительно контроля (интактных животных) уже через 3 часа после введения CCl_4 во всех исследуемых группах достоверно повышается в среднем на 50%, а содержание прямого билирубина - более чем на 280%. Таким образом, отмечается повышение концентрации общего билирубина в крови, преимущественно за счет прямого [12].

Повышение уровня конъюгированного билирубина в крови указывает на нарушение выделения клеткой билирубина в желчные ходы и затруднение оттока желчи по внутрипеченочным протокам [9]. Через 24 часа после введения CCl_4 содержание общего билирубина в 1-й контрольной группе без лечения, во 2-й группе с применением водного экстракта портулака огородного, в 3-й с витаминотерапией и в 4-й с комбинированным вариантом в среднем достоверно превышало норму в 1,8 раза, а содержание прямого билирубина в 3 раза ($P < 0,001$) (таблица; рис. 1 и 2).

На 2-й день эксперимента, независимо от терапии, во всех группах кроликов содержание общего и прямого билирубина достоверно повысилось относительно контроля примерно на 180 и 460% соответственно, а относительно предыдущего дня в среднем оба показателя выше на 50%. На 3-й день исследования во всех 4 группах кроликов содержание общего и прямого билирубина продолжает достоверно повышаться ($P < 0,001$) в среднем на 100 и 80% относительно 2-го дня и на 370 и 1000% относительно показателей интактных животных. Следует отметить, что на третьи сутки во 2, 3 и 4-й группах кроликов наблюдается наивысшее содержание концентрации билирубиновых фракций с момента введения CCl_4 . На 4-й день исследования в 1-й контрольной группе кроликов, без терапии, отмечается наиболее высокий уровень концентрации билирубиновых фракций, превышая норму соответственно в 6 и 12 раз. При статистическом анализе полученных данных на 4-й день исследования и сравнении результатов в группах между собой по концентрации общего и прямого билирубина видно, что достоверно отличаются только показатели 1-й группы от остальных ($P < 0,05$). Между 2, 3 и 4-й группами достоверных различий не наблюдается, значения общего и прямого билирубина по-прежнему стойко держатся на прежнем уровне. Переломный этап наступает после 5-го дня исследования. В дальнейшем от 5-го до 10-го дня наблюдается во всех четырёх группах постепенное снижение билирубиновых фракций (рис. 1 и 2). С 5-го по 10-й дни исследования показатели билирубиновых фракций крови кроликов во 2, 3 и 4-й группах достоверно ($P < 0,05$) ниже показателей 1-й группы без терапии.

Содержание общего и прямого билирубина в сыворотке крови (в мкмоль/л) кроликов при экспериментальном токсическом поражении печени ($M \pm m : n = 6$)

Время	Контроль без лечения после введения CCl_4		Экстракт портулака, 2-я группа		Витаминотерапия, 3-я группа		Комбинированное лечение, 4-я группа	
	Общий бил.	Прямой бил.	Общий бил.	Прямой бил.	Общий бил.	Прямой бил.	Общий бил.	Прямой бил.
Через 3	7,8 ±0,80	6,4 ±0,76	7,5 ±0,85	6,4 ±0,67	7,6 ±0,73	6,2 ±0,73	7,9 ±0,67	6,1 ±0,58
1д	9,4 ± 1,2	8,7 ±1,09	9,7 ±0,92	7,8 ±0,87	10,0±0,98	8,4 ±0,96	10,6 ±0,97	7,9 ±0,89
2д	14,1 ±1,17	11,9±1,32	12,5 ±1,27	11,1 ±1,21	14,8 ±1,76	13,1 ±1,46	14,8 ±1,76	12,7±1,80
3д	23,6±2,13	21,1±2,38	24,0 ±1,93	22,7±1,78	25,9±1,54	22,3 ±1,36	23,3 ±1,43	18,6 ±1,29
4д	31,4 ±2,54	29,1 ±2,41	20,9 ±2,13	18,2 ±2,08	22,0±2,14	20,1 ±2,05	23,8±2,17	21,4±2,12
5д	26,0 ±2,31	24,3 ± 2,33	16,9±2,18	14,1 ±2,13	21,4±2,19	17,6±2,17	24,3 ±2,21	17,2 + 2,10
6д	25,3 ±2,1	23,1± 2,12	15,1±1,91	12,3±2,2	18,6±1,48	15,8±2.1	17,6±1,82	13,2±1,91
7д	23,3 ±2,10	22,1 ±2,18	12,7 ±2,01	10,8±1,92	16,8 ±2,01	12,1 ±2,14	13,8 ±2,03	11,2 ±1,93
8д	21,8 ± 1,93	20,0±2,12	7,5 ±1,87	6,1 ±1,87	13,1 ±1,69	8,3 ±1,96	8,9 ±1,93	6,8 ±1,87
9д	20,4 ±1,87	18,3 ±2,27	5,6±1,34*	4,3 ±1,63	9,0± 1,34	6,8±1,89	5,4±1,84*	4,3±1,82
10д	17,1 ±1,74	15,2 ±2,82	5,2+ 1,91*	4,1 ±1,58	5,2 ±1,23*	4,1 ±1,78	5,1 ±1,73*	4,0+ 1,78

Контроль (интактные животные): общий билирубин - 5,1±0,98

прямой билирубин - 2,14±0

* - $P > 0,05$ - относительно контроля (интактных животных)

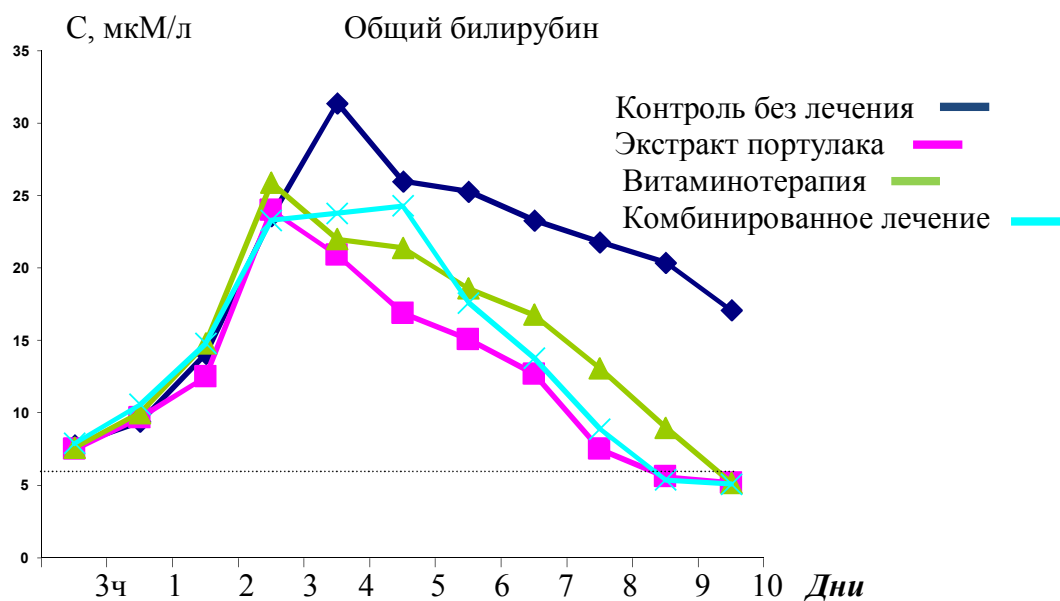


Рис. 1. Динамика содержания общего билирубина в сыворотке крови кроликов при токсическом поражении печени при различных вариантах исследования

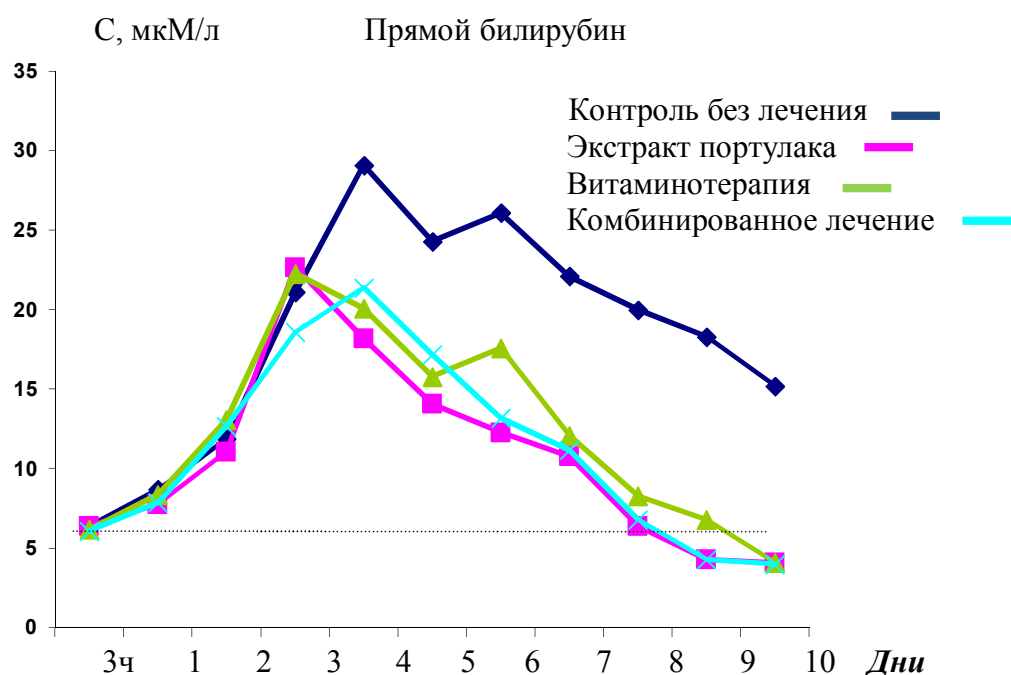


Рис. 2. Динамика содержания прямого билирубина в сыворотке крови кроликов при токсическом поражении печени при различных вариантах исследования

Следует отметить, что содержание общего билирубина во 2-й группе с применением портулака и в 4-й группе с комбинацией экстракта портулака + витаминотерапия уже на 9-й

день исследования снижается до нормальных значений интактных животных. На 10-е сутки нашего исследования в 1-й группе животных общий билирубин ещё превышает норму на 235%, а прямой на 600%.

А показатели 2, 3 и 4-й групп по содержанию общего и прямого билирубина находятся примерно на одинаковом уровне, достоверно не отличаясь между собой. Общий билирубин на 10-й день при всех вариантах исследования варьирует уже в пределах нормы, а прямой снизился от максимального его значения на 440% и выше нормальных значений ещё примерно на 90%.

Конечно, полученные значения прямого билирубина еще далеки от нормальных. Но уже наблюдаемое снижение билирубиновых фракций в 3 группах с терапией относительно 1-й контрольной группы без терапии указывает на эффективное воздействие водного экстракта портулака огородного и витаминов на концентрацию билирубиновых фракций при экспериментальном токсическом гепатите.

Из полученных данных видно, что водный экстракт портулака огородного, в отличие от инъекций витаминов, использованных в терапии токсического поражения печени, обладает более выраженным гепатопротекторным действием [9; 12-14].

На это указывает показатель общего билирубина, который на 9-й день исследования, в 3-й группе с витаминотерапией находится на достоверно высоком уровне относительно нормальных значений, в то время как вариант с экстрактом портулака самостоятельно во 2-й группе, так и в комплексе с витаминами способствует достоверному снижению общего билирубина до нормальных значений.

Комбинированное использование витаминов и портулака в дозе 2 мл на 1 кг массы тела не оказывает достоверного изменения в концентрации исследуемых фракций билирубина относительно витаминотерапии. По рис. 1 и 2 на 10-й день исследования видно, что каждый из вариантов терапии для восстановления уровня билирубиновых фракций можно использовать как самостоятельный метод.

В виду проявленной высокой активности, возможно, целесообразно кратное увеличение дозировки применяемого водного экстракта портулака огородного для дальнейшего исследования его действия на билирубиновые фракции крови при токсическом гепатите.

Выводы:

1. Однократное введение подкожно четыреххлористого углерода в дозе 0,2 мл на 1 кг массы тела вызывает токсический гепатит, вызывающий достоверное повышение билирубиновых фракций в сыворотке крови.
2. Как совместное использование витаминотерапии и водного экстракта портулака

огородного, так и их монотерапия при экспериментальном токсическом поражении печени достоверно снижает уровень билирубиновых фракций в одинаковой степени.

3. В течение 10 исследуемых дней в сравниваемых 2, 3 и 4-й группах кроликов с применяемой терапией достоверной разницы в уровне концентрации билирубиновых фракций не обнаружено.

4. На 10-й день исследования наблюдается достоверная разница ($P < 0,05$) в концентрации билирубиновых фракций 1-й контрольной группы без терапии и 2, 3 и 4-й групп кроликов с применяемой терапией.

5. На 10-й день исследования во 2, 3 и 4-й группах кроликов, в отличие от 1-й контрольной группы без терапии, наблюдается достоверное ($P < 0,05$) снижение общего билирубина до уровня нормальных значений.

Список литературы

1. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Западнюк Б.В., Захария Е.А. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Б.В. Западнюк, Е.А. Захария. – Киев : Воша школа, 1983. – 383 с.
2. Лавренов В.К., Лавренова Р.В. Полная энциклопедия лекарственных растений. В 2-х т. – СПб. : Нева ; М. : Олма пресс, 1999. – Т. 2. – 885 с.
3. Лакин А.И. Биометрия. – М. : Высшая школа, 1990. - 293 с.
4. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. – М. : Медицина, 1994. – 270 с.
5. Лужников Е.В. и др. Особенности лечения токсического поражения печени при острых экзогенных отравлениях // Сов. медицина. - 1980. - № 3. – С. 20-26.
6. Махлаюк В.П. Лекарственные растения в народной медицине. – Саратов : Приволжское книжное издательство, 1993. – 544 с.
7. Пастушенков Л.В. и др. Лекарственные растения. (Использование в народной медицине и в быту). – Лениздат : Социально-коммерческая фирма «Человек», 1990. – 170 с.
8. Проскуракова И.С. Морфофункциональные аспекты регенерации печени при экспериментальной коррекции токсического гепатита // Бюл. exper. биологии и медицины. – 1995. - № 6. – С. 656-659.
9. Сальникова С.И., Дроговоз С.М. Гепатозащитная активность аналогов коричной кислоты // Фармакология и токсикология. – 1989. – Т. 52, № 3. – С. 77-80.
10. Самбуева З.Г., Лоншакова К.С. Влияние растительных экстрактов на течение экспериментального гепатита // Фармация. - 1987. – Т. 36, № 2. – С. 40-45.

11. Саратиков А.С., Венгеровский А.И. // Бюл. exper. биол. и медицины. – 1999. – Т. 127, № 4. – С. 392-394.
12. Скакун Н.П., Ковальчук С.Ф. Эффективность антиоксидантов при комбинированном поражении печени СС1₄ и этанолом // Фармакология и токсикология. – 1987. - № 3. – С. 97-99.
13. Chan K., Islam M.W., Kamil M. The analgenic and anti-inflammatory effect of portuleca oleracea L subsp. Sativa (haw) Celak // J Ethanopharmacol. – 2000. – 73. – P. 445-451.
14. Prashant K.L., Jadav H., Thakurdesai P., Nagappa A.N. The cosmetic potential of herbal extracts // Nat prod Radiat. - 2005. – 4. – P. 351.