

ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ГЛИЦИРАМА В УСЛОВИЯХ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС

Сергеева Е.О.¹, Скульте И.В.¹, Терехов А.Ю.¹, Додохова М.А.²

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, e-mail: maklea@yandex.ru;

²ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: dodohova@mail.ru

К настоящему времени актуальным является поиск препаратов биогенного происхождения, обладающих низкой токсичностью и гепатопротекторной активностью. Целью исследования явилось изучение гепатопротекторного действия глицирама на некоторые метаболические процессы у крыс в условиях экспериментального токсического поражения печени, вызванного этанолом. Эксперимент по исследованию гепатопротекторного действия глицирама был проведен на 24 белых крысах линии Wistar, масса которых составляла 180–200 г на начало эксперимента. Биохимические исследования осуществлялись в сыворотке крови и гомогенате печени. В сыворотке крови проводили определение: аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, общего билирубина, в гомогенате печени – триглицеридов и гликогена с использованием общепринятых биохимических методов стандартными наборами. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в условиях эксперимента интоксикация, вызванная этиловым спиртом, приводит к изменению большинства биохимических показателей, в том числе активности индикаторных ферментов, вызывающих нарушение метаболических процессов в печени. Об этом свидетельствуют значительное повышение содержания триглицеридов в печени и снижение гликогена в печени, повышение активности цитолитических ферментов в сыворотке крови – аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, а также увеличение содержания общего билирубина в сыворотке крови. Установлено, что в условиях эксперимента гепатозащитное влияние глицирама было сопоставимо с гепатопротекторным действием препарата сравнения карсила.

Ключевые слова: глицирам, карсил, биохимические показатели, гепатозащитное действие, алкогольная интоксикация.

STUDY OF THE HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF GLYCYRAM IN THE CONDITIONS OF ALCOHOL INTOXICATION IN RATS

Sergeeva E.O.¹, Skulte I.V.¹, Terekhov A.Yu.¹, Dodohova M.A.²

¹Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute – a branch of the Federal State Educational Institution of Higher Education «The Volgograd State Medical University of Public Health Ministry of the Russian Federation», Pyatigorsk, e-mail: maklea@yandex.ru;

²Federal State Budget Educational Establishment of Higher Education «Rostov-on-Don State Medical University» of Health Service Ministry of Russian Federation, Rostov-on-don, e-mail: dodohova@mail.ru

To date, the search for biogenic drugs with low toxicity and hepatoprotective activity is relevant. The aim of the study was to study the hepatoprotective effect of glycyram on certain metabolic processes in rats under conditions of experimental toxic liver damage caused by ethanol. An experiment to study the hepatoprotective effect of glycyram was conducted on 24 white Wistar rats, whose weight was 180–200 g at the beginning of the experiment. Biochemical studies were carried out in blood serum and liver homogenate. Alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, total bilirubin were determined in blood serum, triglycerides and glycogen were determined in liver homogenate using standard sets of generally accepted biochemical methods. The results obtained indicate that under experimental conditions, intoxication caused by ethyl alcohol leads to changes in most biochemical parameters, including the activity of indicator enzymes that lead to a violation of metabolic processes in the liver. This is evidenced by a significant increase in the content of triglycerides in the liver and a decrease in glycogen in the liver, an increase in the activity of cytolytic enzymes in the blood serum alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase, as well as an increase in the content of total bilirubin in the blood serum. It was found that under experimental conditions, the hepatoprotective effect of glycyram was comparable to the hepatoprotective effect of the comparison drug karsil.

Keywords: glycyram, karsil, biochemical parameters, hepatoprotective effect, alcohol intoxication.

Алкогольная интоксикация на сегодняшний день представляет собой глобальную проблему человечества, часто встречающуюся у людей, страдающих алкоголизмом, что сопровождается обострением ряда хронических заболеваний и способствует появлению острых состояний, опасных для жизни больного. Этанол – сильнейший токсин, он поражает все органы и системы человека. Заболевания печени при алкоголизме по степени своего разрушительного действия стоят на 2-м месте после болезней головного мозга. Выраженность их клинических проявлений определяется стадией. Чем дольше человек страдает алкозависимостью, тем более серьезные поражения имеются в гепатобилиарной системе организма. Разрушение печеночных клеток – гепатоцитов – становится причиной тяжелых осложнений, ведущих без лечения к летальному исходу.

При повреждении печени может происходить нарушение ее функциональных состояний, часто сопровождающееся развитием инвалидности, потерей трудоспособности и приводящее к сокращению продолжительности жизни больного. Гепатоз, обусловленный химической интоксикацией, нарушением со стороны иммунной системы, повреждением бактериальными, вирусными инфекциями, может привести к замещению соединительной тканью печеночной. При этом имеют место значительное увеличение размеров органа и изменение его функциональной активности, вызывающие необратимые изменения, проявляющиеся циррозом печени. Неблагоприятное действие окружающей среды: загрязнение воздуха, воды, воздействие ксенобиотиков, а также употребление некачественных пищевых продуктов, наличие вредных привычек: курение, токсикомания, злоупотребление крепкими спиртными напитками – увеличивают степень необратимости функциональных и биохимических осложнений со стороны печени.

Безусловно, в современном мире имеются определенные успехи в диагностике и лечении патологии печени различного генеза. Однако рост заболеваний печени сохраняется.

К настоящему времени актуальным является поиск препаратов биогенного происхождения, обладающих низкой токсичностью и гепатопротекторной активностью.

К классу тритерпеноидов относится глицирризиновая кислота, являющаяся основным компонентом препарата глицирам (аммонийной соли глицирризиновой кислоты) [1]. Биологические и фармакологические эффекты глицирризиновой кислоты заключаются в противовирусной [2], иммуностропной, противоаллергической, противовоспалительной, противоопухолевой [3], антимикробной, гиполипидемической, гепатопротекторной, противоязвенной активности [4]. Актуальность проведенных исследований по выявлению гепатопротекторного действия глицирама подтверждается в работах зарубежных ученых по изучению влияния аммонийной соли глицирризиновой кислоты на нормализацию патологических процессов различного генеза в гепатоцитах экспериментальных животных.

По мнению ряда авторов, глицирризинат аммония вызывает гепатопротективный эффект в гепатоцитах и может выступать в качестве потенциального средства при повреждениях печени [5, 6].

В данной экспериментальной работе была поставлена цель – изучить гепатопротекторное действие глицирама на некоторые метаболические процессы у крыс в условиях воспроизведения экспериментального токсического поражения печени, вызванного этанолом.

Новизна научной работы заключается в возможности расширения спектра фармакологической активности препарата глицирам. При назначении его больным следует учитывать наличие гепатопротекторного действия данного лекарственного средства.

Материалы и методы исследования

Гепатопротекторное действие глицирама (ЗАО «Фармцентр» ВИЛАР) изучалось на 24 белых крысах линии Wistar массой 180–200 г на начало эксперимента. Эксперимент проводился на животных, полученных из питомника Пятигорского медико-фармацевтического института, прошедших двухнедельное содержание в макролоновых клетках, на стандартном рационе питания вивария.

В условиях алкогольной интоксикации был использован следующий экспериментальный дизайнерский проект:

1-я группа – интактные животные;

2-я группа – контрольные животные, получавшие per os 40%-ный раствор этилового спирта в дозе 5 г/кг массы тела животного (2,5 мл/200 г массы животного) на протяжении 2 недель [7];

3-я группа – опытные животные, получавшие per os суспензию, приготовленную путем измельчения таблеток препарата глицирама в дозе 10 мг/кг в 1 мл физраствора (данная доза рассчитана исходя из средней терапевтической дозы глицирама для человека и с учетом межвидового коэффициента пересчета на животное) в течение 14 дней. Предварительно за 1 ч до введения препарата вводился per os 40%-ный раствор этилового спирта в дозе 5 г/кг на протяжении 2 недель;

4-ая-группа (группа сравнения) – опытные животные, получавшие per os суспензию, приготовленную путем измельчения таблеток препарата карсила в дозе 100 мг/кг в 1 мл физраствора в течение 14 дней; предварительно за 1 ч до введения препарата вводился per os 40%-ный раствор этилового спирта в дозе 5 г/кг на протяжении 2 недель.

На 15-й день крыс декапитировали. В качестве ингаляционного наркоза был использован диэтиловый эфир с целью проведения эвтаназии в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 ЕЕС (решение

этического комитета о проведении экспериментального исследования, протокол № 3 от 05.02.2021 г.).

Материалом биохимического исследования служили сыворотка крови и гомогенат печени. В сыворотке крови проводили определение следующих биохимических показателей: аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы (колориметрический метод определения аминотрансфераз по Райтману–Френкелю), щелочной фосфатазы (по гидролизу бета-глицерофосфата (метод Бодански), общего билирубина (колориметрический диазометод (по Йендрашику–Клеггорну–Грофу), общего белка (метод Лоури), в гомогенате печени – триглицеридов (колориметрический метод по Gottfried и Roserberg в модификации Н.А. Сентебовой) и гликогена (колориметрический метод по реакции с фенолом в кислой среде после щелочного гидролиза гликогена).

Определение содержания биохимических показателей липидного, пигментного, белкового и углеводного обмена, а также активности индикаторных ферментов в сыворотке при экспериментальной модели патологии, вызванной этанолом, осуществлялось с использованием биохимических методов стандартными наборами [8].

Математический анализ проводили следующим образом: в исследованных группах проводилось вычисление среднего значения (M) и стандартной ошибки среднего значения (m), которые вместе со значением n представлены в таблицах. Различия между группами анализировали параметрическими или непараметрическими методами, в зависимости от типа распределения. В качестве параметрического критерия использовали критерий Стьюдента, в качестве непараметрического критерия – U-критерий Манна–Уитни. Для статистической обработки результатов применяли пакет программ «Stat Plus 2009».

Результаты исследования и их обсуждение

В эксперименте распределение изучаемых данных носило нормальный характер во всех группах. Проверка соответствия анализируемых данных нормальному распределению реализована в программе Stat Plus, в связи с чем применяли параметрический метод оценки достоверности результатов исследования с использованием t-критерия Стьюдента. При расчетах сравнивались попарно интактная группа и контрольная группа; контрольная группа и соответствующая опытная группа животных; опытная группа, получавшая глицирам, и опытная группа, получавшая карсил. Уровень статистической значимости считали достоверными при значении p от 0,001 до 0,05.

При введении этанола в группе контрольных животных имело место значительное увеличение активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови на 120% по сравнению с интактными животными ($p < 0,001$). Прием глицирама у опытных животных в условиях эксперимента привел к снижению активности аланинаминотрансферазы в крови на 28%

(110±4,7 Ед/л против 152±9,4 Ед/л) по сравнению с контрольными животными ($p < 0,01$) (табл. 1).

Таблица 1

Влияние глицирама на биохимические показатели в сыворотке крови крыс в условиях токсического поражения этанолом

Показатели	Группы животных			
	Группа 1 n=6	Группа 2 n=6	Группа 3 n=6	Группа 4 n=6
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	69±3,2	152±9,4 $p_1 < 0,001$ +120%	110±4,7 $p_2 < 0,01$ -28% $p_3 < 0,5$ +9%	101±5,3 $p_2 < 0,01$ -34%
Аспаргатаминотрасфераза, Ед/л	76±5,8	174±8,6 $p_1 < 0,001$ +129%	117±6,3 $p_2 < 0,01$ -33% $p_3 < 0,5$ +7%	109±5,8 $p_2 < 0,01$ -37%
Щелочная фосфатаза, Ед/л	108±9,2	191±7,5 $p_1 < 0,01$ +76%	154±7,9 $p_2 < 0,05$ -19% $p_3 < 0,05$ +23%	125±8,3 $p_2 < 0,01$ -35%
Общий билирубин, мкмоль/л	8,4±0,5	17,5±1,2 $p_1 < 0,001$ +108%	14,7±0,9 $p_2 < 0,5$ -16% $p_3 < 0,5$ +9%	13,3±0,6 $p_2 < 0,05$ -24%
Общий белок, г/л	69,2±8,1	57,4±6,3 $p_1 < 0,5$ -18%	62,5±5,9 $p_2 < 0,5$ +9% $p_3 < 0,5$ +5%	59,4±6,8 $p_2 < 0,5$ +10%

n – количество животных в группе;

p_1 – уровень статистической значимости по отношению к интактным животным;

p_2 – уровень статистической значимости по отношению к группе контроля;

p_3 – уровень статистической значимости по отношению к группе сравнения.

Под влиянием введения препарата карсила у животных также наблюдалось снижение активности аланинаминотрасферазы в сыворотке крови на 34% (101±5,3 Ед/л против 152±9,4 Ед/л в контроле, $p < 0,01$). В контрольной группе животных при введении этанола отмечалось существенное увеличение активности аспаргатаминотрасферазы в сыворотке крови на 129% (174±8,6 Ед/л против 76±5,8 Ед/л при сравнении с 1-й группой животных ($p < 0,001$)). При алкогольном воздействии в 3-й группе опытных животных, получавших глицирам, имело

место подавление активности аспаратаминотрансферазы на 33% ($117 \pm 6,5$ Ед/л против $174 \pm 8,6$ Ед/л по сравнению со 2-й группой животных, $p < 0,01$).

Под влиянием карсила – препарата сравнения – у крыс наблюдалось снижение активности аспаратаминотрансферазы в сыворотке крови на 37% по сравнению с контрольной группой крыс ($p < 0,001$). Во 2-й группе животных отмечался значительный рост активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови – на 76% ($p < 0,001$) по сравнению с 1-й группой крыс. В результате проведения эксперимента у животных 3-й группы, получавших глицирам, установлено снижение активности щелочной фосфатазы в крови на 19% ($154 \pm 7,9$ Ед/л против $191 \pm 7,5$ Ед/л против контрольных животных, $p < 0,05$). В 4-й группе животных, которым вводился карсил в тех же условиях опыта, выявлено существенное снижение активности указанного показателя – на 35% ($p < 0,01$) по сравнению со 2-й группой. При этом в опытных группах животных достоверного различия активности ферментов крови аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы и щелочной фосфатазы не было установлено при воздействии глицирама и препарата сравнения карсила. Под действием этанола у животных 2-й группы значительно увеличивалась концентрация общего билирубина в крови – на 108% ($p < 0,001$) по сравнению с животными 1-й группы. Введение карсила опытной группе животных в тех же условиях опыта вызвало снижение содержания общего билирубина на 24% ($13,3 \pm 0,6$ мкмоль/л против $17,5 \pm 1,2$ мкмоль/л) по сравнению с контролем ($p < 0,05$). При приеме глицирама не наблюдалось статистически значимого снижения содержания общего билирубина по сравнению с контролем.

Введение этанола животным 2-й группы обусловило снижение концентрации общего белка в сыворотке крови на 18%. Статистически значимого различия не зафиксировано. В опытных группах животных не прослеживалось изменения уровня общего белка в сыворотке крови по сравнению с животными 2-й группы.

Следствием двухнедельного введения этанола контрольной группе животных явилось снижение гликогена в гомогенате печени на 51% по сравнению с нормой ($p < 0,001$). Под влиянием глицирама в группе опытных животных на фоне алкогольной интоксикации наблюдалось увеличение гликогена печени на 39% ($12,8 \pm 0,76$ г/кг против $9,2 \pm 0,81$ г/кг в контроле, $p < 0,05$). В 4-й группе животных, получавших карсил, в условиях эксперимента наблюдалось увеличение содержания триглицеридов в печени на 29% по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

В контроле отмечалось выраженное увеличение уровня триглицеридов в гомогенате печени на 69% по сравнению со здоровыми животными ($p < 0,001$). В тех же условиях опыта у животных, которым вводили глицирам, выявлено снижение триглицеридов в печени на 30%. При этом у животных, получавших карсил, в условиях эксперимента произошло снижение

содержания триглицеридов в печени на 19% по сравнению с контролем ($p < 0,01$). Прием глицирама вызвал более выраженное снижение содержания триглицеридов в печени – на 13% ($p < 0,05$) по сравнению с карсилом (табл. 2).

Таблица 2

Влияние глицирама на биохимические показатели в печени крыс в условиях токсического поражения этанолом

Показатели	Группы животных			
	Группа 1 n =6	Группа 2 n =6	Группа 3 n =6	Группа 4 n =6
Гликоген печени, г/кг	18,6±1,7	9,2±0,81 $p_1 < 0,001$ –51%	12,8±0,76 $p_2 < 0,05$ +39% $p_3 < 0,5$ +7%	11,9±0,54 $p_2 < 0,05$ +29%
Триглицериды печени, ммоль/л	6,92±0,34	11,7±0,48 $p_1 < 0,001$ +69%	8,22±0,31 $p_2 < 0,001$ –30% $p_3 < 0,05$ –13%	9,43±0,27 $p_2 < 0,01$ –19%

Заключение. Результаты показали, что при проведении эксперимента интоксикация, вызванная этиловым спиртом, приводит к изменению большинства биохимических показателей, в том числе активности индикаторных ферментов, вызывающих нарушение метаболических процессов в печени. Об этом свидетельствуют значительное повышение уровня триглицеридов в гомогенате печени и снижение количества гликогена в гомогенате печени, повышение активности цитолитических ферментов в сыворотке крови (аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы и щелочной фосфатазы), а также увеличение содержания общего билирубина в сыворотке крови. Установлено, что в условиях эксперимента по изучению гепатопротекторного влияния глицирама выявлено более выраженное снижение содержания триглицеридов в печени, превышающее такое же действие карсила. Остальные изученные нами биохимические показатели находились на том же уровне, что и при гепатопротекторном действии препарата сравнения карсила.

Вывод: при назначении глицирама пациентам рекомендуется учитывать его гепатопротекторное свойство.

Список литературы

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2019. 1216 с.
2. Глицирризиновая кислота в лечении заболеваний печени // Рациональная фармакотерапия. 2015. № 2 (35). С. 49-54.

3. Зарубаев В.В., Аникин В.Б., Смирнов В.С. Противовирусная активность глицерретовой и глицирризиновой кислот // Инфекция и иммунитет. 2016. № 6 (3). С. 199-206.
4. Орманов Н.Ж., Пернебекова Р.К., Орманова Л.Н., Жолымбекова Л.Д., Киргизбаева А.А. Биологическая активность и фармакологические свойства препаратов из корня солодки // Вестник КазНУ. Серия биологическая. 2013. № 2. (58). С. 147-151.
5. Zugong Yu., Feng Wu., Jing Tian., Xuewen Guo., Ran An., Yangyang Guo. Ammonium glycyrrhizin counteracts liver injury caused by lipopolysaccharide/amoxicillin-clavulanate potassium. *Oncotarget*. 2017. vol. 8. no 57. P. 96837-96851.
6. Zugong Yu., Feng Wu., Jing Tian., Xuewen Guo., Ran An. Protective effects of compound ammonium glycyrrhizin, L-arginine, silymarin and glucuro lactone against liver damage induced by ochratoxin A in primary chicken hepatocytes. *Molecular medicine reports*. 2018. vol. 18. P. 2551-2560.
7. Осечкина Н.С. Прогнозирование тяжести интоксикации этанолом на основе генетических маркеров ГАМК2 рецепторов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург, 2020. 26 с.
8. Камышников В.С. Методы клинических лабораторных исследований. МЕДпресс-Информ, 2013. 736 с.