

ГЕПАТОЗАЩИТНОЕ ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ЛОФАНТА АНИСОВОГО В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ, ВЫЗВАННОГО ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ У КРЫС

Скульте И.В.¹, Сергеева Е.О.¹, Юртаева Е.А.¹, Камракова С.А.¹

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

В настоящее время хронические заболевания печени находятся на одном из важнейших мест среди социально значимых патологий и являются причиной возникновения ранней инвалидизации, потери трудоспособности и смертности среди молодого населения. Целью исследования являлось изучение влияния гепатопротекторной активности экстракта листьев лопуха анисового на некоторые показатели белкового, углеводного, пигментного, липидного обменов, а также активности ряда ферментов в сыворотке крови крыс при экспериментальном поражении печени, индуцированном тетрахлорметаном. Установление гепатопротекторного влияния осуществлялось на 24 белых крысах. Определение биохимических показателей проводилось с использованием сыворотки крови и гомогената печени. В ходе эксперимента было установлено нормализующее влияние экстракта лопуха, проявляющееся в достоверном снижении активности ферментов аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, в условиях токсического поражения печени тетрахлорметаном. Применение экстракта лопуха в равной мере с Карсилем обусловило значительное увеличение содержания общего белка и альбуминов крови, что сопровождается нормализацией белкового обмена в условиях модели патологии. Установлено нормализующее влияние в отношении липидного обмена, которое сопровождалось снижением уровня липопротеинов низкой плотности и липопротеинов очень низкой плотности, а также гипохолестеринемическое и гипотриглицеридемическое влияние при экспериментальной патологии у крыс при введении экстракта лопуха. В печени отмечено достоверное снижение уровня триглицеридов и повышение гликогена. Доказана гепатопротекторная активность экстракта листьев лопуха анисового, сопоставимая с фармакологическим действием препарата сравнения Карсила, используемого в качестве референтного средства.

Ключевые слова: биохимические показатели, гепатопротекторное действие, тетрахлорметановая интоксикация, листья лопуха анисового.

HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF ANISEED LEAF EXTRACT LOFANT IN CONDITIONS OF TOXIC LIVER DAMAGE CAUSED BY CARBON TETRACHLORIDE IN RATS

Skulte I.V.¹, Sergeeva E.O.¹, Yurtayeva E.A.¹, Kamrakova S.A.¹

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

Currently, chronic liver diseases are one of the most important among socially significant pathologies and are the cause of early disability, loss of ability to work and mortality among the young population. The aim of the study was to investigate the hepatoprotective activity of aniseed lopuch leaf extract on some indices of protein, carbohydrate, pigment, lipid metabolism, as well as the activity of a number of enzymes in the blood serum of rats with experimental liver damage induced by tetrachloromethane. The hepatoprotective effect was established on 24 white Wistar rats. Determination of biochemical parameters was carried out using blood serum and liver homogenate. During the experiment, the normalizing effect of the lopuch extract was established, manifested in a reliable decrease in the activity of the enzymes alaninaminotransferase, aspartataminotransferase and alkaline phosphatase, under conditions of toxic liver damage by tetrachloromethane. The use of lopuch extract equally with Karsil caused a significant increase in the content of total protein and blood albumin, which is accompanied by normalization of protein metabolism in the conditions of the pathology model. A normalizing effect was established in relation to lipid metabolism, which was accompanied by a decrease in the level of low density lipoproteins, very low density lipoproteins, as well as a hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effect in experimental pathology in rats with the introduction of lopuch extract. In the liver, a reliable decrease in the level of triglycerids and an increase in glycogen were noted. The hepatoprotective activity of the extract of

aniseed lofant leaf was proven, comparable to the pharmacological action of the comparison drug Karsil, used as a reference agent.

Keywords: biochemical parameters, hepatoprotective effect, carbon tetrachloride intoxication, lofant leaves.

Введение

По данным ВОЗ, хронические заболевания печени находятся на одном из важнейших мест среди социально значимых патологий и являются причиной возникновения ранней инвалидизации, потери трудоспособности и смертности среди молодого населения [1]. Одной из основных причин возникновения патологий является стимуляция печени большими дозами ксенобиотиков: промышленных отходов, лекарственных препаратов, наркотиков, алкоголя, а также воздействия вирусов. Некоторые химические вещества, включая токсичные вещества окружающей среды и клинически полезные лекарства, вызывают серьезное повреждение клеток различных органов нашего тела за счет активации метаболизма высокореактивных веществ [2; 3].

В свете этих данных становится очевидной необходимость поиска биологически активных соединений, обладающих гепатозащитной активностью.

В качестве объекта исследования использовали экстракт листьев лофанта анисового, в состав которого входят флавоноидные и тритерпеновые соединения, аминокислоты и дубильные вещества, эфирные масла, действие которых проявлялось различной биологической активностью.

В ходе исследования методом тонкослойной хроматографии было подтверждено присутствие в экстракте лофанта анисового ряда биологически активных соединений. К ним относятся лютеолин, рутин, кверцетин, кофеиновая кислота, олеоноловая кислота, орнитин, треонин, глутаминовая кислота, серин и аргинин [4; 5].

Четыреххлористый углерод является мощным гепатотоксическим, нефротоксичным и прооксидантным средством, которое в последние годы широко используется для индуцирования гепатопатии у экспериментальных животных и для создания фиброза/цирроза печени и повреждения печени, модели химического гепатита.

Механизм повреждения CCl_4 в тканях объясняется окислительным повреждением, вызванным перекисным окислением липидов, которое начинается после превращения CCl_4 в свободные радикалы высокотоксичных трихлорметильных радикалов ($\bullet CCl_3$) и трихлорметилпероксильных радикалов ($\bullet CCl_3O_2$).

Указанные токсичные свободные радикалы вызывают цепную реакцию и перекисное окисление липидов в мембраноподобных структурах, богатых фосфолипидами, таких как митохондрии и эндоплазматический ретикулум. CCl_4 -индуцированное перекисное окисление липидов является причиной окислительного стресса в организме [6].

Целью исследования являлось изучение влияния гепатозащитной активности экстракта листьев лофанта анисового на ряд метаболических показателей сыворотки крови и печени, а также уровень некоторых индикаторных ферментов целостного состояния печени при его токсическом поражении CCl_4 .

Научной новизной эксперимента является выявление гепатозащитного действия экстракта листьев лофанта анисового при токсическом поражении печени крыс.

Материалы и методы исследования

Гепатозащитное действие экстракта листьев лофанта анисового в условиях экспериментального тетрахлорметанового поражения печени осуществлялось на 24 белых крысах-самках линии Wistar с массой животных 180-200 г, находившихся на стандартном рационе питания вивария ПМФИ. Исходным материалом биохимического исследования являлись сыворотка крови и гомогенат печени. Исследовано влияние экстракта на состояние белкового, липидного, углеводного, пигментного обменов и активность ряда печеночных ферментов (табл. 1 и 2).

В сыворотке крови с использованием стандартных наборов реактивов определяли активность или содержание аланинаминотрансферазы (АлАт), аспаратаминотрансферазы (АсАт) колориметрическим методом; щелочной фосфатазы (ЩФ) – по гидролизу бета-глицерофосфата; общего билирубина – колориметрическим диазометодом; общего белка – по методу Лоури; альбуминов – колориметрическим методом; белковых фракций – турбидиметрическим методом; триглицеридов (ТРГ) – колориметрическим методом; холестерина – по методу Илька; липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) и липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП) – по методу Бурштейна и Самая [7, с. 371-382]. В гомогенате печени исследовали содержание триглицеридов (колориметрическим методом) и гликогена (колориметрическим методом).

Животные распределялись по группам – по 6 особей в каждой. Группа 1 состояла из интактных животных. В группе 2 (контрольные животные) получали перорально 50%-ный раствор CCl_4 в вазелиновом масле в дозе 0,15 мл/100 г массы тела животного трехкратно, через день [8].

Опытные животные (группа 3) получали перорально суспензию – измельченный порошок экстракта листьев лофанта анисового (доза 100 мг/кг в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия в течение 14 дней). Последние пять дней через день вводили перорально 50%-ный раствор CCl_4 в вазелиновом масле (доза 0,15 мл/100 г массы тела животного), за 1 час до введения суспензии экстракта листьев лофанта анисового.

Группа сравнения (группа 4) – опытные животные, получавшие перорально суспензию, приготовленную путем измельчения таблеток препарата Карсил в дозе 100 мг/кг

в 1 мл изотонического раствора NaCl в течение 14 дней. Введение карсила и CCl₄ проводилось так же, как и в группе 3 [9, с. 397-398].

Согласно Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 ЕЕС с целью проведения эвтаназии (решение этического комитета о проведении экспериментального исследования, протокол № 3 от 05.02.2024 г.) на 15-й день у животных осуществлялся забор биологического материала: кровь и ткань печени. Наркоз животных проводился хлоралгидратом в дозе 350 мг/кг массы тела.

Для каждой группы были рассчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m), которые, наряду с количеством наблюдений (n), представлены в таблицах. Сравнение между группами проводилось с использованием параметрических или непараметрических методов, выбор которых зависел от типа распределения данных. В качестве параметрического критерия применялся t-тест Стьюдента, а в качестве непараметрического - U-критерий Манна-Уитни. Статистический анализ данных осуществлялся с помощью программного пакета Stat Plus 2009.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе эксперимента распределение изучаемых данных имело нормальный характер во всех группах. Проверка соответствия анализируемых данных нормальному распределению осуществлялась с помощью программы Stat Plus. Для оценки достоверности результатов исследования использовался параметрический метод с применением t-критерия Стьюдента. Уровень статистической значимости считался достоверным при значении $p < 0,001-0,05$.

Результаты исследований приведены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Изучение влияния экстракта листьев лофанта анисового на содержание биохимических показателей в сыворотке крови крыс при экспериментальном поражении печени, вызванном тетрахлолметаном

ПОКАЗАТЕЛИ	ГРУППЫ ЖИВОТНЫХ			
	Группа 1 (интактные животные) (n=6)	Группа 2 контрольная (модель токсического гепатита) (n=6)	Группа 3 опытная (токсический гепатит + экстракт лофанта) (n=6)	Группа 4 сравнения (токсический гепатит + препарат Карсил) (n=6)
АлАТ, Е/л	56,9±1,51	315,9±26,6***	206,8±12,4###Δ	166,9±13,7##
АсАТ, Е/л	302,0±21,1	514,6±37,3***	304,5±40,4#	298,5±37,5#
ЩФ, Е/л	299,8±30,49	523,8±33,5**	398,2±31,2#	375,7±29,0#
Общий белок, г/л	72,8±1,23	48,4±2,7**	64,3±1,8#Δ	74,6±1,4#

Альбумины, г/л	33,8±0,77	12,3±2,50**	34,9±0,85 ###	36,4±0,67###
Глобулины, г/л	39,9±1,64	36,1±6,68	34,3±1,04Δ	38,20±0,73
Общий билирубин, мкмоль/л	9,6±1,68	21,7±1,63****	14,2±1,68#Δ	11,5±1,22###
Холестерин, ммоль/л	1,7±0,14	2,9±0,14****	1,97±0,16##	1,79±0,15##
Триглицериды сыворотки крови, ммоль/л	0,83±0,042	2,83±0,224****	1,72±0,255#	1,49±0,115##
ЛПНП и ЛПОНП, г/л	0,99±0,06	3,4±0,18**	2,53±0,22#	2,56±0,18#

Примечание: ** – P<0,01; *** – P <0,001 – относительно интактных животных; # – P<0,05; ## – P<0,01; ### – P <0,001 – экстракт относительно контрольных животных с моделью токсического гепатита; Δ – P<0,05; ΔΔ – P<0,01; ΔΔΔ – P <0,001 – относительно группы сравнения с препаратом Карсил; n – количество животных в группе.

В условиях токсического поражения печени тетрахлорметаном в контрольной группе животных отмечался статистически значимый рост активности АлАТ - на 445,6% по сравнению с интактными. Применение в этих же условиях экстракта лофанта обусловило, по сравнению с контролем, статистически значимое снижение активности этого фермента на 34,5%. При действии препарата сравнения Карсил наблюдалось более выраженное снижение активности АлАТ, на 47,2% по сравнению с контролем, и превосходило влияние экстракта лофанта на 23,5%. В условиях модели патологии в группе контрольных животных наблюдалось весомое усиление активности АсАТ - на 70,4% по сравнению с интактными.

Введение опытной группе, получавшей экстракт лофанта анисового, обусловило статистически значимое снижение активности АсАт - на 40,6% по сравнению с контролем. Прием препарата Карсил у опытной группы сравнения вызвал значительное снижение активности АсАт - на 42,1% по сравнению с группой контрольных животных. Следует отметить, что влияние экстракта лофанта анисового было сопоставимо с действием препарата сравнения Карсил на активность АсАт в сыворотке крови.

В группе 2 прослеживалось увеличение активности ЩФ в сыворотке крови на 74,7%, по сравнению с группой интактных животных. Под действием экстракта лофанта в условиях патологии выявлено достоверное, по сравнению с контролем, уменьшение активности фермента на 24,0%. Применение Карсила в условиях модели токсического гепатита привело к снижению активности ЩФ на 28,4% по сравнению со 2-й группой.

В условиях опыта достоверного различия снижения активности ЩФ под влиянием экстракта лофанта анисового и препарата Карсил не наблюдалось.

Таким образом, было установлено нормализующее влияние экстракта лофанта на активность ферментов АлАТ, АсАТ и ЩФ в условиях токсического поражения печени СС14.

Токсическое поражение печени в группе 2 проявлялось в снижении уровня белка в сыворотке крови на 33,0% по сравнению с интактными крысами. В условиях

экспериментальной модели патологии печени под влиянием экстракта лофанта у опытных животных (группа 3) было выявлено значительное увеличение в сыворотке крови общего белка - на 41,0% по сравнению с группой 2. Аналогичные изменения этого показателя установлены в группе 4: содержание общего белка повысилось на 51,1% по отношению к контролю и превысило действие лофанта на 21,6%.

В условиях модели патологии печени у животных 2-й группы имело место снижение альбуминов в сыворотке крови на 64,0% по сравнению с интактными животными. Экстракт лофанта в опытной группе животных 3 и препарат Карсил, примененный крысам группы 4, обусловили значительное увеличение содержания альбуминов в крови, соответственно на 92,2% и 95,3% по сравнению с контролем, и достигло уровня нормы.

Поражение печени тетрахлорметаном не вызвало изменений в содержании глобулинов сыворотки крови как в контрольной, так и в опытных группах животных.

Таким образом, экстракт лофанта, как и Карсил, обусловили нормализацию белкового обмена в условиях модели токсического гепатита.

В контроле уровень общего билирубина статистически значимо возрос на 126,0% по отношению к интактной группе животных. Введение экстракта лофанта повлияло на содержание общего билирубина, вызвав его уменьшение на 34,6% по сравнению со 2-й группой. Существенная выраженность в действии относительно билирубина наблюдалась при приеме и официального препарата – Карсила, при этом содержание общего билирубина уменьшилось на 47,1% по сравнению со 2-й группой. Снижение уровня билирубина в 4-й группе превышало этот же показатель на 23,4% по сравнению с 3-й группой.

Тетрахлорметановое поражение печени вызвало повышение холестерина в сыворотке крови на 70,6% у контрольных животных по отношению к норме (группа 1).

На фоне CCl_4 гепатоза применение экстракта лофанта обусловило достоверное уменьшение уровня холестерина на 32,1% по сравнению со 2-й группой. Более выраженное фармакологическое действие вызвал Карсил: уровень холестерина снизился на 39,0% по сравнению с контролем.

У животных с экспериментальной патологией печени отмечалось выраженное увеличение уровня триглицеридов - на 240,9% по отношению к норме (группа 1). Приемы экстракта лофанта и официального препарата Карсила на фоне моделирования токсического гепатита сопровождались снижением уровня ТРГ соответственно на 40,4% и 47,4% по сравнению со 2-й группой.

Токсическое поражение печени сопровождалось увеличением уровня ЛПНП ЛПОНП в сыворотке крови контрольных крыс на 243,4% по сравнению с интактными. При введении опытному животному экстракта лофанта или Карсила наблюдалось снижение ЛПНП ЛПОНП

соответственно на 25,6% и 24,2% по отношению к данным контрольной группы. Действие экстракта лофанта не отличалось от влияния Карсила на показатели ЛПНП ЛПОНП в сыворотке крови.

Из вышеизложенного следует вывод о том, что введение экстракта лофанта вызывало нормализацию обмена липидов, что подтверждалось снижением уровня общих липидов, ЛПНП ЛПОНП, а также гипохолестеринемическое и гипотриглицеридемическое влияние при модельной патологии печени у крыс.

Таблица 2

Изучение влияния экстракта листьев лофанта анисового на содержание триглицеридов и гликогена в гомогенате печени крыс в условиях экспериментального поражения печени, вызванного тетрахлорметаном

ПОКАЗАТЕЛИ	ГРУППЫ ЖИВОТНЫХ			
	Группа 1 (интактные животные) (n=6)	Группа 2 контрольная (модель токсического гепатита) (n=6)	Группа 3 опытная (токсический гепатит + экстракт лофанта) (n=6)	Группа 4 сравнения (токсический гепатит + препарат Карсил) (n=6)
Триглицериды, мкмоль/г	20,1±1,39	84,5±5,18***	54,40±3,13##ΔΔ	43,20±3,65###
Гликоген, г/кг	6,25±0,37	3,75±0,22**	4,97±0,24#	5,19±0,25#

Примечание: ** – P<0,01; *** – P <0,001 – относительно интактных животных; # – P<0,05; ## – P<0,01; ### – P <0,001 – экстракт относительно контрольных животных с моделью токсического гепатита; ΔΔ – P<0,01 – относительно группы сравнения с препаратом Карсил; n – количество животных в группе.

У 2-й группы животных гипертриглицеридемия подтверждалась увеличением содержания триглицеридов в гомогенате печени: наблюдалось увеличение ТРГ на 320,4% по сравнению с нормой. Прием экстракта лофанта или Карсила в условиях модели токсического гепатоза обусловил статистически значимое снижение ТРГ соответственно на 36,8% и 48,3%. Под влиянием Карсила наблюдалось более выраженное уменьшение ТРГ в гомогенате печени - на 25,9% по сравнению с группой, получавшей экстракт.

У животных с гепатозом (группа 2) имело место достоверное снижение содержания гликогена в печени на 40,0% по сравнению с интактной группой. Результаты исследования говорят о проявлении нарушения обмена углеводов при токсическом поражении печени тетрахлорметаном. В опытных группах животных (группы 3 и 4) наблюдалось увеличение содержания гликогена печени соответственно на 32,5% и 38,4% по сравнению с моделью патологии (группа 2).

Заключение. Введение экстракта лофанта способствовало восстановлению биохимических показателей у экспериментальных животных, что сопровождалось статистически значимым относительно второй группы уменьшением активности некоторых индикаторных ферментов – АлАТ, АсАТ, ЩФ, содержания общего билирубина, холестерина, ТРГ, ЛПНП ЛПОНП, ТРГ в печени, повышением содержания общего белка в крови и гликогена в гомогенате печени.

На основании полученных результатов установлена сопоставимость гепатозащитной активности экстракта лофанта с официальным гепатопротекторным препаратом Карсил по активности АсАТ, ЩФ, уровням холестерина, ЛПНП и ЛПОНП, а также гликогена в печени, что позволит расширить сведения о его спектре биологической активности.

Список литературы

1. Titova S.A., Kruglova M.P. New trends in the etiology of liver diseases // European journal of natural history. 2023. № 2. P. 42-47.
2. Chalasani N., Younossi Z., Lavine J.E., Charlton M., Cusi K., Rinella M., Harrison S., Brunt E., Sanyal A.: The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases // Hepatology. 2018. № 67 (1). P. 328-357. DOI: 10.1002/hep.29367.
3. Петрухина Д.А., Плетнева И.В., Сысуев Б.Б. Современные лекарственные средства (ассортимент) и тенденции в совершенствовании лекарственных форм гепатопротекторных средств (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. № 10 (3). С. 38-46.
4. Великородов А.В., Ковалев В.Б., Тырков А.Г., Дегтярев О.В. Изучение химического состава и противогрибковой активности эфирного масла *Lophanthus anisatum* Benth // Химия растительного сырья. 2010. № 2. С. 143-146.
5. Ownagh A., Hasani A., Mardani K. Antifungal effects of Thyme, Agastache and Satureja essential oils on *Aspergillus fumigates*, *Aspergillus flavus*, and *Fusarium solani* // Vet Res Forum. 2010. № 1 (2). P. 99-105.
6. Леонов В.В., Павлова О.Н., Гуленко О.Н., Варфоломеева Л.Г., Девяткин А.А., Саидов С.С. Гепатозащитное действие растительных антиоксидантов при тетрахлорметан-индуцированном оксидативном стрессе // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2023. № 3. Публикация 3-1. DOI: 10.24412/2075-4094- 2023-3-3-1.
7. Камышников В.С. Методы клинических лабораторных исследований. М.: МЕДпресс Информ, 2013. 736 с.

8. Белостоцкий Н.И., Варванина Г.Г., Ткаченко Е.В., Хомерики С.Г. Влияние силимарина на повреждения печени, вызванные четыреххлористым углеродом // РМЖ. 2015. № 13. С. 763-765.
9. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2019. 1216 с.