

Влияние комплексного растительного средства «норбу-дун-тан» на восстановительные процессы в печени белых крыс при алкогольном гепатите

ДАШИНАМЖИЛОВ Ж.Б.

к.м.н., с.н.с. лаборатории экспериментальной фармакологии,
Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ

Экспериментально показано гепатозащитное и антиоксидантное действие комплексного фитосредства «норбу-дун-тан» при гепатите, вызванном этанолом. Выявлено, что курсовое введение отвара «норбу-дун-тан» ингибирует процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), стимулирует желчеобразовательную и желчевыделительную функции печени, способствует активации внутриклеточных регенераторных процессов и нормализует морфофункциональное состояние печени.

Введение

Действие алкоголя в составе вина на человека известно с глубокой древности. Спирт легко производится и гораздо более доступен, чем многие другие вещества, которые влияют на настроение, восприятие действительности или поведение, используется в увеселительных и обрядовых целях.

Однако, как известно, длительное употребление или большие дозы алкоголя оказывают разрушительное действие на все органы и системы человеческого организма [3, 10]. Алкогольное поражение печени является важнейшим последствием патологического действия алкогольной интоксикации. У лиц, злоупотребляющих алкоголем, жировая дистрофия, алкогольный гепатит, фиброз и цирроз печени являются наиболее частыми формами повреждения печени. В связи с этим актуальными представляются поиск и создание детоксицирующих фитопрепаратов, а также средств, стимулирующих восстановительные процессы в печени.

В связи с этим нами получено многокомпонентное фитосредство из корней девясила высокого (*Inula helenium* L.), софоры желтоватой (*Sofora flavescens* Ait), кровохлебки лекарственной (*Sanguisorba officinalis* L. (*Sglanulosa* Kom.), имбиря лекарственного (*Zingiber officinale* Roscoe), древесины бузины сибирской (*Sambucus sibirica* Nakai L.), плодов яблони ягодной (*Mallus baccata* (L) Borkh.) и боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.). Основанием для исследования данного средства послужили рекомендации тибетской медицины о выраженной эффективности «норбу-дун-тан» при заболеваниях печени [2].

Задачей настоящего исследования было определение гепатозащитного и желчегонного действия фитосредства «норбу-дун-тан» при этаноловом повреждении печени у крыс.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на белых крысах обоего пола с исходной массой 140–160 г. Алкогольный гепатит вызывали у животных введением в желудок 40%-го этилового спирта по 0,7 мл на 100 г массы животных один раз в сутки в течение 7 дней [3, 7]. Животным 1-й опытной группы внутривентрикулярно вводили лекарственный сбор «норбу-дун-тан» в виде отвара. Отвар готовили по ГФ XI [1], исходя из соотношения сырья: вода — 1:10, и вводили животным в желудок в объеме 1 мл на 100 г массы тела 1 раз в сутки на протяжении 21 дня. Второй опытной

группе животных по аналогичной схеме вводили препарат сравнения — водный раствор сиропа холосаса в объеме 0,1 мл на 100 г массы тела животного (доза, проявляющая оптимальный фармакотерапевтический эффект, установленный опытным путем). Крысам контрольной группы по аналогичной схеме вводили дистиллированную воду в эквивалентном количестве. Интервалы между введениями этанола, лекарственных средств и дистиллированной воды соответствовал 6 ч. О фармакотерапевтической эффективности фитосбора судили по активности ферментов: аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспаратаминотрансферазы (АсАТ), которые определяли по Райтману и Френкелю, по содержанию холестерина методом Илька, активности щелочной фосфатазы — по Боданскому, показателю тимоловой пробы — по Хуэрго и Поппер [6]. Интенсивность ПОЛ оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) в гомогенате печени [13]. Желчь для исследования получали в условиях острых опытов по методике Н.П. Скакуна и А.Н. Олейник [14]. Оценку желчеобразовательной и желчевыделительной функции проводили по скорости секреции и общему количеству выделенной желчи, концентрации желчных кислот [5], а концентрацию холестерина в желчи определяли по методу С.М. Дрогвоз [4], билирубина — по методу Ван ден Берга в модификации Н.П. Скакуна [13].

Для патоморфологических исследований кусочки печени фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, смеси Карнуа с последующей заливкой их в парафин. Готовили срезы толщиной 5–6 мкм на санном микротоме. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином по Ван Гизону [9]. Кроме того, в работе использовали гистоэнзимологические методы. В частности, в замороженных срезах печени крыс выявляли содержание гликогена ШИК — реакцией, нейтрального жира — окраской Суданом черным «Б» по Беренбауму, активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) — по Нахласу [11].

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием коэффициента Молденгаура [8].

Результаты и их обсуждение

Введение *per os* этилового спирта белым крысам вызывает на третьи сутки наблюдения ускорение ПОЛ в биомембранах. Содержание МДА в гомогенате печени белых крыс в контроле увеличивается на 32% и остается в последующий срок (7-е сутки) наблюдения на высоком уровне (табл. 1). С интенсификацией ПОЛ связаны проявления синдрома цитолиза. Так, уже на 3-и сутки эксперимента на фоне введения этанола в сыворотке крови повышаются

уровни активности АлАТ и АсАТ на 20 и 26% соответственно. Одновременно с этим отмечаются признаки холестаза — содержание холестерина возрастает на 22%, активность щелочной фосфатазы повышается на 11% (табл. 1). В последующий срок наблюдения (7-е сутки) изменения биохимических показателей в сыворотке крови крыс также свидетельствовали о наличии признаков синдрома холестаза. Повышение показателя тимоловой пробы на 36% на 3-и сутки наблюдения указывает на развитие диспротеинемии. Развитие цитолиза на фоне усиления ПОЛ сопровождается угнетением внешнесекреторной функции печени. Так, на 7-е сутки опыта скорость секреции желчи снижалась на 15%, концентрация желчных кислот в желчи — на 36%, а содержание билирубина снижалось на 33%, концентрация холестерина — на 22%.

Применение фитосредства «норбу-дун-тан» с лечебно-профилактической целью в опыте значительно снижало токсическое действие этанола. Уже на 3-и сутки эксперимента наблюдали торможение процессов ПОЛ: содержание МДА в гомогенате печени животных, получавших «норбу-дун-тан», было достоверно ниже, чем у крыс в контроле. Наряду с этим отмечали снижение уровней активности АлАТ, АсАТ. Наиболее выраженное фармакотерапевтическое влияние «норбу-дун-тан» в использованной дозе оказывал на проявления холестатического синдрома и явлений диспротеинемии. Кроме того, наблюдали снижение активности щелочной фосфатазы на 11%, уменьшение концентрации холестерина на 29%, а показателей тимоловой пробы — на 35% по сравнению с соответствующими показателями в контроле.

В последующий срок наблюдения (7-е сутки) изменения биохимических показателей в опыте свидетельствовали о более благоприятной динамике инволюции признаков холестаза у животных, получавших «норбу-дун-тан», по сравнению с динамикой при использовании препарата сравнения — холосаса в другой группе крыс. При курсовом применении фитосредства «норбу-дун-тан» на 7-е сутки наблюдения скорость секреции желчи у животных во все часы наблюдения была выше, чем в контроле. Общее количество желчи превышало данные контроля на 18%, тогда как при назначении холосаса оно оставалось на уровне показателей животных у контрольной группы. Также на фоне введения «норбу-дун-тан» наблюдали повышение концентрации желчных кислот в желчи на 43%, секреции билирубина и холестерина с желчью в опытных группах животных — на 36 и 25% соответственно (табл. 2).

При патоморфологическом исследовании печени лабораторных животных на 3-и сутки эксперимента установлено, что для печени крыс, получавших этанол, были характерны гемодинамические нарушения с диapedезом форменных элементов крови. Выявленная зернистая дистрофия гепатоцитов имела диффузный характер распространения в дольке. На 7-е сутки наблюдения отмечались, наряду с зернистой дистрофией гепатоцитов, микроструктуры дегенеративно-некротических изменений, наблюдалась дезорганизация микроархитектоники органа. Эти расстройства нередко сочетались с жировой дистрофией и снижением активности окислительно-восстановительных

Таблица 1

Влияние «норбу-дун-тана» на биохимические показатели сыворотки крови у белых крыс при повреждении печени этанолом

Показатели	Интактные животные	Этанол — контроль	Этанол+«норбу-дун-тан»	Этанол+Холосас
Третьи сутки				
МДА, н · М/г ткани	2,04±0,11	3,00±0,10	2,57±0,15*	2,90±0,12
АлАТ, мкМ/мл · ч	2,60±0,12	3,21±0,18	2,68±0,12*	2,90±0,15
АсАТ, мкМ/мл · ч	1,40±0,03	1,93±0,08	1,71±0,03*	1,88±0,05
Щелочная фосфатаза, ед.Бод.	5,60±0,90	6,3±0,12	5,63±0,16*	5,78±0,18*
Холестерин, мМ/л	4,81±0,14	6,20±0,42	4,41±0,47*	5,02±0,40*
Тимоловая проба, ед. помутнения	4,00±0,50	6,26±0,69	4,04±0,48*	4,20±0,40*
7-е сутки				
МДА, н · М/г ткани	2,04±0,11	3,22±0,18	2,40±0,30*	3,0±0,09
АлАТ, мкМ/мл · ч	2,60±0,12	4,40±0,16	3,00±0,12*	3,60±0,18*
АсАТ, мкМ/мл · ч	1,40±0,03	2,11±0,05	1,52±0,03*	2,00±0,03
Щелочная фосфатаза, ед.Бод.	5,60±0,90	13,92±1,96	8,17±0,28*	10,7±1,01
Холестерин, мМ/л	4,81±0,14	6,79±0,16	5,11±0,11*	5,9±0,58
Тимоловая проба, ед. помутнения	4,00±0,50	5,15±0,30	4,10±0,25*	4,50±0,80
Примечание. * — различия с контролем достоверны при P<0,05				

Таблица 2

Влияние «норбу-дун-тана» на желчеобразовательную и желчевыделительную функции печени у белых крыс при этаноловом гепатите

Условия опыта	Скорость секреции желчи в течение 4 ч, мг/мин на 100 г массы				Общее количество желчи за 4 ч	Содержание в желчи:		
	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч		Желчных кислот	Билирубина	Холестерина
7-е сутки						мг/100 г массы		
Интактные	6,0±0,5	6,0±0,5	6,1±0,5	5,8±0,3	1476±96	9,27	0,164	0,136
Контроль (этанол)	5,9±0,5	5,4±0,5	5,1±0,3	4,7±0,4	1266±64	5,96	0,109	0,106
Этнол+«норбу-дун-тан»	6,5±0,5	6,8±0,6	6,6±0,5	5,7±0,4	1536±104*	10,43	0,170	0,142

ферментов (ЛДГ и СДГ). Также было отмечено значительное снижение содержания гликогена в клетках печени, и нередкое его отсутствие вокруг центральных долек.

При курсовом введении растительного средства «норбу-дун-тан» крысам с алкогольным повреждением печени на 3-и сутки исследования выявлялись гемодинамические нарушения в виде полнокровия сосудов мелкого и среднего калибров, участки гепатоцитов со слабо выраженной белковой зернистой дистрофией и умеренной внутридольковой инфильтрацией круглоклеточными элементами. К 7-м суткам от начала введения этанола и курсового введения «норбу-дун-тан» в печени подопытных крыс отмечалось большое количество гипертрофированных гепатоцитов с увеличенными темно-окрашенными ядрами, что свидетельствовало о полиплоидии. Основная масса гепатоцитов по содержанию гранул гликогена была близка картине органа у интактных животных. Также у животных этой группы выявлялись лишь небольшие изменения активности окислительно-восстановительных ферментов ЛДГ и СДГ и менее выраженная жировая инфильтрация печени по сравнению с контрольной группой животных, получавших только этанол, что свидетельствовало об ускоренном восстановлении нормального морфологического состояния печени.

Таким образом, многокомпонентное фитосредство «норбу-дун-тан» при экспериментальном гепатите оказывает выраженное антиоксидантное, гепатозащитное и желчегонное действие благодаря содержанию в нем биологически активных веществ, которые в комплексе предотвращают проявления цитолиза и холестаза.

Заключение

Повреждение печени крыс этанолом сопровождается активацией процессов ПОЛ, развитием синдромов цитолиза и холестаза.

Курсовое введение животным с индуцированным алкогольным гепатитом комплексного растительного средства «норбу-дун-тан» предотвращает вызванный этанолом усиление процессов ПОЛ, стимулирует желчеобразовательную и желчевыделительную функции печени, способствуют активации внутриклеточных регенераторных процессов и нормализации нарушенного морфофункционального состояния печени.

Выводы

1. Введение этанола белым крысам сопровождается активацией свободнорадикального окисления липидов с развитием синдромов цитолиза и холестаза, угнетением антиоксидантной и желчеобразовательной функции печени у лабораторных животных.

2. Применение комплексного фитосредства «норбу-дун-тан» в экспериментально-терапевтической дозе

характеризуется благоприятным влиянием на течение экспериментального алкогольного повреждения печени у белых крыс.

3. Лечебно-профилактическое влияние «норбу-дун-тан» при алкогольном повреждении печени связано с его мембраностабилизирующей, противовоспалительной, дезинтоксикационной и желчегонной активностью.

4. Полученные результаты проведенных экспериментальных исследований служат основанием для применения фитосредства «норбу-дун-тан» в комплексной терапии и профилактике повреждений печени в клинической практике.

Список литературы

1. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. МЗ СССР. Изд-е 11, доп. — М.: Медицина, 1990. — 400 с.
2. Дашиев Д.Б. Чшуд-ши: Канон тибетской медицины. — М.: Восточная литература РАН, 2001. — 766 с.
3. Дашинамжилов Ж.Б. Экспериментальная фармакотерапия полифитохолом этанолового, тетрациклинового и комбинированного повреждений печени: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — Улан-Удэ, 1997. — 23 с.
4. Дроговоз С.М. Нарушение интенсивности желчеотделения и химического состава желчи при дистрофии печени, вызванной четыреххлористым углеродом // Вопросы медицинской химии. — 1971. — Вып. 4. — С. 397—400.
5. Карбач Я.И. Количественное определение желчных кислот в желчи и крови с применением хроматографического метода // Биохимия. — 1961. — Т. 26, №2. — С. 305—309.
6. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической биохимии. — Минск, 1982. — 230 с.
7. Мансурова И.Д., Олимова С.О. Активность микросомальной этанолаксилирующей системы при алкогольной интоксикации // Экспериментальная гепатология. — Рига, 1985. — С. 41—42.
8. Монцевичюте-Эрингене Е.В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1964. — №4. — С. 71—78.
9. Меркулов Г.А. Курс патологической техники. — М., 1969. — 423 с.
10. Николаев С.М. Растительные лекарственные препараты при повреждениях гепатобилиарной системы. — Новосибирск, 1992. — 153 с.
11. Пирс Э. Гистохимия. Теоретическая и прикладная / Пер. с англ. — М., 1962. — 962 с.
12. Скакун Н.П. Нейрогуморальный механизм желчегонного действия инсулина // Проблемы эндокринологии. — 1956. — №6. — С. 75—78.
13. Скакун Н.П., Олейник А.Н. Сравнительное действие атропина и метацина на внешнесекреторную функцию печени // Современные методы в биохимии. — 1967. — С. 66—68.
14. Стальная И.Д., Гаришвили Г.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. — 1977. — С. 66—68.

INFLUENCE OF COMPLEX HERBAL DRUG «NOR BU DUN-THANG» ON RESTORATION PROCESSES IN LIVER OF WHITE RATS WITH ALCOHOLIC HEPATITIS

DASHINAMZHILOV ZH.B.

PhD (medicine), senior researcher, laboratory of Experimental Pharmacology of Institute of General and Experimental Biology (IOEB), SB RAS, Ulan-Ude

The hepatoprotective and antioxidant action of the complex vegetable phytomeans «Nor bu dun Thang» is experimentally shown in hepatitis, caused by ethanol. It is revealed, that the course introduction of decoction of «Nor bu dun Thang» inhibites processes of lipid peroxidation, stimulates chologenic and cholagogic functions of liver, contributes to activation of intracellular regenerative processes and normalizes morphofunctional status of the liver.