

Вплив ліофілізату водного екстракту *Bergenia crassifolia* на печінку щурів на фоні її хронічного пошкодження тетрахлорметаном

І.Л.Бензель, І.М.Гаврилюк,
О.Л. Бензель, О.М.Гаврилюк, І.О.Нектегаєв

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького,
кафедра фармакогнозії, кафедра фармакології, кафедра патоморфології
Львів, Україна

Ліофілізат водного екстракту листя бадану товстолистого при одночасному хронічному застосуванні з тетрахлорметаном у щурів зумовлює гепатопротективний ефект: запобігає підвищенню активності АЛТ та АСТ в крові та прогресуванню процесів пошкодження й фіброзу.

Ключові слова: *Bergenia crassifolia*, фіброз печінки, тетрахлоретан.

ВСТУП

Бадан товстолистий (*Bergenia crassifolia*) застосовується в клінічній практиці як в'яжучий, протизапальний, протимікробний, гемостатичний засіб. Вивар та рідкий екстракт кореневища цієї рослини призначають при коліті, ентероколіті, стоматиті, гінгівіті, маткових кровотечах. Лікарські форми, виготовлені з листя, виявляють антибактеріальну, антиоксидантну, церебропротективну, холеретичну, діуретичну активність.

Бадан товстолистий вміщує в своєму складі комплекс біологічно активних речовин, таких як флавоноїди, кумарини, феноглікозиди, полісахариди, вітаміни, органічні кислоти, амінокислоти та ін. [2]. Одним з найважливіших компонентів бадану товстолистого є бергенін, в якого виявлена гепатопротективна активність, та флавоноїди, що мають антиоксидантні властивості [4, 7].

Метою даного дослідження було вивчити здатність ліофілізованого водного екстракту бадану товстолистого (ЛВЕБТ) запобігати хронічному пошкодженню печінки тетрахлорметаном.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

ЛВЕБТ був виготовлений за технологією, описаною раніше [1].

Дослідження виконано на 30 статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 220-280 г, яких утримували у виварії за стандартних умов розміщення, харчування та санітарно-гігієнічних норм. Тварини були розподілені на три групи (по 10 щурів у кожній): 1 група тварин — контрольна; 2 група — тварини, які отримували CCl_4 ; 3 група — тварини, яким вводили CCl_4 та ЛВЕБТ.

Хронічне токсичне пошкодження печінки викликали шляхом інтрагастрального введення тетрахлорметану у вигляді 20% олійного розчину в дозі 0,2 мл/100 г маси тіла два рази на тиждень упродовж 30 днів. ЛВЕБТ вводили інтрагастрально в дозі 80 мг/кг маси тіла у вигляді суспензії щодня впродовж періоду експерименту. Контрольній групі тварин щодня впродовж 30 днів інтрагастрально вводили еквівалентний об'єм води. Біологічний матеріал (кров та печінку) забирали на третю добу після останнього введення тетрахлорметану шляхом декапітації на фоні ефірного наркозу.

З метою оцінки функціонального стану печінки визначали вміст аспартатамінотрансферази (АСТ), аланінамінотрансферази (АЛТ), лужної фосфатази (ЛФ) та γ -глутамілтранспептидази (ГГТП) у сироватці крові тварин за допомогою біохімічного аналізатора BTS-370 (Іспанія).

Для гістологічного дослідження права частка печінки кожної тварини фіксувалась у забуференому 10% розчині формаліну протягом 24 год. Для уникнення об'єктивних помилок досліджувались щонайменше 10 різних ділянок тканини при кожному забарвленні. Аналіз про-

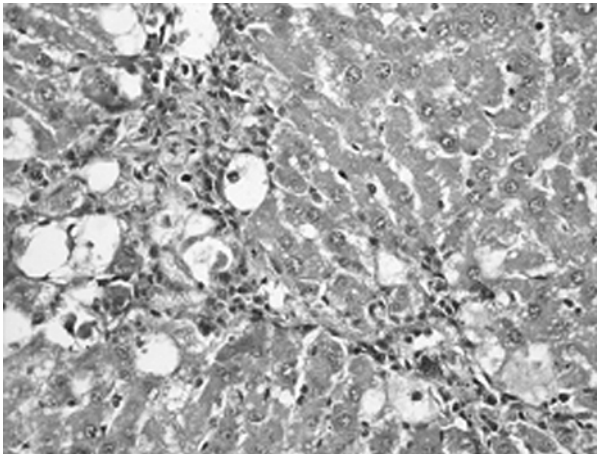


Рис. 1. Дифузний дрібновакуольний стеатоз, балонні зміни, апоптоз перисептальних гепатоцитів, товста сполучнотканинна септа (пошкодження та фіброз значного ступеня вираженості). Тварина з 2 групи (хронічне введення CCl_4). Забарвлення гематоксилін-еозином, збільшення *600.

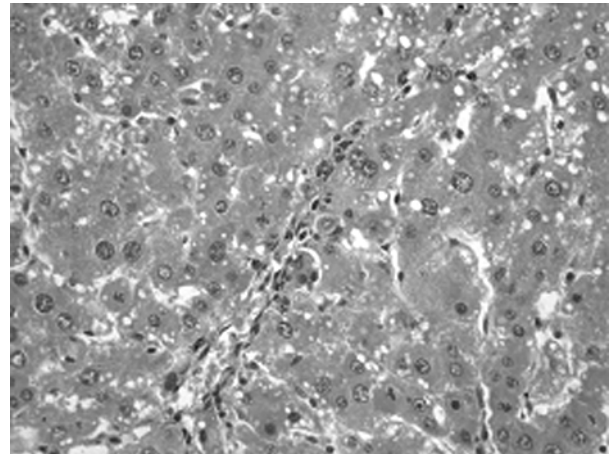


Рис. 2. Дифузний дрібновакуольний стеатоз, тонка сполучнотканинна септа (пошкодження та фіброз незначного ступеня вираженості). Тварина з 3 групи (хронічне введення CCl_4 +ЛВЕБТ). Забарвлення гематоксилін-еозином, збільшення *600.

водив один досвідчений патоморфолог, який не був попередньо ознайомлений з результатами лабораторних досліджень. У кожному випадку використовували забарвлення гематоксилін-еозином (ГЕ) та трихромом Массона (ТМ). На зрізах, забарвлених ГЕ, досліджували основні патогістологічні зміни, визначали ступінь вираженості стеатозу та гідропічної дистрофії (балонні зміни). Колагенові волокна (ступінь фіброзу) оцінювались при забарвленні ТМ.

Для порівняння виявлених змін основні патологічні процеси описувались за допомогою напівкількісних шкал. Ступінь вираженості пошкодження: 0 – мікровакуольний стеатоз у перивенулярних ділянках (пошкодження відсутнє); 1 – дрібновакуольний стеатоз у перивенулярних зонах та поодинокі гепатоцити з ознаками балонних змін (незначне пошкодження); 2 – дрібновакуольний стеатоз у перивенулярній та проміжній зонах, балонні зміни перисептальних гепатоцитів (помірне пошкодження); 3 – дифузний мікровакуольний стеатоз, балонні зміни, коагуляційний некроз та апоптоз перисептальних гепатоцитів (значне пошкодження). Ступінь фіброзу: 0 – звичайні портальні тракти (ПТ) (фіброз відсутній); 1 – склероз ПТ та поодинокі короткі сполучнотканинні септи (незначний фіброз); 2 – множинні довгі сполучнотканинні септи (porto-центральні) (помірний фіброз); 3 – цироз (нодулярність) (значний фіброз).

Експерименти на тваринах були проведені при дотриманні принципів етики в біомедичних дослідженнях, відповідних державних та міжнародних законів і рекомендацій. Процеду-

ра дослідження була затверджена локальною комісією з питань етики.

Дані представлені у вигляді $M \pm SD$. Для множинного порівняння між групами використовували одномірний аналіз з подальшим застосуванням теста Ньюмена-Кейлса. Зміни з $P < 0,05$ вважались статистично достовірними.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Біохімічні та гістологічні зміни в трьох групах тварин наведені в табл. 1.

Хронічне застосування CCl_4 призводило до підвищення активності АСТ, АЛТ та ЛФ. Водночас рівень альбуміну, білірубіну, холестерину та ГГТП в плазмі крові не змінювався. У більшості тварин було виявлено значний ступінь вираженості пошкодження та фіброзу: дифузний та фокальний мікровакуольний стеатоз, множинні вогнища некрозу та апоптозу, porto-портальні та porto-центральні септи з формуванням вузлів – циротична трансформація (рис 1). Зміна частоти виявлених морфологічних проявів пошкодження та фіброзу була статистично достовірною.

У групі тварин, яким одночасно вводили CCl_4 +ЛВЕБТ спостерігалась тенденція до нормалізації активності ферментів. У порівнянні з тваринами, які отримували CCl_4 , у щурів, яким вводили CCl_4 +ЛВЕБТ, було виявлено нижчий рівень АСТ та АЛТ. При цьому активність ЛФ суттєво не відрізнялась в обох групах тварин. У трьох групах тварин не спостерігали статистично достовірних змін вмісту альбумі-

ТАБЛИЦЯ 1

Біологічні та гістологічні показники у щурів

	1 група, контроль	2 група, CCl ₄	3 група, CCl ₄ +ЛВЕБТ
Альбумін, г/л	23,81±1,47	23,51±1,31	23,85±1,38
Білірубін, мкмоль/л	2,93±0,55	3,07±0,46	2,74±0,44
Холестерин, ммоль/л	2,09±0,24	2,01±0,41	2,19±0,25
АСТ, од/л	173,01±19,12	389,61±120,22*	275,76±42,01**
АЛТ, од/л	160,07±24,54	329,67±94,87*	224,43±41,22**
ГГТП, од/л	40,53±14,59	43,49±8,95	46,16±11,39
ЛФ, од/л	279,91±38,19	770,38±104,38*	743,16±108,67*
Альтерація (п, %)		*	**
0	8 (80)	-	-
1	2 (20)	2 (20)	8 (80)
2	-	4 (40)	2 (20)
3	-	4 (40)	-
Фіброз (п, %)		*	
0	9 (90)	-	-
1	1 (10)	-	1 (10)
2	-	8 (80)	9 (90)
3	-	2 (20)	-

Примітки: * – $P < 0,05$ у порівнянні з групою контролю; ** – $P < 0,05$ у порівнянні з групою CCl₄.

ну, білірубину, холестерину та ГГТП. У щурів, які отримували CCl₄+ЛВЕБТ, ступінь пошкодження та фіброзу був нижчим. При гістологічному дослідженні у більшості тварин даної групи спостерігався мікровакуольний стеатоз у перивенулярних та проміжних зонах, ознаки загибелі клітин не визначались. Прояви фіброзу включали розростання сполучної тканини у ПТ, невелику кількість коротких порто-портальних септ, асоційованих з нечіткими вузлами (рис. 2). Однак зміни частоти цих проявів були статистично недостовірними.

У нашому дослідженні введення ЛВЕБТ частково запобігало підвищенню активності АЛТ та АСТ в крові, зменшувало пошкодження паренхіми та фіброз, спричинені хронічним застосуванням CCl₄. Гепатопротективний ефект був підтверджений статистично достовірним зменшенням ступеня пошкодження — прояви некрозу та апоптозу були менш вираженими у тварин, лікованих ЛВЕБТ. Ознаки фіброзу були помірного ступеня вираженості, однак відмінності не були статистично достовірними. Отримані нами результати співпадають з даними M.W. Chung [4], який встановив, що бергенін та ацетилбергенін зменшують пошкодження печінки, викликане перев'язуванням жовчної протоки у щурів. У цьому дослідженні бергенін та ацетилбергенін запобігали зростанню активності АСТ та АЛТ, знижували вміст гідрокси-

проліну, зменшували ділянку пошкодження. Механізми, які лежать в основі цих ефектів, остаточно не з'ясовані. За даними Lim et al. [6], гепатопротективні ефекти бергеніну та ацетилбергеніну пов'язані з детоксифікацією, опосередкованою глутатионом, та здатністю цих речовин знижувати активність вільних радикалів. Антифібротична активність ЛВЕБТ може бути спричинена здатністю бергеніну стимулювати синтез простагландинів E1 та E2, які пригнічують ріст зірчастих клітин, що беруть участь в розвитку фіброзу печінки [3].

ВИСНОВКИ

Ліофілізат водного екстракту бадану товстолистого виявляє гепатопротективну дію при його одночасному хронічному застосуванні з тетрахлорметаном у щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Одержання фітосубстанцій із бадану товстолистого та вивчення їх інтерфероніндукуючих властивостей / І.Л. Бензель, М.М. Козловський, Р.Є. Дармограй [та ін.] // Фармацевтичний журнал. — 2009. — №6. — С. 84-89.
2. Лубсандоржиева П.Б. Антиоксидантна активність екстрактів из *Bergenia crassifolia* (L.) Fritch і *Vaccinium vitisidaea* L. in vitro / П.Б. Лубсандоржиева // Химия растительного мира. — 2006. — №4. — С. 45-48.

3. Benyon R. Mechanism of hepatic fibrosis / R.Benyon, A.Christopher, J.P.Michael // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. — 1998. — Vol. 27. — P. 75-78.
4. Effects of Malloti cortex water extract, bergenin, and acetylbergenin on liver fibrosis induced by bile duct ligation in rats / M.W.Chung, S.Sunoo, S.-H.Kim [et al.] // J. Appl.Pharmacol. — 2001. — Vol. 9. — P. 112-118.
5. Goel R.K. Antiulcer ativity of naturally occurring pyranocoumarin and isocoumarins and their effect on prostanoïd synthesis using human colonic mucosa / R.K.Goel, R.N.Maiti, A.Manicckam // Indian J. Exp. Boil. — 1997. — №35 (10). — P. 1080.
6. Lim H.K. Protective and therapeutic effects of MCWE on carbon tetrachloride- and galactosamine-induced hepatotoxiciry in rats / H.K.Lim, H.S.Kim, H.S.Choi [et al.] // J. Appl.Pharmacol. — 1999. — Vol. 7. — P. 35-43.
7. Rastogi S. A comprehensive review on bergenin, a potential hepatoprotective and antioxidative phytoconstituent / S.Rastogi, A.K.Rawat // Herba polonica. — 2008. — Vol. 54. — №2. — P. 67-79.

И.Л.Бензель, И.М.Гаврилюк, О.Л.Бензель, Е.М.Гаврилюк, И.А.Нектегаев. Влияние лиофилизата водного экстракта *Bergenia crassifolia* на печень крыс на фоне ее хронического повреждения тетрахлометаном. Львов, Украина.

Ключевые слова: *Bergenia crassifolia*, фиброз печени, тетрахлоретан.

Лиофилизат водного экстракта *Bergenia crassifolia* при его одновременном хроническом применении с тетрахлометаном у крыс оказывает гепатопротективное действие: предупреждает повышение активности АЛТ и АСТ в крови и прогрессирувание процессов повреждения и фиброза.

I.L.Benzel, I.M.Havrylyuk, O.L.Benzel, O.M.Gavrilyuk, I.O.Nektjegajev. Influence of *Bergenia crassifolia* lyophilized water extract on carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in rats. Lviv, Ukraine.

Key words: *Bergenia crassifolia*, hepatic fibrosis, carbon tetrachloride.

Bergenia crassifolia lyophilized water extract exerts a hepatoprotective effect against chronic CCl₄-induced lesions of liver tissue in rats, which is confirmed by prevention of serum ALT and AST activity elevation and progression of liver cell injury and fibrosis.

Надійшла до редакції 10.09.2011 р.