

ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАСТОЙКИ ТА ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ШОВКОВИЦІ ЧОРНОЇ НА МОДЕЛІ ПАРАЦЕТАМОЛОВОГО ГЕПАТИТУ

©І. І. Герасимець

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

РЕЗЮМЕ. Вивчено стан антиоксидантної системи організму щурів за умов парацетамолового гепатиту та його корекції препаратами з листя шовковиці чорної. Доведено виражені гепатопротекторні, антиоксидантні та мембранопротекторні властивості цих препаратів, а також відновлення процесів жовчовиділення в ураженому парацетамолом організмі тварин після застосування екстракту на настойки з листя шовковиці чорної.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: парацетамоловий гепатит, шовковиця чорна, густий екстракт, настойка, гепатопротекторна дія.

Вступ. За останні 10 років поширеність уражень печінки лікарськими засобами значно збільшилася і на сьогодні зберігається стійка тенденція до їх зростання. В США, Англії та Німеччині збільшується число хворих з гострою печінковою недостатністю лікарського походження, насамперед за рахунок прийому парацетамолу (ацетамінофену). В окремих дослідженнях ці форми за частотою стали перевищувати гостру печінкову недостатність вірусного походження. Наслідки медикаментозних гепатитів з кожним роком стають тяжчими та гострішими [4, 5, 7, 12, 15, 17, 19].

В Україні важливість даної проблеми зумовлена несприятливою екологічною ситуацією, використанням у побуті хімічних речовин, зловживанням алкоголем, поліпрагмазією у медичній практиці та іншими факторами навантаження на центральний орган метаболізму – печінку. Вказані фактори тримають орган у стані підвищеної функціональної активності та призводять до його виснаження. До того ж, складна економічна ситуація в Україні обумовлює необхідність поповнення фармацевтичного ринку недорогими лікарськими засобами, що можливо за рахунок розширення асортименту вітчизняних препаратів. Вищезазначене є обґрунтуванням пошуку нових ефективних препаратів з гепатопротекторною дією [3, 4, 5, 6, 10, 16].

Патогенетично обґрунтованим у фармакотерапії токсичних гепатитів є використання гепатопротекторних лікарських засобів, які б виявляли антиоксидантну дію, коригували порушення метаболічних процесів та підвищували антиоксидантні властивості печінки. Враховуючи тенденцію захворювань печінки до хронізації та труднощі у виборі препаратів при тяжких порушеннях функції органа, адекватну фармакологічну регуляцію патологічного процесу можуть забезпечити препарати, які поряд з вираженим ефектом не виявляли б негативного впливу при тривалому вживанні. Усім цим вимогам відповідають фітопрепарати [1, 4, 5, 6, 8, 14, 18].

Враховуючи вищезазначене, як перспективну сировину для створення вітчизняного лікарського

засобу з гепатопротекторними та антиоксидантними властивостями було вибрано листя шовковиці чорної, яка містить поліфенольні сполуки, флавоноїди, дубильні речовини, органічні кислоти, вітаміни С, Р та інші біологічно активні речовини (БАР), що забезпечують антиоксидантну та гепатопротекторну дію.

Метою даної роботи стало експериментальне обґрунтування гепатопротекторних властивостей настойки та екстракту з листя шовковиці чорної на моделі парацетамолового гепатиту.

Матеріали і методи дослідження. Для проведення експерименту з вивчення гепатопротекторних властивостей БАР з листя шовковиці тварини були поділені на 5 груп: 1 – інтактні тварини; 2 – тварини, отруєні парацетамолом в дозі 1250 мг/кг маси тіла (одноразово інтрагастрально), контрольна патологія (КП); 3 група – щури, яким за 2 години до ураження та щоденно протягом двох днів після ураження парацетамолом вводили 10 % густий екстракт з листя шовковиці (ГЕЛШ) в дозі 150 мг/кг маси тіла; 4 група отримувала настойку листя шовковиці (НЛШ) в дозі 0,2 мл/кг маси тіла тварини; 5 групі тварин після ураження внутрішньовенно вводили препарат корвітин в дозі 42 мг/кг маси тіла.

Дослідження жовчовидільної здатності печінки тварин після корекції екстрактом та настойкою з листя шовковиці проводили на моделі парацетамолового ураження печінки.

Щури були поділені на 5 груп: 1 – інтактні тварини; 2 – тварини, отруєні парацетамолом; 3 – щури, яким вводили 10% ГЕЛШ в дозі 150 мг/кг маси тіла; 4 – отримувала НЛШ в дозі 0,2 мл/кг маси тіла тварини; 5 – вводили препарат алохол в дозі 80 мг/кг маси тіла. Щурам масою 170–200 г перорально вводили гепатотоксин в дозі 1,25 г/кг протягом 2 днів [2, 13]. Досліджувані лікарські субстанції вводили внутрішньошлунково через 1 годину після введення токсичного агента. Густий екстракт, настойку шовковиці і препарат порівняння алохол вводили перорально за такою схемою:

перші два дні паралельно з гепатотоксином, а потім ще один день.

Через 24 години, після останнього введення гепатотоксину (парацетамолу) і досліджуваних препаратів тварин наркотизували 1 % розчином барбамілу в дозі 80 мг/кг [2, 13], проводили операцію та канюлювали жовчну протоку. Секретовану жовч збирали годинними порціями протягом 3-х годин [9].

Враховували об'єм (мл) та швидкість секреції жовчі за кожну годину спостережень у мг/хв/100г протягом 3 годин. Як препарат порівняння брали таблетки алохол виробництва ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (м. Київ), в дозі 80,0 мг/кг маси тварин, що є його ефективною дозою (ED_{50}) [2, 13].

Обробка результатів виконана у відділі системних статистичних досліджень ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені

І. Я. Горбачевського МОЗ України» в програмному пакеті StatsoftSTATISTICA.

Результати й обговорення. Нами встановлено, що на фоні введення парацетамолу в дозі 1250 мг/кг маси тіла у гомогенатах печінки та сироватці крові щурів відбувалась активація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Результати досліджень даних показників у сироватці крові та печінці наведені в таблиці 1.

З таблиці 1 видно, що через 2 дні після ураження щурів парацетамолом вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) у сироватці крові збільшується в 2 рази. Наші дані узгоджуються з результатами досліджень К. А. Посохової та співавт. [11], які свідчать, що внаслідок окислативного стресу, який виникає при введенні в організм парацетамолу, посилюються процеси ліпопероксидації.

Таблиця 1. Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові та печінці щурів, уражених парацетамолом, після введення густого екстракту, настойки з листя шовковиці чорної та корвітину ($M \pm m$; $n=8$), 3-тя доба

Група тварин	ТБК-АП, мкмоль/л сироватка крові	ТБК-АП, мкмоль/кг печінка
ІК	6,00±0,01	46,81±0,17
КП	12,18±0,08*	81,51±0,36*
КП+ГЕЛШ, 150 мг/кг	7,03±0,07**	52,22±0,28**
КП+НЛШ, 0,2 мл/кг	7,75±0,05**	57,59±0,23**
КП+корвітин, 42мг/кг	7,09±0,05***	56,39±0,26**

Примітки: тут і в наступних таблицях: 1.* – вірогідні зміни між інтактними та ураженими тваринами ($p < 0,05$); 2. ** – вірогідні зміни між ураженими та лікованими тваринами ($p < 0,05$).

Досліджуваний екстракт з листя шовковиці викликав достовірне зниження даного показника в сироватці крові уже через 2 доби від початку експерименту і становив 117 %, порівняно з 203 % в уражених щурів, хоча рівня норми в цей період він ще не досяг. Очевидно, це пов'язано з недовготривалим введенням коригуючого чинника і невеликим терміном дослідження медикаментозного гепатиту. Аналогічна тенденція до зниження вмісту ТБК-АП у сироватці крові тварин після парацетамолової інтоксикації спостерігається при введенні в організм препарату порівняння корвітину (118 %, порівняно з 203 % в уражених). Результати досліджень цих показників були практично на одному рівні при використанні обох коригуючих чинників. Застосування настойки з листя шовковиці викликало нормалізацію вмісту ТБК-АП.

На 3 добу розвитку парацетамолового гепатиту у печінці щурів вміст ТБК-АП збільшився у 1,7 рази. Після введення тваринам густого екстракту та настойки з листя шовковиці спостерігалось достовірне його зниження уже на третю добу від початку експерименту. Аналогічна тенденція до зменшення вмісту продуктів ліпопероксидації характерна і після введення в уражений організм корвітину. Як видно з таблиці 2, всі коригуючі

чинники проявили позитивний вплив на процеси ПОЛ, причому застосування досліджуваного екстракту виявилось більш ефективним.

Значна кількість продуктів вільнорадикального окиснення, що нагромаджуються за умов парацетамолового гепатиту, свідчить про деструкцію клітинних мембран гепатоцитів. Це підтверджується підвищенням у сироватці крові активності амінотрансфераз. Зокрема, відмічено зростання активності АлАТ та АсАТ в 2 та 1,4 рази відповідно на 3 добу дослідження відносно інтактного контролю (ІК) (табл. 2).

Використаний нами екстракт з листя шовковиці чорної низив активність амінотрансфераз у сироватці крові. Через 2 доби активність АлАТ знизилась на 44 % відносно рівня уражених тварин. Активність АсАТ зменшилась на 21 % порівняно з ураженими щурами на 3 добу експерименту. Аналогічна тенденція до зниження активності ферментів в уражених тварин спостерігалась після застосування настойки з листя шовковиці та корвітину, ефективність якого була така ж, як і в екстракту шовковиці. Настойка проявила дещо менший вплив на зниження активності ферментів.

Аналогічна тенденція до підвищення спостерігалась після ураження парацетамолом і для лужної

фосфатази (ЛФ): її активність на 3 добу перевищувала в 1,9 раза у сироватці крові таку в інтактних тварин (табл. 3).

Ефективний вплив проявив екстракт на активність лужної фосфатази в сироватці крові піддослідних тварин.

Таблиця 2. Активність амінотрансфераз у сироватці крові щурів, уражених парацетамолом, після введення густого екстракту, настойки з листя шовковиці чорної та корвітину ($M \pm m$; $n=8$), 3 доба

Група тварин	АлАТ, мкмоль/(л год)	АсАТ, мкмоль/(л год)
ІК	0,21±0,02	0,22±0,01
КП	0,43±0,03*	0,29±0,02*
КП+ГЕЛШ, 150 мг/кг	0,25±0,02**	0,23±0,02
КП+НЛШ, 0,2 мл/кг	0,28±0,02**	0,24±0,01
КП+корвітин, 42мг/кг	0,25±0,02**	0,24±0,01

Таблиця 3. Активність лужної фосфатази в сироватці крові та печінці щурів, уражених парацетамолом, після введення густого екстракту, настойки з листя шовковиці чорної та корвітину ($M \pm m$; $n=8$), 3 доба

Група тварин	ЛФ, ммоль/(л год) сироватка крові	ЛФ, ммоль/(кг год) печінка
ІК	3,24±0,10	4,44±0,08
КП	6,11±0,12*	3,07±0,10*
КП+ГЕЛШ, 150 мг/кг	3,88±0,11**	4,13±0,09**
КП+НЛШ, 0,2 мл/кг	4,11±0,10**	4,01±0,05**
КП+корвітин, 42мг/кг	3,96±0,08**	4,17±0,08**

Після ураження парацетамолом активність ЛФ у печінці щурів на 3-тю добу знизилась на 31 %. Це підтверджує гепатотропність даного токсиканта та факт розвитку медикаментозного гепатиту після потрапляння парацетамолу в організм.

Введення густого екстракту в уражений організм викликало підвищення активності ЛФ у печінці. Корвітин проявив аналогічну тенденцію до нормалізації даного показника і практично активність ЛФ в даній групі тварин знаходилась в межах 90 % від рівня норми. НЛШ також позитивно вплинула на активність лужної фосфатази, проте вона виявилася менш ефективною, ніж досліджуваний нами екстракт та препарат порівняння корвітин.

Проведені дослідження дозволили виявити позитивний вплив густого екстракту та настойки з

листя шовковиці чорної на проникність плазматичних мембран гепатоцитів в організмі тварин за умов ураження їх парацетамолом, що підтверджується нормалізацією активності таких мембранозалежних ферментів як АлАТ, АсАТ та ЛФ. Це свідчить про відновлення структури гепатоцитів, що може вказувати на мембранопротекторні властивості БАР даної рослини.

З метою підтвердження гепатопротекторних властивостей досліджуваних лікарських субстанцій ми вивчали жовчовидільну функцію печінки. Як препарат порівняння використовували алохол (препарат вітчизняного виробництва, який проявляє жовчогінну активність). Алохол вводили в дозі 80 мг/кг маси тіла тварини. Результати дослідження об'єму та швидкості секреції жовчі наведені у таблиці 4.

Таблиця 4. Показники жовчовидільної та жовчоутворювальної функцій печінки тварин, уражених парацетамолом, та після корекції екстрактом, настойкою з листя шовковиці та алохолом ($M \pm m$; $n=8$)

Показник	ІК	КП	КП+ГЕЛШ, 150 мг/кг	КП+НЛШ, 0,2 мл/кг	КП+алохол, 80 мг/кг
Об'єм жовчі, мл/100 г	0,81±0,02	0,48±0,01*	0,76±0,02**	0,70±0,02**	0,80±0,02**
Швидкість секреції жовчі, мг/хв./100 г	4,23±0,07	2,57±0,08*	4,03±0,05**	3,92±0,08**	4,26±0,07**
Холестерол у жовчі, мг/л	157,81±1,75	73,64±1,03*	146,75±1,61**	122,37±1,10**	150,33±1,19**
Жовчні кислоти, г/л	0,16±0,01	0,13±0,01*	0,16±0,01**	0,15±0,01	0,16±0,01**

Після ураження парацетамолом такі показники як швидкість секреції та об'єм жовчі у тварин з патологією вірогідно знижувались ($p < 0,05$). На 3 добу від початку ураження об'єм жовчі зменшився в 1,7 раза, швидкість секреції жовчі – в 1,6 раза, що

може вказувати на порушення процесів утворення жовчі, пов'язаних з цитолітичним синдромом у печінці в умовах парацетамолового отруєння.

Відомо, що холестерол є попередником жовчних кислот (ЖК) – фізіологічних регуляторів зовніш-

ньосекреторної функції печінки. Порушення обміну холестеролу і утворення ЖК, поряд із зниженням транспортної здатності мембран гепатоцитів, вважають важливими причинами порушення процесів жовчоутворення та жовчовиділення [1].

Нами досліджено вміст холестеролу та жовчних кислот у жовчі щурів, уражених парацетамолом. Як видно із даних таблиці 4, введення густого екстракту та настойки шовковиці піддослідним тваринам сприяло покращенню процесів жовчоутворення, та жовчовиділення відносно уражених щурів. Алохол проявив більш ефективний вплив на процеси жовчовиділення у щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Биоэнергетика клетки. Химия патологических процесов : учебное пособие / Д. И. Кузьменко, Т. В. Жаворонко, И. П. Мамонтова [та ін.]; [под ред. В. Ю. Сереброва и Г. А. Сухановой]. – Томск : Сибирский государственный медицинский университет, 2008. – 180 с.

2. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. член-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.

3. Вивчення гепатопротекторної активності флавонів, флавонолів і флаванонів на моделі гострого ураження печінки тетрахлорметаном / С. В. Місюрьова, І. А. Зупанець, І. О. Журавель [та ін.] // Вісн. фармації. – 2004. – № 3. – С. 66–71.

4. Вивчення мембраностабілізуювальної активності рослинного лікарського засобу / Л. І. Шульга, О. А. Щербак, Л. М. Малоштан [та ін.] // Фармацевтичний часопис. – 2011. – № 3(19). – С. 99–101.

5. Вороніна Л. М. Вивчення гепатопротекторної активності екстракту, отриманого з гички буряка звичайного / Л. М. Вороніна, І. В. Сенюк, К. В. Стрільченко // Медична хімія. – 2007. – Т. 9, № 4 – С. 92–95.

6. Доркіна Е. Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений / Е. Г. Доркіна // Экспериментальная клиническая фармакология. – 2004. – Т. 67, № 6. – С. 41–44.

7. Ефективність фітозасобів у комплексі медичної реабілітації хворих на хронічний вірусний гепатит С, сполучений із хронічним некалькульозним холециститом / В. М. Фролов, Т. П. Гарник, Я. А. Соцька [та ін.] // Фітотерапія. Часопис. – 2007. – № 1. – С. 34–42.

8. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая [и др.]; [под ред. В. В. Меньшикова]. – М.: Медицина, 1987. – С. 122, 179–180.

9. Морозов С. Ю. Гепатопротекторы в практике врача-клинициста // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 25.

Висновки. 1. Використання екстракту та настойки з листя шовковиці чорної позитивно вплинуло на проникність мембран гепатоцитів в організмі тварин за умов парацетамолового ураження, що підтверджується нормалізацією активності амінотрансфераз. Отримані результати свідчать про мембранопротекторні властивості досліджуваних фармакологічних препаратів.

2. Застосування екстракту та настойки шовковиці приводить до відновлення процесів жовчовиділення та жовчоутворення в ураженому парацетамолом організмі тварин, що підтверджує гепатопротекторні властивості цих препаратів.

10. Патент UA 53804 A МПК G 09B 23/28. Спосіб попередження гепатотоксичної дії парацетамолу / К. А. Посохова, А. С. Вольська, О. М. Олещук, І. А. Демчук. – № 201000742 ; заявлено 26.01.2010 ; опубл. 25.10.2010, Бюл. «Промислова власність» № 20. – 4 с.

11. Рыжкина А. Патогенетическое обоснование применения эффективных гепатопротективных средств при экспериментальной токсической гепатопатии / А.В. Рыжкина, И.Г. Ситников и др. // Ярославская государственная медицинская академия, г. Ярославль, 2004. – 2 с.

12. Стефанов А. В. Доклинические испытания лекарственных средств. Методические рекомендации : под ред. чл.-кор. АМН Украины А. В. Стефанова. – К. : Авицена, 2002. – 568 с.

13. Ткач С. М. Эффективность и безопасность гепатопротекторов с точки зрения доказательной медицины / С. М. Ткач // Здоровье Украины. – 2009. – № 6. – С. 7–10.

14. Andrade R. Drug-induced liver injuries analysis of 461 residences submitted to the Spanish registry a 10-years period / R. Andrade, M. Lucena, M. C. Fernandes // Gastroenterology. – 2005. – Vol.129. – P. 512–521.

15. Arulkumaran K. S. G. Cassia roxburghil seeds protect liver against toxic effects of ethanol and carbon tetrachloride in rats / K. S. G. Arulkumaran, A. Rajasekaran, R. Ramasamy // Int. J. Pharm. Tech. Res. – 2007. – Vol. 1(2). – P. 246–273.

16. Drug induced hepatitis. Chronic hepatitis: metabolic, cholestatic, viral and autoimmune / N. Kaplowitz, M. Diel, N. Hayashi [et al.] // Dordrecht. Springer. – 2007. – P. 32–42.

17. Identification of hepatoprotective flavonolignans from silymarin / S. J. Polyak, C. Morishima, V. Lohmann [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2010. – Vol. 107, № 13 – P. 95–99.

Larrey D. Drug – induced liver disease / D. Larrey // J. Hepatology. – 2000. – Vol. 32. – P. 77–88.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

RESEARCH OF THE BLACK MULBERRY LEAVES HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES ON THE MODEL OF PARACETAMOL HEPATITIS

©I. I. Herasymets

SHEI «Ternopil State Medical University byl. Ya. Horbachevsky MPH of Ukraine»

SUMMARY. The state of the antioxidant system in rats with paracetamol hepatitis and its correction by the black mulberry leaves preparations was investigated. Their pronounced hepatoprotective, antioxidant and membrane properties were proved, as well as the recovery of the biliary excretion process in the animal organism affected with paracetamol after application of the extract and tincture of black mulberry leaves.

KEY WORDS: paracetamol hepatitis, black mulberry, thick extract, tincture, hepatoprotective effect.

Отримано 29.09.2014