

Р.Э. Джафарова, М.Б. Зульфугарова,
Г.Ч. Джавадова

Исследование действия экстрактов цветков, листьев и плодов бузины черной на функциональное состояние печени на фоне экспериментальной модели токсического гепатита

Азербайджанский медицинский университет, Баку

Резюме. Широкая распространенность и рост числа больных, страдающих заболеваниями гепатобилиарной системы, отсутствие высокоэффективных лекарственных препаратов специфического действия, наличие у синтетических препаратов, применяемых для лечения этих заболеваний, ряда серьезных побочных эффектов как аллергической, так и неаллергической природы, некоторые из которых кумулируются при долгосрочном применении, создает необходимость разработки новых препаратов с мультикомпонентным действием, влияющих на многие звенья патологической цепочки и отвечающих требованиям современной медицины. Препаратами выбора являются растительные средства. Одним из перспективных видов для исследования в данном аспекте является бузина черная, а именно ее экстракты. Определялись маркеры повреждения печени, такие как аланиламинотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, общий билирубин, и интенсивность оксидативного стресса с определением продуктов перекисного окисления липидов, таких как диеновые конъюгаты и малоновый диальдегид, а также один из показателей состояния антиоксидантной системы – активность каталазы.

Модель токсического гепатита создавали подкожным введением 30 белым беспородным крысам четыреххлористого углерода. На фоне развившегося гепатита животные получали экстракты цветков, листьев и плодов бузины черной. Выявлено, что экстракты цветков и плодов бузины черной снижают выраженность оксидативного стресса, улучшают функциональное состояние печени. Наилучший эффект отмечен при использовании экстракта цветков. Улучшение функционального состояния печени напрямую коррелирует с выраженностью оксидативного стресса.

Ключевые слова: гепатобилиарная система, гепатит, экстракт, бузина черная, аланиламинотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, общий билирубин, оксидативный стресс.

Введение. В настоящее время болезни органов пищеварения в Азербайджане, как и во всем мире, занимают одно из ведущих мест по распространенности среди основных классов болезней сразу после болезней органов дыхания и системы кровообращения. В современном мире частое применение лекарственных средств различных групп (антибиотики, цитостатики и др.), в большинстве случаев оказывающих гепатотоксический эффект, и ухудшение окружающей среды являются дополнительными факторами, провоцирующими развитие болезней гепатобилиарной системы, что обусловлено особенностями кровоснабжения печени и метаболизмом препаратов [7]. В частности, доказано, что антибиотики тетрациклинового ряда оказывают прямое повреждающее действие на печень и вызывают синдром холестаза [6, 8, 9]. Общеизвестно, что гиперхолестеринемия с дислипидемией как основные факторы атерогенеза [2, 12, 14] патогенетически связаны с функциональным состоянием гепатобилиарной системы, когда застой желчи, компонентом которой является синтезируемый печенью холестерин, неизбежно создает

условия для гиперхолестеринемии. Нарушение желчеоттока, нередко приводящее к инфицированию и воспалению в желчевыводящих путях и желчном пузыре, как правило, сопровождается выраженной аллергизацией организма с развитием аутоиммунных процессов, что в совокупности повышает риск развития атеросклеротического процесса и способствует его прогрессированию. Значительную роль в этих процессах уделяют оксидативному стрессу [4]. Этот взгляд на патогенетические взаимосвязи заболеваний в полиморбидных комплексах современного больного мотивирует соответствующие подходы к профилактике и лечению множественной внутренней патологии, ассоциированной с метаболическими нарушениями и системным атеросклерозом. Таким образом, очевидно, что гепатобилиарная система должна стать важнейшей мишенью в программе лечебно-профилактических мероприятий, направленных на комплексную коррекцию организма полиморбидного больного [3].

Анализ доступной литературы позволяет сделать вывод, что ввиду сложности механизма развития дислипидемии, связанной с патологией гепатоби-

лиарной системы патогенетически обоснованного метода лечения его на сегодняшний день нет. Применяется сложная комбинация различных препаратов, что создает неудобства для больных и приводит к несоблюдению врачебных предписаний. К тому же эти препараты, не охватывают все звенья патологического процесса, не восстанавливают метаболические нарушения и обладают рядом серьезных побочных эффектов. В связи с этим поиск новых лекарственных препаратов с гепатопротекторным действием, в том числе фитопрепаратов, которые в отличие от синтетических средств оказывают комплексное действие на многие звенья патогенетической цепи и при этом обладают низкой токсичностью, позволяющей длительно применять их без побочных эффектов как аллергической, так и неаллергической природы, остается актуальной проблемой медицинской и фармацевтической науки. Эффективность фитопрепаратов обеспечивает целый комплекс биологически активных веществ, которые благодаря оптимальному сочетанию благотворно влияют на функциональное состояние всего организма в целом, корректируя при этом соответствующие функциональные системы, и повышают адаптогенные свойства организма [11].

Одним из перспективных видов, требующих всестороннего исследования, являются широко распространенные в Азербайджане растения рода бузина (*Sambucus*) семейства Адоксовые (*Adoxaceae*) [11]. Наиболее изученным видом этого рода является бузина черная. В качестве сырья используются цветки и плоды бузины, реже – кора, молодые ветви и листья, которые также входят в состав многих сборов для лечения патологий гепатобилиарной системы.

Цель исследования. Выявить эффективность экстрактов, полученных из цветков, листьев и плодов бузины черной, при гепатитах токсического происхождения.

Материалы и методы. В эксперименте были задействованы 30 белых беспородных крыс-самцов (25 крыс с экспериментальным токсическим гепатитом, созданным подкожным введением 1 мл/100 г 4% масляного раствора четыреххлористого углерода (CCl_4) в течение 3 дней, и 5 интактных крыс). Животные были разделены на 6 групп по 5 крыс в каждой: 1-я группа – интактная, 2-я группа – моделируемый токсический гепатит, 3-я группа – контрольная, 4–6 группы – основные. Животные основных групп 3 раза в день в течение 5 дней получали исследуемые экстракты, контрольные животные получали плацебо в виде изотонического 0,9% раствора хлорида натрия. На 5-е сутки животные декапитировались, кровь забиралась для лабораторных исследований для определения в ней маркеров повреждения печени (аланиламинотрансферазы – АЛТ, аспартатамино-трансферазы – АСТ, общего билирубина) и состояния оксидативного стресса (диенового конъюганта – ДК,

малонового диальдегида – МДА, каталазы). Об изменении интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по изменению уровня продуктов ПОЛ – ДК и МДА, которые определяли по окрашенным продуктам, полученным в результате реакций с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [1]. Активность каталазы (АК) определяли добавлением к 2 мл 0,03% раствора перекиси водорода (H_2O_2) 0,1 мл (10 мкл) сыворотки крови [5].

Определение общего билирубина (ОБ) проводили фотометрически тест-методом при помощи 2,4-дихлоранилина (ДХА) на анализаторе «ФП-9019» (Финляндия) с использованием набора химических реактивов фирмы «DiaSys Diagnostic Systems GmbH».

Концентрацию в крови АЛТ и АСТ определяли при помощи набора химических реактивов фирмы «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» по методике оптимизированной УФ-пробы в соответствии с рекомендациями Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины [13]. Определение проводили на анализаторе «ФП-9019» (Финляндия).

Статистический анализ полученных данных проводили параметрическим методом по коэффициенту t Фишера – Стьюдента и непараметрическим методом по критерию U (Вилкоксона – Манна – Уитни) [10].

Результаты и их обсуждение. Установлено, что в крови животных 2-й группы наблюдается резкое повышение маркеров, характеризующих повреждение печени с развитием гепатита. Так, содержание АЛТ повысилось на 898,5% ($p < 0,001$), АСТ – на 399,7% ($p < 0,001$), ОБ – на 1659,4% ($p < 0,001$), таблица 1. В дальнейшем показатели 2-й группы будут оцениваться как исходные.

В 3-й группе по сравнению с исходными значениями содержание АЛТ в крови животных снизилось на 59,1% ($p < 0,001$), АСТ – на 47,9% ($p < 0,001$), ОБ – на 63,1% ($p < 0,001$). Таким образом, в контрольной группе происходит статистически достоверное улучшение состояния. Однако при визуальном осмотре у всех животных проявляются признаки подавленного состояния: животные малоподвижны, плохо едят, сильно похудели. А исследуемые биохимические показатели превосходят интактные значения: АЛТ – на 308,1%,

Таблица 1

Содержание АЛТ, АСТ, ОБ в крови экспериментальных крыс, $M \pm m$

Группа	АЛТ, u/l	АСТ, u/l	ОБ, mg/dl
1-я	37,7 \pm 3,1	205,4 \pm 7,2	0,552 \pm 0,023
2-я	735,5 \pm 19,1*	1026,4 \pm 28,6*	9,712 \pm 0,391*
3-я	300,6 \pm 5,9**	534,5 \pm 16,7**	3,584 \pm 0,176**
4-я	129,2 \pm 12,4**	316,4 \pm 13,2**	2,208 \pm 0,260**
5-я	298,7 \pm 8,3**	419 \pm 7,6**	2,538 \pm 0,093**
6-я	243,4 \pm 11,3**	393,6 \pm 9,8**	2,66 \pm 0,252**

Примечание: * – различия по сравнению с 1-й группой; ** – со 2-й группой, $p < 0,001$.

АСТ – на 160,2%, ОБ – на 549,3%, что подтверждает наличие острого гепатита.

В 4-й группе по сравнению с исходными значениями содержание АЛТ снизилось на 82,4% ($p < 0,001$), АСТ – на 69,2% ($p < 0,001$), ОБ – на 77,3% ($p < 0,001$). По сравнению с контрольной группой содержание АЛТ снизилось на 57% ($p < 0,001$), АСТ – на 40,8% ($p < 0,001$), ОБ – на 38,4% ($p < 0,01$).

В 5-й группе после введения животным экстракта листьев бузины черной по сравнению с исходными значениями содержание АЛТ снизилось на 59,4% ($p < 0,001$), АСТ – на 59,1% ($p < 0,001$), ОБ – на 73,9% ($p < 0,001$). По сравнению с контрольной группой содержание АЛТ снизилось на 0,6% ($p < 0,05$), АСТ – на 21,5% ($p < 0,001$) и ОБ – на 29,2% ($p < 0,001$).

В 6-й группе по сравнению с исходными значениями содержание АЛТ снизилось на 66,9% ($p < 0,001$), АСТ – на 61,7% ($p < 0,001$), ОБ – на 72,6% ($p < 0,001$). По сравнению с контрольной группой содержание АЛТ снизилось на 19% ($p < 0,01$), АСТ – на 26,4% ($p < 0,001$), ОБ – на 25,8% ($p < 0,05$).

В 4-й, 5-й и 6-й группах содержание АЛТ в крови наиболее эффективно снижает экстракт цветков бузины черной (82%), далее экстракт плодов (66,9%), наименее эффективным оказался экстракт листьев (59,4%). АСТ наиболее активно снижает также экстракт цветков бузины черной (69,2%), далее экстракт плодов (61,7%) и затем – экстракт листьев (59,1%). ОБ на фоне применения экстракта цветков снижается на 77,3%, экстракта листьев – на 73,9%, экстракта плодов – на 19,3%, рисунок 1.

Таким образом, все экстракты бузины черной улучшают функциональное состояние печени на фоне экспериментального токсического гепатита. Благоприятное действие связано с улучшением состояния ферментативной системы, что подтверждается достоверным снижением в крови животных АЛТ и АСТ, при этом повышается детоксикационная функция печени, о чем свидетельствует снижение содержания в крови ОБ. Наиболее значимые улучшения в состоянии печени были отмечены на фоне применения экстракта цветков бузины черной.

При моделировании токсического гепатита подкожным введением четыреххлористого углерода во 2-й группе достоверно повысились маркеры ПОЛ и АК. Так, ДК повысилось на 190,5% ($p < 0,001$), МДА – на 191,2% ($p < 0,001$), АК – на 35,9% ($p < 0,001$), таблица 2. Далее показатели 2-й группы будут обозначаться как «исходное значение».

В 3-й группе по сравнению с исходными значениями содержание ДК в крови животных снизилось на 37% ($p < 0,001$), МДА – на 22%, АК – на 11,6% ($p < 0,01$). Следовательно, в 3-й группе происходит статистически достоверное улучшение состояния животных, однако эти показатели значительно превосходят значения животных 1-й группы: ДК – на 83,1% ($p < 0,001$), МДА – на 127,1% ($p < 0,001$), АК – на 20,1% ($p < 0,001$).

Таблица 2

Содержание ДК, МДА и АК в крови экспериментальных крыс, $M \pm m$

Группа	ДК, нмоль/мл	МДА, нмоль/мл	АК, мккат/л
1-я	5,04±0,07	3,04±0,09	12,77±0,17
2-я	14,65±0,35*	8,85±0,30*	17,36±0,44*
3-я	9,23±0,29**	6,90±0,24**	15,34±0,34^
4-я	7,08±0,35**	4,13±0,21**	13,57±0,25**
5-я	8,78±0,29**	6,48±0,17**	15,09±0,36^
6-я	8,33±0,18**	5,86±0,16**	15,27±0,23^

Примечание: * – различия по сравнению с 1-й группой; ** – со 2-й группой, $p < 0,001$; ^ – со 2-й группой, $p < 0,01$.

В 4-й группе по сравнению с исходными значениями содержание ДК в крови животных снизилось на 51,7% ($p < 0,001$), МДА – на 53,4% ($p < 0,001$), АК – на 21,8% ($p < 0,001$). По сравнению с 3-й (контрольной) группой в 4-й группе содержание в крови ДК снизилось на 23,3% ($p < 0,01$), МДА – на 40,2% ($p < 0,001$), АК – на 11,5% ($p < 0,01$). Таким образом, у животных, получавших экстракт цветков, происходят достоверные положительные изменения.

В 5-й группе по сравнению с исходными значениями содержание ДК в крови животных снизилось на 40,1% ($p < 0,001$), МДА – на 26,8% ($p < 0,001$), АК – на 13,0% ($p < 0,01$). По сравнению с 3-й группой в 5-й группе содержание в крови ДК снизилось на 5% ($p < 0,05$), МДА – на 6,1% ($p < 0,05$), АК – на 1,6% ($p < 0,05$). Следовательно, у животных, получавших экстракт листьев, снижение показателей ПОЛ и активности каталазы не достоверно.

В 6-й группе по сравнению с исходными значениями содержание ДК в крови животных снизилось на 43,1% ($p < 0,001$), МДА – на 33,8%, АК – на 12% ($p < 0,01$). По сравнению с 3-й группой в 6-й группе содержание в крови ДК снизилось на 9,8% ($p < 0,05$), МДА – на 15,1% ($p < 0,01$), АК – на 0,4% ($p < 0,05$). Видно, что в 6-й группе, получавшей экстракт плодов, по сравнению с 3-й группой происходит статистически достоверное снижение содержания в крови ДК и МДА, а снижение АК не достоверно.

Таким образом, содержание ДК, МДА и АК в крови в 4-й, 5-й и 6-й группах наиболее эффективно снижает экстракт цветков бузины черной (ДК – 51,7%, МДА – 53,4%, АК – 21,8%), далее экстракт плодов (ДК – 43,1%, МДА – 33,8%, АК – 13%) и экстракт листьев (ДК – 40,1%, МДА – 33,8%, АК – 12%), рисунок 2.

В целом, экстракты цветков и плодов бузины черной оказывают значительное влияние на выраженность оксидативного стресса, снижая содержание в крови первичных и вторичных продуктов, а также понижая активность каталазы. Снижение активности каталазы, по-видимому, связано со снижением выраженности ПОЛ. Известно, что повышенное содержание свободных радикалов приводит к активации САЗ организма, одним из звеньев которой является каталаза. Непосредственно на каталазу данные

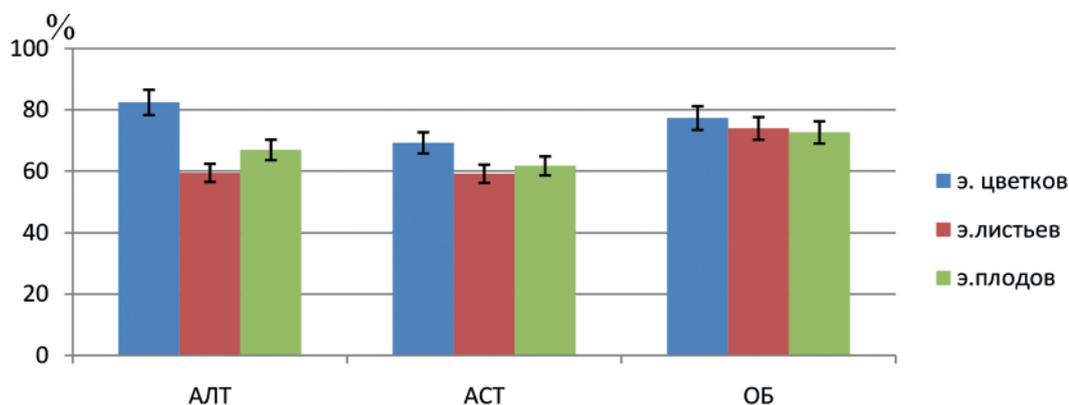


Рис. 1. Изменение содержания АЛТ, АСТ и ОБ в крови животных с моделированным токсическим гепатитом на фоне введения экстрактов бузины черной

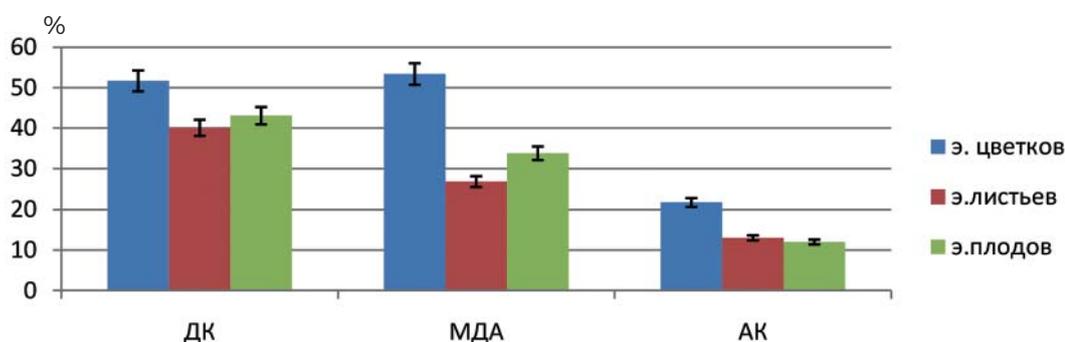


Рис. 2. Изменение содержания ДК, МДА и АК в крови животных с моделированным токсическим гепатитом на фоне введения различных экстрактов бузины черной

экстракты, по всей вероятности, никакого действия не оказывают.

Заключение. Установлено, что на фоне экспериментального токсического гепатита экстракт цветков бузины черной достоверно улучшает функциональное состояние печени, оказывая положительное действие как на ферментативную систему печени (снижение содержания в крови АЛТ и АСТ), так и на детоксикационную функцию печени (снижение в крови содержания ОБ). Наряду с этим экстракт цветков обладает также выраженным антиоксидантным действием, что подтверждается снижением выраженности ПОЛ. Экстракт плодов оказывает однонаправленное с экстрактом цветков действие, однако оно менее эффективное. Действие экстракта листьев на функциональное состояние печени и выраженность оксидативного стресса незначительно и статистически недостоверно.

Литература

1. Гаврилов, В.Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Л.М. Мажуль // *Вопр. мед. химии.* – 1987. – № 1. – С. 118–122.
2. Голубева, О.А. Коррекция показателей липидного обмена и маркеров воспаления с помощью диеты и ингибитора ГМГ КоА-редуктазы у пациентов с разными наследственными формами гиперлипидемии / О.А. Голубева [и др.] // *Атеросклероз и дислипидемии.* – 2012. – № 1 (6). – С. 16–22.
3. Горбачева, И.А. Роль коррекции функционального состояния системы желчеоттока в патогенетическом лечении полиморбидных больных с атеросклерозом / И.А. Горбачева [и др.] // *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.* – 2013. – № 20 (4). – С. 19–23.
4. Григорьева, Н.Ю. Роль окислительного стресса в прогрессировании атеросклероза у больных ишемической болезнью / Н.Ю. Григорьева [и др.] // *Клин. мед.* – 2011. – № 2. – С. 69–72.
5. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк [и др.] // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.
6. Маев, И.В. Лекарства и печень / И.В. Маев, Т.Е. Полунина // *Фарматека.* – 2013. – № 2. – С. 80–88.
7. Онучина, Е.В. Лекарственные поражения печени / Е.В. Онучина [и др.] // *Сиб. мед. журн.* – 2007. – № 3. – С. 88–90.
8. Полунина, Т.Е. Диагностика и лечение желчнокаменной болезни / Т.Е. Полунина, И.В. Маев // *Consilium medicum. Гастроэнтерология.* – 2012. – № 8. – С. 32–35.
9. Полунина, Т.Е. Ятрогенные поражения печени в практике интерниста / Т.Е. Полунина, И.В. Маев // *Мед. совет.* – 2009. – № 3. – С. 65–70.
10. Статистические методы исследования в медицине и здравоохранении / под ред. Л.Е. Полякова. – Л.: Медицина, 1971. – 199 с.

11. Yesilada E., G rb z ., Toker G. Anti-ulcerogenic activity and isolation of the active principles from Sambucus ebulus L. leaves / E. Yesilada, . G rb z, G. Toker // Journal of Ethnopharmacology. – 2014. – Vol. 153, № 2. – P. 478–483.
12. Sadeghi, M.M. Imaging atherosclerosis and vulnerable plaque / M.M. Sadeghi [et al.] // J. Nucl. Med. – 2010. – Vol. 51 (1). – P. 51–65.
13. Thomas, L. Alanine aminotransferase (ALT). Aspartate aminotransferase (AST) / L. Thomas // Clinical Laboratory Diagnostics. – 1998. – P. 55–65.
14. Wang, X. Biomarkers of vulnerable atheromatous plaques: translational medicine perspectives / X. Wang, T.M. Connolly // Adv. Clin. Chem. – 2010. – № 50. – P. 1–22.

R.E. Jafarova, M.B. Zufugarova, G.Ch. Javadova

A study of the effects of Elderberry (*Sambucus nigra*) flower, leaf and fruit extracts on the functional status of the liver with underlying experimental model of toxic hepatitis

Abstract. *The high prevalence of the hepatobiliary system diseases and the growing number of the patients with hepatobiliary malignancies, absence of highly effective medications of disease-specific action as well as certain allergic and non-allergic side-effects of synthetic medications used to treat these diseases (where the long-term administration of a number of such substances cumulate in side effects) creates the need for development of new medications of multi-component action that affect many stages of the pathological sequence and meet the requirements of modern medicine. In such circumstances, botanical medicines may be considered as the agents of choice. One of the most perspective species for study in this aspect is the *Sambucus nigra*, specifically its extracts. We determined the markers of liver damage, such as alanilaminotransferase, aspartate aminotransferase, total bilirubin, and the intensity of oxidative stress, with determination of lipid peroxidation products, such as diene conjugates and malondialdehyde, as well as one of the antioxidative system's status indicators – the activity of catalase.*

*The model of toxic hepatitis have created via subcutaneous injection of carbon tetrachloride of 30 white outbred rats. The rats with fully developed hepatitis received Elderberry (*Sambucus nigra*) flower, leaf and fruit extracts. The findings of the study show that the extracts of Elderberry flowers and leaves improve functional status of the liver. Elderberry flowers extract exhibited best effect in this regard. Improvement of the liver's functional status achieved by Elderberry extracts was directly correlated with the severity of the oxidative stress.*

Key words: *hepatobiliary system, hepatitis, extract, black elderberry, alanine transaminase, aspartate transaminase, total bilirubin, oxidative stress.*

Контактный телефон: +994-505-516-832; e-mail: rjafarova@bk.ru