

О. А. Макаренко, д.б.н., завідувач кафедри

Т. В. Могілевська, аспірант

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра фізіології людини і тварин,

вул. Дворянська 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: makolga29@gmail.com

ПОРІВНЯЛЬНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРЕПАРАТІВ БІОФЛАВОНОЇДІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕПАТИТІ

Проведено експериментальне дослідження гепатопротекторної та антидисбіотичної дії нових вітчизняних препаратів з натуральної сировини на моделі токсичного гепатиту у щурів. Препарат Лекасил з вмістом лецитину та флаволігнанів розторопши має більш виражену гепатопротекторну дію, а Квертулін, який складається з кверцетину та інуліну, більш істотно знижує ступінь дисбіозу в слизовій оболонці товстої кишки щурів з гепатитом.

Ключові слова: щури; токсичний гепатит; дисбіоз; профілактика захворювань гепатобіліарної системи.

Різноманітні порушення харчування, техногенні екологічні фактори, шкідливі звички, надмірне застосування лікарських препаратів призводять до неухильного зростання числа хворих з гепатобіліарною патологією. В Україні до цього часу майже 20 % населення страждають різними формами захворювань печінки [1, 10]. Серйозні побічні дії хімічних й імунобіологічних препаратів, які використовують для лікування гепатобіліарної системи, диктують нагальну необхідність розробки фітозасобів, які володіють багатоконпонентністю, полівалентністю, нешкідливістю і, що особливо важливо, невисокою вартістю [9].

Найбільш часто як гепатопротектори використовують препарати лецитину або інші фосфоліпіди, які відносяться до природних сполук, що входять до складу клітинних мембран і тим самим визначають функціонування клітин печінки та інших органів [4, 12]. Поширення серед фітопрепаратів отримали різні лікарські засоби, що містять флаволігнани розторопші плямистої (*Silybum marianum*) [2, 6]. Також є відомості про високу гепатопротекторну ефективність природного біофлавоноїду кверцетину, який надає свою лікувальну дію за рахунок високої антиоксидантної активності [13].

Аналіз відомостей про сучасні гепатопротектори дозволив вибрати для дослідження серед безлічі засобів два нових препарати, які розроблені сумісно Державною установою «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національної академії медичних наук України» і Науково-виробничою асоціацією «Одеська біотехнологія» з натуральної сировини – Квертулін і Лекасил. Квертулін містить кверцетин, пребіотик інулін і цитрат кальцію. До складу Лекасила входить макуха розторопші, лецитин і цитрат кальцію.

На підставі викладеного метою роботи стало порівняльне дослідження гепатопротекторних та антидисбіотичних властивостей Квертуліна і Лекасила у щурів на тлі моделювання токсичного гепатиту.

Матеріали та методи дослідження

Визначали гепатопротекторні та антидисбіотичні властивості препаратів Лекасил (Висновок МОЗ України № 602-123-202/121020 від 25.04.2017 р.) і Квертулін (Висновок МОЗ України № 05.03.02-06/444464 від 17.05.2012 р.). Дослідження були проведені на 28 білих щурах стадного розведення (самиці, 7 місяців, середня маса 216 г), яких розділили на 4 групи: 1-а – інтактні (норма), 2-а – токсичний гепатит, 3-я – токсичний гепатит + *per os* Квертулін 300 мг/кг з першого дня дослідження, 4-а – токсичний гепатит + *per os* Лекасил 300 мг/кг з першого дня дослідження. Токсичний гепатит відтворювали шляхом внутрішньочеревного введення гідразин сульфату (50 мг/кг) на 8, 9 і 10 дні дослідження [5].

При проведенні експериментальних досліджень тварини знаходились в стандартних умовах віварію згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин, що використовуються для наукових цілей [11].

Тривалість дослідження становила 14 днів, після чого щурів наркотизували тіопенталом натрію (20 мг/кг) та робили тотальне кровопускання з серця. Отримували сироватку крові, виділяли печінку та слизову оболонку товстої кишки, які зберігали до дослідів при -30°C . Гомогенати тканин готували з розрахунку 50 мг/мл 0,05М трис-НСІ-буфера рН 7,5 і для досліджень використовували на досадову рідину.

У гомогенатах печінки визначали маркери запалення та холестази – активність еластази [7] і лужної фосфатази [3] відповідно. У слизовій оболонці товстої кишки проводили визначення маркера мікробного обсіменіння – активності уреазі і неспецифічного антимікробного фактору – активності лізоциму [8]. У сироватці крові проводили визначення «печінкових» маркерів – активності аланінамінотрансферази (АлАт), лужної фосфатази і вмісту білірубину [3].

Статистичне опрацювання отриманих даних у серіях дослідів проводилось за методом Ст'юдента, відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Дані наведено як середнє арифметичне значення та похибка середнього ($M \pm m$).

Результати дослідження та їх обговорення

Моделювання токсичного гепатиту призводило до збільшення в гомогенатах печінки щурів активності еластази (маркера запалення) на 21 % ($p < 0,01$), а активності ЛФ (маркера холестази) в 2,8 разів ($p < 0,01$) (табл. 1).

Профілактичне введення Квертуліна знижувало рівень обох показників, активності еластази – до рівня інтактних щурів, а активності ЛФ – майже в два рази (на 47,9 %). Проте, рівень ЛФ зберігався високим по відношенню до нормальних значень ($p < 0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив гепатопротекторів на активність еластази та лужної фосфатази (ЛФ) в печінці щурів з токсичним гепатитом ($n=7$)

Групи	Активність еластази, мк-кат/кг	Активність ЛФ, мк-кат/кг
Інтактні	193,7 ± 3,5	1,46 ± 0,27
Токсичний гепатит	255,6 ± 12,4 $p < 0,01$	4,05 ± 0,24 $p < 0,01$
Токсичний гепатит + Квертулін	210,1 ± 9,4 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	2,11 ± 0,18 $p < 0,05$ $p_1 < 0,01$
Токсичний гепатит + Лекасил	198,4 ± 9,9 $p > 0,5$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,3$	2,11 ± 0,81 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 = 1,0$

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками в групі 1; p_1 – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками в групі 2; p_2 – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками в групі 3.

Застосування Лекасила на тлі гепатиту призводило до зменшення обох досліджуваних маркерів в тканині печінки щурів ($p > 0,5$ і $p_1 < 0,05$), що свідчить про високу гепатопротекторну дію нових препаратів Квертуліна і Лекасила (табл. 1).

Рівень "печінкових" маркерів у сироватці збільшувався у щурів, яким моделювали гепатит: вміст білірубину – на 40 % ($p < 0,05$), активність АлАТ – на 85 % ($p < 0,01$) і активність ЛФ – в 4 рази ($p < 0,001$) (табл. 2). Отримані результати можуть свідчити про руйнування гепатоцитів (здавлення, розрив мембран), а також порушення виведення жовчі у щурів, яким моделювали токсичний гепатит за допомогою гідразину.

Введення Лекасила знижувало рівень всіх досліджуваних показників сироватки крові щурів: рівня білірубину – на 20 % ($p_1 < 0,05$), активності АлАТ – на 57 % ($p_1 < 0,01$) і активності ЛФ – в 2 рази ($p_1 < 0,02$). Профілактика препаратом Квертулін призводила до зниження рівня білірубину на 28 % ($p_1 < 0,05$), активності АлАТ – на 43 % ($p_1 < 0,01$) і активності ЛФ – в 1,2 разів ($p_1 < 0,05$). Отримані результати свідчать, що гепатопротекторна дія Лекасила була виражена більш істотно (табл. 2).

Моделювання токсичного гепатиту збільшувало в слизовій оболонці товстої кишки щурів активність уреазу на 43 % ($p < 0,05$), що свідчило про зростання чисельності умовно-патогенних і патогенних бактерій у складі мікробіоценозу цього біотопу (табл. 3). Активність цього ферменту знижувалась у щурів, які отримували Лекасил ($p_1 > 0,3$) або Квертулін ($p_1 > 0,05$).

Таблиця 2

Вплив гепатопротекторів на рівень печінкових маркерів в сироватці крові щурів з токсичним гепатитом (n=7)

Групи	Вміст білірубину, мкмоль/л	Активність АлАТ, мк-кат/л	Активність ЛФ, мк-кат/л
Інтактні	2,38 ± 0,24	0,39 ± 0,05	1,60 ± 0,11
Токсичний гепатит	3,33 ± 0,15 p < 0,05	0,72 ± 0,04 p < 0,01	6,56 ± 0,40 p < 0,001
Токсичний гепатит + Квертулін	2,39 ± 0,35 p > 0,8 p ₁ < 0,05	0,41 ± 0,02 p > 0,3 p ₁ < 0,01	5,46 ± 0,36 p < 0,01 p ₁ > 0,05
Токсичний гепатит + Лекасил	2,65 ± 0,81 p > 0,3 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,5	0,31 ± 0,03 p > 0,05 p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,05	3,35 ± 0,44 p < 0,05 p ₁ < 0,02 p ₂ < 0,05

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками в групі 1; p₁ – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками в групі 2; p₂ – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками в групі 3.

Таблиця 3

Вплив гепатопротекторів на активність уреазы, лізоциму і ступінь дисбіозу в слизовій оболонці товстої кишки щурів з токсичним гепатитом (n=7)

Групи	Активність уреазы, мк-кат/кг	Активність лізоциму, од/кг	Ступінь дисбіозу, у.о.
Інтактні	1,54 ± 0,14	76 ± 9	1,00 ± 0,13
Токсичний гепатит	2,20 ± 0,35 p < 0,05	55 ± 6 p < 0,05	1,99 ± 0,20 p < 0,05
Токсичний гепатит + Квертулін	1,87 ± 0,10 p < 0,05 p ₁ > 0,05	68 ± 8 p > 0,05 p ₁ > 0,05	1,35 ± 0,18 p > 0,05 p ₁ < 0,05
Токсичний гепатит + Лекасил	1,98 ± 0,24 p < 0,05 p ₁ > 0,3 p ₂ > 0,3	58 ± 4 p < 0,05 p ₁ > 0,3 p ₂ > 0,05	1,68 ± 0,17 p < 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ > 0,3

Примітки: p – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками в групі 1; p₁ – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками в групі 2; p₂ – рівень значущості відмінностей у порівнянні з показниками в групі 3.

В слизовій оболонці товстої кишки щурів при токсичному гепатиті виявлено зменшення активності лізоциму на 28 % (p < 0,05) (табл. 3). Лізоцим є ферментом, якій руйнує оболонки мікробів, тому його вважають фактором неспецифічного антимікробного захисту слизових оболонок. Зменшення активності цього ферменту свідчило про зниження рівня неспецифічного антимікробного захисту слизової оболонки товстої кишки щурів з токсичним гепатитом.

Введення шурам з гепатитом препарату Лекасил мало впливало на активність лізоциму ($p_1 > 0,3$), тоді як профілактика Квертуліном підвищувала її на 12,4 % ($p_1 > 0,05$). Важливо відзначити, що активність лізоциму в слизовій оболонці товстої кишки щурів з гепатитом після профілактики Квертуліном відповідала рівню у інтактних щурів ($p > 0,05$, табл. 3).

Розрахований за відносною активністю ферментів (уреази і лізоциму) ступінь дисбіозу, свідчив про його дворазове збільшення в слизовій оболонці товстої кишки щурів при гепатиті ($p < 0,05$). Профілактичне введення шурам Квертуліну приводило до зниження ступеню дисбіозу в слизовій оболонці товстої кишки тварин на 32,2 % ($p_1 < 0,05$), тоді як профілактика Лекасилом зменшувала цей показник тільки на 15,6 % ($p_1 < 0,05$ і $p_2 > 0,3$).

Отже, експериментальні дослідження показали ефективність нових вітчизняних препаратів на моделі токсичного гепатиту у щурів. Важливо відзначити, що за отриманими результатами більш виражену гепатопротекторну дію мала дієтична добавка Лекасил, а більш істотно знижував ступінь дисбіозу в слизовій оболонці товстої кишки щурів з гепатитом Квертулін. Застосування досліджуваних дієтичних добавок, які відносять до функціональних продуктів харчування, може надавати ефективну гепатопротекторну і антидисбіотичну дію в товстій кишці щурів з токсичним гепатитом.

Висновки

1. На тлі моделювання токсичного гепатиту показана гепатопротекторна дія препаратів біофлавоноїдів з перевагою Лекасилу.
2. Квертулін більш істотно, ніж Лекасил знижував ступінь дисбіозу в слизовій оболонці товстої кишці щурів з гепатитом.

Стаття надійшла до редакції 9.09.2019

Список використаної літератури

1. Бабак О. Я. Лекарственные поражения печени: вопросы теории и практики / О. Я. Бабак // Ліки України. – 2008. – № 2 (118). – С. 96-101.
2. Бурмак Ю. Г. Применение биофлавоноидов и эссенциальных фосфолипидов в коррекции иммунных, метаболических и микрогемодинамических изменений у больных коморбидной патологией / Ю. Г. Бурмак, Е. Е. Петров, С. И. Треумова // Фітотерапія. Часопис. – 2017. – № 2. – С. 4-6.
3. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А. М. Горячковский. – Одесса: Экология, 2005. – 616 с.
4. Демьяненко С. А. Применение лецитиновых гепатопротекторов в стоматологии / С. А. Демьяненко. – Симферополь: Тарпан, 2010. – 52 с.
5. Левицкий А. П. Антимикробная функция печени / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко, Ю. В. Цисельский – Одесса: КП «Одеська міська друкарня», 2011. – С. 101.
6. Левицкий А. П. Биофлавоноидные гепатопротекторы / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, Е. М. Левченко, С. А. Демьяненко. – Одесса: КП «Одеська міська друкарня», 2014. – 85 с.
7. Левицкий А. П. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов. Метод. рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.

8. Левицкий А. П. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков. Метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – К.: ГФЦ МЗУ, 2007. – 23 с.
9. Оковитый С. В. Гепатопротекторные средства: Современное состояние проблемы / С. В. Оковитый, Д. С. Суханов, А. Ю. Петров, М. Г. Громатцев // Терапевт. арх. – 2012. – № 2. – С. 62-68.
10. Щербинина М. В. Заболевания печени с холестатическим синдромом, болезни желчного пузыря, и урсодезоксихолевая кислота. Новые акценты / М. В. Щербинина // Сучас. гастроентерол. – 2016. – № 2. – С. 78-86.
11. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasburg. Council of Europe, 1986. – №123. – 51 p.
12. Gundermann K.-J. Activity of essential phospholipides (EPL) from soybean in liver diseases / K.- J. Gundermann, A. Kuenker, E. Kuntz, M. Drozdzik // Farmacol. Rep. – 2011. – № 63. – P. 643-659.
13. Maalic A. Pharmacological Application of Quercetin and its Derivates: A short Review / A. Maalic, F. A. Khan, A. Muntaz, A. Mehmood // Trop. J. Phar. Res. – 2014. – № 13 (9). – P. 1561-1566.

O. A. Makarenko, T. V. Mogilevska

Odesa National Mechnykov University, Department Of Human and Animal Physiology

2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail makolga29@gmail.com

COMPARATIVE EFFICIENCY OF BIOFLAVONOID PREPARATIONS WITH EXPERIMENTAL HEPATITIS

Abstract

The **aim** of the work is comparative study of hepatoprotective properties of Quertulin (quercetin, inulin and calcium citrate) and Lecasil (squeezed from leaves of thistle, lecithin and calcium citrate) in rats on the background of toxic hepatitis modeling.

Materials and Methods: The studies were conducted on 28 white rats, with caused toxic hepatitis. Prophylaxis of the disease was performed using Quertulin or Lecasil (300 mg / kg) from the first day of the experiment. Toxic hepatitis was reproduced by intra-abdominal administration of hydrazine sulfate (50 mg / kg) at 8, 9 and 10 days. The duration of the experiment was 14 days. In liver homogenates, inflammation markers and cholestasis were determined – the activity of elastase and alkaline phosphatase. In the mucous membrane of the colon the determination of a marker of microbial contamination – activity of urease and non-specific antimicrobial factor – activity of lysozyme was carried out. In the serum, the determination of "liver" markers was performed, the activity of the alanine aminotransferase of alkaline phosphatase and the content of bilirubin.

Results: Preventive use of drugs Lecasil and Quertulin effectively prevents metabolic disorders of the hepatobiliary system: reduced bilirubin levels by 20 and 28%, ALT activity – by 57 and 43% and alkaline phosphatase activity – by 49 and 17%, respectively. The studied drugs also reduced the development of dysbiosis, formed in the colon of rats under conditions of toxic hepatitis: Quertulin reduced the degree of dysbiosis by 32.2%, and Lecasil by 15.6%.

Conclusion: The effectiveness of new domestic drugs in the model of toxic hepatitis in rats is shown. According to the results obtained, the more pronounced hepatoprotective effect is produced by the dietary supplement of Lecasil, and more significant reduction of the dysbiosis degree in the mucous membrane of the colon of rats with hepatitis – by Quertulin. The application of the studied dietary supplements provides effective hepatoprotective and anti-dysbiosis action in the colon of rats with toxic hepatitis.

Key words: rats, toxic hepatitis, dysbiosis, prevention of diseases of the hepatobiliary system.

References

1. Babak O. Ya. (2008) Medicinal lesions of the liver: questions of theory and practice. *Liky Ukrainy*, 2 (118), p 96-101.
2. Burmak Yu. G., Petrov E. E., Treumova S. I. (2017) Application of bioflavonoids and essential phospholipids in the correction of immune, metabolic and microhemocirculatory changes in patients with comorbid pathology. *Fitoterapiya. Chasopys*, 2, p 4-6.
3. Goryachkovskiy A. M. (2005) *Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike-spravochnoe posobie* [Clinical chemistry in laboratory diagnosis - handbook]. Odesa, Ekologiya, p 616.
4. Dem'yanenko S. A. (2010) *Primenenie lecitinovykh hepatoprotektorov v stomatologii* [Application of lecithin hepatoprotectors in dentistry]. Simferopol, Tarpan, p 52.
5. Levitskiy A. P., Dem'yanenko S. A., Tsiselskiy Yu. V. (2011) *Antimikrobnaya funktsiya pecheni* [Antimicrobial liver function]. Odesa, KP OGT, p 101.
6. Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Levchenko E. M., Dem'yanenko S. A. (2014) *Bioflavonoidnye hepatoprotektory* [Bioflavonoid hepatoprotectors]. Odesa, KP OGT, p 85.
7. Levitskiy A. P., Stefanov A. V. (2002) *Metody opredeleniya aktivnosti elastazy i eye ingibitorov* [Methods for determination of activity of elastase and its inhibitors]. Kiev, GFC, p 15.
8. Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A., Rossachanova L. N., Denga O. V., Pochtar V. N., Skidan K. V., Goncharuk S. V. (2007) *Fermentativnyy metod opredeleniya disbioza polosti rta dlya skrininga pro- i prebiotikov: metodicheskie rekomendatsii* [Enzymatic methods for determination of oral dysbiosis for screening pro- and prebiotics: method guidelines]. Kiev, GFC, p 22.
9. Okovity S. V., Sukhanov D. S., Petrov A. Yu., Gromatsev M. G. (2012) Hepatoprotective agents: Current state of the problem. *Terapevticheskiy arkhiv*, 2, p 62-68.
10. Shcherbinina M. V. (2016) Liver diseases with cholestatic syndrome, gallbladder disease, and ursodeoxycholic acid. New accents. *Suchasna gastroenterologiya*, 2, p 78-86.
11. Gundermann K. J., Kuenker A., Kuntz E., Drozdik M. (2011) Activity of essential phospholipides (EPL) from soybean in liver diseases. *Farmacol. Rep.*, 63, p 643-659.
12. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1986), Strasburg. Council of Europe, 123, 51 p.
13. Maalic A., Khan F. A., Muntaz A., Mehmood A. (2014) Pharmacological Application of Quercetin and its Derivates: A short Reviw. *Trop. J. Phar. Res*, 13(9), p 1561-1566.