

«ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ПОРТУЛАКА ОГОРОДНОГО НА ДИНАМИКУ ВОССТАНОВЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ АЛТ В КРОВИ КРОЛИКА ПОСЛЕ ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА».

Нурмагомедова П.М.¹, Шейхова Р.Г.¹

¹ФГБОУ ВПО «Дагестанский государственный университет Министерства образования и науки Российской Федерации», Махачкала, Россия, e-mail: Parizat1949@bk.ru, Sharg2006@mail.ru.

После однократного введения четыреххлористого углерода (0,4% масляного раствора в дозе 2 мл/кг), без применения какой-либо терапии, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови кроликов восстанавливается на 19 сутки исследования. После трёхкратного введения четыреххлористого углерода (0,4% масляного раствора в дозе 0,6 мл / кг), без применения какой-либо терапии, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови кроликов не восстанавливается и на 19 сутки исследования. Пероральное введение водного экстракта портулака огородного (2 мл/кг веса) восстанавливает активность аланинаминотрансферазы в сыворотке крови на 19 сутки после трёхкратного токсического поражения печени. Совместное использование витаминотерапии и водного экстракта портулака огородного восстанавливает активность АЛТ в сыворотке крови животных с токсическим гепатитом на 16 сутки исследования. Наряду с витаминами, концентрация которых значительно возрастает, при использовании водного экстракта портулака возможно, существенный вклад вносят оксикоричные кислоты, обладающие как антиоксидантными свойствами, так и желчегонным и гепатопротекторным действием. Исследование влияния оксикоричных кислот на активность АЛТ в сыворотке крови после токсического поражения СС14 может быть задачей дальнейших исследований.

Ключевые слова: экстракт портулака огородного, четыреххлористый углерод, токсический гепатит, АЛТ, гепатопротекторы.

"THE STUDY OF THE EFFECTS OF EXTRACT OF PURSLANE ON THE DYNAMICS OF RECOVERY OF ACTIVITY OF ALT IN THE BLOOD OF THE RABBIT AFTER TOXIC HEPATITIS"

Nurmagomedova P.M.¹, Sheyhova R.G.¹

¹Daghestan State University, Makhachkala, e-mail: Parizat1949@bk.ru, Sharg2006@mail.ru

After a single injection of carbon tetrachloride (0.4% of oil solution at a dose of 2 ml / kg) without the use of any therapy of alanine aminotransferase (ALT) in the serum of rabbits recovered on the 19th day of the study. After triple introduction of carbon tetrachloride (0.4% of oil solution at a dose of 0.6 ml / kg) without the use of any therapy of alanine aminotransferase (ALT) in the serum of rabbits is not restored and on the 19th day of the study. Oral administration of aqueous extract of purslane (2 ml/kg) restores the activity of alanine aminotransferase in the blood serum for 19 days after three times of liver toxicity. Sharing vitamin and aqueous extract of purslane restores the activity of ALT in serum of animals with toxic hepatitis on the 16th day of the study. Along with vitamins, the concentration of which increases significantly when using an aqueous extract of *Portulaca* perhaps a significant contribution oxycinnamic acid, having antioxidant properties and choleric and hepatoprotective action. A study of the influence of acids on the activity of ALT in the serum after toxic injury of CCl4 can be a challenge for further research.

Key words: purslane extract, carbon tetrachloride, toxic hepatitis, ALT, hepatoprotective.

Введение.

Острые экзогенные интоксикации являются распространенной причиной патологий, которые по клиническим данным встречаются более чем у 30% людей страдающих заболеваниями печени.

Из-за халатного отношения и ухудшения экологической обстановки, различные промышленные и сельскохозяйственные яды попадают в организм человека, как через воздух, так и вместе с пищей, тем самым вызывая интоксикацию организма. Токсическое поражение печени вызывают, как различные химические вещества, при нарушении техники безопасности, так и лекарственные ксенобиотики, при бесконтрольном, длительном приеме, или других причинах попадания в организм. Среди ядов. наиболее распространённых и способствующих возникновению токсического гепатита, большую часть занимают хлорорганические вещества, в том числе четыреххлористый углерод, который является прямым гепатотоксином и широко применяется в экспериментальной медицине [1].

Основой гепатотоксического действия четыреххлористого углерода являются метаболические превращения, которые происходят в мембранах эндоплазматического ретикулума печени при участии цитохрома Р – 450. Клиническая картина отравления включает в себя симптомы наркотического действия на ЦНС, поражения паренхиматозных органов – печени и почек. Нередко болезни печени, заканчивающиеся выздоровлением, оставляют “след” метаболического нарушения, который сохраняется на многие годы, а порой переходит в болезнь, требующую лекарственной терапии.

Каждый год растёт арсенал лекарственных средств, применяемых для лечения различных заболеваний печени. Но не все препараты оказывает должного лечебного действия, и могут, даже проявиться побочные действия разного характера, в том числе и аллергические реакции [2]. Некоторые гепатопротекторы химической природы могут вызывать гипертермическую реакцию, лихорадку, зуд, высыпания и др.

Недостаточная эффективность современных лекарственных средств, рекомендованных для лечения поражений печени, определяет необходимость поиска новых препаратов, в том числе среди природных соединений [3].

Ведется много исследований в поиске препаратов растительного происхождения обладающих наиболее выраженным гепатопротекторным действием, снижающим токсическое действие на организм. Выявлен высокий терапевтический эффект фитоэкстрактов при токсическом экспериментальном гепатите, вызванном тетрахлорметаном [4]. Еще во времена Авиценны, в качестве поливитаминного средства, обладающего детоксикационными свойствами против укусов насекомых и различных видов яда, широко использовался в народной медицине, среди природных гепатопротекторов,

портулак огородный (*Portulac aoleracea*) [5]. Прием водного экстракта портулака, в сочетании с ликопеном оказывает выраженное гепатопротективное воздействие при токсическом поражении печени [6].

Моделирование медикаментозных повреждений печени является чрезвычайно важным направлением гепатологии в диагностическом, терапевтическом и профилактическом аспекте, поскольку позволяет оценить глубину повреждения печени, открывает возможности для разработки критериев ранней диагностики гепатопатологических состояний и поиска эффективных гепатопротекторных препаратов. Токсическое повреждение печени может протекать скрыто, клинически не проявляясь.

Биохимическим критерием определения типа повреждения печени является определение активности ферментов, в частности, маркера гепатоцеллюлярного некроза печени — аланинаминотрансферазы [7].

Цель и задачи исследования.

Целью нашего эксперимента явилось исследование активности тестового фермента состояния печени - аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови кроликов при однократном и трёхкратном введении четыреххлористого углерода с последующими вариантами терапии.

Научная новизна исследования.

Впервые показан эффект водного экстракта портулака огородного на сроки восстановления аланинаминотрансферазной активности сыворотки крови кроликов после трёхкратного введения четыреххлористого углерода. Наибольший протекторный эффект получен при сочетании витаминотерапии и водного экстракта портулака огородного.

Экспериментальная часть.

В эксперименте использованы самцы кролика породы – шиншилла, в возрасте 5 - 6 месяцев, массой 2 - 2,5 кг. Кроликов используют в длительных экспериментах из-за удобства многократного взятия крови из краевой вены уха [8]. Токсическое отравление вызывали однократным подкожным введением 0,4% масляного раствора CCl_4 в дозе 2 мл / кг массы тела, а трёхкратное в течение 3х дней, через каждые 24 часа в дозе 0,6 мл / кг массы тела.

В течение эксперимента животные содержались в условиях вивария.

Постановка эксперимента.

Животные были разбиты на 5 групп:

1 группа – однократное введение тетрахлорметана (CCl_4);

2 группа – трёхкратное введение тетрахлорметана (CCl_4);

3 группа – трёхкратное введение тетрахлорметана (CCl_4), с последующей терапией

с первого дня по 19-е сутки водным экстрактом портулака огородного (ЭПО) 3 раза в день перорально через зонд, в дозе 2 мл на 1 кг массы тела;

4 группа – трёхкратное введение тетрахлорметана (CCl₄), с последующей витаминотерапией (В₁, В₂, В₆, В₁₂, РР, Е, С) ежедневно в одно и то же время с первого дня по 19-е сутки исследования;

5 группа – трёхкратное введение тетрахлорметана (CCl₄), с последующей комплексной терапией витаминов и водного экстракта портулака огородного с первого дня по 19-е сутки исследования;

Витаминотерапию проводили по схеме: В₁, В₁₂ и С – с 9 ч утра, а витамины В₂, В₆, РР – после 15 ч дня.

Биохимические методы исследования.

Кровь для получения сыворотки и определения активности АЛТ брали ежедневно из краевой вены уха кролика [8; 9].

Активность АЛТ определяли с помощью тест-набора «Лахема».

Статистическую обработку проводили по t-критерию Стьюдента, методом малой выборки.

Результаты и их обсуждение.

Изучение активности сывороточной аланинаминотрансферазы (АЛТ) кроликов с поражением печени, вызванным однократным и трёхкратным введением четыреххлористого углерода (CCl₄) показало, что биохимические изменения соответствуют картине токсического поражения печени, установленной другими авторами на различных животных [1].

Ферментативная активность АЛТ в сыворотке крови кроликов при однократном и трёхкратном введении CCl₄ представлена в таблице № 1.

Первый раз кровь брали через 3 часа после отравления. Из полученных результатов следует, что при этом активность фермента не отличалась от нормативных значений.

На следующий день, через 24 ч после введения CCl₄, провели забор крови у всех кроликов для биохимического анализа, а за исключением 1-й группы, всем остальным ввели подкожно вторую дозу тетрахлорметана.

Анализ крови через сутки после однократной токсической нагрузки во всех исследованных группах показывают повышение активности фермента в 2 раза ($P < 0,01$) по сравнению с нормой. На 2 и 3-и сутки, через 48-72 часов после токсической нагрузки в 1-й группе кроликов активность АЛТ сохраняется на том же высоком уровне, что и после первых суток, превышая норму в 2 раза. Во 2-й группе после введения вторичной и

третичной токсической нагрузки на 2-е и 3-и сутки исследования активность АЛТ превышает норму в 3,4 раза, а результаты после первого отравления в 1,8 раз. Интересно отметить, что во второй группе после первой и второй токсической нагрузки активность АЛТ откликается каждый раз, повышением её на определённый уровень, а при третьей инъекции CCl_4 после вторых на 3-и сутки сохраняется на стабильно высоком уровне, как и в предыдущие дни.

Таким образом, пик активности АЛТ в сыворотке крови экспериментальных животных, подвергшихся токсическому поражению печени, введением CCl_4 , приходится на 2-е сутки эксперимента, а дальнейшая токсическая нагрузка на животных не повышает ферментативную активность АЛТ в сыворотке крови кроликов.

Отсутствие изменений уровня активности аминотрансферазы после третьего (трёхкратного) введения CCl_4 видимо, связано с повышением резистентности организма (через лизоцим и фагоцитарную активность) к CCl_4 за счет продуктов секреции печеночных макрофагов [10].

В 1-й группе кроликов, после переломного пика на вторые сутки, в дальнейшем наблюдается медленное снижение ферментативной активности АЛТ и достигает контрольных значений лишь на 19 сутки.

Во 2-й группе кроликов на 13 сутки активность АЛТ в сыворотке крови снижается на 33% ($P < 0,05$) по сравнению с восьмью сутками, но этот показатель всё еще превышает норму в 2 раза и на 19 сутки ещё остаётся стабильно высоким.

В 3, 4 и 5-й группах кролики с первого дня исследования получали терапию и 3-х кратные подкожные инъекции по 0,6 мл/кг CCl_4 . Как уже ранее отмечалось, в первые сутки исследования активность АЛТ относительно контроля повысилась в 2 раза, а на вторые сутки, после второй токсической нагрузки примерно в 2,7 раз. Если сравнивать и судить об эффективности терапии в 3, 4 и 5-й группах кроликов проводимой с первого дня исследования, во время и после трёхкратной токсической нагрузки видно, что на 2-е сутки, не смотря на повторную инъекцию CCl_4 , заметна тенденция к снижению активности фермента относительно данных 2-й группы. На 3-и сутки, уже после третьей инъекции CCl_4 , несмотря на токсическую нагрузку, активность АЛТ в группах с применяемой терапией, примерно в одинаковой мере снижается на 29% ($P < 0,05$) относительно данных 2-й группы, но относительно нормы ещё остаётся выше на 127% и на этом уровне держится до восьми суток (табл.1).

В 3-й и 4-й группах кроликов на 9-е сутки активность фермента, относительно значений его максимального пика на 2-е сутки, достоверно снизилась на 36% ($P < 0,05$), а в 5-й группе на 45% ($P < 0,05$), а относительно нормы в среднем всё ещё выше в 1,7 раз. При

сравнении активности АЛТ на 9-е сутки с данными 2-й группы наблюдается значимое снижение в 3-й и 4-й группах на 35%, а в 5-й на 47% ($P < 0,05$), что указывает на существенный эффект терапии при многократном остром отравлении.

Таблица 1. Активность аланинаминотрансферазы в сыворотке крови кроликов при различных вариантах исследования (в мк. кат/л).

Часы/ сутки	Интактные животные Норма n=10	Однократно е введение ССТ ₄ , без терапии n = 6	Трёхкратно е введение ССТ ₄ Без терапии n = 6	Терапия портулако м после трёхкратн ого введения ССТ ₄ n= 6	Терапия витаминами после трёхкратног о введения ССТ ₄ n = 6	Комплексная терапия после трёхкратного введения ССТ ₄ n = 7
		1 группа	2 группа	3 группа	4 группа	5 группа
3 ч	0,42 ± 0,04	0,41 ± 0,03	0,40 ± 0,08	0,44 ± 0,08	0,43 ± 0,04	0,42 ± 0,07
24 ч 1 сутки		0,80 ± 0,06 *	0,78 ± 0,06*	0,76 ± 0,0*	0,77 ± 0,09*	0,79 ± 0,08*
48 ч 2 сутки		0,85 ± 0,04*	1,40 ± 0,09*	1,17 ± 0,0*	1,13 ± 0,07*	1,11 ± 0,09*
72 ч 3 сутки		0,77 ± 0,04*	1,38 ± 0,09*	1,0 ± 0,08*	0,98 ± 0,07*	0,99 ± 0,05*
96 ч 4 сутки		0,68 ± 0,04*	1,26 ± 0,08*	1,1 ± 0,01*	0,94 ± 0,01 *	0,88 ± 0,12*
120 ч 5 сутки		0,66 ± 0,06*	1,28 ± 0,09*	0,95 ± 0,0*	0,94 ± 0,02*	0,89 ± 0,05*
168 ч 7 сутки		0,83 ± 0,04*	1,28 ± 0,07*	0,89 ± 0,0*	0,85 ± 0,02*	0,79 ± 0,12*
192 ч 8 сутки		0,64 ± 0,03*	1,24 ± 0,1 *	0,92 ± 0,0*	0,86 ± 0,04*	0,88 ± 0,11*
216 ч 9 сутки		0,64 ± 0,03*	1,15 ± 0,09*	0,75 ± 0,0*	0,74 ± 0,01*	0,61 ± 0,07*
240 ч 10 сутки		0,64 ± 0,03*	1,12 ± 0,07*	0,74 ± 0,0*	0,71 ± 0,06*	0,64 ± 0,13*
312 ч 13 сутки		0,58 ± 0,04*	0,83 ± 0,1*	0,65 ± 0,1*	0,62 ± 0,05*	0,51 ± 0,12*
384 ч 16 сутки		0,52 ± 0,04*	0,85 ± 0,07*	0,55 ± 0,0*	0,61 ± 0,06*	0,43 ± 0,06
456 ч 19 сутки		0,45 ± 0,08	0,84 ± 0,09*	0,45 ± 0,0*	0,57 ± 0,03*	0,41 ± 0,09

Примечание: *- значения достоверны по отношению к норме

Следующий существенный перелом к снижению активности аминотрансферазы в

группах с терапией наблюдается на 13 сутки.

Следует отметить, что 3-я и 4-я группы кроликов, получающие терапии: экстракт портулака и витамины соответственно выражаются, как самостоятельные и равные по эффекту снижения активности АЛТ на 44%, в то время как в 5-й группе, с комбинированной терапией, снижение составило 54%, относительно пиковой активности фермента во 2-й группе.

На 16 сутки, активность аминотрансферазы в 5-й группе варьирует в пределах нормы, в то время, как активность фермента в 3-й группе всё ещё выше на 25% ($P < 0,05$), а в 4-й группе выше на 32% ($P < 0,05$), что указывает на весомый, достоверный эффект комбинированной терапии.

На 19-е сутки активность фермента в 3-й группе с водным экстрактом портулака огородного снизилась до контрольных значений, а в 4-й группе с витаминотерапией всё ещё достоверно выше на 36% ($P < 0,05$).

Как видно из полученных результатов исследования, активность сывороточной трансаминазы у кроликов при отравлении CCl_4 - достигает нормальных значений быстрее у животных в 3-й группе, получивших терапию экстрактом портулака огородного, чем в 4-й группе которым вводились витамины.

При применении комбинированной терапии острого токсического гепатита комплексом витаминов и экстрактом портулака огородного наблюдается наилучший результат по восстановлению активности сывороточной АЛТ, что указывает на взаимодополняемые целебные свойства применяемых в терапии нутрицевтиков.

Таким образом, исходя из полученных результатов, можно сделать вывод о том, что экстракт портулака огородного, как в отдельности, так и в комплексе с витаминами вызывает снижение уровня ферментативной активности сывороточной трансаминазы у животных с токсическим поражением печени. Гепатопротекторные свойства портулака огородного, по-видимому, обусловлены как содержащимися в его составе витаминами - Е, РР, С, так и коричневыми кислотами. Это подтверждается работами по изучению гепатозащитного действия синтетических аналогов коричной кислоты и ее производных, которое в некоторых случаях превышало действие уже известных гепатопротекторов. Флавоноиды, содержащиеся в портулаке относятся к гепатопротекторам антиоксидантной группы [11].

Выводы

1. В 1-й группе кроликов, после однократного подкожного введения CCl_4 наблюдается восстановление ферментативной активности АЛТ до нормальных значений на 19 сутки.
2. Во 2-й группе кроликов, после трёхкратного подкожного введения CCl_4 на 19 сутки ферментативная активность АЛТ выше нормальных значений в 2 раза.

3. Максимальная активность АЛТ в сыворотке крови экспериментальных животных после однократного и трёхкратного подкожного введения CCl_4 , приходится на 2-е сутки исследования.
4. В 3-й группе кроликов после трёхкратного подкожного введения CCl_4 и получавших терапию с водным экстрактом портулака огородного, активность АЛТ снизилась до нормальных значений на 19-е сутки исследования.
5. Комбинированная терапия, комплексом витаминов и экстрактом портулака огородного, в 5-й группе кроликов после трёхкратного подкожного введения CCl_4 нормализует активность АЛТ на 16 сутки исследования.

Список литературы

1. Хныченко, Л.К. Гепатозащитные свойства белков сои и возможность их использования в диетотерапии хронического токсического гепатита. /Л.К. Хныченко, В.В. Бульон, И.С. Заводская, И.С. Сапронов, Л.В. Гапонова// Бюл. exper. биол. и мед. 2000., т . 129. №4, с. 283 -285.
2. Мирзаахмедова, К.Т. Влияние иммуномодулина и соединений фитина на показатели перекисного окисления липидов при экспериментальном токсическом гепатите. /К.Т. Мирзаахмедова, А.А. Абдусаматов, А.Н. Набиев // Сибирский медицинский журнал, 2009. - № 5- с.122-124.
3. Mirzaahmedova, K.T. The effect of immunomoduline and phytin compounds on lipid peroxidation induced at toxic experimental hepatitis. /K.T. Mirzaahmedova, KH. Abdullaeva, E.E. Akhmadiev, H.T. Ziyayeva // International conference on chemical, biological and health sciences. Conference Proceedings. Smashwords, Inc. 2017/- 99-106.
4. Дынжинова, Е.А. Фармакологическая активность и фармако - терапевтическая эффективность гепатопротекторного растительного средства при остром токсическом гепатите. Улан-Удэ, 2007, 137с.
5. Кароматов, И.Д. Новая жизнь в медицине лекарственного растения портулак огородный. /И.Д. Кароматов, М.Х. Абдухалилова // Электронный научный журнал «Биология и интегративная медицина 2017 -№6. - с.211-230.
6. Волощук, О.Н. Hepato-protective activity of aqueous extract of *Portulaca oleracea* in combination with lycorine in rats. / О.Н. Волощук, Г.П. Копыльчук, И.М. Пучковская - Indian. J. Pharmacol. 2011, Sep, 43(5), 563-567.
7. Волощук, О.Н. Активность маркерных ферментов печени при токсическом гепатите в условиях алиментарной депривации протеина. / О.Н. Волощук, Г.П. Копыльчук, И.М. Пучковская //Журн. эксперим. и клин. гастроэнтерология. -2014.-108 (8). С.96-100.

8. Западнюк И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, исследования в эксперименте. / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Б.В. Западнюк, Е.А. Захария. // Киев: Вища школа. 1983, - 383 с.
9. Шейхова, Р.Г. Влияние экстракта портулака огородного на билирубиновые фракции в крови кроликов при токсическом гепатите. /Р.Г. Шейхова, П.М. Нурмагомедова, З.У. Гасанова. //Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6; URL: <http://www.science-education.ru>.
10. Горецкая М.В. Синтетическая функция печени и гуморальные факторы иммунитета. / М.В. Горецкая// Гр.ГМУ Лекции и обзоры. - 2008.- № 2.- С 7- 11.
11. Аюшиева С.Ц. Основные группы гепатопротекторных препаратов. // Сиб. мед. обоз. 2006. - Т. 41, № 4. - С. 10-16.