

# ВОПРОСЫ АЛКОГОЛИЗМА

## ВЛИЯНИЕ ПОЛИПРЕНОЛОВ ПИХТЫ И КАРСИЛА НА ТЕЧЕНИЕ АЛКОГОЛЬНОГО ГЕПАТИТА

Е. В. Вайс<sup>1</sup>, Т. В. Хуршкайнен<sup>2</sup>, Н. В. Турсунова<sup>1</sup>, З. А. Хушбакова<sup>1</sup>,  
В. Н. Сыров<sup>1</sup>, А. В. Кучин<sup>2</sup>

Введение полипренолов, выделенных из пихты, крысам-самцам массой 170 – 180 г с алкогольным гепатитом способствовало уменьшению цитолиза гепатоцитов и холестаза, улучшению белок- и гликогенсинтезирующей функции печени. Отмечалась тенденция к нормализации в пораженном органе содержания общих липидов, триглицеридов и фосфолипидов, ингибирование процессов перекисного окисления липидов. Под влиянием полипренолов улучшался процесс секреции желчи и ее химический состав.

**Ключевые слова:** полипренолы пихты, алкогольный гепатит, метаболически-функциональное состояние печени, гепатозащитное действие

### ВВЕДЕНИЕ

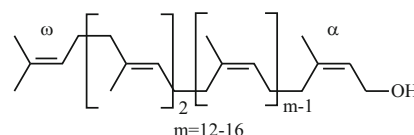
Полипренолы, выделенные из различных растений, привлекают внимание разнообразной биологической активностью. На их основе разработан ряд лекарственных препаратов, эффективных при заболеваниях, вызываемых вирусами, при стрессе, при иммунодефицитных состояниях. Экспериментально доказана возможность некоторых полипренолов позитивно влиять на тревожно-депрессивноподобное поведение у крыс с моделью деменции альцгеймеровского типа. Большой интерес вызывает их способность стимулировать процессы регенерации [10, 12, 13]. В настоящей работе проанализирована целесообразность использования полипренолов для восстановления метаболически-функционального состояния печени у животных с алкогольным гепатитом. Это связано с тем, что алкогольная интоксикация организма, особенно носящая длительный характер, часто сопровождается серьезными нарушениями в гепато-билиарной системе [5, 14]. Выявление эффективных средств для использования в этих обстоятельствах имеет важное значение для нужд практической гепатологии.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Древесную зелень пихты перерабатывали эмульсионным способом [6]. Из эмульсионного раствора экстракцией петролейным эфиром (40 – 70 °С) извлекали нейтральные вещества. Сумму нейтральных веществ омыляли 15 % водно-спиртовым раствором гидроксида калия перемешиванием в течение трех часов при кипении. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь экстрагировали петролейным эфиром. Эфирный экстракт неомыленных компонентов промывали насы-

щенным раствором NaCl, сушили над безводным сульфатом натрия, упаривали досуха.

Хроматографией неомыленных компонентов на силикагеле (элюэнт петролейный эфир — диэтиловый эфир возрастающей полярности 100:1 – 95:5) получали полипренолы с выходом 0,1 – 0,2 % от веса исходного сырья.

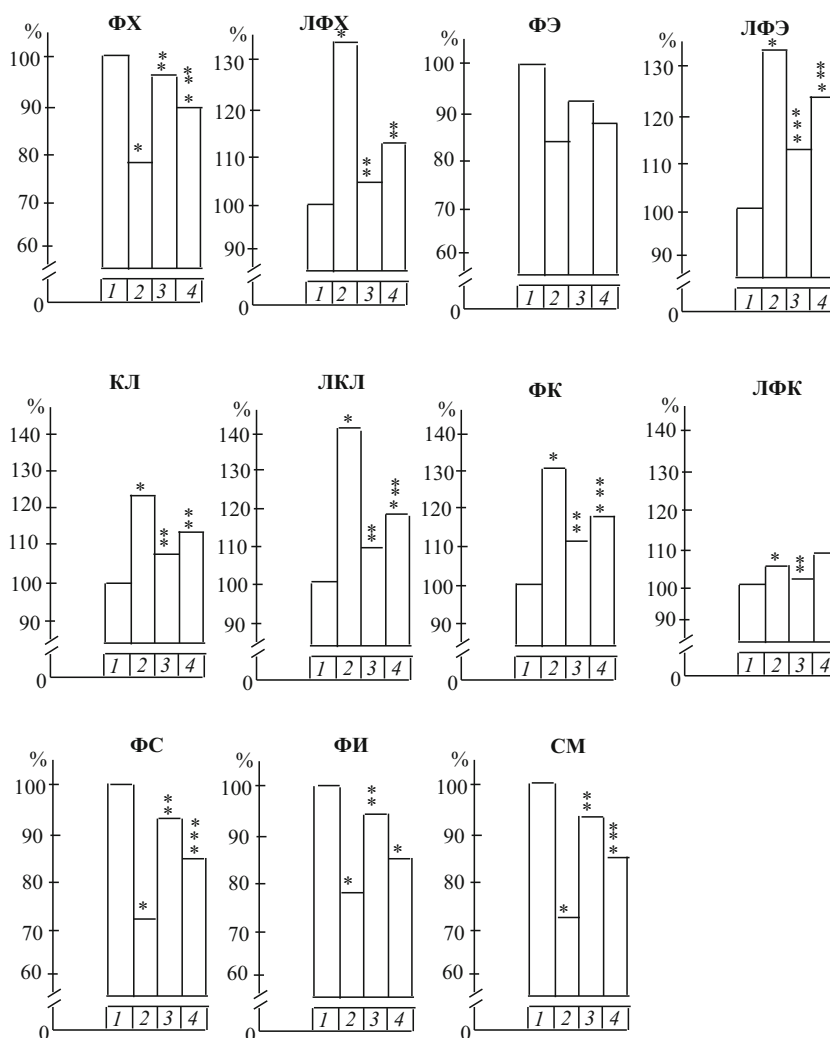


Физико-химические характеристики полипренолов пихты приведены в сообщении [4].

Алкогольный гепатит вызывали у крыс самцов массой 170 – 180 г. Для этого животным через зонд в желудок вводили 40 % этиловый спирт по 0,7 мл на 100 г массы тела один раз в день в течение 21 суток [7]. Полипренолы (ПП) пихты вводили в дозе 0,5 мг/кг, препарат сравнения карсил (гепатозащитное средство [8]) — в дозе 50 мг/кг внутрь в течение всего периода наблюдения, начиная с 1-го дня эксперимента (через 6 ч после введения этанола). На 14-е и 21-е сутки часть животных из каждой группы декапитировали под легким эфирным наркозом. В сыворотке крови определяли активность ферментов — маркеров синдрома цитолиза гепатоцитов: аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспаргатаминотрансферазы (АсАТ) по [20] и маркера холестаза — щелочной фосфатазы (ЩФ) по [16]. Кроме того, определяли общее содержание белка (рефрактометрически) и холестерина [15]. Непосредственно в ткани печени определяли содержание общих липидов [17], триглицеридов [19], фосфолипидов [21]. Основные фракции фосфолипидов получали по описанию [22]. Для определения содержания малонового диальдегида (МДА) пользовались методом [9], гликогена — [18]. В оба срока наблюдения у части животных под барбитуровым наркозом (1 % раствор, внутривенно в дозе 1 мл на 100 г массы тела) через катетер, вставленный в общий желчный проток, собирали желчь часовыми

<sup>1</sup> Институт химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова АН Республики Узбекистан, Ташкент, 100170, проспект М. Улугбека, 77.

<sup>2</sup> Институт химии Коми научного центра УрО РАН, Россия, Сыктывкар.



Изменение фосфолипидного спектра печени у крыс с этаноловым гепатитом (2) под влиянием полипrenoлов пихты (3) и карсила (4) в % к соответствующим показателям интактных животных (1).

ФХ — фосфатидилхолин, ЛФХ — лизофосфатидилхолин, ФЭ — фосфатидилэтанолламин, ЛФЭ — лизофосфатидилэтанолламин, КЛ — кардиолипин, ЛКЛ — лизокардиолипин, ФК — фосфатидная кислота, ЛФК — лизофосфатидная кислота, ФС — фосфатидилсерин, ФИ — фосфатидилинозитол, СМ — сфингомиелин. Достоверность по отношению: \* — к показателям интактных животных; \*\* — к контролю ( $p < 0,05$ )

порциями (в течение 4-х часов), в которой определяли концентрацию билирубина [11], желчных кислот [3] и холестерина [2].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента (М. Л. Беленький, 1963).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введение животным алкоголя в наших опытах способствовало развитию выраженного синдрома цитолиза и холестаза в печени. Об этом свидетельствуют данные, представленные в таблице. Так, активность ферментов сыворотки крови АЛАТ и АсАТ на 14-й и 21-й день наблюдения была выше, чем у интактных животных, на 78,7 – 17,9 % и 82,9 – 25,4 % соответственно. Активность ЩФ в эти сроки была повышена — 75,3 и 72,8 %. Содержание холестерина в сыворотке крови было выше интактных значений на 81,8 и 97,1 %.

Выраженным было и уменьшение общего содержания белка (через 14 дней на 19,5 %, через 21 день — на 22,2 %).

Из результатов экспериментов, представленных в таблице, видно, что введение животным этанола в течение 3-х недель сопровождалось серьезными нарушениями метаболически-функционального состояния пораженного органа. Так, у контрольных крыс обращало на себя внимание резкое повышение в печени содержания общих липидов, составляющее на 14-й день 20,4 %, а на 21-й день — 47,1 %. Это повышение происходило в основном за счет триглицеридов (таблица). Содержание фосфолипидов, напротив, оказалось сниженным. При этом наблюдалась активация процессов перекисного окисления липидов, о чем свидетельствовало увеличение в эти сроки МДА на 53,5 и 97,9 % соответственно. В работе [1] высказывалось мнение, что продукты перекисного окисления липидов оказывают «лабилизующее» влияние на лизосомы, что может способствовать высвобождению

фосфолипиды А. Это в определенной степени могло явиться причиной обнаруживаемого нами дисбаланса в содержании отдельных фосфолипидных фракций, характеризующегося резким увеличением лизофосфолипидов, особенно проявляющееся на 21-й день наблюдения (рисунок). Последние, являясь токсическими продуктами, приводят к деструкции мембран гепатоцитов, что сопровождается нарушением их функционального состояния. Как видно из представленной таблицы, поступление алкоголя в организм крыс также приводило к угнетению гликоген-синтезирующей функции печени (особенно через 3 недели его введения), подавляло желчсекреторные процессы. В выделившейся желчи отмечено снижение процентного содержания желчных кислот и холестерина. Холато-холестериновый коэффициент в желчи интактных животных составлял 49,6, у крыс с алкогольным гепатитом он уменьшился к 14-му дню на 19,6 %, а к 21 дню — на 35,7 %. Существенно нарушенным было и печеночное звено обмена билирубина (таблица).

В том случае, когда крысам, наряду с этиловым спиртом, вводили ПП, активность сывороточных ферментов АлАТ и АсАТ была на 14-й день выше, чем у интактных животных, на 23,4 и 8,9 % соответственно. На 21-й день активность АлАТ была повышена только на 17 %, а АсАТ практически нормализовалась. Аналогичная картина прослеживалась и в отношении ЩФ. В указанные выше сроки ее активность превышала значения интактных животных на 33,3 и 13,6 %. Способствовали полипrenoлы и поддержанию на повышенном уровне (по сравнению с

контрольными животными) общего содержания белка в сыворотке крови. Так, на 14-й день наблюдения содержание белка было всего на 11,1 %, а на 21-й день — на 5,6 % ниже, чем у интактных животных (соответственно выше показателей контрольных крыс на 10,3 и 21,4 %). Содержание холестерина в сыворотке крови крыс, получавших на фоне алкогольной интоксикации ПП, также мало отличалось от значений интактного контроля, особенно на 21-й день наблюдения (таблица).

Непосредственно в ткани печени опытных животных не наблюдалось столь выраженной жировой инфильтрации. Содержание общих липидов на 14-й и 21-й дни наблюдения было ниже соответствующего контроля на 14,5 и 30,4 % (таблица). В эти же сроки содержание в печени триглицеридов было ниже контрольного уровня на 34,4 и 53,4 %, а фосфолипидов — выше на 17,1 и 41,2 %. У крыс, получавших наряду с этиловым спиртом исследуемые ПП, не наблюдалось столь резкой, как в контроле, активации процессов перекисного окисления липидов. Содержание у них в печени МДА через 2 и 3 недели наблюдения было на 25,3 и 43,6 % ниже, чем в контроле, и всего на 14,6 и 11,6 % выше этого показателя у интактных животных. Оказывая определенное антиоксидантное действие, ПП препятствуют развитию негативных изменений в фосфолипидном метаболизме, ингибируя образование лизофосфолипидных фракций, оказывающих деструктивное действие на печеночную паренхиму. По данным, представленным на рисунке, к 21 дню наблюдения содержание лизофосфатидилхолина, лизофосфатидил-

#### Влияние полипrenoлов пихты и карсила на показатели, отражающие метаболически-функциональное состояние печени при развитии этанолового гепатита ( $M \pm m$ , $n = 6 - 8$ )

Условия эксперимента	Интактные животные	Дни наблюдения					
		14-й			21-й		
		Контроль (этанол)	Этанол + полипrenoлы	Этанол + карсил	Контроль (этанол)	Этанол + полипrenoлы	Этанол + карсил
1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Сыворотка крови</i>							
АлАТ, мМ	0,94 ± 0,06	1,68 ± 0,12*	1,16 ± 0,10**	1,24 ± 0,12*,**	1,72 ± 0,16*	1,10 ± 0,07**	1,18 ± 0,08*,**
ПВК/мл/час							
АсАТ, мМ	1,34 ± 0,04	1,58 ± 0,06*	1,46 ± 0,05	1,48 ± 0,05	1,68 ± 0,07*	1,32 ± 0,03**	1,40 ± 0,04**
ПВК/мл/час							
ЩФ, ед/л	162 ± 11,4	284 ± 22,4*	216 ± 12,2*,**	242 ± 18,2*	280 ± 24,2*	184 ± 13,8**	198 ± 11,8**
Белок, г %	7,2 ± 0,16	5,8 ± 0,16*	6,4 ± 0,22*,**	6,2 ± 0,18*	5,6 ± 0,08*	6,8 ± 0,18**	6,6 ± 0,16*,**
Холестерин, мг %	68,2 ± 4,6	124,0 ± 13,6*	80,6 ± 5,8**	94,2 ± 8,4*	134,4 ± 14,4*	76,2 ± 6,4**	82,4 ± 5,2**
<i>Печень</i>							
Общие липиды, мг %	4290 ± 260	5164 ± 182*	4418 ± 272**	4564 ± 428	6310 ± 360*	4392 ± 400**	4670 ± 252**
Триглицериды, мг %	1488 ± 80,2	2500 ± 170*	1640 ± 124**	1890 ± 72,4*,**	3820 ± 302*	1780 ± 48,6*,**	2016 ± 118*,**
Фосфолипиды, мг %	2180 ± 98,0	1794 ± 82,6*	2100 ± 44,0**	1910 ± 84,6	1492 ± 68,4*	2106 ± 72,6**	2060 ± 46,4**
МДА, нмоль/мг белка	0,860 ± 0,08	1,320 ± 0,10*	0,986 ± 0,06**	1,100 ± 0,07*	1,702 ± 0,09*	0,960 ± 0,07**	0,980 ± 0,08**
Гликоген, мг %	2102 ± 50,4	930,0 ± 42,4*	1402 ± 52,6*,**	1282 ± 54,0*,**	860 ± 32,0*	1980 ± 54,8**	1580 ± 62,4*,**
Общее количество желчи, мг/100 г за 4 часа	1050 ± 54,2	760 ± 30,2*	920 ± 40,2**	852 ± 74,0	580 ± 42,2*	1010 ± 54,2**	920 ± 24,2*,**
Желчные кислоты, мг %	1348 ± 44,6	806 ± 38,2*	1082 ± 58,4*,**	962 ± 26,4*,**	580 ± 32,4*	1296 ± 47,4**	1120 ± 84,2*,**
Холестерин, мг %	27,2 ± 0,70	20,2 ± 0,40*	25,2 ± 0,66**	22,4 ± 0,62*,**	18,2 ± 0,60*	26,2 ± 0,54**	24,2 ± 0,32**
Билирубин, мг %	23,8 ± 0,72	14,6 ± 0,52*	20,2 ± 0,68*,**	18,8 ± 0,60*,**	13,6 ± 0,44*	24,2 ± 0,84**	21,2 ± 0,70*,**

\* достоверность по отношению к показателям интактных животных, \*\* достоверность по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ).

этанолamina, лизокардиолипина и лизофосфатидных кислот было на 30,4, 21,2, 33 и 12 % ниже соответствующих показателей контрольных животных. Необходимо отметить, что исследуемые ПП препятствовали понижению биосинтеза фосфатидилхолина и фосфатидилэтанолamina, имеющих большое значение для поддержания нормального функционирования клеточных мембран.

О способности исследуемых полипренолов поддерживать метаболизм гепатоцитов на высоком уровне на фоне алкогольной интоксикации свидетельствовало также их гликоген-сберегающее действие.

ПП способствовали восстановлению желчсекреторных процессов у крыс с алкогольным поражением печени, оказывали выраженное нормализующее влияние на концентрационное содержание желчных кислот и холестерина в желчи. В результате величина холато-холестеринового коэффициента на 14-й и 21-й дни наблюдения, составляющая 42,9 и 49,4 % соответственно, приближалась к показателю интактных животных. Процентное содержание билирубина в желчи крыс, получавших на фоне воздействия алкоголя исследуемые ПП, за все время опыта практически не отличалось от нормы.

Сравнение гепатозащитной активности ПП в условиях алкогольного поражения печени с эффектом карсила показало одинаковую направленность их лечебного действия. Следовательно, исследуемые полипренолы перспективны с точки зрения разработки на их основе лекарственных средства, которое может быть использовано при лечении алкогольного поражения печени.

## ВЫВОДЫ

1. Полипренолы, выделенные из древесной зелени пихты, при введении крысам одновременно с поступлением в их организм этилового спирта оказывают отчетливое гепатозащитное действие, проявляющееся в уменьшении синдрома цитолиза гепатоцитов и холестаза, нормализации метаболически-функциональных показателей состояния печени.

2. По эффективности в условиях алкогольной интоксикации исследованные полипренолы не уступают карсилу.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Венгеровский, В. С. Чучалин, О. В. Паульс, А. С. Саратиков, *Бюл. exper. биол.*, № 4, 430 – 432 (1987).
2. С. М. Дроговоз, *Вопр. мед. химии*, № 4, 397 – 400 (1971).
3. Я. И. Карбач, *Биохимия*, **26**(2), 305 – 309 (1961).
4. А. А. Королева, Л. П. Карманова, А. В. Кучин, *Известия ВУЗов. Химия и хим. технология*, **51**(2), 87 – 91 (2008).
5. Ю. А. Кравчук, С. Н. Мехтиев, Ю. П. Успенский и др., *Клин. мед.*, № 6, 55 – 57 (2004).
6. А. В. Кучин, Л. П. Карманова, А. А. Королева и др., Патент РФ 2117487, *Бюлл. Изобр.*, № 23 (1998).
7. И. Д. Мансурова, С. О. Олимова, *Эксперим. Гепатология*, Рига (1985), с. 41.
8. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, 15-е изд., Т. 1, РИА “Новая волна”, Москва (2008), сс. 526 – 527.
9. *Современные методы в биохимии*, В. Н. Орехович (ред.), Медицина, Москва (1977), сс. 66 – 68.
10. В. И. Рошин, В. С. Султанов, Патент РФ 2252026, *Бюлл. Изобр.*, № 14 (2005).
11. Н. П. Скакун, *Пробл. эндокринологии*, № 6, 75 – 80 (1956).
12. Ю. О. Федотова, В. С. Султанов, Н. Н. Кузнецова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **73**(9), 2 – 5 (2010).
13. Н. К. Хидырова, Х. М. Шахидоятов, *Химия природ. соедин.*, № 2, 87 – 98 (2002).
14. Ш. Шерлок, Дж. Дули, *Заболевания печени и желчных путей*, ГЭОТАР Медицина, Москва (1999).
15. L. L. Abell, V. B. Levy, V. B. Brodie, F. E. Kendall, *J. Biol. Chem.*, **195**, 357 – 366 (1952).
16. O. Bessey, O. Lowry, M. Brock, *J. Biol. Chem.*, **164**(1), 34 – 329 (1946).
17. J. Folch, M. Less, G. H. S. Stanley, *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 – 509 (1957).
18. S. Lo, J. C. Russell, A. W. Taylor, *J. Appl. Physiol.*, **28**(2), 234 – 236 (1970).
19. B. P. Neri, C. S. Frings, *Clin. Chem.*, **19**(10), 1201 – 1202 (1973).
20. S. Reitman, S. Franke, *Amer. J. Clin. Pathol.*, **28**, 56 – 63 (1957).
21. A. Svanborg, L. Svennrholm, J. Myren, et al., *Acta med. Scand.*, **169**, 43 – 49 (1961).
22. V. E. Vaskovsky, E. Y. Kostetsky, I. M. Vasendin, *J. Chromatography*, **114**(1), 129 – 141 (1975).

Поступила 09.09.11

## PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF ABIES POLYPRENOLS AND CARSIL ON ALCOHOL-INDUCED HEPATITIS

E. V. Vais<sup>1</sup>, T. V. Khurshkainen<sup>2</sup>, N. V. Tursunova<sup>1</sup>, Z. A. Khushbaktova<sup>1</sup>, V. N. Syrov<sup>1</sup>, and A. V. Kuchin

<sup>1</sup> Yunusov Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, M. Ulugbek prosp. 77, Tashkent, 100170, Uzbekistan

<sup>2</sup> Institute of Chemistry, Komi Scientific Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

The introduction of polyprerenols isolated from fir (*Abies*) tree in male rats weighing 170 – 180 g with alcohol-induced hepatitis favored reduction in hepatocyte cytolysis and cholestasis and led to an improvement of the protein- and glycogen-synthesizing function of liver. A clear tendency to normalization of the maintenance of total lipids, triglycerides and phospholipids and the inhibition of lipid peroxidation processes in the damaged organ was observed. The introduction of *Abies* polyprerenols also improved the process of bile secretion and its chemical composition.

**Key words:** Polyprerenols isolated from fir (*Abies*) tree, alcohol-induced hepatitis, liver metabolism status, hepatoprotective effect