

УДК: 615.32.322+615.32.324 +615.36

©Коллектив авторов

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА БАЛЬЗАМА "ГЕРБАМАРИН*-ПЕЧЕНОЧНЫЙ" И ГИДРОЛИЗАТОВ МОРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ И ЭТАНОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ОРГАНИЗМА

*Т.И. Бурцева, Н.В. Семенова, А.М. Попов, И.А. Ли, О.Б. Веселова,
Э.П. Козловская.*

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН,
690022 Владивосток, пр. 100-лет Владивостоку, 159;
тел.: (4232)311661; факс: 314050,
эл. почта: popovam@KM.ru, izinali@piboc.dvo.ru

Профилактическое и гепатопротекторное действия сиропоного бальзама "Гербамарин*-печеночный" и пищевых гидролизатов краба, кальмара и гребешка, входящих в его состав, исследовали на модели токсического гепатита и этанольной интоксикации, индуцированных у экспериментальных животных.

Профилактическое применение исследуемого бальзама и гидролизатов морских беспозвоночных в значительной степени предотвращает функциональные нарушения в печени, вызванные токсическим гепатитом и восстанавливают практически до нормальных значений уровень продуктов перекисного окисления липидов и печеночного белка, а также значительно снижают количество билирубина и значения активности аминотрансфераз в плазме крови.

Предварительное введение животным бальзама и гидролизатов краба, кальмара и гребешка на фоне последующей этанольной интоксикации, а также одновременное введение этих биологически активных добавок (БАД) с 40%-ным этанолом способствует нормализации клинико-диагностических показателей печени, крови и плазмы крови животных по сравнению с результатами, полученными при этанольной интоксикации контрольных животных. При этом практически восстанавливается белоксинтезирующая функция гепатоцитов, а также наблюдается значительный гипохолестеринемический эффект. Действие исследуемых БАД направлено также на усиление лейкоцитарной функции, способствующей утилизации и выведению из организма токсических продуктов.

Ключевые слова: биологически активные добавки, антиоксиданты, гепатопротекторы, гепатобилиарная система.

ВВЕДЕНИЕ. Комплексная система профилактики алкоголизма предусматривает увеличение процента потребления населением легких малотоксических алкогольных напитков. Одним из способов снижения их токсичности может быть включение в крепкие спиртные напитки сложных композиций биологически активных веществ (БАВ) природного происхождения. Алкоголь стал проявлять свои ядовитые свойства по мере упрощения его химического состава до дистиллированного этанола, употребляемого в виде водки и других крепких напитков. Народный опыт противопоставляет этому введение в состав таких напитков разнообразных добавок растительного и животного

ГЕРБАМАРИН ПЕЧЕНОЧНЫЙ В ЛЕЧЕНИИ ГЕПАТИТА

происхождения. Так, в восточной медицине было показано что корень женьшеня, элеутерококка и многие другие лекарственные травы, добавленные в водку, снижают токсичность этанола [1].

Известно, что под действием алкоголя нарушаются процессы синтеза белка, холестерина и стероидных гормонов в печени, резко падает способность организма обезвреживать яды. Нарушение белкового обмена ставит организм в невыгодные условия, уменьшая его сопротивляемость к различным инфекциям, воздействию других вредоносных факторов окружающей среды.

Показано [2], что повышение устойчивости животных и человека к неблагоприятным факторам может быть достигнуто с помощью адаптогенов, обладающих антиоксидантным действием. Поскольку возникновение продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) является одним из факторов в развитии патологии и при этанольной интоксикации, фармакологическая регуляция этого процесса приобретает важное теоретическое и практическое значение.

С учетом особенностей повреждений печени была разработана и успешно применяется в профилактических и терапевтических целях биологически активная добавка (БАД) сиропный бальзам "Гербамарин®-печеночный" [3, 4]. Данный бальзам включает широкий спектр необходимых для нормального функционирования печени белков, аминокислот, витаминов и других БАВ растительного и животного происхождения. Состав рецептуры и соотношения компонентов в сиропном бальзаме позволяют наиболее эффективно воздействовать на метаболические процессы, главным образом, в печени, поддерживая их равновесие.

Для объективной оценки лечебно-профилактических свойств данного бальзама и гидролизатов морских беспозвоночных, входящих в его состав, мы изучили их действие на показатели гепатобилиарной системы экспериментальных животных на модели токсического гепатита и в условиях этанольной интоксикации.

МЕТОДИКА. В работе исследовали сиропный бальзам "Гербамарин®-печеночный" для лечения и профилактики печеночных заболеваний, разработанный в Тихоокеанском Институте биоорганической химии ДВО РАН и прошедший необходимые испытания в клинике Института питания РАМН [3]. Исследование гепатопротекторных свойств указанного бальзама и гидролизатов морских беспозвоночных, входящих в его состав, проведено на модели токсического гепатита, индуцированного четыреххлористым углеродом (CCl_4) у экспериментальных животных (аллогенные мыши 20 ± 2 г), а также на фоне их этанольной интоксикации. Профилактическое действие бальзама и его составных компонентов в первом случае проведено на семи группах животных (по 10 особей в каждой группе). Две опытные группы мышей поили бальзамом, разбавленным дистиллированной водой в 10 и 20 раз, в течение 20 дней. Три группы животных поили 0,1%-ными водными растворами гидролизатов краба, кальмара и гребешка. Две группы животных (интактная и CCl_4 -контроль) получали дистиллированную воду (табл. 1). Через 16 часов после последнего приема бальзама и гидролизатов всем группам животных, кроме интактной, внутрибрюшинно вводили смесь CCl_4 -растительное масло (1:1, по объему) по 300 мкл на 100 г массы тела животного. Через 2 ч после интоксикации CCl_4 животных подвергали эвтаназии. Гепаринизированную кровь центрифугировали при 4000 об/мин в течение 15-20 мин. Полученную плазму крови использовали для биохимических испытаний.

Изучение действия бальзама и гидролизатов морских беспозвоночных на фоне этанольной интоксикации проводили на десяти группах животных (по 10 особей в каждой) в течение двух недель. Для изучения лечебного действия вышеуказанных БАД четыре группы животных принимали в первую неделю питьевую воду. В течение второй недели им вводили перорально через зонд 40%-ный этанол (по 130 мкл на мышь ежедневно) и параллельно поили их 10%-ным водным раствором бальзама, 0,1%-ными водными растворами гидролизатов краба,

кальмара и гребешка соответственно (поилки). В целях профилактики следующие четыре группы животных в течение первой недели поили 10%-ным водным раствором бальзама и 0,1%-ными водными растворами гидролизатов краба, кальмара и гребешка соответственно. В течение второй недели животных поили этими же БАД и ежедневно вводили им перорально через зонд 40%-ный этанол (130 мкл на мыш). Животных двух контрольных групп (интактной и этанольной) поили: интактных - водой в течение двух недель; этанольных - водой в течение первой недели и 40%-ным этанолом (зонд 130 мкл на мыш ежедневно) в течение второй недели. В конце второй недели животных подвергали эвтаназии. Кровь использовали для подсчета лейкоцитов. Плазму крови получали как описано выше.

Таблица 1. Влияние БАД "Гербамарин®-печеночный" и гидролизатов морских гидробионтов на клинико-диагностические показатели ткани печени и плазмы крови экспериментальных животных при токсическом гепатите.

№	Группы животных	Инттоксикация ССЛ ₄	ТБК-реактивные продукты, мкмоль/г ткани*	Дниевые конъюгаты, мкмоль/г ткани	Билирубин, мкмоль/л	Белок, мг/100 мг ткани	АлАТ, мкмоль/л.час	АсАТ, мкмоль/л.час
1	Интактная группа	-	1,08±0,12	0,20±0,02	60,7±5,4	13,4±1,2	3,3±0,3	6,7±0,6
2	ССЛ ₄ -контроль	+	1,40±0,14	0,30±0,03	193,3±17,9	9,9±0,8	7,4±0,6	11,8±1,1
3	+"Гербамарин" (1:10)	+	1,16±0,10	0,28±0,03	72,2±6,8	10,5±1,0	3,2±0,3	6,6±0,4
4	+"Гербамарин" (1:20)	+	1,12±0,10	0,20±0,01	62,1±5,6	12,7±1,2	3,5±0,3	6,3±0,6
5	Гидролизат краба (0,1%)	+	0,80±0,08	0,21±0,02	55,5±4,9	11,9±1,0	3,3±0,3	6,1±0,5
6	Гидролизат кальмара (0,1%)	+	0,72±0,06	0,14±0,01	44,2±4,2	11,3±1,1	4,8±0,4	5,8±0,4
7	Гидролизат гребешка* (0,1%)	+	0,98±0,08	0,21±0,02	48,3±3,9	11,1±1,0	4,6±0,4	6,4±0,5

Примечание. * - концентрацию ТБК-реактивных продуктов рассчитывали исходя из молекулярного веса малонового диальдегида.

У всех животных извлекали печень, которую отмывали физраствором и помещали в ледяную среду. В полученном биологическом материале определяли содержание общего холестерина и триглицеридов [5], ТБК-реактивных продуктов и диеновых конъюгатов [6]. Уровень билирубина [7], ферментативные активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) [8] определяли с применением клинико-диагностических наборов (ЗАО "Вектор-Бест", Новосибирск). Содержание белка определяли по методу Лоури [9]. Анализ лейкоцитарной формулы осуществляли общепринятым методом [5].

Оптическую плотность исследуемых растворов измеряли на спектрофотометре СЕСИЛ 1011 ("Bruker", Германия). Спектры поглощения в инфракрасной области снимали на приборе VECTOR 22 ("Bruker"). Подсчет лейкоцитов вели с использованием микроскопа Биолам - Ломо (Россия).

Все представленные результаты являются средними из трех независимых опытов. Статистическую обработку результатов проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента. Стандартное отклонение во всех случаях не превышало 10%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Изучение лечебно-профилактических свойств сиропного бальзама "Гербамарин®-печеночный" и пищевых гидролизатов

ГЕРБАМАРИН ПЕЧЕНОЧНЫЙ В ЛЕЧЕНИИ ГЕПАТИТА

краба, кальмара и гребешка, входящих в его состав, проведено на модели токсического гепатита и острой этанольной интоксикации, индуцированных у экспериментальных животных. В токсическом действии этанола и CCl_4 , применяемого для моделирования острого гепатита у животных, важное значение придается механизмам активации свободнорадикального окисления липидов в мембранах клеток печени. Эти механизмы можно рассматривать как одни из универсальных при повреждении печени и желчевыводящих путей.

Как видно из данных, приведенных в таблицах 1 и 2, цирротические изменения в печени сопровождались нарушением ее биохимических показателей. У животных с токсическим гепатитом количество ТБК-реактивных продуктов увеличилось на 29,6%, содержание диеновых конъюгатов возросло примерно на 50%, а концентрация белка снизилась почти на 30% (табл. 1), что свидетельствует об усилении интенсивности процессов ПОЛ и угнетении биосинтеза белка в печени. Судя по значительному увеличению в плазме крови содержания билирубина (примерно в 3,2 раза), возрастанию ферментативной активности аминотрансфераз (примерно в 2 раза) по сравнению с нормальным контролем, у животных с экспериментальным токсическим гепатитом развился патологический процесс, связанный с общей интоксикацией организма и с нарушением барьерной функции печени. Лечебно-профилактическое применение БАД "Гербамарин®-печеночный" в значительной степени предотвращает функциональные нарушения в печени, вызванные интоксикацией CCl_4 , и восстанавливает практически до нормальных значений уровень ТБК-реактивных продуктов, диеновых конъюгатов и печеночного белка, а также значительно снижает количество билирубина и значения ферментативной активности аминотрансфераз в плазме крови (табл. 1).

Таблица 2. Влияние БАД "Гербамарин®-печеночный" и гидролизатов морских беспозвоночных на клинико-диагностические показатели ткани печени и плазмы крови экспериментальных животных при этанольной интоксикации.

№ п/п	Группа животных	ТБК-реак- тивные продукты, мкмоль/г ткани	Диеновые конъюгаты, мкмоль/г ткани	Белок, мг/100мг ткани	Холе- стерин, М	Тригли- цериды, М	АлАТ		Били- рубин, мкМ	
							АсАТ	мкмоль/л·час		
1	Интakтная	1,1±0,1	0,2±0,02	17,5±1,5	1,3±0,1	0,8±0,05	2,9±0,2	6,1±0,5	59,7±4,7	
2	Этанол (контроль)	1,3±0,1	0,2±0,02	11,6±1,1	1,8±0,1	1,0±0,06	3,9±0,3	6,9±0,7	86,6±6,8	
3	А*	I*	1,1±0,1	0,2±0,01	13,1±1,2	0,9±0,1	0,8±0,04	3,4±0,3	6,3±0,4	72,8±5,9
4		*	1,2±0,1	0,2±0,02	13,6±1,3	0,8±0,1	0,9±0,07	2,8±0,2	6,7±0,5	74,8±6,5
5		II	1,3±0,1	0,2±0,01	15,6±1,5	1,0±0,1	0,8±0,04	2,6±0,2	6,5±0,3	69,8±5,8
6		III IV	1,0±0,1	0,2±0,02	13,9±1,2	1,2±0,1	0,8±0,05	2,8±0,3	6,2±0,6	71,6±6,7
7	Б*	I	1,1±0,1	0,20±0,02	15,1±1,3	0,9±0,1	0,7±0,07	2,9±0,3	6,2±0,5	58,9±5,2
8		II	1,0±0,1	0,19±0,02	18,3±1,7	1,3±0,1	0,8±0,05	2,2±0,2	5,7±0,5	59,7±4,8
9		III	1,1±0,1	0,21±0,01	17,8±1,4	1,1±0,1	0,9±0,08	2,5±0,2	5,8±0,4	58,7±5,0
10		IV	1,1±0,1	0,22±0,02	17,0±1,5	1,2±0,1	0,8±0,03	2,8±0,2	6,1±0,6	59,8±5,5

Примечания: * А - лечебное действие БАД (введение БАД параллельно с введением алкоголя); Б - профилактическое действие БАД (введение БАД предшествует введению алкоголя). ** I - 10%-ный раствор бальзама; II-IV - 0,1%-ные водные растворы гидролизатов краба, кальмара и гребешка соответственно.

Выраженные гепатозащитные свойства в условиях эксперимента проявляли гидролизаты морских беспозвоночных, входящие в состав бальзама "Гербамарин®-печеночный". Они нормализовали биосинтез белка, активность аминотрансфераз и содержание билирубина в печени и плазме крови экспериментальных животных, а также снижали накопление продуктов ПОЛ (табл. 1). Следует подчеркнуть, что входящий в состав гидролизатов богатый набор незаменимых и заменимых аминокислот в легко усваиваемой форме обладает не только антиоксидантными свойствами, но и может регулировать на генетическом уровне метаболические процессы в организме [10].

Изучение лечебного и профилактического действий бальзама "Гербамарин®-печеночный" и гидролизатов краба, кальмара и гребешка проводили на фоне интоксикации этанолом (40%-ный раствор этилового спирта на десяти группах беспородных мышей). Протективное действие исследуемых препаратов наблюдали при одновременном введении их со спиртом. Предварительный прием препаратов с последующим введением токсичной дозы алкоголя позволил изучить их возможное профилактическое значение.

Изучение активности АлАТ и АсАТ в плазме крови исследуемых животных показало, что профилактический прием сиропного бальзама "Гербамарин®-печеночный" и 0,1%-ных водных растворов гидролизатов морских беспозвоночных восстанавливает биохимические процессы в организме, поддерживая активность ферментов в пределах нормы. Положительное действие препаратов наблюдали и у животных, получавших бальзам и гидролизаты только вместе с этанолом. Введение животным спирта без каких-либо добавок приводило к увеличению обоих показателей ферментативной активности АлАТ на 33,3% и менее выраженной - АсАТ 13% (табл. 2). Это может быть обусловлено частичными нарушениями проницаемости мембран гепатоцитов и их функциональной активности, индикатором которых являются увеличение активности аминотрансфераз и 45%-ное возрастание уровня билирубина в плазме крови, а также увеличение количества ТБК-реактивных продуктов и диеновых конъюгатов в печени.

Одновременное введение бальзама и гидролизатов со спиртом сохраняло уровень билирубина в плазме крови примерно на 20% выше по сравнению с интактной группой, но на 16,5% ниже, чем с этанольной. "Профилактический" прием животными бальзама и гидролизатов краба, кальмара и гребешка, а затем последующее введение этих препаратов в составе этанола приводил к нормализации клинико-диагностических показателей печени и плазмы крови (табл. 2).

Воздействие этанола на организм вызывало снижение уровня белка в печени на 34% по сравнению с нормой. Одновременное введение со спиртом исследуемого бальзама и гидролизатов морских беспозвоночных, частично предотвращало ингибирование биосинтеза белка в гепатоцитах по сравнению с животными этанольной группы, и практически восстанавливали белоксинтезирующую функцию гепатоцитов при предварительном профилактическом приеме (табл. 2). Добавление бальзама и исследуемых гидролизатов к этанолу не только стабилизирует функциональное состояние организма, но и оказывает значительный гипохолестеринемический эффект. Так, если уровень триглицеридов в плазме крови слабо отклонялся от нормы во всех группах, то содержание холестерина снижалось в группах, принимавших исследуемые препараты вместе со спиртом, и составляло примерно 72% от контрольного значения (табл. 2).

Анализ лейкоцитов крови животных, подвергнутых этанольной интоксикации, показал, что при введении мышам 40%-ного этанола происходит увеличение среднего показателя лимфоцитов в 1,1 раза; эозинофилов - в 3 раза и базофилов в 6 раз по сравнению с интактным контролем (табл. 3). При этом более чем в 2 раза снижалось количество нейтрофилов. Эти показатели свидетельствуют о воспалительном процессе и выраженной аллергонастроенности в организме животных. Одновременный прием бальзама и гидролизатов морских беспозвоночных с 40%-ным этанолом приводит к изменению лейкоцитарной реакции с вовлечением полиморфноядерных нейтрофилов и моноцитов, что сопровождается резким увеличением их количества.

Профилактический прием животными бальзама "Гербамарин®-печеночный" и гидролизатов морских гидробионтов с последующим введением в организм 40%-ного этанола ведет к уменьшению уровня лимфоцитов, эозинофилов и базофилов, по сравнению с этанольной группой животных, приближая эти значения к нормальным. При этом резко возрастает (в 2-4 раза) количество моноцитов. Лейкоцитоз, возникающий у животных при профилактическом приеме

ГЕРБАМАРИН ПЕЧЕНОЧНЫЙ В ЛЕЧЕНИИ ГЕПАТИТА

Таблица 3. Влияние БАД “Гербамарин®-печеночный” и гидролизатов морских беспозвоночных на показатели лейкоцитарной формулы экспериментальных животных при этанольной интоксикации.

№ п/п	Группа животных	Лимфоциты, %	Нейтрофилы, %	Моноциты, %	Эозинофилы, %	Базофилы, %
1	Интakтная	57,0±3,7	34,5±2,3	2,5±0,2	3,0±0,2	1,0±0,1
2	Этанол (контроль)	63,0±5,4	15,0±1,3	2,5±0,2	9,0±0,4	6,0±0,3
3	А *	I**	45,0±3,8	38,0±2,4	6,0±0,5	5,0±0,4
4		II	54,5±4,2	40,5±3,5	4,0±0,3	5,0±0,3
5		III	44,5±4,1	45,5±3,7	4,0±0,3	3,5±0,2
6		IV	46,5±3,6	42,0±3,0	3,5±0,2	3,5±0,3
7	Б *	I	30,5±0,3	53,0±0,5	10,5±1,0	4,0±0,2
8		II	52,0±0,5	33,5±0,3	6,0±0,5	4,5±0,3
9		III	47,0±0,4	43,0±0,4	6,0±0,4	2,5±0,2
10		IV	50,0±0,5	28,0±0,2	8,0±0,6	7,5±0,6

Примечения: * А - лечебное действие БАД; Б - профилактическое действие БАД (см. табл. 2).
 ** I - 10%-ный раствор бальзама; II-IV - 0,1%-ные водные растворы гидролизатов краба, кальмара и гребешка соответственно.

исследуемых БАД, на фоне этанольной интоксикации сопровождается увеличением количества незрелых (палочкоядерных и юных) форм нейтрофильных лейкоцитов. Косвенное действие нейтрофилов посредством факторов активации моноцитов/макрофагов и других лейкоцитов определяет исход физиологических и патологических процессов. Увеличение и кооперация гранулоцитов и моноцитов может явиться механизмом утилизации алкоголя и его токсических продуктов метаболизма. Следовательно, действие БАД “Гербамарин®-печеночный” и гидролизатов морских беспозвоночных на фоне этанольной интоксикации животных направлено на усиление функции лейкоцитов, способствующей утилизации и выведению из организма токсических продуктов.

Таким образом, использование бальзама “Гербамарин®-печеночный” и пищевых гидролизатов морских гидробионтов в качестве профилактических средств или добавок приводит к сохранению функционального состояния организма. Обнаруженные в экспериментальном исследовании биологические эффекты данных БАД позволяют оценить их значение как выраженных гепатопротекторов, действие которых направлено на коррекцию метаболических реакций в организме животных на фоне токсического гепатита и этанольной интоксикации.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Брехман И.И. (1976) Человек и биологически активные вещества Л.: Наука.
2. Тхор Л.Ф., Тараненко Т.Л., Козлов Ю.П. (1966) О свободнорадикальном механизме защитного действия некоторых природных соединений, **16**, 73-77.
3. Лоевко Ю.Н., Козловская Э.П., Попов А.М., Козловский А.С., Артюков А.А., Горовой П.Г., Рассказов В.А., Еляков Г.Б. (2000) Патент РФ № 20117779 (приоритет от 07.07.2000 г.) Биологически активная добавка к пище
4. Бурцева Т.И., Попов А.М., Семенова Н.В., Ли И.А., Веселова О.В. (2002) VI-ой Международный съезд “Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения”. Россия. Санкт-Петербург, с. 552-555.
5. Меньшиков В.В. (1987) Лабораторные методы исследования. Справочник. М. Медицина, с. 247-248.

6. *Xiu-Wei Yang, Hattori M., Namba T., Dao-Feng Chen, Guo-Jun Xu* (1995) *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 406-409.
7. *Jendrassik L., Cleghorn R.* (1936) *Amer. J. Clin. Pathol.*, **289**, 1-6.
8. *Reitman S., Frankel S.* (1957) *Biochem. J.* **28**, 56-61.
9. *Lowry O.H., Rosebrough O.H., Farr N.J., Randall R.J.* (1951) *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
10. *Fafournoux P., Bruhat A., Jousse C.* (2000) *Biochem. J.*, **351**, 1-12.

Поступила 22.05.2002

**HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES OF BALM "HERBAMARIN"*
AND HYDROLYSATES MARINE INVERTEBRATES AT TOXIC HEPATITE AND
ETHANOL INTOXICATION.**

T.I. Burtseva, A.M. Popov, N.V. Semenova, I.A. Lee, O.B. Veselova, E. P. Kozlovskaya

Pacific Institute of Bioorganic Chemistry Far East Branch Russian Academy of Sciences,
prospect 100-let Vladivostoku, 159. Vladivostok, 690022, Russia
tel.: (4232)311661, fax: (4232)314050,
e-mail: PopovAMpiboc@stl.ru

Protective properties of a syrup balm "Herbamarin"* and food hydrolysates of scallop, octopus and crab were investigated using experimental toxic hepatitis and ethanol intoxication. Preventive administration of the balm and hydrolysates to animals subjected to an intoxications by 40% alcohol and CCl₄ normalized clinical-diagnostic parameters of liver and blood plasma of experimental animals.

Key words: food additives, antioxidants, hepatoprotective drug, biologically active substances, hepatobiliar system