

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ ЛИПИДОВ САПРОПЕЛЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ЖЕЛЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ТОКСИКО-ХИМИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

Низкодубова С.В., Ласукова Т.В., Дорофеева Ю.Б., Шестакова Н.П.

Томский государственный педагогический университет, г. Томск

### РЕЗЮМЕ

Актуальность исследования обусловлена недостаточной изученностью биологических эффектов липидорастворимой фракции пелоидов, в то время как хорошо известны лечебные свойства водорастворимых компонентов этих соединений. Цель работы – исследовать эффекты некоторых фракций липидов сапропеля для коррекции желчевыделительной функции печени крыс при токсико-химическом гепатите.

Эксперименты проведены на 50 белых крысах-самцах линии Wistar. На модели токсико-химического гепатита изучены эффекты применения аппликаций растворов суммарного липидного экстракта и полярной фракции липидов сапропеля на процесс желчевыделения. Определяли содержание общего билирубина и холестерина, желчных кислот. Показано, что аппликации суммарного липидного экстракта сапропеля оказывают восстанавливающее действие на процессы желчеотделения, образования билирубина, синтеза желчных кислот. Эффекты полярной фракции липидов сапропеля были менее выражены. Следовательно, липидные компоненты сапропеля могут найти применение для коррекции желчевыделительной функции печени.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** липиды сапропеля, желчевыделительная функция, билирубин, холестерин, желчные кислоты, токсико-химический гепатит.

### Введение

Важной задачей современной физиологии и курортологии является коррекция секреторной функции гепатобилиарной системы с использованием природных лечебных грязей. При этом особое значение придается преформированию природных лечебных сред (пелоидов, минеральных вод) с целью выяснения роли отдельных классов химических соединений в механизме их лечебных эффектов. Известно, что лечебный эффект пелоидов определяется преимущественно органическими и неорганическими компонентами их жидкой фазы, к числу которых относятся гуминовые и фульвовые кислоты [1–4]. Многочисленные данные подтверждают наличие гепатопротекторных, антигипоксических, антиоксидантных, кардиоваскулярных эффектов у названных соединений [1, 5–8].

Исследования физико-химических свойств лечебных грязей различного происхождения (сульфидные, морские, торфяные, сапропели) также показали присут-

ствие биологически активных соединений в их липидорастворимой фракции. В то же время роль этих соединений в механизмах общего и специфического действия пелоидов, в частности сапропелевых грязей, практически не изучена. Наши предварительные данные свидетельствуют о способности суммарных липидных экстрактов сапропеля и его полярной фракции оказывать выраженное гепатостимулирующее действие [9].

Цель настоящей работы заключалась в исследовании некоторых фракций липидов сапропеля для коррекции желчевыделительной функции печени крыс при токсико-химическом гепатите.

### Материал и методы

Эксперименты проведены на 50 белых крысах-самцах линии Wistar массой тела 180–240 г в пяти сериях опытов: 1-я – фон; 2-я – гепатит; 3-я – гепатит без последующего воздействия в течение 15–17 дней после отравления  $CCl_4$  (контроль); 4-я – гепатит с аппликациями 2%-го масляного раствора суммарного липидного экстракта сапропеля; 5-я – гепатит с аппликациями 1%-го масляного раствора полярной (хлоро-

✉ Низкодубова С.В., тел. 8 (3822) 52-23-82; e-mail: mbd09@mail.ru

форм-растворимой) фракции липидов сапропеля. Концентрации применяемых растворов липидов были определены в предварительных скрининговых исследованиях.

Токсико-химический гепатит вызывали трехкратным подкожным введением 50%  $CCl_4$  в вазелиновом масле в течение 8–10 дней из расчета 0,45–0,70 мл на 100 г массы тела [10, 11].

Животным под нембуталовым наркозом в дозе 40 мг/кг проводили канюлирование желчного протока и в течение 4 ч вели сбор желчи. В секрете определяли содержание общего билирубина по Йендрашеку с применением набора реактивов «Био-ЛА-тест» (Чехия), общего холестерина по Ильку [12], желчных кислот по Рейнхольду.

Апликации липидов сапропеля проводили ежедневно по 20 мин в течение 10 дней на выстриженную поверхность спины.

Статистическую значимость различий полученных результатов оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента и непараметрического *U*-критерия Манна–Уитни.

## Результаты и обсуждение

Эксперименты показали, что развитие токсико-химического гепатита характеризуется существенными изменениями как уровня желчеотделения, так и химического состава желчи. Так, скорость секреции желчи снижалась с  $(0,29 \pm 0,014)$  до  $(0,086 \pm 0,001)$  мл/ч в пересчете на 100 г массы тела ( $p < 0,001$ ). При этом канюлируемая желчь становилась мутной и содержала примеси слизи и крови. Одновременно с высокой степенью достоверности изменялись и биохимические показатели желчи. Уровень общего билирубина в секрете снижался в среднем на 54%, а концентрация желчных кислот – на 52% (таблица). Напротив, содержание общего холестерина повышалось на 96% по сравнению с фоном. Несколько иная направленность наблюдалась в изменениях указанных параметров при пересчете их на абсолютные количества, секретируемые с желчью за четырехчасовой период и отнесенные к 100 г массы тела животного. Секреция билирубина оказалась сниженной в 7,3 раза, холестерина – в 1,6 раза, а желчных кислот – почти в 8 раз (таблица).

Таким образом, введение животным тетрахлорметана вызывает значительные изменения в процессе желчеотделения, в частности холестаза и некроза паренхимы печени. Наиболее глубоким изменениям при этом подвергаются внутриклеточные процессы этерификации билирубина и холестерина, а также микро-

сомального синтеза желчных кислот и их активного транспорта из клетки.

**Количественные изменения химических ингредиентов желчи у крыс при токсико-химическом гепатите и воздействии липидов сапропеля ( $M \pm m$ )**

Группа	Билирубин, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л	Желчные кислоты, г/л
Фон	$3,98 \pm 0,50$	$6,40 \pm 0,57$	$4,38 \pm 0,41$
Гепатит	$1,84 \pm 0,09$	$12,53 \pm 0,18$	$2,10 \pm 0,26$
$p_1$	<0,001	<0,001	<0,001
Контроль	$2,61 \pm 0,15$	$8,64 \pm 0,50$	$2,36 \pm 0,09$
$p_2$	<0,01	<0,001	>0,05
Апликации суммарных липидов	$3,43 \pm 0,14$	$5,22 \pm 0,10$	$3,70 \pm 0,30$
$p_2$	<0,001	<0,001	<0,01
$p_3$	<0,01	<0,001	<0,001
Апликация полярных липидов	$2,78 \pm 0,13$	$9,34 \pm 0,43$	$3,35 \pm 0,23$
$p_2$	<0,001	<0,001	<0,01
$p_3$	<0,05	<0,05	<0,01

Примечание. Достоверность отличий:  $p_1$  – по отношению к фон;  $p_2$  – по отношению к гепатиту;  $p_3$  – по отношению к контролю.

Курс апликаций суммарного липидного экстракта сапропеля и его полярной фракции оказывал одностороннее действие на качественные и количественные показатели желчи. Так, достоверно увеличивалась скорость секреции желчи относительно серии с гепатитом: от  $(0,086 \pm 0,001)$  до  $(0,15 \pm 0,02)$  мл/ч,  $p < 0,001$ . При этом следует отметить, что в обоих случаях значения этого параметра не достигали фоновых ( $0,290 \pm 0,014$  мл/ч), оставаясь на 30–40% ниже таковых.

Существенно изменялись и биохимические показатели желчи. Содержание общего билирубина в серии с апликациями суммарных липидов достоверно повышалось по отношению как к гепатиту, так и к контрольной серии, практически достигая нижних пределов фоновых значений. В серии с апликациями полярной фракции не наблюдалось существенных изменений в концентрациях общего билирубина и общего холестерина по сравнению с контрольной группой, в то время как апликации суммарных липидов достоверно снижали уровень общего холестерина до фоновых значений. Содержание желчных кислот в обеих опытных сериях достоверно повышалось по отношению как к гепатиту, так и к контролю, также достигая нижней границы фоновых показателей (таблица).

При сравнении абсолютных количеств ингредиентов в данных сериях прослеживается аналогичная динамика исследуемых показателей, хотя и значительно менее выраженная. Так, если количество билирубина достоверно повышалось в 3 раза по отношению к гепатиту и в 1,6 раза по отношению к контролю при апликациях суммарных липидов и практически не изменялось относительно контроля при апликациях

полярной фракции, то количество выделившегося холестерина не претерпевало существенных изменений. В то же время масса желчных кислот в секрете во всех сериях возрастала в 3–4 раза, оставаясь сниженной на 40–50% (таблица).

Таким образом, на фоне токсико-химического гепатита аппликации суммарного липидного экстракта сапропеля оказывали выраженное восстанавливающее действие на процессы желчеотделения, билирубинообразования, синтеза желчных кислот. Аппликации полярной фракции липидов сапропеля, подобно суммарным липидам, положительно влияли на морфофункциональное состояние органа, однако действие их было менее выражено и не все изучаемые показатели имели достоверную динамику относительно контрольной группы.

Необходимо остановиться на объяснении возможных механизмов отмеченного нами гепатопротективного действия исследуемых липидных экстрактов сапропеля. В качестве одной из гипотез может быть следующая. Известно, что повреждающее действие тетрахлорметана в конечном итоге приводит к развитию цитолиза и гибели гепатоцитов, нарушению нормального функционирования печени. В то же время, по нашим данным [9, 13], в полярных фракциях липидного экстракта пелоидов различного генеза присутствуют основные классы фосфолипидов, аналогичные фосфолипидам млекопитающих, ответственные за структурную целостность внутриклеточных мембран. Возможно, именно они способствуют более быстрому восстановлению нативной структуры мембран гепатоцитов. Это, в свою очередь, способствует созданию благоприятных условий для действия эндогенных антиоксидантов и функционирования мембранных ферментов, стимуляции процессов репарации и регенерации печени. В конечном итоге происходит улучшение функционирования этого органа, что и было показано в результате проведенных нами экспериментов. С другой стороны, выраженный гепатопротективный эффект от применения аппликаций суммарного липидного экстракта сапропеля и его полярной фракции мог быть связан со способностью входящих в их состав ингибиторов процессов перекисного окисления липидов гасить цепные реакции перекисаации. Известно, что в развитии патологических состояний, сопровождающихся формированием синдрома цитолиза, имеющего место и в случае применения тетрахлорметана, важная роль принадлежит активации процессов липопероксидации. Основным патогенетическим звеном его токсического действия является перекисное окисление полиеновых жирных кислот, входящих в состав мембранных фосфолипидов [14]. Полученные нами ранее данные свидетельствуют о

наличии прямого антиоксидантного эффекта суммарного липидного экстракта и его полярной фракции [9, 13].

## Заключение

Таким образом, характер гепатопротективного действия липидной составляющей сапропеля включает выраженное восстанавливающее действие на процессы желчеотделения, образования билирубина, синтеза желчных кислот. Полученные результаты могут служить основой для дальнейшей разработки фармакологических препаратов на основе липидного экстракта сапропеля, комбинированных методов их применения с физиобальнеопроцедурами и последующей апробацией в клинической практике для коррекции желчевыделительной функции печени.

## Литература

1. Лиштван И.И., Капуцкий Ф.Н., Янута Ю.Г. Гуминовые кислоты торфа и препараты на их основе // Природопользование. 2004. Вып. 10. С. 114–119.
2. Назаров П.В., Исаев М.А. Состав липидов лечебных грязей // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры. 2003. № 5. С. 46–47.
3. Чаков В.В., Завгородько В.Н. Торфяные ресурсы Приамурья и их использование в пелоидотерапии. Хабаровск: ИВЭП ДВО РАН, 2008. 127 с.
4. Федько И.В., Гостищева М.В., Исмаилов Р.Р. Медицинские аспекты использования биологически активных гуминовых кислот // Химия растительного сырья. 2005. № 1. С. 41–44.
5. Бузлама А.В., Чернов Ю.Н. Анализ фармакологических свойств, механизмов действия и перспектив применения гуминовых веществ в медицине // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2010. Т. 73, № 9. С. 43–48.
6. Белоусов М.В., Ахмеджанов Р.Р., Зыкова М.В., Маслов Л.Н., Гурьев А.М., Юсубов М.С. Исследование кардиотоксических свойств нативных гуминовых кислот торфа // Бюл. сиб. медицины. 2014. Т. 13, № 1. С. 14–19.
7. Белоусов М.В., Ахмеджанов Р.Р., Зыкова М.В., Арбузов А.Н., Гурьев А.М., Юсубов М.С. Исследование антигипоксической активности нативных гуминовых кислот низинного торфа Томской области // Химико-фармацевтический журнал. 2014. Т. 48, № 2. С. 29–31.
8. Белоусов М.В., Ахмеджанов Р.Р., Зыкова М.В., Гурьев А.М., Юсубов М.С. Исследование гепатозащитных свойств нативных гуминовых кислот низинного торфа Томской области // Химико-фармацевтический журнал. 2014. Т. 48, № 4. С. 28–31.
9. Низкодубова С.В., Ласукова Т.В., Легостин С.А. Применение липидов сапропеля для коррекции нарушений метаболизма печени крыс при токсико-химическом гепатите // Вестн. Том. гос. пед. ун-та. 2013. Вып. 8 (136). С. 94–99.
10. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. Л.: Медицина, 1986.

280 с.

11. Frenzel H., Heidenreich T., Gellert J. Protective effect of CO<sub>2</sub> induced hyperventilation on the hepatotoxicity elicited by carbon tetrachloride // *Liver*. 1982. V. 45, № 2. P. 376–384.
12. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Минск: Беларусь, 2000. Т. 2. 463 с.

13. Низкодубова С.В., Медведев М.А. Липиды сапропеля. Томск: Изд-во Том. гос. пед. ун-та, 2004. 150 с.
14. Manno M., De Matteis F., Jon K. The mechanism of suicidal reductive in activation of microsomal cytochrome P-450 by carbon tetrachloride // *Biochem. Pharmacol.* 1988. V. 37, № 10. P. 1981–1990.

Поступила в редакцию 01.11.2014 г.

Утверждена к печати 12.11.2014 г.

Низкодубова С.В. (✉) – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой медико-биологических дисциплин ТГПУ (г. Томск).

Ласукова Т.В. – д-р биол. наук, профессор кафедры медико-биологических дисциплин ТГПУ (г. Томск).

Дорофеева Ю.Б. – мл. науч. сотрудник лаборатории агроэкологии ТГПУ (г. Томск).

Шестакова Н.П., кафедра медико-биологических дисциплин ТГПУ (г. Томск).

✉ Низкодубова С.В., тел. 8 (3822) 52-23-82; e-mail: mbd09@mail.ru

## THE USE OF INDIVIDUAL LIPID FRACTIONS SAPROPEL FOR CORRECTION OF THE LIVER EXCRETORY FUNCTIONS OF RATS WITH TOXIC CHEMICAL HEPATITIS

Nizkodubova S.V., Lasukova T.V., Dorofeyeva Yu.B., Shestakova N.P.

Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, Russian Federation

### ABSTRACT

Relevance due to lack of knowledge of the biological effects lipidorhistory fraction of peloids, while well known for the curative properties of the water-soluble components of these compounds. The aim of this work was to investigate the effects of some fractions of lipids sapropel for the correction of the excretory functions of the liver of rats with toxic chemical hepatitis. The experiments were carried out on 50 white rats male Wistar rats. On the model of toxic and chemical hepatitis studied the effects of applications of the solutions of the total lipid extract and polar fractions of lipids sapropel in the process of biliary excretion. Determined the content of total bilirubin and cholesterol, bile acids. It is shown that the application of the total lipid extract of sapropel have a regenerating effect on the process of bile secretion, formation of bilirubin, synthesis of bile acids. The effects of the polar fraction of lipids sapropel were less pronounced. Therefore, the lipid components of sapropel can be used for correction of the excretory functions of the liver.

**KEY WORDS:** lipids sapropel, biliary function, bilirubin, cholesterol, bile acids, toxic-chemical hepatitis.

*Bulletin of Siberian Medicine*, 2014, vol. 13, no. 6, pp. 160–164

### References

- Lishtvan I.I., Kapuzkii F.N., Yanuta Yu.G. Guminovie kisloti torfa i preparati na ich osnove. *Prirodopolsovanie*, 2004, no. 5, pp. 114–119 (in Russian).
- Nazarov P.V., Isaev M.A. Sostav lipidov lechebnich grjasei. *Voprosi kurortologii, fizioterapii i lechebnoi fiskulturi*, 2003, no. 5, pp. 46–47 (in Russian).
- Chakov V.V., Savgorudko V.N. *Torfyanie resursi Priamurya i ih ispolsovanie v peloidoterapii*. Habarovsk, IVEP DVO RAN Publ., 2008. 128 p. (in Russian).
- Fedko I.V., Gostisheva M.V., Ismatova R.R. Meditsinskie aspekti ispolsovaniya biologicheskii aktivnikh guminovikh kislot. *Khimiya rastitelnogo sir'ya*, 2005, no. 1, pp. 41–44 (in Russian).
- Buzlama A.W., Chernov Yu.N. Analis farmakologicheskikh svoistv, mekhanizmov deistviya i perspektiv primeneniya guminivikh veschestv v meditsine. *Experimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya*, 2010, vol. 73, no. 9, pp. 43–48 (in Russian).
- Belousov M.V., Akhmedzhanov R.R., Zykova M.V., Maslov L.N., Guriyev A.M., Yusubov M.S. Issledovanie

- kardiotoksicheskikh svoystv nativnikh guminovikh kislot torfa. *Byulleten' sibirskoy meditsiny – Bulletin of Siberian Medicine*, 2014, vol. 13, no. 1, pp. 14–19 (in Russian).
7. Belousov M.V., Akhmedzhanov R.R., Zikova M.V., Arbutov A.G., Guryev A.M., Yusubov M.S. Issledovanie antigipoksicheskoi aktivnosti nativnikh guminovikh kislot nizinnogo torfa Tomskoi oblasti. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2014, vol. 48, no. 2, pp. 29–31 (in Russian).
  8. Belousov M.V., Akhmedzhanov R.R., Zyukova M.V., Guriyev A.M., Yusubov M.S. Issledovanie gepatozaschitnikh svoystv nativnikh guminovikh kislot nizinnogo torfa Tomskoi oblasti. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2014, vol. 48, no. 4, pp. 28–31 (in Russian).
  9. Nizkodubova S.V., Lasukova T.V., Legostin S.A. Primenenie lipidov sapropelya dlya korrektsii narusheniya metabolizma pecheni kris pri toksiko-khimicheskom gepatite. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta – TSPU Bulletin*, 2013, vol. 8 (136), pp. 94–99 (in Russian).
  10. Golikov S.N., Sanotsky I.V., Tiunov L.A. *Obschie mekhanizmi toksicheskogo deistviya*. Leningrad, Medizina Publ., 1986. 280 p. (in Russian)
  11. Frenzel H., Heidenreich T., Gellert J. Protective effect of CO<sub>2</sub> induced hyperventilation on the hepatotoxicity elicited by carbon tetrachloride. *Liver*, 1982, vol. 45, no. 2, pp. 376–384.
  12. Kamishnikov V.S. *Spravochnik po kliniko-laboratornoi diagnostike*. Minsk, Belarus Publ., 2000. Vol. 2. 463 p. (in Russian).
  13. Nizkodubova S.V., Medvedev M.A. *Lipidi sapropelya*. Tomsk, Isd-vo Tomskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta Publ., 2004. 150 p. (in Russian).
  14. Manno M., De Matteis F., Jon K. The mechanism of suicidal reductive inactivation of microsomal cytochrome P-450 by carbon tetrachloride. *Biochem. Pharmacol.*, 1988, vol. 37, no. 10, pp. 1981–1990.

**Nizkodubova S.V.** (✉), Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, Russian Federation.

**Lasukova T.V.**, Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, Russian Federation.

**Dorofeyeva Yu.B.**, Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, Russian Federation.

**Shestakova N.P.**, Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, Russian Federation.

✉ **Nizkodubova S.V.**, Ph. +7 (3822) 52-23-82; e-mail: mbd09@mail.ru