

Биологическая активность экстракта *Urtica cannabina* L.

Губин К.В., Сенькова А.В., Ханина М.А., Агеева Т.А.

Biological activity of *Urtica cannabina* L. extract

Gubin K.V., Sen'kova A.V., Khanina M.A., Ageyeva T.A.

Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск

© Губин К.В., Сенькова А.В., Ханина М.А., Агеева Т.А.

Сухой экстракт *Urtica cannabina* L., содержащий комплекс биологически активных веществ, вводили мышам внутрижелудочно при проведении полихимиотерапии с целью снижения ее токсичности. Патоморфологические исследования показали, что экстракт *U. cannabina* уменьшает выраженность токсического действия (дистрофия, некроз гепатоцитов) полихимиотерапии на печень. Наиболее эффективным является режим введения экстракта до и после полихимиотерапии.

Ключевые слова: *Urtica cannabina* L., биологически активные вещества, полихимиотерапия, печень.

The dry *Urtica cannabina* L. extract, containing complex of biologically active materials in different regimes introduced to mice with conducting poly-chemotherapy for the purpose of reduction in its toxicity. As a result a pathomorphological study of the liver of mice it was proven that the extract of *U. cannabina* decreases the manifestation of the toxic action (dystrophia and the necrosis of the hepatocytes) of poly-chemotherapy on a liver. Most effective is the regime of extract introduction before and after poly-chemotherapy.

Key words: *Urtica cannabina* L., biologically active materials, poly-chemotherapy, liver.

УДК 615.322:582.635.5:615.451.16.076

Введение

Как при естественном течении опухолевого процесса, так и при его лечении цитостатиками в организме развиваются глубокие расстройства гемо- и лимфодинамики, что создает благоприятную основу для накопления в органах и тканях продуктов клеточного метаболизма и токсинов. В первую очередь повреждаются клетки печени как основного органа, участвующего в процессе детоксикации и метаболизма противоопухолевых препаратов [8, 18].

Унифицированные схемы антибластомного лечения не учитывают индивидуальной особенности характера и течения заболевания у различных больных, а также наличия сопутствующих патологических процессов, что вызывает необходимость проведения дополнительных коррекционных мероприятий [2, 10, 13].

В связи с этим становится очевидной проблема повышения эффективности противоопухолевой терапии и уменьшения ее побочных проявлений, разработки патогенетически обоснованных методов коррекции нарушений гомеостаза, обусловленных развитием злока-

чественного процесса и проводимым цитостатическим лечением [3, 4, 7, 12].

Наиболее перспективными в этом плане являются модификаторы биологических реакций, к которым относятся препараты из лекарственных растений [16]. Данная группа выгодно отличается от остальных лекарственных средств прежде всего широким спектром фармакологических эффектов, низкой токсичностью, высокой биодоступностью и отсутствием побочных эффектов [5].

В этом плане представляет интерес малоизученный вид рода крапивы *Urtica cannabina* L. — крапива коноплевидная (к. коноплевидная), которая обладает значительными сырьевыми запасами [6, 9] и издавна применяется в народной и традиционной медицине как антиоксидантное, мочегонное, общеукрепляющее, противовоспалительное, поливитаминное, противолихорадочное и кровоостанавливающее средство [11, 17].

Цель исследования — изучить влияние экстракта к. коноплевидной (ЭКК) на патоморфологические изменения в печени мышей при проведении полихимиотерапии (ПХТ).

Материал и методы

Исследовалась надземная часть к. коноплевидной, собранная в Новосибирской области в фазу цветения в 2008 г. Общий фитохимический анализ проведен фармакопейными и общепринятыми методиками. Анализ компонентного состава и количественного содержания биологически активных веществ (БАВ) проводили методами титриметрии, гравиметрии, хроматографии, спектрофотометрии, хроматоспектрофотометрии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, ядерно-магнитного резонанса, атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой [15].

Экстракт к. коноплевидной получали методом дробной мацерации при нагревании.

Эксперименты проведены на беспородных мышах-самцах массой тела 20—22 г развода вивария Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Животные были распределены по группам согласно схеме эксперимента (табл. 1). Мыши содержались в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией (Страсбург, 1986). В качестве экспериментальной модели использовали цитотоксическое повреждение печени комплексом антибластных препаратов с различными механизмами действия по программе СНОР, используемой для лечения опухолей крови. Цитотоксическую модель создавали однократным введением в хвостовую вену комплекса противоопухолевых препаратов в дозах, равных $1/5$ LD_{50} : циклофосфан 50 мг/кг массы тела, доксорубин 4 мг/кг массы тела, винкристин 0,1 мг/кг массы тела и преднизолон 5 мг/кг массы тела внутривенно в течение 5 последующих суток.

Части животным внутривенно через зонд вводили ЭКК после ПХТ (ПХТ + ЭКК), а части — до и после ПХТ (ЭКК + ПХТ + ЭКК) в дозе 200 мг/кг массы тела в течение 3 и 7 сут. ЭКК предварительно растворяли в крахмальной слизи, объем разовой дозы составлял 0,2 мл. Препарат сравнения — α -токоферол ацетат (α -Т) в дозе 1,7 мг/кг массы тела в крахмальной слизи вводили животным в аналогичном режиме.

Забор материала для последующего патоморфологического исследования производили на 3-и и 7-е сут после ПХТ. Для гистологического исследования печень фиксировали в 10%-м нейтральном формалине,

Таблица 1

Распределение экспериментальных животных по группам и виды проводимой терапии

Группа	Вид терапии
Контрольная № 1 ($n = 8$)	—
Контрольная № 2 ($n = 8$)	ПХТ
Контрольная № 3 ($n = 16$)	
подгруппа № 3.1	ЭКК в течение 10 дней
подгруппа № 3.2	ЭКК в течение 14 дней
4-я ($n = 16$)	
подгруппа № 4.1	7 дней ЭКК + ПХТ + 3 дня ЭКК
подгруппа № 4.2	7 дней ЭКК + ПХТ + 7 дней ЭКК
5-я ($n = 16$)	
подгруппа № 5.1	ПХТ + 3 дня ЭКК
подгруппа № 5.2	ПХТ + 7 дней ЭКК
6-я ($n = 16$)	
подгруппа № 6.1	7 дней α -Т + ПХТ + 3 дня α -Т
подгруппа № 6.2	7 дней α -Т + ПХТ + 7 дней α -Т

обезжировали в растворах спирта этилового возрастающей концентрации, просветляли ксилолом и заливали в парафин. На микротоме изготавливали срезы толщиной до 5 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. При морфометрическом исследовании подсчитывали объемные плотности V_v (%) нормальных и дистрофически измененных гепатоцитов, некрозов паренхимы печени и численную плотность двуядерных гепатоцитов N_{ai} .

Для обработки полученных результатов использовали программы Gel-Pro Analyzer 4.0, Adobe Photoshop CS2, VideoTest Morphology 5. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программ Statistica MS Excel, OriginPro 7.5. Для выявления статистической значимости различий использовали параметрический критерий Стьюдента. С помощью критерия Шапиро—Уилки была проведена проверка нормальности распределения данных.

Результаты и обсуждение

В надземной части к. коноплевидной установлено присутствие широкого спектра БАВ фенольной природы, полисахаридов, хлорофиллов, аскорбиновой кислоты, каротиноидов, филлохинона, 60 макро- и микроэлементов.

Установлено содержание основных групп БАВ (в пересчете на абсолютно сухое сырье): кумаринов (0,7%), флавоноидов (1,8%), гидроксикоричных кислот (1,4%), дубильных веществ (1,1%), водорастворимых полисахаридов (9,7%), каротиноидов (0,35%), хлорофиллов (0,50%), аскорбиновой кислоты (530,4 мг%), филлохинона (32,8 мг%), макро- и микроэлементов (мкг/г): В (27,3), Na (122,2), Mg (3445,0), Si (2455,0), P (4124,0), K (19619,0), Ca (41945,0), Ti (38,07), Cr (2,8), Mn (25,2), Fe (499,0), Ni (2,3), Cu (4,8), Zn (16,0), Co (1,6), Se (0,9), Br (35,3), Rb (2,2), Sr (104,0), Zr (16,0), Mo (0,85), Ba (31,3), Pb (0,3).

ЭКК — сухой рассыпчатый порошок темно-зеленого цвета, горького вкуса, легко растворимый в водно-спиртовых смесях, растворимый в воде при нагревании. По качественному составу БАВ, макро- и микроэлементов ЭКК соответствует исходному сырью, количественное содержание отдельных групп БАВ (в пересчете на абсолютно сухой экстракт): кумарины (3,91%), флавоноиды (8,16%), гидроксикоричные кислоты (5,83%), водорастворимые полисахариды (7,9%), каротиноиды (1,28%), хлорофиллы (2,88%), аскорбиновая кислота (758,0 мг%). Макро- и микроэлементы к. коноплевидной различаются по степени миграции из сырья в ЭКК. Можно отметить ряд элементов, содержание которых в ЭКК превышает их содержание в исходном сырье (мкг/г): Mg (5458,0), K (52876,0), Cr (19,6), Mn (27,9), Ni (11,2), Cu (7,99), Zn (52,4).

Гистологические исследования печени контрольной группы мышей через 3 сут после ПХТ выявили выраженные деструктивные и дисциркуляторные изменения: центрлобулярное полнокровие, нарушение балочного строения, коллапс синусоидов. Во многих гепатоцитах определялась зернистость и отек цитоплазмы, центральное расположение ядер с перинуклеарной зоной просветления — картина гидропической и баллонной белковой дистрофии гепатоцитов. Обнаружены частые внутريدольковые центрлобулярные микронекрозы и очаговые некрозы гепатоцитов. Данные изменения прогрессивно нарастали и достигали максимальной выраженности к 7-м сут после ПХТ.

При исследовании печени мышей с разными режимами введения ЭКК было выявлено, что введение ЭКК эффективно снижает развитие деструктивных изменений в паренхиме печени, возникаю-

щих в результате проведения ПХТ (табл. 2). Так, доля дистрофически измененных гепатоцитов была в 1,5 раза меньше при введении экстракта крапивы в режиме: 7 дней ЭКК + ПХТ + 3 дня ЭКК по сравнению с контрольной группой животных, получивших ПХТ. Доля некрозов в печени групп животных при введении ЭКК в режиме ПХТ + 3 дня ЭКК в 1,4 раза, а в группе с режимом введения экстракта: 7 дней ЭКК + ПХТ + 3 дня ЭКК в 2,4 раза была меньше по сравнению с контрольной группой животных, получивших ПХТ (табл. 2). Подобная закономерность была обнаружена и при анализе суммарных альтеративных изменений. Таким образом, установлено, что комбинация введения ЭКК при проведении ПХТ достоверно снижает развитие деструктивных изменений паренхимы печени. Причем более значительный эффект зарегистрирован в режиме введения ЭКК до и после ПХТ. При введении ЭКК наблюдается нарастание численной плотности двуядерных гепатоцитов. Данное явление можно объяснить тем, что предварительное введение ЭКК дает возможность животному организму усилить собственную антиоксидантную систему, что позволило в дальнейшем предотвратить сильные метаболические нарушения. Следовательно, профилактическое введение ЭКК более эффективно предотвращает развитие деструктивных изменений паренхимы печени при проведении цитостатической терапии.

При сравнительном микроскопическом анализе изменений в печени животных при проведении ПХТ в комбинации с введением ЭКК и препарата сравнения (α -Т) существенных различий не обнаружено. Однако при морфометрии было выявлено, что ЭКК более эффективно предотвращает развитие деструктивных изменений паренхимы печени, чем α -Т. Так, количество некрозов при введении ЭКК было в 1,9 и 1,4 раза меньше по сравнению с введением α -Т в режимах: 7 дней α -Т + ПХТ + 3 дня α -Т и 7 дней α -Т + ПХТ + 7 дней α -Т соответственно по сравнению с группой животных, получавших ЭКК в тех же режимах (табл. 2).

Неоспоримое преимущество ЭКК — это широта проявляемой биологической активности, что связано с присутствием в его составе как гидрофильных (фенольные соединения, витамин С), так и липофильных БАВ (хлорофиллы, каротиноиды, филлохинон). Известно, что наиболее сбалансированными и перспективными

Таблица 2

Зависимость морфометрических показателей клеток печени животных от режимов введения ЭКК и α -Т

Схема эксперимента	Нормальные гепатоциты, Vv, %	Гепатоциты в состоянии дистрофии, Vv, %	Некрозы паренхимы печени, Vv, %	Суммарные альтеративные изменения в печени, Vv, %	Двуядерные гепатоциты, Nai
Интактные	80,8 ± 0,8	5,5 ± 0,1	9,0 ± 0,5	14,5 ± 0,4	1,3 ± 0,02
Контрольная группа (ЭКК 10 дней)	83,6 ± 1,0	7,1 ± 0,2	6,2 ± 0,4	13,3 ± 0,3	1,0 ± 0,02
Контрольная группа (ЭКК 14 дней)	83,5 ± 1,2	5,3 ± 0,2	5,8 ± 0,1	11,0 ± 0,2	0,9 ± 0,02
Контрольная группа — ПХТ (забой на 3-и сут после введения)	49,4 ± 1,2	18,2 ± 0,7	27,8 ± 1,0	46,0 ± 1,2	1,1 ± 0,02
Контрольная группа — ПХТ (забой на 7-е сут после введения)	43,8 ± 1,4	19,3 ± 0,6	35,3 ± 1,3	54,5 ± 1,2	0,5 ± 0,01
ПХТ + 3 дня ЭКК	57,9 ± 2,4*	19,7 ± 0,5*	20,0 ± 0,9	39,7 ± 2,6*	1,1 ± 0,02
ПХТ + 7 дней ЭКК	46,6 ± 1,5*	22,0 ± 0,7	29,4 ± 1,1*	51,4 ± 1,6*	0,6 ± 0,02
7 дней ЭКК + ПХТ + + 3 дня ЭКК	71,6 ± 1,9*	12,4 ± 0,4*	11,8 ± 0,5*	24,2 ± 1,9*	1,6 ± 0,02
7 дней ЭКК + ПХТ + + 7 дней ЭКК	57,5 ± 1,6*	18,7 ± 0,5	21,7 ± 0,7*	40,4 ± 1,6*	0,7 ± 0,01
7 дней α -Т + ПХТ + + 3 дня α -Т	61,6 ± 1,4	12,5 ± 0,4	22,7 ± 0,8	35,2 ± 1,5	1,3 ± 0,02
7 дней α -Т + ПХТ + + 7 дней α -Т	50,5 ± 1,6	17,5 ± 0,6	30,1 ± 1,15	47,6 ± 1,6	1,0 ± 0,02

Примечание. * — достоверные отличия показателей между группами без предварительного введения и с предварительным введением ЭКК при $p \leq 0,05$.

для клинического применения антиоксидантными и антирадикальными средствами являются комплексы веществ, действующих как в водной, так и в липидной фазах, и влияющих на процессы липопероксидации и радикалообразования [1]. Присутствие биогенных элементов в ЭКК увеличивает эффективность его биологической активности, поскольку можно предположить наличие своевременной и адекватной коррекции нарушений минерального обмена, возникающих при проведении ПХТ [14].

Заключение

Экстракт к. коноплевидной обладает способностью корректировать деструктивные изменения клеток печени мышей при экспериментальной ПХТ.

Литература

1. Букатин М.В., Овчинникова О.Ю. К вопросу применения биологических антиоксидантов природного происхождения в клинической практике // *Фундаментальные исследования*. 2006. № 6. С. 29—30.
2. Власова В.П., Дроздова Г.А., Захаркин А.Г. и др. Модуляция клеточной активности при эндогенной интоксикации // *Вестн. нов. мед. технологий*. 2007. Т. 14, № 1. С. 132—133.
3. Высоцкая В.В., Потова Н.О., Недавняя И.О. Препараты, обеспечивающие переносимость цитостатиков и улучшающие качество жизни больных в процессе химиотерапии // *Сиб. онколог. журн.* 2004. № 1. С. 51—54.
4. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А., Шрефтер А.И. Биологически активные вещества растительного происхождения, М.: Наука, 2001. 350 с.
5. Гольдберг Е.Д., Зуева Е.П. Препараты из лекарственных растений в комплексной терапии злокачественных новообразований. Томск, 2000. 129 с.

6. Крылов П.Н. Флора Западной Сибири. Вып. 4. Томск, 1930. С. 806—810.
7. Лазарев А.Ф., Шойхет Я.Н. Оптимизация методов хирургического и лекарственного лечения рака желудка. Барнаул: ОАО «Алтайский полиграфический комбинат», 1996. 182 с.
8. Лосева М.И., Поспелова Т.И., Солдатова Г.С. и др. Отдаленные последствия противоопухолевой терапии гемобластозов // под ред. профессора М.И. Лосевой. Новосибирск: ИПП «Art-avenue», 2005. 364 с.
9. Малышева А.И., Пешкова Г.А. Флора Сибири: в 14 т. Новосибирск: Наука, 1993. Т. 5. С. 25—27.
10. Немцова Е.Р., Безбородова О.А., Золотавкина Ю.Б. и др. Состояние антиоксидантной и иммунной систем организма с токсикозом, индуцированным злокачественным процессом и противоопухолевым лечением // Рос. онколог. журн. 2006. № 5. С. 27—33.
11. Растительные ресурсы СССР, цветковые растения, их химический состав, использование. Сем-ва *Magnoliaceae* — *Litaniaceae*. Л.: Наука, 1984. 460 с.
12. Сакаева Д.Д. Методы коррекции токсической нейтропении при комбинированной химиотерапии злокачественных опухолей // Рос. биотерапевт. журн. 2003. Т. 2, № 2. С. 39—46.
13. Соломаха А.А. Современные теоретические аспекты эндогенной интоксикации // Вестн. нов. мед. технологий. 2006. Т. 13, № 4. С. 21—23.
14. Суджян А.В., Горожанская Э.Г., Розанова Н.Б., Мурадов А.Ч. Метаболические изменения и их коррекция в онкологии // Вестн. РОНЦ им Н.Н. Блохина РАМН. 1991. Т. 2, № 2. С. 14—16.
15. Ханина М.А., Серых Е.А. Перспективы использования полыни обыкновенной в медицинской практике // Журн. эксперим. и клинич. медицины. 2006. № 1—2. С. 53—60.
16. Чердынцева Н.В., Литвяков О.В., Кокорев и др. Роль системы иммунитета в противопухолевой активности модификаторов биологических реакций различной природы // Сиб. онкологич. журн. 2002. № 1. С. 56—61.
17. Чжуд-Ши. Памятник средневековой тибетской культуры: перевод с тибет./предисл. Д.Б. Дашиева, С.М. Николаева. Новосибирск: Наука, Сиб. отделение, 1988. 349 с.
18. Шкурутий В.А. Ультраструктура клеток печени при стрессе. Новосибирск: Наука, 1989. 142 с.

Поступила в редакцию 08.04.2011 г.

Утверждена к печати 01.06.2011 г.

Сведения об авторах

К.В. Губин — аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники НГМУ (г. Новосибирск).

А.В. Сенькова — канд. мед. наук, ассистент кафедры фармакогнозии и ботаники (г. Новосибирск).

М.А. Ханина — д-р фарм. наук, профессор кафедры фармакогнозии и ботаники НГМУ (г. Новосибирск).

Т.А. Азеева — д-р мед. наук, профессор кафедры фармакогнозии и ботаники НГМУ (г. Новосибирск).

Для корреспонденции

Губин Кирилл Владимирович, тел. 8-913-206-6732, 8-952-942-8346; e-mail: gubinow@mail.ru