

УДК 615.244:616.637-002:599.323.4

**КОРРЕКЦИЯ ЖЕЛЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ
ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ С ПОМОЩЬЮ АППЛИКАЦИЙ
ЛИПИДНЫХ ФРАКЦИЙ ЛИПИДОВ САПРОПЕЛЯ**

С.В. Низкодубова, Т.В. Ласукова

Томский государственный педагогический университет

E-mail: mbd09@mail.ru; tlasukova@mail.ru

Низкодубова Светлана Васильевна, д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой медико-биологических дисциплин Томского государственного педагогического университета.

E-mail: mbd09@mail.ru

Область научных интересов: физиология, курортология.

Ласукова Татьяна Викторовна, д-р биол. наук, профессор кафедры медико-биологических дисциплин Томского государственного педагогического университета.

E-mail: tlasukova@mail.ru

Область научных интересов: физиология, экспериментальная кардиология, фармакология.

Актуальность обусловлена недостаточной изученностью биологических эффектов липидорастворимой фракции пелоидов, в то время как хорошо известны лечебные свойства водорастворимых компонентов этих соединений. Цель работы – исследование эффектов некоторых фракций липидов сапропеля для коррекции желчевыделительной функции печени крыс при токсико-химическом гепатите. Эксперименты проведены на 50 белых крысах-самцах линии Вистар. 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

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. Несмотря на широкую популярность традиционного грязелечения, оно неприемлемо по медицинским показаниям для некоторых категорий больных. Пелоидопрепараты способны расширить его возможности и повысить эффективность лечения в целом. Эти препараты могут быть получены из некондиционных и бывших в употреблении лечебных грязей. Расход грязи при лечении такими препаратами снижается в тысячи раз по сравнению с нативной пелоидотерапией, что имеет большое эколого-экономическое значение. Применение грязей в виде препаратов, по мнению некоторых авторов, является более адекватным раздражителем по сравнению с традиционным грязелечением [11]. Перечисленные факторы являются исходной основой для поиска биологически активных пелоидопрепаратов и их внедрения в практику здравоохранения. Известно, что лечебный эффект пелоидов определяется преимущественно органическими и неорганическими компонентами их жидкой фазы, к числу которых относятся гуминовые и фульвовые кислоты [7, 8, 11, 12]. Многочисленные данные свидетельствуют о наличии гепатопротекторных, антигипоксических, антиоксидантных, кардиоваскулярных эффектов у названных соединений [1–4, 7]. Исследования физико-химических свойств лечебных грязей различного происхождения (сульфидные, морские, торфяные, сапропели) также показали наличие 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].

В связи с этим цель настоящей работы заключалась в исследовании некоторых фракций липидов сапропеля для коррекции желчевыделительной функции печени крыс при токсико-химическом гепатите.

Методика

Эксперименты проведены на 50 белых крысах-самцах линии Вистар массой 180–240 г в пяти сериях опытов: 1 – фон; 2 – гепатит; 3 – гепатит без последующего воздействия в течение 15–17 дней после отравления CCl_4 (контроль); 4 – гепатит с аппликациями 2%-го масляного раствора суммарного липидного экстракта сапропеля; 5 – гепатит с аппликациями 1%-го масляного раствора полярной (хлороформрастворимой) 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 [5, 13].

Животным под нембуталовым наркозом в дозе 40 мг/кг проводили канюлирование желчного протока и в течение четырех часов вели сбор желчи. В секрете определяли содержание общего билирубина по Йендрашеку с применением набора реактивов «Био-ЛА-тест» (Чехия), общего холестерина по Ильку [6], желчных кислот по Рейнхольду.

Аппликации липидов сапропеля проводили ежедневно по 20 минут 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 в среднем на 70 % (с $0,29 \pm 0,014$ до $0,086 \pm 0,001$ мл/ч в пересчете на 100 г массы, $p < 0,001$). 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 % (табл. 1). 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, секретлируемые 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 раз, а желчных кислот – почти в 8 раз (табл. 1).

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 микросомального синтеза желчных кислот и их активного транспорта из клетки. Курс аппликаций суммарного липидного экстракта сапропеля и его полярной фракции вызывали однонаправленное 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 ($0,29 \pm 0,014$ мл/ч), оставаясь на 30–40 % ниже таковых.

Существенно изменялись и биохимические показатели желчи. Так, содержание об-

шего билирубина в серии с аппликациями суммарных липидов достоверно повышалось по отношению как к гепатиту, так и к контрольной серии, практически достигая нижних пределов фоновых значений. В серии с аппликациями полярной фракции не наблюдалось существенных изменений в концентрациях общего билирубина и общего холестерина по сравнению с контрольной группой, в то время как аппликации 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 (табл. 1).

Таблица 1. Количественные изменения химических ингредиентов желчи у крыс при токсико-химическом гепатите и воздействии липидов сапропеля ($M \pm m$)

Группы	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	$1,84 \pm 0,09$	$12,53 \pm 0,18$	$2,10 \pm 0,26$
P1	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$
Контроль	$2,61 \pm 0,15$	$8,64 \pm 0,50$	$2,36 \pm 0,09$
P2	$< 0,01$	$< 0,001$	$> 0,05$
Аппликации суммарных липидов	$3,43 \pm 0,14$	$5,22 \pm 0,10$	$3,70 \pm 0,30$
P2	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,01$
P3	$< 0,01$	$< 0,001$	$< 0,001$
Аппликация полярных липидов	$2,78 \pm 0,13$	$9,34 \pm 0,43$	$3,35 \pm 0,23$
P2	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,01$
P3	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,01$

Примечание: достоверность отличий: P₁ – по отношению к фону; P₂ – по отношению к гепатиту; P₃ – по отношению к контролю

При сравнении абсолютных количеств ингредиентов в данных сериях прослеживается идентичная 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 аппликациях суммарных липидов и практически не изменялось относительно контроля при аппликациях полярной фракции, то количество выделившегося холестерина вообще 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 % (табл. 1).

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.

В заключение 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. Основным патогенетическим звеном его токсического действия является перекисное окисление полиеновых жирных кислот, входящих в состав мембранных фосфолипидов [14]. При окислении тетрахлорметана в НАДФ-зависимой дыхательной цепи эндоплазматического ретикула при участии цитохрома P-450 образуется чрезвычайно реакционноспособный трихлорметильный радикал CCl_3^{\cdot} . Повреждающее действие последнего приводит к развитию цитолиза и гибели гепатоцитов, нарушению нормального функционирования пече-

ни [14]. В связи с этим 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 пероксидации.

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, 10]. В этих исследованиях было изучено влияние липидных экстрактов сапропеля как потенциальных антиоксидантов на развитие острого токсического ССІ₄ гепатита. С указанной целью определяли содержание малонового диальдегида в ткани печени и активность глутатионредуктазы в сыворотке крови крыс. Было установлено, что острое отравление ССІ₄ сопровождается увеличением содержания малонового диальдегида в 2,4 раза, активности глутатионредуктазы – в 4 раза [9, 10]. В контрольной группе животных скорость накопления продуктов ПОЛ имела тенденцию к росту по отношению к серии «гепатит». Возможно, это было связано с активацией эндогенных антиоксидантных систем.

Наиболее выраженный антиоксидантный эффект наблюдался при аппликации 1%-го раствора полярной фракции липидов сапропеля. В этой серии концентрация МДА практически нормализовалась, а активность глутатионредуктазы в крови лишь на 30–40 % превышала значения фона [9, 10]. Аппликации 2%-го суммарного экстракта липидов давали более умеренный эффект. Так, значения исследуемых показателей снизились лишь на 30–60 % относительно контроля [9, 10]. Полученные данные свидетельствуют о наличии прямого антиоксидантного эффекта суммарного липидного экстракта и его полярной фракции. В пользу такого предположения говорит и тот факт, что в результате проведенных нами ранее исследований в липидах сапропеля было обнаружено большое количество ингибиторов ПОЛ. Более умеренный антиоксидантный эффект суммарных липидов мог быть связан с тем, что основной пул ингибиторов ПОЛ кумулирован в полярной фракции. В то же время, по нашим данным [9, 10], 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.

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 физио- и бальнеопроцедурами и последующей апробацией в клинической практике для коррекции желчевыделительной функции печени.

Выводы

1. Аппликации суммарного липидного экстракта сапропеля оказывают выраженное восстанавливающее действие на процессы желчеотделения, билирубинообразования, синтеза желчных кислот.

2. Аппликации полярной фракции липидов сапропеля, подобно суммарным липидам, положительно влияли на морфофункциональное состояние органа, однако действие их было менее выражено.

Работа выполнена при финансовой поддержке госзадания (№ 141), при поддержке РФФИ (гранты № 14-04-90004, № 13-04-98049, № 14-04-31009, № 14-04-31005) и Российского научного фонда (РНФ), грант 14-15-00008.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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.
2. Исследование кардиотоксических свойств нативных гуминовых кислот торфа / М.В. Белоусов, Р.Р. Ахмеджанов., М.В. Зыкова и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – Т. 13. – № 1. – С. 14–19.
3. Исследование антигипоксической активности нативных гуминовых кислот низинного торфа Томской области / М.В. Белоусов, Р.Р. Ахмеджанов., М.В. Зыкова и др. // Химико-фармацевтический журнал. – 2014. – Т. 48. – № 2. – С. 29–31.
4. Исследование гепатозащитных свойств нативных гуминовых кислот низинного торфа Томской области / М.В. Белоусов, Р.Р. Ахмеджанов., М.В. Зыкова и др. // Химико-фармацевтический журнал. – 2014. – Т. 48. – № 4. – С. 28–31.
5. Общие механизмы токсического действия / С.Н. Голиков, И.В. Саноцкий, Л.А. Тиунов. – Л.: Медицина, 1986. – 280 с.
6. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т. 2. – 463 с.
7. Гуминовые кислоты торфа и препараты на их основе / И.И. Лиштван, Ф.Н. Капуцкий, Ю.Г. Янута // Природопользование. – 2004. – № 10. – С. 114–119.
8. Назаров П.В., Исаев М.А. Состав липидов лечебных грязей // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры. – 2003. – № 5. – С. 46–47.
9. Применение липидов сапропеля для коррекции нарушений метаболизма печени крыс при токсико-химическом гепатите / С.В. Низкодубова, Т.В. Ласукова, С.А. Легостин // Вестник Томского государственного педагогического университета. – 2013. – № 8 (Вып. 136). – С. 94–99.
10. Низкодубова С.В., Медведев М.А. Липиды сапропеля. – Томск: Изд-во Томского государственного педагогического университета, 2004. – 150 с.
11. Чаков В.В., Завгородько В.Н. Торфяные ресурсы Приамурья и их использование в пелоидотерапии. – Хабаровск: ИВЭП ДВО РАН, 2008. – 127 с.
12. Медицинские аспекты использования биологически активных гуминовых кислот / И.В. Федько, М.В. Гостищева, Р.Р. Исмамова // Химия растительного сырья. – 2005. – № 1. – С. 41–44.
13. Frenzel H., Heidenreich T., Gellert J. Protective effect of CO₂ induced hyperventilation on the hepatotoxicity elicited by carbon tetrachloride // Liver. – 1982. – V. 45. – N 2. – P. 376–384.
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. – V. 37. – N 10. – P. 1981–1990.

Поступила 10.11.2014.