

УДК 591.1

**ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО ФИТОБАКТЕРИАЛЬНОГО СРЕДСТВА ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ**© **Максарова Дарима Дамбаевна**доктор биологических наук, доцент, Бурятский государственный университет  
Россия, 670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а

E-mail: d.maksarova@mail.ru

В работе приводятся данные по экспериментальному исследованию гепатопротекторного действия модифицированного фитобактериального средства при остром токсическом гепатите в опытах на белых крысах. Обоснованы особенности механизма действия исследуемого средства при острых токсических повреждениях печени. Значительный терапевтический эффект модифицированного фитобактериального средства и нормализация морфофункционального состояния печени характеризуется торможением перекисного окисления липидов в биологических мембранах гепатоцитов, снижением проявлений синдромов воспаления печени, благодаря чему предотвращалась грубая деструкция клеточных и субклеточных образований в органах и тканях, достигалось ускорение митоза клеток и внутриклеточной регенерации.

**Ключевые слова:** белые крысы, заболевания печени, бифидобактерии, штаммы, фитотерапия.

**HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF A MODIFIED PHYTOBACTERIOLOGY AGENT FOR ACUTE TOXIC HEPATITIS****Maksarova Darima**

DSc in Biology, A/Professor, Buryat State University

24a Smolina st., Ulan-Ude 670000, Russia

E-mail: d.maksarova@mail.ru

The paper presents data on the experimental study of the hepatoprotective effect of a modified phytobacterial agent in acute toxic hepatitis in experiments on white rats. The features of the mechanism of action of the analyzed agent for acute toxic liver damage are substantiated. A significant therapeutic effect of the modified phytobacterial agent was noted.

**Keywords:** white rats, liver diseases, bifidobacteria, strains, phytotherapy.

**Введение**

Гепатопротекторное действие модифицированного фитобактериального средства (МФС) исследовано на общепринятых экспериментальных моделях в условиях острого токсического поражения печени белых крыс тетрахлорметаном  $CCl_4$ .

По данным ВОЗ, заболевания печени также занимают существенное место в мире среди причин нетрудоспособности и смертности населения. Так, гепатит В является самой распространенной вирусной инфекцией, в мире около 2000 млн. инфицированных и 350 млн хронических носителей. Многообразными стали токсические и аллергические повреждения органов гепатобилиарной системы, как результат попадания с пищей и водой различных ксенобиотиков, включая фармакологические препараты. Это обуславливает большое социальное и медицинское значение создания и применения новых лекарственных средств для профилактики и лечения заболеваний органов гепатобилиарной системы, среди которых особого внимания заслуживают лекарственные средства природного происхождения [6].

Печень — самый крупный и сложный в метаболическом отношении орган, выполняющий разнообразные функции по синтезу и детоксикации различных веществ. Заболевания печени — острые и хронические воспалительные заболевания (гепатиты), лекарственные и алкогольные поражения печени, синдром почечной недостаточности, цирроз печени требуют осторожного назначения синтетических лекарственных средств, альтернативой которым является фитотерапия [1].

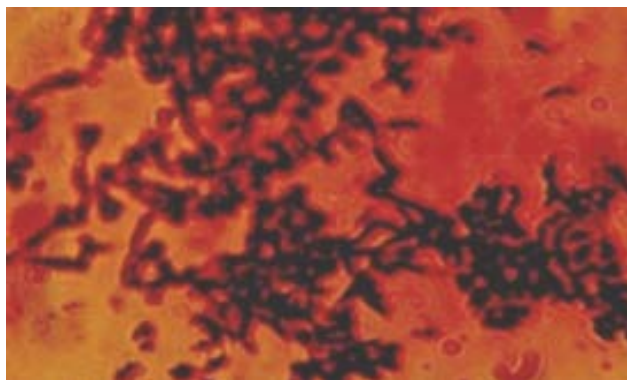
Комплексное МФС представляет собой сочетанное действие трех компонентов природного происхождения: минерального, растительного происхождения и пробиотика. В современном мире, в условиях усугубляющейся экологической ситуации, все больше внимания уделяется изысканию новых лекарственных средств природного происхождения [2].

#### **Материал и методы исследования**

МФС готовили на стерильном обезжиренном коровьем молоке с использованием активизированной чистой культуры бифидобактерий шт. В. longum В 379 М, сухого экстракта плодов шиповника Rosa (ГФ XI, ст. 38) (в экстракте из плодов шиповника аскорбиновой кислоты не менее 0,2%) и природный цеолит (ПЦ) Холинского месторождения (клиноптилолит) фракцией 0,1–1,0 мм (ТУ 2163-002-12763074-97). Содержание клеток бифидобактерий в готовом средстве 8-9 lg КОЕ/см<sup>3</sup>.

При исследовании возможности культивирования бифидобактерий на молочной основе с экстрактом плодов шиповника и ПЦ выявлено ускорение роста бифидобактерий с повышением их кислотообразующей способности [3].

Морфология клеток бифидобактерий в МФС сохраняла характерную для них бифуркацию, свойственную при культивировании бифидобактерий на среде Блаурокк (рис. 1).



**Рис. 1.** Бифидобактерии шт. *B. longum* В 379 М, выращенные на среде Блаурокк. Окраска по Граму. Увел. 7 x 90

Характерная для бифидобактерий штамма *B. longum* В379М микроскопическая картина свидетельствует о том, что условия культивирования, состав питательной среды МФС отвечают требованиям нормального роста бифидобактерий в молоке.

В процессе приготовления бифидосодержащих средств на молочной основе самым важным свойством бактерий считают их быстрый рост и способность сквашивать молоко.

Известно, что бифидобактерии (облигатные анаэробы) почти не растут в молоке, в отличие от молочнокислых бактерий. Развитие бифидобактерий может зависеть от особых веществ, так называемых бифидус-факторов, которые практически отсутствуют в коровьем молоке. Химические исследования показали, что бифидус-факторы представляют собой смесь близких по составу олигосахаридов.

В настоящее время существует несколько направлений для получения олигосахаридов-промоторов (стимуляторов роста) для бифидобактерий. Одним из таких направлений является выделение олигосахаридов из растительного сырья. Стимулирующее действие олигосахаридов объясняется тем, что они играют важную роль в синтезе пептидогликана клеточных стенок бифидобактерий.

МФС вводили *per os* в дозе 1 мл/100 мг массы животных. В качестве препарата сравнения использовали кверцетин в изоэффективной дозе 50 мг/кг массы 1 раз в сутки. Контрольная группа животных получала дистиллированную воду в эквивалентном количестве.

Опыты по моделированию острого токсического гепатита проводили на белых беспородных крысах введением 50%-ного масляного раствора тетрахлорметана ( $CCl_4$ ) (ГОСТ 20288-86) в объеме 0,4 мл/100 г массы крысы ежедневно в течение четырех дней, который разводили *ex tempore* в стерильном оливковом масле в соотношении 1:1 [4, 6].

Экспериментальные исследования проводились в соответствии с Конвенцией по защите животных, используемых в эксперименте и других научных целях, принятой Советом Европы в 1986 г., и требованиями, регламентирующими работу с экспериментальными животными.

### Результаты исследования и их обсуждение

По патогистологических исследованиях на 7-е сутки с момента введения четыреххлористого углерода в печени животных выявлены резкие структурные изменения, которые сводятся к значительным гемодинамическим нарушениям в виде полнокровия междольковых сосудов, расширения просвета центральных вен, утолщения их стенок с миграцией элементов крови в паренхиму органа, периваскулярного отека и расширения периваскулярного пространства, а также к выраженным изменениям в форме жировой дистрофии.

В ранние сроки исследования в центре и вокруг некротических очагов отмечено снижение активности сукцинатдегидрогеназы (рис. 2).

В паренхиме органа наблюдается в различной степени выраженная клеточная инфильтрация. Острый процесс повреждения печени тетрахлорметаном протекает с участием пролиферативно-инфильтрационных реакций с образованием инфильтратов в портальных и перипортальных зонах по ходу кровеносных сосудов и внутри долек.

В печени животных на 7-е сутки (контрольная группа) выявлены резкие структурные изменения в виде периваскулярного отека с очагами некроза. Повреждения носят характер мелкокапельной и среднекапельной жировой дистрофии и клеточной инфильтрации. Характерны гемодинамические нарушения.

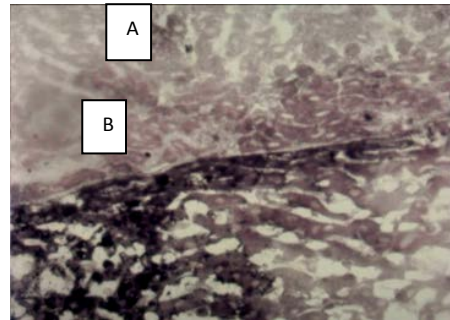


Рис. 2. Острый токсический гепатит, 7-е сутки. Печень белой крысы. Снижение активности сукцинатдегидрогеназы (А) по сравнению с интактом (В). Окраска по *Нахласу*. Увел. 10 x 10

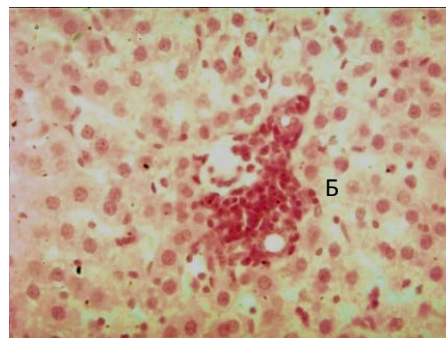


Рис. 3. Острый токсический гепатит, 14-е сутки. Контрольная группа. Печень белой крысы. Выраженная клеточная инфильтрация внутри долек по ходу сосудов и желчному протоку. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 10 x 20

На 14-е сутки все отмеченные нарушения продолжают сохраняться. Также выявлена деструкция стенок кровеносных сосудов, краевое стояние лейкоцитов у стенки сосуда с миграцией клеточных элементов в паренхиму органа. Гепатоциты с боковым или центральным расположением ядра, увеличены в размерах. Выражена клеточная инфильтрация внутри долек по ходу сосудов (рис. 3).

В паренхиме печени обнаруживали очаги некроза, локализованные чаще в центрлобулярных зонах.

На фоне введения МФС в печени слабее выражены признаки токсического гепатита, в частности, жировая и клеточная инфильтрация, гемодинамические нарушения. На 7-е сутки введения модифицированного фитобактериального средства в паренхиме органа выявлены гипертрофированные и двуядерные гепатоциты и клетки Купфера. В большинстве случаев отсутствовали выраженные альтеративные изменения, отмечалась сохранность структуры долек и балок.

У животных, получавших МФС, на 14-е сутки опытов гемодинамические нарушения и изменения в печени были выражены в гораздо меньшей степени, чем у контрольных животных. Центрлобулярные очаги некроза исчезли, хотя гепатоциты, заполнившие их, еще не приближались к норме. Об активности регенераторных процессов судили по выявлению крупных темноокрашенных клеток с гипохромными ядрами, по частоте митозов и увеличению числа двуядерных гепатоцитов.

Клеточная инфильтрация внутри долек и по ходу сосудов менее выражена. В инфильтратах преобладали гистиолимфоцитарные и макрофагальные элементы.

У животных, получавших МФС, быстрее проходили гемодинамические нарушения, отечный процесс, гораздо раньше по сравнению с контролем происходило замещение некротических очагов в центре долек вновь образованными гепатоцитами и за счет гипертрофии печеночных клеток, не подвергавшихся альтеративным изменениям, быстрее исчезали клеточные инфильтраты.

Во все сроки исследования вышеописанные признаки регенерации выявляли в печени животных, получавших МФС гораздо чаще, чем у животных контрольной группы [3].

При микробиологическом исследовании содержимого толстого отдела кишечника крыс отмечали, что МФС оказывало положительное действие на состав микрофлоры толстого отдела кишечника (табл. 1).

Так, повышался титр бифидобактерий и лактобацилл, снижалось количество энтерококков, стафилококков, клостридий, грибов рода Кандида, возрастало по сравнению с данными у животных контрольной группы количество полноценной формы кишечной палочки и, соответственно, снижалось число бактерий с ослабленными свойствами.

Таблица 1  
Влияние модифицированного фитобактериального средства на состав микрофлоры кишечника белых крыс при остром токсическом гепатите ( $M \pm m$ ,  $n=6$ ) lgКОЕ/см<sup>3</sup>

Группы бактерий	Интактная группа (H <sub>2</sub> O)	Контрольная группа	Опытные группы, получавшие МФС		
			7 сутки	14 сутки	21 сутки
<i>Bifidobacterium sp.</i>	7,26±0,39	4,71±0,32*	5,84 ±0,22	6,08 ±0,31**	6,63 ±0,26**
<i>Lactobacillus sp.</i>	6,07±0,29	4,30±0,18*	4,39 ±0,26	4,92 ±0,17	5,53 ±0,24**
<i>Clostridium sp.</i>	1,48±0,13	3,62±0,19*	2,83 ±0,20**	2,53 ±0,14**	2,00 ±0,16**
<i>E. coli</i>	5,31±0,23	5,58±0,26	5,44 ±0,16	5,53 ±0,18	5,64 ±0,14
<i>Enterococcus sp.</i>	4,35±0,20	6,63±0,25*	6,21 ±0,23	4,93 ±0,22**	4,09 ±0,21**
<i>Staphylococcus</i>	3,16±0,15	5,00±0,18*	4,77 ±0,21	4,58 ±0,17	4,31 ±0,18**
<i>Candida sp.</i>	1,29±0,10	3,64±0,18*	3,23 ±0,14	3,08 ±0,22	2,63 ±0,18**

Примечание:\* — данные достоверны по сравнению с интактной группой при  $P \leq 0,05$ ; \*\* — данные достоверны по сравнению с контрольной группой при  $P \leq 0,05$ .

Положительный эффект МФС на организм проявляется через нормализацию микробной экологии кишечника за счет стимуляции роста представителей индигенной микрофлоры, в результате синтеза витаминов и других ростстимулирующих факторов, нормализации pH, нейтрализации токсинов, изменения микробного метаболизма.

МФС реализует свое положительное влияние на физиологическую функцию и биохимические реакции либо непосредственно вмешиваясь в метаболическую активность клеток соответствующих органов и тканей, либо опосредовано через регуляцию функционирования биопленок на слизистых организма.

### Заключение

В экспериментальных исследованиях на модели острого гепатита выявлена способность МФС подавлять процессы цитолиза, нормализовать активность ферментов и метаболизм в клетках печени. Гепатопротекторное действие МФС сочетается с гиполипидемическим эффектом, тем самым предупреждая развитие дегенеративных процессов, перерождение клеток печени и возникновение фиброза.

Курсовое назначение исследуемого средства привело к торможению свободнорадикальных реакций в биологических мембранах гепатоцитов.

Скорость накопления МДА к 7 суткам развития токсического гепатита снижалась под действием модифицированного фитобактериального средства в 2,4 раза. Регуляция интенсивности ПОЛ данным средством уменьшала проницаемость и стабилизировала клеточные мембраны гепатоцитов, о чем свидетельствовало снижение активности аланинаминотрансферазы АлАТ под действием МФС на 61%. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови при введении МФС снижалась почти в 2 раза, содержание общего билирубина также в значительной степени снижалось.

К 14-м суткам развития острого токсического гепатита у крыс исследуемое средство также оказывало благоприятное воздействие. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови при введении МФС снижалась на 38%. Концентрация гликогена возрастала, по сравнению с показателями в контроле, в 1,5 раза.

К 21-м суткам эксперимента при введении МФС у животных с экспериментальным гепатитом в значительной степени тормозился процесс ПОЛ: содержание МДА в печени снижалось под действием МФС в 1,8 раза. Также стимулировались процессы синтеза гликогена в ткани печени.

Таким образом, можно предположить, что под действием исследуемого средства происходит коррекция морфофункционального состояния печени и восстановление микрофлоры толстого отдела кишечника при остром токсическом гепатите. Обоснованы особенности механизма действия исследуемого средства при токсических повреждениях печени. Значительный терапевтический эффект МФС и нормализация морфофункционального состояния печени характеризуется торможением перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических мембранах гепатоцитов, снижением проявлений синдромов воспаления печени, благодаря чему предотвращалась грубая деструкция клеточных и субклеточных образований в органах и тканях, достигалось ускорение митоза клеток и внутриклеточной регенерации. Выявлено, что встраивание бифидобактерий в каркас природного цеолита, благодаря его абсорбционным свойствам, защищает бифидобактерии от «кислотной атаки» в желудке и способствует их продвижению в толстый отдел кишечника, что, в свою очередь, приводит к нормализации нарушенной микробной экологии кишечника.

#### *Литература*

1. Насыбуллина Н. М. Фитотерапия хронических заболеваний печени // *Consilium provisorum*, 2007. № 5. С. 43–44.
2. Максарова Д. Д. Микроэкологические нарушения печени крыс при остром токсическом гепатите // *Проблемы охраны окружающей среды и рационального природопользования Прикаспия и сопредельных регионов: материалы IX Междунар. науч.-практ. конф.* Элиста, 2010. С. 133–136.

3. Максарова Д. Д. Оценка функционального состояния печени белых крыс при фармакотерапии модифицированным фитобактериальным средством в условиях острого токсического гепатита // Структура, функционирование биосистем и экологическая безопасность: материалы науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию Бурят. гос. ун-та. Улан-Удэ, 2012. Ч. 2. С. 151–157.

4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р. У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. 832 с.

5. Экспериментальное моделирование токсического повреждения печени / Скуратов А. Г. [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. 2011. № 4(30). С. 27–33.

6. Убашеев И. О., Бальхаев И. М., Плеханов А. Н. Коррекция печеночной недостаточности у белых крыс при остром СС14-гепатите тибетским лекарственным средством «Манушитан» // Вестник Бурятского госуниверситета. 2011. № 12. С. 41–45.

#### *References*

1. Nasybullina N. M. Fitoterapija hronicheskikh zabolevanij pecheni // Consilium provisorum, 2007. N 5. Pp. 43–44.

2. Maksarova D. D. Mikrojekologicheskie narushenija pecheni krysv pri ostrom toksicheskom gepatite // Problemy ohrany okruzhajushhej sredy i racional'nogo prirodopol'zovaniya Prikaspija i sopredel'nyh regionov: materialy IX Mezhdunar. nauch.-prakt.konf. Jelista, 2010. Pp. 133–136.

3. Maksarova D. D. Ocenka funkcional'nogo sostojanija pecheni belyh krysv pri farmakoterapii modifitsirovannym fitobakterial'nym sredstvom v uslovijah ostromo toksicheskogo gepatita // Struktura, funkcionirovanie biosistem i jekologicheskaja bezopasnost': materialy nauch.-prakt. konf., posvjashh. 80-letiju Burjat. gos. un-ta. Ulan-Udje, 2012. Ch.2. Pp. 151–157.

4. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv / Pod obshh. red. chlen-korr. RAMN prof. R. U. Habrieva. 2-e izd., pererab. i dop. M.: Medicina, 2005. 832 s.

5. Skuratov A. G., Lyzikov A. N., Voropaev E. V., Achinovich S. L., Osipov B. B. Jeksperimental'noe modelirovanie toksicheskogo povrezhdenija pecheni // Problemy zdorov'ja i jekologii. 2011. № 4(30) S. 27–33.

6. Ubasheev I. O., Bal'haev I. M., Plehanov A. N. Korrekciya pechenochnoj nedostatochnosti u belyh krysv pri ostrom SС14-gepatite tibetskim lekarstvennym sredstvom «Manushitan» // Vestnik Burjatskogo gosuniversiteta. 2011. № 12. Pp. 41–45.