

ВОПРОСЫ АЛКОГОЛИЗМА

ВЛИЯНИЕ ЛЕЧЕБНОГО ПРИМЕНЕНИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ *Vicia truncatula* НА НАДФН-GSH-ЗАВИСИМУЮ СИСТЕМУ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

Е. Г. Доркина¹

В опытах на белых крысах-самках установлено, что в ходе хронической алкоголизации наблюдается активация НАДФН-GSH-зависимой системы печени, обеспечивающей защиту против этанол-индуцированного окислительного стресса. Лечебное применение сухого экстракта из *Vicia truncatula* Fish ex Bieb. в дозе 300 мг/кг на фоне введения 40 % этанола усиливает данную адаптационно-приспособительную реакцию без развития истощения в системе, что отмечается при применении карсила. Полученные результаты позволяют предполагать наличие выраженного гепатозащитного действия сухого экстракта при хроническом алкогольном поражении печени.

Ключевые слова: сухой экстракт из *Vicia truncatula*, карсил, флавицин, хроническая алкоголизация, НАДФН-GSH-зависимая система печени

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы особое значение в предотвращении развития алкоголь-индуцированного окислительного стресса придается глутатионовой системе [5, 6, 8 – 10]. Ранее в наших исследованиях выявлено, что флавоноиды диосмин, гесперидин, флавицин и кверцетин проявляют гепатозащитное действие и способствуют поддержанию уровня GSH, активности глутатионпероксидазы (ГП), глутатион-S-трансферазы (Г-S-ТР), глутатионредуктазы (ГР) и НАДФ⁺-редуктазы при острой алкогольной интоксикации с наиболее выраженной активностью у флавицина [1].

Целью работы являлось изучение состояния НАДФН-GSH-зависимой системы в печени крыс при хронической алкоголизации и при лечебном применении сухого экстракта (СЭ) из *Vicia truncatula*, содержащего флавицин.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сухой экстракт представляет порошок темно-коричневого цвета с приятным специфическим запахом, содержащий 4 – 4,5 % флавицина [7]. Для стандартизации предложен метод количественного спектрофотометрического определения суммы флавоноидов в сухом извлечении, ошибка которого находится в пределах 3 – 5 %. Опыты проведены на 138 белых беспородных крысах-самках массой 180 – 200 г находившихся на стационарном режиме вивария. Предварительными исследованиями выявлено, что наиболее выраженные изменения со стороны печени наблюдались у крыс, которым вводили 40 % этиловый спирт в дозе 14 мл/кг в течение 60 дней.

Через сутки после 60-дневного введения этанола животным опытных групп совместно с этанолом начинали вводить сухой экстракт в ранее установленной [2] эффективной дозе (300 мг/кг) в виде водной суспензии в течение 21 дня. Контрольные животные получали *per os* такой же объем растворителя и 40 % этанол в дозе 14 мл/кг также 21 день. В качестве препарата сравнения использовали карсил (100 мг/кг). После 60-дневной алкоголизации (исходный контроль) через 7, 14 и 21 день лечебного применения сухого экстракта и карсила проводили забой животных интактной, опытных и соответствующих контрольных групп.

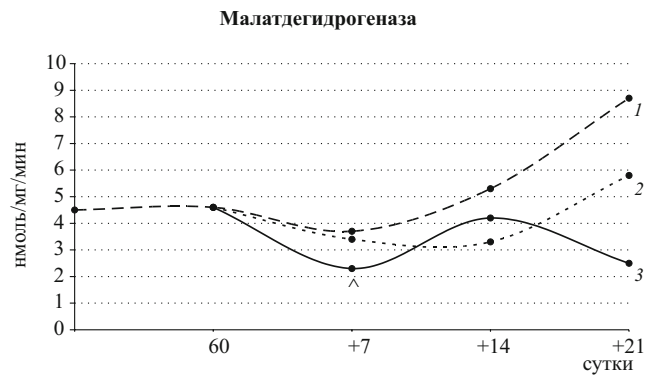
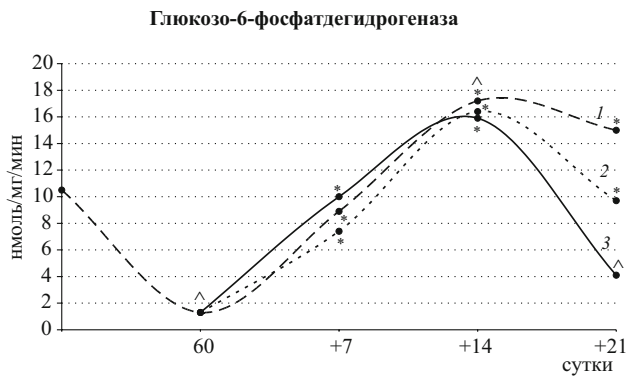
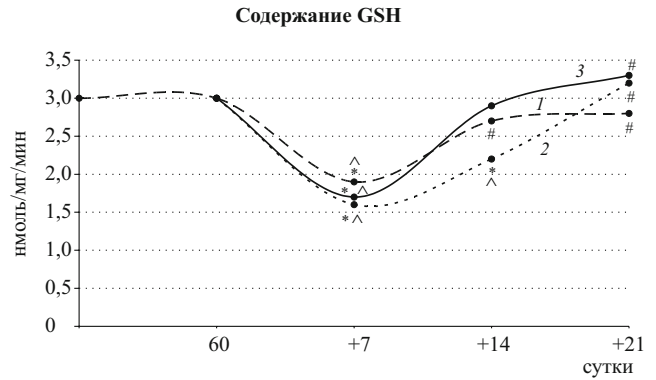
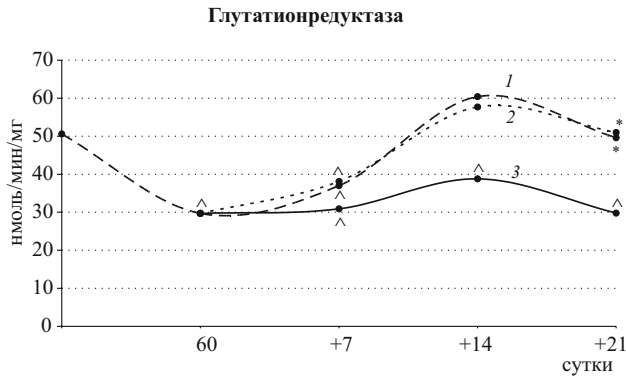
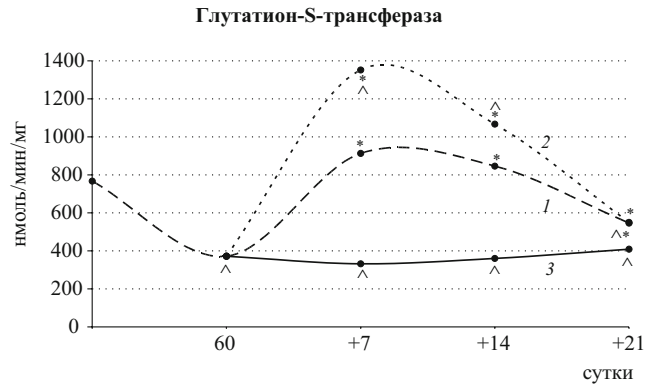
Состояние глутатионовой системы печени оценивали по содержанию восстановленного глутатиона (GSH) [4], активности ГП, Г-S-ТР, ГР, а также определяли НАДФН-редуктазную активность при использовании в качестве субстратов малата, глюкозо-6-фосфата и изоцитрата [3]. Белок определяли по методу Лоури и соавт. в модификации Миллера [1]. Данные обрабатывали методом вариационной статистики с расчетом t-критерия Стьюдента.

Получение и стандартизация СЭ были проведены, как описано [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После 60-дневного введения алкоголя наблюдали следующие изменения в системе глутатиона: содержание GSH в печени не отличалось достоверно от нормы, но регистрировалось снижение активности ГП — на 47 %, ГР — на 41 % и Г-S-ТР — на 48 % по отношению к интактным животным. Среди ферментов, участвующих в обеспечении глутатионредуктазной реакции восстановительными эквивалентами, отмечалось достоверное снижение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) — на 88 %, хотя активность малатдегидрогеназы (МДГ) и изоцитратдегидрогеназы

¹ Кафедра микробиологии и биохимии (зав. – Е. Г. Доркина) Пятигорской государственной фармацевтической академии, Пятигорск, 357523, пр. Калинина, 11.



Влияние лечебного применения сухого экстракта из *Vicia truncatula* на НАДФН-GSH-зависимую систему печени крыс при хронической алкоголизации.

Различия достоверны по отношению:

* — к исходному контролю, ^ — к интактным животным, # — к контролю 1.

Точки на оси ординат — уровень интактных животных.

1 — контроль, 2 — экстракт, 3 — карсил.

(ИЦДГ) достоверно не изменилась по сравнению с нормой (рисунок).

При дальнейшем приеме алкоголя в контроле 1 (7-й день дополнительного введения) наблюдалась активация антиперекисных ферментов: повышалась активность ГП и Г-S-TP на 82 и 145 % соответственно по отношению к исходному контролю (рисунок). Содержание GSH в печени, являющегося кофактором ГП и Г-S-TP, снижалось при этом на 37 %, но повышалась активность ферментов, участвующих в его регенерации: Г-6-ФДГ на 584 % (7-й день), на 1223 % (14-й день) и на 1053 % (21-й день), ГР на 103 % (14-й день) и на 67 % (21-й день). В то же время активность ИЦДГ уменьшалась на 36 % (7-й день) и на 49 % (14-й день). После нормализации содержания GSH в печени (14-й и 21-й дни), активность Г-6-ФДГ и ГР (21-й день) снижалась до уровня интактных животных, но активность ИЦДГ, как и в целом НАДФ⁺-редуктаз, увеличивалась к этому сроку и была достоверно выше нормы на 29 и 34 % соответственно. Однако активность ГП и Г-S-TP после повышения в ходе дальнейшей алкоголизации постепенно снижалась и через 21 день оказалась достоверно ниже нормы на 32 и 30 % соответственно.

При лечебном применении СЭ наблюдалась более выраженная активация ГП (+74 % — 7-й день, +118 % — 14-й день, +69 % — 21-й день) и Г-S-TP на 263 % (7-е сутки) и на 187 % (14-е сутки). К окончанию срока лечения (через 21 день) активность данных ферментов хотя и снижалась, но оставалась такой же, как и у интактных животных. Со стороны ферментов, обеспечивающих восстановление GSH, выявлялись те же закономерности, что и в контроле, но эти изменения по всем видам активности были несколько менее выраженными, чем в контроле (рисунок).

У животных, леченных карсиллом, отсутствовала активация Г-S-TP и наблюдалась менее выраженная активация ГП (+51 % — 7-й день и +61 % — 14-й день), активировалась не только Г-6-ФДГ (+669 % и 1123 % на 7-й и 14-й дни), но ИЦДГ (на 46 и 152 % на 7-й и 14-й дни). К окончанию срока лечения (через 21 день) наблюдалось резкое падение активности Г-6-ФДГ и ИЦДГ, а также общей НАДФ⁺редуктазы, которая оказалась ниже нормы на 61, 40 и 43 % соответственно (рисунок).

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что в ходе хронической алкоголизации происходит активация адаптационно-приспособительных механизмов, направленных на защиту про-

тив повреждающего фактора. Более выраженная защитная реакция развивается при лечебном применении на фоне алкоголизации сухого экстракта. В то же время у животных, леченных карсиллом, не наблюдается активации такого важнейшего фермента детоксикации, как Г-S-TP, а также отмечается падение активности Г-6-ФДГ и ИЦДГ ниже интактных значений к окончанию срока лечения. Возможно, одновременная их стимуляция приводит к истощению в данной системе.

ВЫВОДЫ

1. После 60-дневного введения крысам 40 % этанола в дозе 14 мл/кг в печени развиваются нарушения в глутатионовой системе, проявляющиеся в падении активности ферментов, разрушающих гидроперекиси (ГП и Г-S-TP) и участвующих в регенерации GSH (ГП и Г-6-ФДГ).
2. На фоне дальнейшей алкоголизации наблюдается повышение активности ГП, Г-S-TP, ГР и Г-6-ФДГ.
3. Лечебное применение сухого экстракта *Vicia truncatula* в дозе 300 мг/кг способствует усилению адаптационно-приспособительной реакции, направленной на преодоление окислительного стресса, вызванного хронической алкоголизацией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Г. Доркина, Е. О. Сергеева, Э. Т. Оганесян и др., *Вестн. ВолГМУ*, **23**(3), 50 – 52 (2007).
2. Е. Г. Доркина, Е. О. Сергеева, Л. А. Саджая и др., *Сб. науч. тр.*, Вып. 63, ПятГФА, Пятигорск (2008), сс. 409 – 412.
3. В. В. Лемешко, Ю. В. Никитченко, П. А. Калиман, *Укр. биохим. журн.*, **55**(5), 523 – 528 (1982).
4. *Методы биохимических исследований*, М. И. Прохорова (ред.), Изд-во Ленинградского ун-та, Ленинград (1982).
5. А. Н. Пашков, С. С. Попов, А. В. Семенихина, Т. Н. Рахманова, *Бюл. экспер. биол.*, **139**(5), 520 – 524 (2005).
6. В. Г. Спрыгин, Н. Ф. Кушнерова, *Вопр. биол. мед. и фармац. химии*, № 4, 22 – 26 (2002).
7. О. М. Шаренко, *Автореф. дис ... канд. фармац. наук*, Пятигорск (2005).
8. A. Dey and A. I. Cederbaum, *Hepatology*, **43**(2), 63 – 74 (2006).
9. M. F. Molina, I. Sanchez-Reus, I. Inglesias, and J. Benedi, *Biol. Pharm. Bull.*, **26**(10), 1398 – 1402 (2003).
10. D. Wu and A. I. Cederbaum, *Alcohol Research & Health*, **24**(4), 277 – 284 (2003).

Поступила 03.02.10

EFFECT OF POST-TREATMENT WITH DRY EXTRACT FROM *VICIA TRUNCATULA* ON NADPH – GSH DEPENDENT SYSTEM OF RAT LIVER DURING CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION

E. G. Dorkina

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy, pr. Kalinina 11, Pyatigorsk, 357523, Russia

Experiments on white female rats showed that chronic ethanol consumption leads to activation of the NADPH – GSH dependent system of the liver, which provides protection against ethanol-induced oxidative stress. Post-treatment administration of dry extract from *Vicia truncatula* Fish ex Bieb. (300 mg/kg body weight) on the background of 40% ethanol increased this adaptive reaction without depletion in the system, in contrast to what was observed in rats treated with carsil. These results suggest a significant hepatoprotective effect of the dry extract during the chronic alcohol-induced injury of the liver.

Key words: dry extract from *Vicia truncatula*, carsil, flavicin, chronic ethanol intoxication, NADPH – GSH dependent system of liver