

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭМВ

Исследование антиоксидантной активности ЭМВ

Учитывая современные представления об определяющей роли перекисного окисления липидов и свободных радикалов в патогенезе деструктивных поражений печени при действии различных факторов (токсиканты, инфекции, воспаление, нарушения диеты, возраст и т.д.), в Институте химической физики им. Н. Н. Семёнова РАН были проведены исследования прямого антиоксидантного действия экстракта мицелия вешенки в модельных экспериментах.

Изучали содержание антиоксидантов (АО) в препарате и его антирадикальную активность (АРА) по отношению к перекисным радикалам методом хемилюминисценции. Исследования проводили на модели инициированного окисления этилбензола при температуре $T=60^{\circ}\text{C}$.

Эффективное содержание АО и их относительную АРА определяли кинетическим методом, добавляя исследуемый образец в модельную реакцию инициированного окисления этилбензола с контролем интенсивности хемилюминисценции. Полученные результаты соотносили с данными известных антиоксидантов: дибунолом, кверцетином, α -токоферолом и его синтетическим аналогом хроманом-С.

Показано, что экстракт содержит до 0,5 моль/1 г АО, проявляет существенную антиоксидантную активность, превышая АРА дибунола, кверцетина и не уступая АРА хромана-С и α -токоферола.

Таким образом, в данном эксперименте было показано, что экстракт мицелия вешенки способен оказывать выраженное антиоксидантное действие и является перспективным для применения в качестве гепатопротектора при дегенеративных поражениях печени.

Исследования гепатопротекторного действия ЭМВ при токсическом поражении печени

Исследование гепатотропного действия препарата было проведено в ОАО «ВНЦ БАВ», Старая Купавна, Россия в соответствии с «Методическими рекомендациями по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ»

2000 г. В исследованиях использовали традиционные экспериментальные модели поражения печени у мышей и крыс. Описание гистологических исследований печени животных при повреждающем действии гепатотоксинов дано на основании работы [1]. В качестве препарата сравнения использовали Гептрал (S-аденозин-L-метионин).

Антиоксидантное и гепатопротекторное действие ЭМВ при токсическом поражении печени тетрахлорметаном.

Быстрое токсическое поражение печени у аутбредных мышей-самцов массой 27 -29 г индуцировали введением СС1(4) в виде 50% раствора в масле в течение 4-х дней в дозе 1,0 мл/кг (контрольная группа). Экстракт в экспериментальных группах вводили внутривентрикулярно в дозах 50 мг/кг или 100 мг/кг за 1 час до введения гепатотоксина. Препарат Гептрал в группе сравнения вводили в дозе 1000 мг/кг внутривентрикулярно за 30 минут до СС1 (4).

В контрольной группе токсическое поражение печени сопровождалось цитолизом гепатоцитов, что отражалось в повышении активностей трансаминаз - АлАТ и АсАТ на 26% и 21%, соответственно. Кроме того, отмечали снижение активности амилазы на 22% и уровня глюкозы в крови на 26%.

При введении экстракта в дозах 50 и 100 мг/кг наблюдали нормализацию активностей

АЛАТ и АсАТ до уровня показателей интактных животных, повышение уровня глюкозы и активности амилазы.

Выбранный в качестве препарата сравнения Гептрал в условиях данного эксперимента не оказывал гепатопротекторного действия, т.к. не снижал активностей трансаминаз и не способствовал нейтрализации токсического действия СС1(4) на активность амилазы.

Известно, что пусковым механизмом повреждения клеток печени при воздействии СС1(4) является активация процессов перекисного окисления. Поэтому для выяснения механизма гепатопротекторного действия ЭМВ в данном эксперименте определяли активность ферментов СОД и ГПО в эритроцитах, характеризующих антиоксидантный потенциал организма. Влияние экстракта на показатели активности антиоксидантных ферментов приведены в таблице.

Влияние ЭМВ на активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах мышей при токсическом поражении печени тетрахлорметаном.

Группа животных	СОД, ед/г НЬ	ГПО, ед/г НЬ
Интактные	141,1 +4,5	30,4 + 0,4
Модель с СС1(4), п= 20	121,1 +5,6*p<0,05	25,4+1,8*p < 0,05
СС1(4) + ЭМВ, 50 мг/кг, п =20	151,1 + 4,3**p< 0,001	31,9+1,7**p < 0,05
СС1(4) + ЭМВ, 100 мг/кг, п =20	138,4 +2,0** p<0,01	34,0 + 0,9** p<0,01

Примечание: * - достоверность различий с данными группы интактных животных, ** - достоверность различий с данными группы животных с токсическим поражением печени тетрахлорметаном.

Из данных, приведенных в таблице, следует, что введение экспериментальным животным СС1(4) сопровождалось угнетением антиоксидантной ферментной системы - снижением активностей СОД и ГПО, что соответствует характеристикам данной модели токсического поражения печени. При введении экстракта в дозе 50 мг/кг активности СОД и ГПО восстанавливались до показателей интактных животных. При увеличении дозы экстракта до 100 мг/кг также наблюдалась нормализация показателей активности СОД и ГПО, однако повышение СОД было менее выражено, чем при дозе ЭМВ, равной 50 мг/кг.

Таким образом, при токсическом поражении печени, индуцированном тетрахлорметаном, экстракт мицелия вешенки оказывает гепатопротекторное действие, уменьшая цитолиз гепатоцитов. При этом основное действие ЭМВ направлено на обеспечение нормальной активности антиоксидантных ферментов.

Исследование гепатопротекторного действия ЭМВ при токсическом гепатите с холестатическим синдромом, индуцированном тетрациклином

Экспериментальный гепатит у крыс, вызванный повреждающей дозой тетрациклингидрохлорида (125 мг/кг однократно в сутки в течение 3-х дней) сопровождался синдромами холестаза. Увеличивались уровень показателя экскреторной функции печени ЩФ на 38% и содержание ТГ на 85%, по сравнению с показателями интактных животных.

ЭМВ в дозе 50 мг/кг способствовал нормализации активности ЩФ до уровня интактных животных. Отмечалось снижение уровня ТГ на 42% в сторону нормализации.

При увеличении дозы экстракта до 100 мг/кг активность ЩФ также нормализовалась. Содержание ТГ снизилось ещё в большей степени - на 53%, приблизившись к

нормальному уровню.

Препарат Гептрал в дозе 1000 мг/кг снижал активность ЩФ и содержание ТГ на 8% и 27%, соответственно.

Таким образом, гепатопротекторный эффект ЭМВ на модели гепатита, индуцированного тетрациклином, проявился в нормализации активности ЩФ и существенном снижении уровня ТГ.

Влияние ЭМВ на состояние печени при токсическом гепатите, индуцированном этанолом

Острый токсический гепатит у крыс индуцировали введением 48% этанола в дозе 10 мл/кг внутривентрикулярно. Гепатотоксин вводили в течение 8 дней. Экстракт мицелия вешенки вводили внутривентрикулярно в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг за 1 час до этанола. Препарат сравнения Гептрал вводили в дозе 250 мг/кг внутривентрикулярно за 30 минут до гепатотоксина.

При введении этанола наблюдалось увеличение в сыворотке крови животных уровня ТГ на 34% по сравнению с интактными животными, что свидетельствовало о нарушении липидного обмена в печени, характерного для данного вида гепатита.

Применение ЭМВ в обеих дозах приводило к нормализации уровня ТГ в сыворотке крови. В то же время Гептрал в условиях данной патологии печени вызывал дальнейший рост уровня ТГ и проявлял тенденцию к повышению активностей АлАТ и ЩФ.

В ходе эксперимента при макроскопическом изучении желудков животных было обнаружено значительное изменение слизистой желудка крыс, получавших экстракт в дозе 100 мг/кг. Слизистая была бледная и сильно истончена. У животных, получавших ЭМВ в дозе 50 мг/кг, слизистая желудка имела нормальный вид и не отличалась от таковой у интактных животных.

Таким образом, в эксперименте показано, что при алкогольной интоксикации экстракт мицелия вешенки в обеих дозах проявил отчетливую гепатозащитную активность, проявляющуюся в нормализации липидного обмена в печени. ***Однако, прием препарата ЭМВ в дозе 100 мг/кг не совместим с одновременным приемом алкоголя.***

Исследование гепатопротекторного действия ЭМВ при остром токсическом гепатите, индуцированном D-галактозамином

D-галактозамин вводили крысам внутривентрикулярно однократно в дозе 500 мг/кг в течение 3-х дней. Экстракт мицелия вешенки вводили внутривентрикулярно в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг за 1 час до введения гепатотоксина. Препарат Гептрал в дозе 1000 мг/кг вводили внутривентрикулярно за 30 минут до гепатотоксина.

Токсическое поражение печени D-галактозамином сопровождалось достоверным повышением показателей синдрома цитолиза гепатоцитов - повышением активности трансаминаз (АлАТ на 30%, АсАТ на 25%) и ЩФ на 40%. Кроме того, гепатотоксин снижал активность белоксинтезирующей функции печени.

Курсовое введение ЭМВ в дозе 50 мг/кг замедлило развитие цитолиза и сопутствующей гиперферментемии (активность трансаминаз достигла нормы и заметно снизилась активность ЩФ). Уровень общего белка повысился до нормы. При двукратном увеличении дозы ЭМВ до 100 мг/кг отмечена полная нормализация активности печеночных ферментов. Активность ЩФ достигла показателя нормы.

Препарат сравнения Гептрал, вводимый в дозе 1000 мг/кг, проявлял аналогичный эффект подавления цитолитического действия D-галактозамина. Однако, следует отметить, что Гептрал вызывал заметное повышение уровня креатинина на 25% в сыворотке крови экспериментальных животных.

Таким образом, экстракт мицелия вешенки в дозе 50 и 100 мг/кг эффективен для

устранения синдрома цитолиза и сопутствующей гиперферментемии, восстановления белоксинтезирующей функции печени в условиях модели токсического поражения печени D-галактозамином.

Исследование гепатопротекторного действия ЭМВ при гиперлипидемии

Гиперлипидемию (ГЛП) индуцировали у крыс атерогенным рационом (АР), содержащим в масляной суспензии 10% холестерина и 1% холевой кислоты (из расчета 1мл жировой нагрузки на 100 г массы тела) в течение 10 дней. Экстракт мицелия вешенки в дозе 50 мг/кг вводили внутривентрикулярно в те же сроки.

Из таблицы следует, что содержание животных на атерогенном рационе сопровождалось достоверным увеличением активности АлАТ, на фоне подавления активности АсАТ, и увеличением активности ЩФ в 1,4 раза по сравнению с интактными животными.

Содержание общего холестерина возрастало в 3,5 раза за счет его накопления в составе атерогенных фракций липопротеидов. Уровень ТГ повысился по сравнению с нормой в 2 раза.

Влияние ЭМВ на биохимические показатели сыворотки крови крыс с экспериментальной гиперлипидемией

Биохимические показатели сыворотки крови	Группы животных		
	Интактная	Атерогенный рацион (АР)	АР + ЭМВ, 50 мг/кг
ХС общ, мг/100 мл	56,6 ± 2,7	79,8 ± 3,2*	58,6 ± 2,4**
ХС ЛПВП, мг/100 мл	33,9 ± 2,3	22,5 ± 1,3*	31,9 ± 1,8**
ХСЛПНП, мг/100 мл	11,0±2,2	30,2 ± 3,2*	12,4 ± 1,5**
ХСЛПОНП, мг/100 мл	11,9±0,6	27,1 ± 1,6*	14,0 ± 0,9**
ТГ, мг/100 мл	59,5 ± 2,9	135,3 ± 7,9*	70,4 ± 4,4"
АсАТ, ед/л	292 ± 22	162 ± 16*	266 ± 32**
АлАТ, ед/л	85 ± 5	110 ± 8*	98 ± 8
ЩФ, ед/л	230 ± 12	306±18*	250 ± 15**
Билирубин, мкмоль/л	7,4 ± 0,9	7,1 ± 0,3	6,2 ± 0,7

*- достоверность различий с интактной группой **-достоверность различий с контрольной группой (с АР)

У животных, получавших экстракт в дозе 50 мг/кг, нормализовались все показатели липидного обмена. Об улучшении функционального состояния печени после введения ЭМВ свидетельствовала нормализация активностей ферментов АлАТ, АсАТ и ЩФ до

показателей интактных животных.

Таким образом, при экспериментальной гиперлипидемии, вызываемой атерогенной диетой, экстракт мицелия вешенки в дозе 50 мг/кг обладает выраженным липидрегулирующим действием в сочетании с гепатопротекторным эффектом.