



Влияние биологически активного вещества Дармонала и соединений фитина на функциональное состояние печени при экспериментальном гепатите, вызванном парацетамолом

Каримова Г.А.¹, Аминов С.Д.¹, Маль Г.С.²

¹ Ташкентский педиатрический медицинский институт, улица Богишамол, 223, г. Ташкент, Юнусабадский р-н., 100140, Узбекистан

² Федеральное Государственное Бюджетное Образовательное Учреждение Высшего Образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. К. Маркса, 3, г. Курск, 305041, Россия

Для цитирования: Каримова Г.А., Аминов С.Д., Маль Г.С. Влияние биологически активного вещества Дармонала и соединений фитина на функциональное состояние печени при экспериментальном гепатите, вызванном парацетамолом. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;207(11): 211–215. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-211-215

✉ Для переписки:

Аминов

Салахитдин

Джураевич

salohiddin56@mail.ru

Каримова Гулчехра Алмардоновна, Старший преподаватель кафедры фармакологии, физиологии
Аминов Салахитдин Джураевич, д.м.н., Профессор, доцент, Заведующий кафедрой фармакологии, физиологии
Маль Галина Сергеевна, заведующая кафедрой фармакологии, д.м.н., профессор, Врач высшей категории

Резюме

Целью исследования — изучение протективного механизма действия субстанции Дармонала и соединений фитина на модели острого токсического лекарственного гепатита, вызванного парацетамолом у крыс.

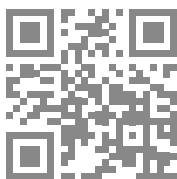
Материал и методы исследования проводили на белых беспородных крысах обоего пола массой тела 140–200 г. Лекарственное поражение печени воспроизводили введением парацетамола в желудок в дозе 500 мг/кг в течение 2 дней. Исследуемые соединения Дармонал, препарат Фитин-С и препарат сравнения Лив.52 вводили в течение 7 дней после воспроизведения гепатита в дозах 100 мг/кг. Для установления эффективности и механизма действия отобранных супрамолекулярных комплексов на модели токсического лекарственного гепатита, вызванного парацетамолом, исследовали: белоксинтезирующую функцию печени по содержанию общего белка и альбумина в сыворотке крови, экскреторную и токсическую функцию печени содержанию общего и прямого билирубина, эндогенную интоксикацию по содержанию мочевины в сыворотке крови, цитолитический синдром по активности индикаторных ферментов (аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в сыворотке крови).

Результаты исследования. Исследование специфической активности препаратов Дармонал, Фитин-С, при их сочетанном применении и препарата сравнения Лив.52 на модели парацетамолового и тетрахлорметанового гепатита показали, что препараты при пероральном введении в дозе 100 мг/кг оказывают выраженное гепатопротекторное действие.

Ключевые слова: субстанция дармонал, дармонал А, лив-52, парацетамоловый токсический гепатит, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, гаммаглутамилтрансферазы, щелочная фосфатаза

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: TVQSKA



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-207-11-211-215>

Influence of biologically active substance Darmonal and phytin compounds on the liver functional state at experimental hepatitis caused by paracetamol

G. A. Karimova¹, S. D. Aminov¹, G. S. Mal²

¹ Tashkent Pediatric Medical Institute, 223, Bogishamol street, 100140, Tashkent, Republic of Uzbekistan

² Kursk State Medical University, Western Campus, office 214, Karl Marx street No.3, Kursk, 305029, Russia

For citation: Karimova G. A., Aminov S. D., Mal G. S. Influence of biologically active substance Darmonal and phytin compounds on the liver functional state at experimental hepatitis caused by paracetamol. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;207(11): 211–215. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-211-215

✉ *Corresponding author:*

Salohiddin D.

Aminov

salohiddin56@mail.ru

Gulchekhra A. Karimova, Senior Lecturer of the Department of Pharmacology, Physiology; ORCID: 0000-0002-9540-2357
Salohiddin D. Aminov, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Associate Professor, Head of the Department of Pharmacology, Physiology; ORCID: 0000-0002-3473-9802
Galina S. Mal, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Pharmacology; ORCID: 0000-0003-1712-5005

Summary

The study aimed to investigate the protective mechanisms of substance Darmonal and phytin compounds in the experimental model of acute toxic drug-induced hepatitis caused by paracetamol in rats.

The material and methods The research was carried out on white outbred rats of both sexes weighing 140–200 g. Drug-induced liver damage was reproduced by introduction of paracetamol into the stomach in dose 500 mg/kg for 2 days. The test compounds Darmonal, Fitin-C and reference drug Liv.52 were administered for 7 days after hepatitis reproduction in doses 100 mg/kg. The effectiveness and mechanism of action for selected supramolecular complexes in the model of toxic drug-induced hepatitis was made by paracetamol. It was researched that liver protein-synthesizing function was due to the content of total protein and albumin in the blood serum, the excretory and toxic function of the liver by the content of total and direct bilirubin as well as the endogenous intoxication were according to the content of urea in the blood serum, but cytolytic syndrome occurred because of the activity of indicator enzymes (alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in blood serum).

Research results. The study of specific activity of Darmonal in combination with Fitin-C and the reference drug Liv.52 on the model of paracetamol and carbon tetrachloride hepatitis showed that the drugs, being administered in dose 100 mg/kg, had a pronounced hepatoprotective effect.

Keywords: Darmonal substance, Darmonal A, Liv.52, paracetamol toxic hepatitis alanine aminotransferases, aspartate aminotransferases, gamma-glutamyl transferases, alkaline phosphatase

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Исследование биологически активных веществ, внедрение их в медицинскую практику имеет большое значение для повышения трудоспособности населения и для профилактики различных патологических состояний. В этом отношении большой интерес представляют биологические активные вещества, получаемые из пшеницы. Например, сумалек, который узбекский народ употреблял еще с древних времен во время весны, но недостатком которого является невозможность его использования в течение длительного времени. В фармацевтическом институте получено новое биологическое активное вещество на основе пшеницы,

субстанция в виде мелкого порошка – дармонал и на основе овса – дармонал А (Махмуджонов К. С., Каримова С. А., 2002). Фармакологические свойства Дармонал обусловлены содержанием в его составе широкого спектра различных биоактивных соединений: ферменты, витамины комплекса В, микроэлементы, белки, жиры, углеводы. Патент № (ГОСТ 7169–66).

Цель исследования – установление механизма действия субстанции Дармонала и соединений фитина на модели острого токсического лекарственного гепатита, вызванного парацетамолом у крыс.

Материал и методы исследования

Исследования проводили на белых беспородных крысах обоего пола массой тела 140–200 г. Лекарственное поражение печени воспроизводили введением парацетамола в желудок в дозе 500 мг/кг в течение 2 дней. Этот гепатотоксин наиболее глубоко повреждает антиоксидантную функцию печени с прооксидантными свойствами и приводит к развитию острого токсического гепатита (ОТГ) (1,2). Исследуемые соединения Дармонал, препарат Фитин-С и препарат сравнения Лив-52 вводили в течение 7 дней после воспроизведения гепатита в дозах 100 мг/кг. Животные ежедневно осматривались, учитывалась поедаемость корма. За время опыта не было летальных случаев и заболеваний животных.

Для установления эффективности и механизма действия отобранных супрамолекулярных комплексов на модели токсического лекарственного гепатита, вызванного парацетамолом, исследовали:

1. белоксинтезирующую функцию печени по содержанию общего белка и альбумина в сыворотке крови;
2. экскреторную и токсическую функцию печени по содержанию общего и прямого билирубина;
3. эндогенную интоксикацию по содержанию мочевины в сыворотке крови;
4. цитолитический синдром по активности индикаторных ферментов (аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в сыворотке крови).

Исследование биохимических показателей сыворотки крови проводили на модели парацетамолового гепатита. После введения препаратов на 7 день, забой животных осуществляли путем декапитации под эфирным наркозом, в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 ЕЕС. Забор крови для исследования проводили в одно и то же время, натощак. Аналитические измерения проводили с соблюдением стандартизованных методик на апробированных заводских реагентах с обязательным проведением контроля качества на автоматизированных приборах, что позволило

минимизировать ошибки и нивелировать влияние человеческого фактора.

Для исследования использовали венозную кровь, которую отбирали из вены в вакуутайнеры “HumaTubeSerumC/A” с красной крышечкой для биохимических и ИФА исследований. Для получения сыворотки, кровь центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин. Полученная сыворотка переносилась во вторичные пробирки.

Биохимические показатели крови определяли на биохимическом автоматическом анализаторе “DIRUI CS-T240” (DIRUI INDUSTRIAL CO., LTD, КНДР) с использованием тест-систем “GYPRESS DIAGNOSTICS” (Бельгия), в сыворотке (или плазме) крови без следов гемолиза: Total protein (определение общего белка в крови), Albumin (определение альбумина в крови), Bilirubin total / direct (определение билирубина в крови, прямой/общий), GOT(ast) Liq (определение аспартатаминотрансферазы, в крови), GPT(alt) Liq (определение аланинаминотрансферазы в крови), Urea Liq (определение мочевины в крови), Cholesterol Liquid (определение холестерина в крови), HDL-cholesterol (определение холестерина высокой плотности ЛПВП в крови), LDL-cholesterol (определение холестерина низкой плотности ЛПНП), Triglycerides Liquid (определение триглицеридов в крови).

Детоксикационную функцию печени определяли на крысах. Опытным крысам на 10-й день лечения внутривенно вводили тиопентал натрия в дозе 60 мг/кг в виде 2% водного раствора. Об антиоксидантной функции печени судили по продолжительности наркоза. Отмечали время наступления бокового положения у животных (латентный период). Окончанием считали тот момент, когда крысы вставали на лапки.

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке с применением пакета прикладных программ Origin 8.0 (США) с вычислением среднеарифметической величины (M), среднего квадратичного отклонения (σ), средней ошибки среднеарифметической величины (m), критерия Стьюдента (t) с вычислением вероятности ошибки (P) (3). За статистически значимые изменения принимали уровень достоверности $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Парацетамоловая модель имеет важную особенность – введение препарата сопровождается развитием у животных гемической гипоксии, которая связана с развитием анемии и снижением транспортной функции гемоглобина.

Как видно из приведенных в таблице 1 данных введение парацетамола в дозе 500 мг/кг в течение 2-х дней у контрольных животных приводит к повреждению мембран гепатоцитов, нарушению функционирования и сопровождается повышением активности маркерных ферментов аланин и аспартатаминотрансфераз (цитолитический эффект) на 131–237% и маркеров холестаза – щелочной фосфатазы в 6 раз. Поражение печени носит смешанный гепатоцеллюлярный/холестатический

характер, что подтверждается коэффициентом (R) ЩФ/АлАТ, равным 2,0.

Парацетамол наиболее глубоко повреждает антиоксидантную функцию печени. Как видно из приведенных в таблице 1 данных продолжительность наркоза крыс при внутривенном введении тиопентала натрия в контрольной группе животных увеличилась в 2,0 раза. Содержание общего, прямого и непрямого билирубина увеличилось соответственно в 1,2–1,7 раза, а коэффициент глюкуронырования билирубина сократился в 1,37 раза, что говорит о снижении способности ферментов гепатоцитов катализировать реакции конъюгации.

О влиянии парацетамола на белок синтезирующую функцию печени судили по содержанию

Таблица 1.
Влияние препарата Дармонал, «Фитин-С» и при сочетанном применении в дозе 100 мг/кг на показатели, характеризующие поражение гепатоцитов при интоксикации парацетамолом (M±m; n=10)

Table 1.
Effect of the drug Darmonal, "Fitin-C" and their combination in a dose of 100 mg/kg on hepatocyte under the paracetamol intoxication (M; n=10)

Биохимические показатели Biochemical indicators	Интакт Intact	Контроль control	Лив.52 Liv.52	Дармонал Darmonal	Фитин-С Fitin-C	Дармонал + Фитин-С, Darmonal + Fitin-C
Гексеналовый сон, мин. Hexenal sleep, min.	36±3,2	70,6±4,4	46,1±3,9	43,2±3,2	43,2±3,2	34,5±3,2
Относительная масса печени, Relative mass of the liver,	28±2,3	35,6±2,8	29,0±2,2	27,0±1,8	24,0±1,8	28,4±2,2
АЛТ, U/L ALT, U/L	52,0±3,1	120±14,0	66,3±2,8	57,0±2,1	70,9±5,1	56,0±2,1
АСТ, U/L AST, U/L	43,0±2,1	145,2±16,4	79,5±6,3	68±5,4	58±5,4	55±4,4
Коэфф. Де Ритиса АсАТ/АлАТ De Ritis ratio AST/ALT	0,82	1,2	1,2	1,19	0,81	0,97
Щелочная фосфатаза, U/L Alkaline phosphatase, U/L	40,2±2,8	245,2±16,4	135,3±12,6	106,0±10,7	143,0±9,0	88,3±4,6
ЩФ/ АЛТ ALP/ALT	0,77	2,0	2,1	1,9	2,1	1,5
Содержание общего белка, г/л Total protein content, g/l	68,5±3,9	45,6±4,6	61,0±4,6	60,1±4,6	58,5±3,6	67,3±4,6
АЧТВ, сек Activated Partial Thromboplastin Time, АРТТ)	23,4±3,9	56,3±4,4	36,4±2,4	38,4±2,4	29,4±2,1	25,5±1,8
Содержание глюкозы, ммоль/л Glucose levels mmol/l	4,1±0,22	6,27±0,44	6,5±0,36	4,05±0,32	4,05±0,32	4,05±0,32
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/l	7,1±0,1	3,7±0,29	5,38±0,6	6,0±0,2	6,50±1,9	6,6±0,9

общего белка, а участие печени в синтезе прокоагулянтов по активированному частичному тромбопластиновому времени (АЧТВ). Как видно из приведенных в таблице 1 данных содержание белка сократилось на 33%, АЧТВ увеличилось в 1,7раза, что говорит о низком содержании прокоагулянтов (VII, IX, X) в плазме крови контрольных крыс.

Механизм гепатотоксического действия парацетамола связан с преобразованием зависимой от цитохрома Р-450 монооксигеназной системой в свободные радикалы и электрофильные интермедиаторы, ковалентно связывающие биомолекулы центролобулярных гепатоцитов.

Лечение отравленных парацетамолом животных препаратом Дармонал «Фитин-С», в сочетанном применении и препаратом сравнения Лив-52 в дозе 100мг/кг при пероральном введении в течение 10 дней снижало уровень трансаминаз соответственно: АлТ – в 2,1; 1,7; 2,2 и 1,8 раза, АсТ в – в 2,1; 2,5; 2,6 и 1,8 раза по сравнению с контролем, что свидетельствует о снижении остроты поражения печени.

Средние уровни щелочной фосфатазы у животных при терапии препаратами Дармонал, «Фитин-С», в сочетанном применении и Лив.52 в дозе 100мг/кг соответственно были на 57%, 42%, 64% и 45% ниже, чем в контрольной группе животных и незначительно выше, чем у интактных животных.

Об антитоксических свойствах исследуемых препаратов судили по продолжительности наркоза крыс при внутрибрюшинном введении теопентала натрия, который сокращался на 53–100% по отношению к контрольной группе животных. Содержание общего, прямого и непрямого билирубина увеличилось соответственно в 1,2–1,7 раза, а коэффициент глюкуронирования билирубина сократился в 1,37 раза, что говорит о нормализации

способности ферментов гепатоцитов катализировать реакции конъюгации.

О влиянии препаратов Дармонал, «Фитин-С», в сочетанном применении и Лив-52 в дозе 100мг/кг, на белок синтезирующую функцию печени судили по содержанию общего белка, а участие печени в синтезе прокоагулянтов по активированному частичному тромбопластиновому времени (АЧТВ) в плазме. Как видно из приведенных в таблице 1 данных содержание общего белка по сравнению с контрольной группой животных увеличилось при введении препаратов Дармонал, «Фитин-С», в сочетанном применении и Лив.52 в дозе 100мг/кг соответственно на 32%, 28%, 48% и 34%. И при сочетанном применении препаратов Дармонал и «Фитин-С» не отличалось от интактных показателей. АЧТВ сократилось соответственно на 32%, 48%, 55% и 35%, что говорит о полном восстановлении синтеза прокоагулянтов в печени экспериментальных животных.

Ранее, было изучено влияние субстанции дармонала и дармонала –А на токсический гепатит вызванное тетрахлорметаном (4). Токсический гепатит у животных воспроизводился подкожным введением 50% масляного раствора (подсолнечное масло) четыреххлористого углерода (CCl₄) в объеме 0,8 мл на 100 г массы животного один раз в сутки в течение четырех дней. Изучаемые препараты для профилактических целей вводились в течение 10 дней в дозе 100мг/кг. Выявлено, что полученные результаты у животных с токсическим гепатитом, указывают на то что, тетрахлорметан и продукты его распада приводят к достоверному повреждению липидного бислоя мембран гепатоцитов, активацию синдромов цитолиза и холестаза, нарушение метаболизма белков, углеводов, биоэнергетики и угнетению ферментных систем детоксикации ксенобиотиков. Экстракт полученный из молодых

приростков пшеницы – дармонал и вместе с экстрактом из приростков ячменя дармонал-А оказывали однонаправленное гепатозащитное действие при отравлении тетрахлорметаном. По-видимому, гепатопротекторное действие дармонала связано с уникальным составом экстракта так как в нем содержится 15 аминокислот, 3 микро- и 6 макроэлементных соединений, ферменты, белок а также карбоновые воды и эфирные масла, которые активно участвуют в метаболических процессах.

Таким образом, при лечении ОТГ вышеуказанными препаратами отмечается уменьшение

объема дисциркуляторных и отечных явлений, появление признаков активации лимфоидных и макрофагальных клеток, особенно при лечении препаратами Дармонал и «Фитин-С», когда к этим изменениям присоединяется гиперплазия тучных клеток. Исследование специфической активности препаратов Дармонал, «Фитин-С», при их сочетанном применении и препарата сравнения Лив.52 на модели парацетамолового и тетрахлорметанового гепатита показали, что препараты при пероральном введении в дозе 100 мг/кг оказывают выраженное гепатопротекторное действие.

Литература | References

1. Mironov A.N. Guidelines for the study of hepatoprotective activity of drugs. In Guidelines for conducting pre-clinical studies of drugs. Moscow. 2012, 944 P. (in Russ.)
Методические рекомендации по изучению гепатопротективной активности лекарственных средств. С. 710–718 /Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая //Под ред. Миронова А. Н. – М.-2012 – с. 944.
2. Nabiev A.N., Tulyaganov R. T., Vakhabov A. A. Guidelines for the experimental study of new pharmacological substances with choleric and hepatoprotective activity. Tashkent. MH RUz Publ., 2007, 27P. (in Russ.)
Методические рекомендации по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ с желчегонной и гепатопротекторной активностью // Авт. Набиев А. Н., Туляганов Р. Т., Вахабов А. А. МЗ РУз Ташкент – 2007, – С. 27
3. Strelkov, R.B. [Statistical tables for accelerated assessment of the pharmacological effect]. *Pharmacology and toxicology*. 1986;(4):100–104. (in Russ.)
Стрелков, Р. Б. Статистические таблицы для ускоренной оценки фармакологического эффекта / Р. Б. Стрелков // Фармакология и токсикология. –1986. № 4. -С. 100–104.
4. Karimova G.A., Aminov S. D., Dusmurodova F. X. Effect of darmonal and phytin complex compounds on carbohydrates metabolism at experimental toxic hepatitis. *Yevrosiyo pediatriya Axborotnomasi*. 2022;1(12):82–86. (in Russ.)
Каримова Г. А., Аминов С. Д., Дусмуродова Ф. Х. Влияние дармонала и комплексных соединений фитина на углеводный обмен при экспериментальном токсическом гепатите. *Евразийский вестник педиатрии*. 2022. – № 1(12). – С. 82–86.