

## ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НОВИХ ЗАСОБІВ НА ПОКАЗНИКИ СТАНУ ПЕЧІНКИ ЗДОРОВИХ ЩУРІВ

**Л.В.Яковлєва, О.Я.Міщенко, Ю.Б.Лар'яновська**

Національний фармацевтичний університет

**Ключові слова:** комбіновані засоби адаптогенної дії; полентар; феполен; фелентар

Проведена оцінка впливу нових комбінованих засобів адаптогенної дії: полентару, феполену та фелентару, розроблених у НФаУ, в порівнянні з екстрактом елеутерокока на біохімічні та морфологічні показники стану печінки здорових щурів. Встановлено, що нові комбіновані засоби: полентар, фелентар та феполен при введенні здоровим щурам протягом місяця не проявляли токсичного впливу на стан печінки та, на відміну від препарату порівняння — екстракту елеутерокока, на тлі якого спостерігалось деяке напруження ендогенної антиоксидантної системи, не викликали напруження органа. Як і референтний препарат — екстракт елеутерокока, досліджувані засоби посилювали білоксинтетичну функцію печінки, що морфологічно відбилося у вигляді зменшення кількості функціонально неактивних гепатоцитів (з мікроядерцями у ядрі) та збільшення кількості активно функціонуючих клітин (з двома та більше ядерцями у ядрі) і є свідченням підвищення функціональної активності та життєстійкості гепатоцитів, тобто їх адаптаційних можливостей.

Завдяки здатності впливати на численні механізми, які лімітують працездатність, природні засоби адаптогенної дії знаходять широке використання як з профілактичною метою, так і з лікувальною в період фізичної та розумової реабілітації в поєднанні з тренуванням [5, 10, 13, 14, 15]. Механізмами адаптогенної дії таких засобів є послаблення біохімічних та функціональних зсувів стрес-лімітуючих систем [5, 7, 9] та активація адаптивного синтезу РНК та білка, що, у свою чергу, приводить до поліпшення енергетичного обміну та відновлювальних процесів [11-15]. Для розвитку значного ефекту адаптогенні засоби тривало застосовуються та проявляють значний вплив на функцію органів та систем організму, підвищуючи їх адаптивні можливості за умов токсичного впливу [13-15]. Великого навантаження при фармакотерапії, перш за все, зазнає печінка як провідний метаболізуючий орган. Печінка займає центральне

місце і в регуляції практично всіх видів обміну речовин і підтримує гомеостаз організму, а в умовах шкідливого впливу різних чинників має важливе значення у формуванні стану підвищеної резистентності організму [3, 5, 14].

Враховуючи це, та, зазвичай, тривале застосування адаптогенних препаратів представлялось доцільним для оцінки гепатотропних властивостей нових комбінованих засобів адаптогенної дії на основі продуктів бджільництва: полентару, фелентару та феполену, розроблених у НФаУ, в умовах тривалого введення здоровим щурам протягом місяця.

### Матеріали та методи

Для вивчення впливу нових засобів на стан печінки після тривалого введення використовували білих нелінійних щурів (всього 40 тварин) масою 180-220 г, яких утримували у стандартних умовах віварію. Тварин розділили на п'ять груп: 1-ша — тварини інтактного контролю, яким внут-

рішньошлунково вводили воду. Тварини 2-ої, 3-ої та 4-ої груп внутрішньошлунково отримували нові комбіновані адаптогенні засоби (полентар, фелентар, феполен) у середньоекспериментальних дозах за актопротекторною дією 25 мг/кг. Тварини 5-ої групи отримували відповідно препарат порівняння — класичний адаптоген екстракт елеутерокока в дозі 1 мл/кг. Аналогічну дозу препарату найчастіше використовують в експериментальних дослідженнях [5]. Вивчувані засоби вводили щоденно протягом одного місяця. У зазначений термін тварин декапітували під легким ефірним наркозом, збирили кров, готували гомогенат печінки для проведення біохімічних досліджень. Відбирали зразки тканини органа для дослідження морфоструктури. Інтенсивність процесів ПОЛ у печінці оцінювали за рівнем ТБК-активних продуктів (ТБК-реактантів, ТБК-Р) у гомогенаті органа [1]. Визначення рівня відновленого глютатіону (G-SH) у гомогенаті печінки [1] дозволило характеризувати функціональний стан антиоксидантної системи організму тварин. Інтенсивність загальno-

**Л.В.Яковлєва** — доктор фармац. наук, професор, завідувачка кафедри фармакоекономіки, завідувачка Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Таблиця 1

**Вплив нових комбінованих засобів на деякі показники функціонального стану печінки у здорових щурів, n=10**

Показники	КМП	Гомогенату печінки			Сироватки крові			
		ТБК-Р, ммоль/г	G-SH, мкмоль/г	глікоген, мг/г	АлАТ, ммоль/год·л	холестерин, ммоль/л	загальні ліпіди, г/л	загальний білок, г/л
Інтактний контроль	2,61±0,09	140,8±21,1	4,5±0,3	25,9±2,9	0,83±0,04	1,96±0,25	1,96±0,09	60,9±3,2
Щури, яким вводили полентар	2,76±0,07	92,5±10,9*	3,6±0,6	34,2±3,4	0,69±0,05	1,73±0,17	1,96±0,12	86,4±6,5*
Щури, яким вводили фелентар	2,77±0,09	198,1±20,5	4,8±0,6	32,2±3,7	0,79±0,09	1,75±0,27	2,15±0,10	97,8±8,5*
Щури, яким вводили феполен	2,68±0,03	150,9±11,2	4,6±0,4	28,9±2,9	0,55±0,03*	1,80±0,22	2,05±0,07	87,2±12,2*
Щури, яким вводили екстракт елеутерокока	3,22±0,13*	146,4±9,9	3,4±0,3*	25,1±3,1	0,65±0,04	1,74±0,18	1,99±0,08	70,5±3,5*

Примітка: \* — відхилення вірогідні щодо даних контролю, p≤0,05

трофічних процесів у печінці оцінювали за величиною коефіцієнту маси органа (КМП) [1]. Активність цитолітичних процесів визначали за рівнем маркеру цитолізу — АлАТ у сироватці крові [1]. Показником вуглеводного резерву органа був рівень глікогену [4]. З метою оцінки активності жовчоутворювальної та жовчовідильної функції органа визначали швидкість секреції жовчі, вміст жовчних кислот та холестерину в жовчі та холато-холестериновий коефіцієнт (ХХК), що характеризує літогенні властивості жовчі. Інтегральними показниками, що свідчать про стан гомеостазу організму на тлі введення досліджуваних засобів, були вибрані рівень загальних ліпідів, холестерину та загального білка в сиро-

ватці крові [3]. Статистичну обробку результатів проводили параметричним методом з використанням коефіцієнту Стьюдента [1]. Зразки печінки готували для подальшого світлооптичного дослідження за прийнятими у морфології методами. Зрізи товщиною 3-4 мкм, що отримували на мікроскопі, фарбували гематоксиліном та еозином [1]. На оглядових мікropрепаратах крім загальної оцінки гістологічної структури тканини на стандартній площині окуляр-мікрометричної сітки (окуляр 10, об'єктив 20) визначали кількісні морфологічні показники, які характеризували функціональний стан органа (кількість двоядерних гепатоцитів, гепатоцитів зі збільшеними за розміром ядрами, клітин з 1 або 2-4 ядерцями у ядрі,

гепатоцитів з мікроядерцями у ядрі). Перегляд мікropрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nicon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHZ за допомогою програми Nicon Viw 5.

### Результати та їх обговорення

Аналіз отриманих результатів, наведених у табл. 1 та 2, свідчить про відсутність шкідливого впливу досліджуваних засобів на функцію печінки у здорових щурів після тривалого введення.

Відсутність вірогідних відмінностей в показнику КМП на тлі

Таблиця 2

**Вплив досліджуваних засобів на зовнішньосекреторну функцію печінки у щурів, n=40**

Групи тварин	Показники			
	швидкість секреції жовчі, мг/хв/100 г	жовчні кислоти, мг/100	холестерин жовчі, мг/100	ХХК
Інтактний контроль	3,35±0,39	479,9±47,3	31,96±2,97	15,0
Щури, яким вводили полентар	3,87±0,28	414,05±15,4	36,46±2,81	11,4
Щури, яким вводили фелентар	3,74±0,34	473,3±48,8	36,39±4,89	13,0
Щури, яким вводили феполен	3,30±0,23	337,9±25,9	25,07±1,76	13,5
Щури, яким вводили екстракт елеутерокока	4,77±0,22*	614,9±51,9*	23,91±1,73	25,7

Примітка: \* — відхилення статистично вірогідні щодо даних контролю, p≤0,05

Таблиця 3

**Морфометричні показники функціонального стану  
печінки щурів під впливом досліджуваних засобів,  $n=40$**

Умови експерименту	Показники (на 100 гепатоцитів)				
	клітини з крупними ядрами	двоядерні клітини	клітини з 1-м ядерцем у ядрі	клітини з 2-3-ма ядерцями у ядрі	клітини з мікроядерцями у ядрі
Інтактний контроль	1,94±0,3	4,21±0,99	84,09±3,23	16,62±0,32	7,31±0,83
Щури, яким вводили полентар	1,47±0,68	5,53±1,15	86,44±2,98	17,40±1,25	4,39±0,64*
Щури, яким вводили фелентар	0,85±0,53	3,71±1,13	89,14±0,88	15,65±0,41	5,24±0,74*
Щури, яким вводили феполен	0,79±0,35	3,42±0,75	86,56±2,43	18,31±1,86	4,47±0,41*
Щури, яким вводили екстракт елеутерокока	0,54±0,30	3,82±0,58	90,71±1,41	17,39±0,81	3,88±0,22*

Примітка: \* — вірогідно щодо контролю,  $p \leq 0,05$

нових комбінованих засобів свідчить про стабільний рівень загальнотрофічних процесів в органі тварин у всіх групах. Підтвердженням активного функціонального стану печінки є і сталій рівень глікогену органа, що мав недостовірну тенденцію до підвищення після введення засобів, які містять бурштинову кислоту: полентару та фелентару. Величина показників АлАГ у сироватці крові та ТБК-Р у гомогенаті органа вказує, відповідно, на відсутність патологічних змін у цитолітичних процесах та процесах ПОЛ.

Нові комбіновані засоби не чинили дисрегуляторного впливу на жовчоутворювальну і жовчовидільну функцію печінки, а в цілому і на обмін ліпідів та холестерину (табл. 2, 1).

Поряд з цим окремі засоби виявили свої особливості впливу на деякі показники стану печінки. Полентар, що містить бурштинову кислоту (БК) та квітковий пилок (КП), сприяв вірогідному зниженню процесів ПОЛ, можливо, за рахунок поєднання прямих антиоксидантних властивостей КП та стабілізувального впливу БК на стан окисно-відновних процесів дихального ланцюга мітохондріальних мембрани.

Дія феполену, який містить КП та фенольний гідрофобний препарат прополісу (ФГПП), проявила гальмуванням фізіологічних цитолітичних процесів, про-

що свідчить вірогідне зниження аллатінотрансонемії та корелює з його найвиразнішими, у порівнянні з іншими досліджуваними засобами, мембраностабілізувальними властивостями, які були встановлені раніше [6].

Фелентар, що містить окрім БК та КП ще й ФГПП, був найбільш інертним щодо впливу на функцію печінки у здорових щурів, що, можливо, пояснюється відмінним від інших засобів кількісним співвідношенням вищевказаних складових компонентів засобу.

Усі засоби сприяли посиленню білоксинтетичної функції печінки, про що вірогідно свідчать вищі показники рівня білка в сироватці крові щодо таких у тварин інтактного контролю.

У порівнянні з новими засобами препарат порівняння — екстракт елеутерокока сприяв зниженню активності глютатіонової ланки антиоксидантної системи, що, ймовірно, є наслідком його можливих прооксидантних властивостей у використаній дозі. На це вказує деяке статистично незвірогідне підвищення рівня маркерів ПОЛ — ТБК-реактантів у печінці на тлі елеутерокока. Вірогідне підвищення КМП на тлі зростання синтезу білка, з одного боку, а, з другого — на тлі падіння активності АОС та інтенсифікації процесів ПОЛ після введення засобу, ймовірно, вказує

на напруження функції органа на тлі активації метаболічних процесів. Поряд з відміненими змінами екстракт елеутерокока підвищував холеекскреторну та жовчовидільну функції органу і ХХК, що свідчить про підвищення літогенних властивостей жовчі і співпадає з відомими даними літератури про вказані властивості елеутерокока [2].

Отже, нові комбіновані засоби: полентар, фелентар та феполен проявляють позитивну гепатотропну дію при тривалому введенні, сприяючи підвищенню білоксинтетичної функції печінки та знижуючи літогенні властивості жовчі. На відміну від нових засобів на тлі введення екстракту елеутерокока відбувалось вірогідне зниження активності глютатіонової ланки антиоксидантної системи, підвищення літогенних властивостей жовчі та масового коефіцієнту печінки, що вказує на його прооксидантну дію у використаній дозі при тривалому введенні. Вказані зміни біохімічних показників спостерігались на тлі відсутності змін у структурній організації органа. Як показала оглядова мікроскопія, як у контролю, так і у всіх щурів дослідних груп структурна організація тканини печінки була типова для даного виду тварин. Часточковий рисунок був невиразний внаслідок відсутності між часточками сполучнотканинних прошарків. Ме-

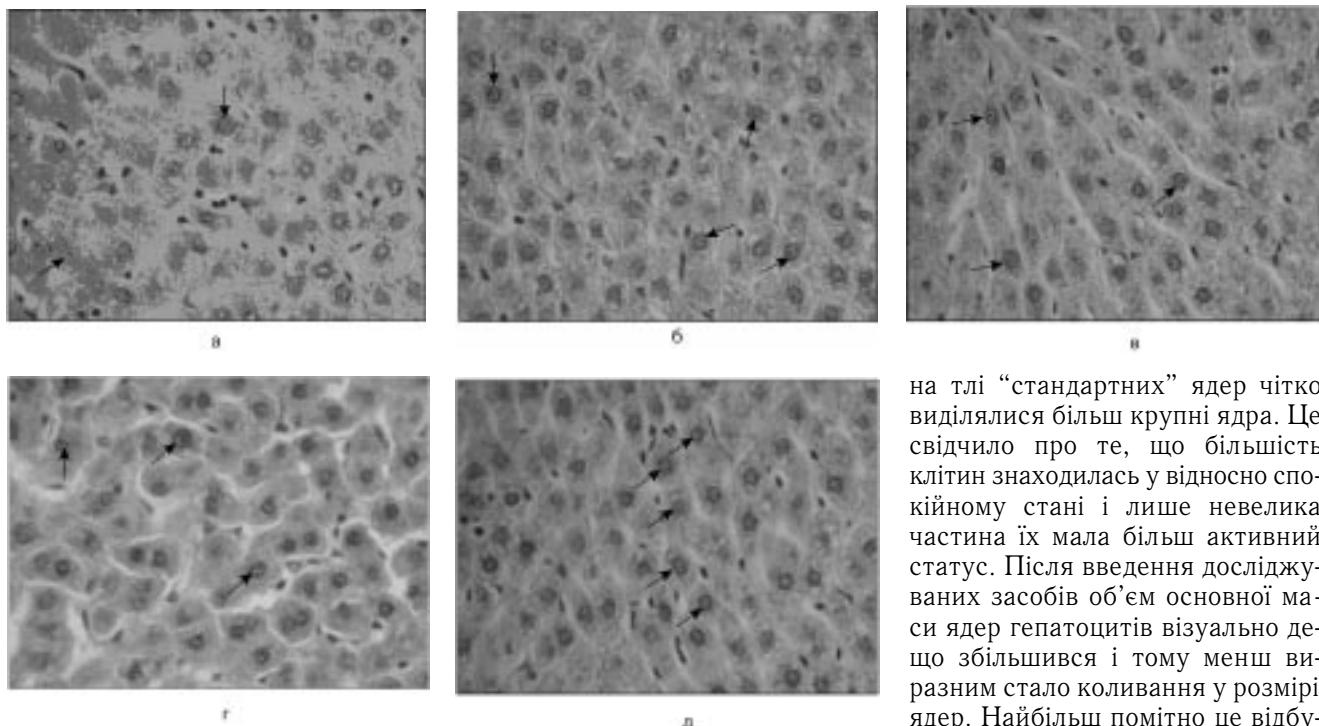


Рис. 1. Печінка щура: інтактного (а) — різні за об'ємом ядра; після введення: феполену (б), фелентару (в), екстракту елеутерокока (д) — об'єм ядер майже одинаковий; полентару (г) — помірне коливання об'єму ядер.

Гематоксилін-еозин.  $\times 400$

жа часточок визначалась тріадами. Зони тріад вузькі. Рівень лімфоїдних елементів у перипортальніх відділах печінкових часточок (клітинна система імунного надзору тканини) не змінювався під впливом введених препаратів. Часточки створені системою печінкових пластинок (балок), які з'єднуються між собою. Самі пластинки складалися з одного ряду гепатоцитів, які розташовані достатньо регулярними радіальними тяжами. Найбільш виражений радіальний напрямок тяжів клітин — центролобулярний. Гепатоцити мали характерну полігональну форму, межа їх достатньо чітка, ядра гепатоцитів правильної круглястої форми, розташовані у центрі клітин, містили одне, рідше — більше ядерець. Практично у всіх тварин цитоплазма мала гранулярний та амфофільний вигляд. Іноді на мікропрепаратах цитоплазма гепатоцитів мала нечітко окреслені просвітління, що свідчило про наявність у ній глікогену, який розчинився у процесі підготовки зразків до світлооп-

тичного дослідження. У перинуклеарній зоні були видні невеликі скupчення дрібнозернистого базофільного матеріалу. Просвіт синусоїдальних гемокапілярів помірно коливався, як правило, вони не містили крові. Стан ендотеліальних клітин гемокапілярів та зірчастих ретикулоендотеліоцитів звичайний. Кількість гепатоцитів з регресивними змінами ядра і цитоплазми не збільшена після введення досліджуваних препаратів.

Отже, жоден з досліджуваних нових фармакологічних засобів, а також препарат порівняння через один місяць введення тваринам суттєво не впливав на гістоархітектоніку тканини печінки. У той же час оцінка і аналіз морфо-функціональних показників, які характеризували функціональну активність гепатоцитів, свідчили про деякі зміни на тлі досліджуваних засобів, які цілком відбувають встановлене за біохімічними показниками посилення білоксинтетичних процесів (табл. 1, 3). Так, у інтактних щурів розмір ядер гепатоцитів дещо коливався —

на тлі “стандартних” ядер чітко виділялися більш крупні ядра. Це свідчило про те, що більшість клітин знаходилась у відносно спокійному стані і лише невелика частина їх мала більш активний статус. Після введення досліджуваних засобів об'єм основної маси ядер гепатоцитів візуально дещо збільшився і тому менш виразним стало коливання у розмірі ядер. Найбільш помітно це відбувалося після введення полентару та феполену, дещо менше — після введення фелентару та елеутерокока, хоча статистично ці кількісні показники недостовірні (рис. 1, а-д). На наш погляд, пояснити це можна деяким збільшенням функціональної активності всього пулу гепатоцитів, підвищеннем життєстійкості клітин, що морфометрично проявилося у достовірному зменшенні чисельності гепатоцитів (функціонально неактивних) з мікроджерцями у ядрі: після введення полентару, фелентару, елеутерокока і феполену. Ця теза підтверджується також і тенденцією до збільшення кількості активно функціонуючих клітин з наявністю 2-х та більше ядерець у ядрі після введення полентару, феполену та елеутерокока на тлі стабільної кількості двоядерних гепатоцитів.

Таким чином, на підставі отриманих даних можна зробити висновок про те, що введення протягом місяця полентару, феполену, фелентару та екстракту елеутерокока не впливало на гістологічну організацію печінки здорових щурів, не провокувало проявів морфологічних ознак патологічних метаболічних порушень у гепатоцитах. У той же час під впливом препаратів відбувалось

зменшення кількості функціонально неактивних гепатоцитів та збільшення кількості функціонально активних клітин, результатом чого є посилення синтезу білка.

Все це свідчить про підвищення функціональної активності та життєстійкості гепатоцитів на тлі досліджуваних засобів, що є проявами їх адаптогенної дії.

#### ВИСНОВКИ

1. Нові комбіновані засоби: полентар, фелентар та феполен при введенні здоровим щурами протя-

гом місяця не проявляли токсичного впливу на стан печінки, не провокували розвиток морфологічних ознак патологічних порушень у гепатоцитах.

2. На відміну від препарату порівняння — екстракту елеутерокока, на тлі введення якого спостерігали деяке напруження фізіологічних захисних систем (ендогенної антиоксидантної системи), нові комбіновані засоби полентар, фелентар та феполен не викликали напруження органа.

3. Як і референтний засіб — екстракт елеутерокока досліджувані засоби посилювали білок-синтетичну функцію печінки, що морфологічно відбилося на зменшенні кількості функціонально неактивних гепатоцитів з мікроядерцями у ядрі та збільшенні кількості активно функціонуючих клітин з двома та більше ядерцями у ядрі і є свідченням підвищення функціональної активності та життєстійкості гепатоцитів, тобто їх адаптаційних можливостей.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекоменд. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стешанова. — К., 2001. — С. 139-152.
2. Кириллов О.И., Хасина Э.И., Горькавая А.Ю. //Растительные ресурсы. — 2004. — Вып. 2, Т. 40. — С. 124-131.
3. Посібник для лабораторних і семінарських занять з біологічної хімії: Навч.-метод. посіб. для вищих навч. закл./ Л.М.Вороніна, В.Ф.Десенко, В.М.Кравченко, Т.С.Сахарова. — Х.: Основа, 1996. — 432 с.
4. Прохорова М.И., Тупикова З.Н. Большой практикум по углеводному и липидному обмену. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1995. — С. 53-65.
5. Федоров В.Н. Фармакодинамика адаптогенов: экспериментальное и клиническое исследование: Автoref. дис. ... д. мед. наук. — М., 1999. — 47 с.
6. Яковлєва Л.В., Міщенко О.Я. Вивчення мембронопротекторних властивостей нових адаптогенних засобів //Матер. II Міжнар. науково-практ. конф. "Сучасні наукові дослідження-2006". — Т. 13. Медицина. — Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2006. — С. 31-33.
7. Anti-stress effects regulatory mechanisms of plant adaptogens. O.N.Voskresensky, A.P.Levitsky, O.I.Skiba et al.// Тези доп. наук.-практ. конф. "Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині" (17-18 вересня 2003 р.). — 2003. — С. 14.
8. Chrousos G.P., Gold P.W. //JAMA. — 1992. — Vol. 267. — P. 1244-1252.
9. Chrousos G.P., McCarty R., Pacak K. et al. //Ann. NY Acad. Sci. — 1995. — 771 p.
10. Goulet E.D., Dionne I.J. //Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab. — 2005. — №15, Vol. 1. — P. 75-83.
11. Kimura Y., Sumiyoshi M. //J. Ethnopharmacol. — 2004. — Vol. 2-3, №95. — P. 447-453.
12. Norr H. Phytochemical and pharmacological Investigations of the Adaptogens: *Eleutherococcus senticosus*, *Ocimum sanctum*, *Codonopsis pilosula*, *Rhodiola rosea* and *Rhodiola crenulata*. — Ludwig-Maximilians University. — Muenchen, 1993. — P. 228.
13. Panossian A., Gabrielian E., Wagner H. //Phytomedicine. — 1997. — №4. — P. 85-99.
14. Panossian A., Wikman G., Wagner H. //Phytomedicine. — 1999. — Vol. 6 (4). — P. 287-300.
12. Wagner H., Norr H., Winterhoff H. //Phytomedicine. — 1994. — №1. — P. 63-76.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,  
бул. Мельникова, 12. Тел. (057) 714-27-15.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 12.03.2007 р.