

ПОВЫШЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ СИЛИМАРИНА ПРИ ЕГО ВВЕДЕНИИ В СОСТАВЕ САОЭМУЛЬГИРУЮЩЕЙСЯ СИСТЕМЫ

Сутько И.П., Колодко А.В., Телегин П.Г., Зверинский И.В., Тутко О.В., Шляхтун А.Г., Янкевич Н.В.

Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси

Актуальность. Флаволигнаны расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.)), или молочного чертополоха, имеющие общее название силимарин, хорошо известны своими гепатопротекторными свойствами. Силимарин характеризуется хорошей переносимостью и практически полным отсутствием побочных эффектов при его применении. В то же время флавоноиды расторопши имеют относительно низкую биодоступность при пероральном применении из-за плохой растворимости в воде (0,04 мг/мл) и, как следствие, недостаточно полной абсорбции в кишечнике (20-50%) [1].

В настоящее время применяется ряд методов и технологических приемов для повышения растворимости и, следовательно, улучшения биодоступности силимарина: синтез его водорастворимых производных (солей или эфиров), комплексообразование с фосфолипидами и β -циклодекстринами, создание липосомных форм.

Одним из активно развивающихся направлений по увеличению биодоступности лекарственных средств является создание специализированных форм доставки, которые защищают лекарственное средство от метаболизма в ЖКТ и увеличивают его растворимость в воде. Особое место среди них занимают так называемые самоэмульгирующиеся системы (СЭС), которые при попадании в желудочную и кишечную среду вследствие смешивания с водной фазой образуют эмульсии «масло-в-воде» [2].

Цель настоящей работы заключалась в разработке самоэмульгирующейся системы с силимарином и изучении ее влияния на функцию печени при экспериментальном токсическом гепатите.

Методы исследования. Силимарин получали спиртовой экстракцией из семян расторопши пятнистой. Проводили скрининг потенциальных компонентов СЭС и строили для них псевдотрехкомпонентные фазовые диаграммы. Полученная в результате СЭС для силимарина представляла собой смесь масла расторопши, твин-80 и полиэтиленгликоль-400 и силимарина. Вводили СЭС в виде микроэмульсии, которую получали разбавлением СЭС водой в соотношении 1:1. Разработанную СЭС с силимарином в дальнейшем использовали для сравнительного анализа действия силимарина в составе СЭС и в свободном виде на функцию печени крыс при токсическом гепатите.

Гепатопротекторные свойства силимарина оценивали при моделировании острого токсического гепатита, вызванного однократным в/б введением 20%-го

(по объему) раствора четыреххлористого углерода (CCl_4) на растительном масле в дозе 1 мл/кг массы тела и однократным в/ж введением ацетаминофена (АРАР) в крахмальной суспензии в дозе 2 мг/кг массы тела. В работе использовали взрослых крыс линии Wistar массой 200-220 г, содержащихся на стандартном рационе вивария Института биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси. Все эксперименты выполнялись в соответствии с этическими нормами обращения с животными, согласно рекомендациям «Всемирного общества защиты животных» и «Европейской конвенции по защите экспериментальных животных». Экспериментальные животные получали в/ж 0,5%-й раствор крахмала, силимарин (100 мг/кг) в 0,5%-ом растворе крахмала, силимарин (100 мг/кг) в составе разработанной СЭС. Препараты вводили ежедневно на протяжении 7 суток до введения CCl_4 и АРАР. Контрольную группу составили крысы, получавшие растительное масло и крахмал в эквивалентных объемах.

Оценку эффективности гепатозащитного действия силимарина проводили через 24 часа после введения CCl_4 и АРАР по степени нормализации биохимических показателей (аланин- и аспартатаминотрансфераз (АлАТ и АсАТ), гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП)) в сыворотке крови с использованием сертифицированных наборов реагентов, а также активности ферментов печени: глутатионредуктазы (ГР) [Carlberg I., 1985], глутатион-S-трансферазы (GST) [Habig W. J. et al., 1974], супероксиддисмутазы (СОД) [Сирота Т. В., 1999], глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) [Glock G.E., 1953] и НАДФН-зависимой изоцитратдегидрогеназы (ИЦДГ) [Balamir, A., 1983].

Полученные данные подвергали статистической обработке с определением среднего арифметического (M), ошибки среднего арифметического ($\pm m$) и достоверности различий с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием теста множественного сравнения Tukey. Различия между сравниваемыми величинами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Силимарин при токсическом поражении печени как CCl_4 , так и АРАР снижал выраженность цитолитического процесса в печени крыс, причем его действие в составе СЭС было более эффективным (таблицы 1, 2).

Таблица 1. – Показатели, характеризующие гепатозащитное действие силимарина (100 мг/кг/день, 7 дней) у крыс с токсическим поражением печени CCl_4 (1 мл/кг, 20% (по объему) раствор, в/б, однократно) (n=9)

Показатели	Условия опыта			
	контроль	CCl_4	CCl_4 + силимарин свободный	CCl_4 + силимарин в СЭС
АлАТ, Е/л	73,80±4,14	245,90±19,20*	179,50±17,74*	162,30±13,14*#
АсАТ, Е/л	89,81±14,17	209,10±35,77*	93,48±14,32 #	113,40±10,75
ГГТП, Е/л	3,90±0,23	7,17±0,39*	5,50±0,47	4,52±0,23 #
SH-группы свободные, мкмоль/г ткани	7,32±0,27	7,56±0,58	7,12±0,11	7,32±0,35
GST, нмоль ХДНБ/ мин/мг белка	563,40±33,36	479,20±25,63	558,10±34,61	625,10±28,41 #
ГР, нмоль НАДФН/ мин/мг белка	85,73±6,10	61,31±5,34*	65,92±4,97	87,33±3,05 #&
Г6ФДГ, нмоль НАДФН/мин/мг белка	7,26±1,47	5,80±0,60*	6,89±1,05	8,64±1,40 #
ИЦДГ, нмоль НАДФН/ мин/мг белка	3,74±0,44	3,21±0,48	3,40±0,50	4,72±0,50 #

Примечание – * – $p < 0,05$ относительно контроля; # – $p < 0,05$ относительно группы « CCl_4 »; & – $p < 0,05$ относительно группы « CCl_4 + силимарин свободный»

Таблица 2. – Показатели, характеризующие гепатозащитное действие силимарина (100 мг/кг/день, 7 дней) у крыс с токсическим поражением печени АРАР (2 мг/кг, в/ж, однократно) (n=9)

Показатели	Условия опыта			
	контроль	АРАР	АРАР + силимарин свободный	АРАР + силимарин в СЭС
АлАТ, Е/л	69,38±2,11	302,90±62,41*	212,60±32,42	133,50±12,29#
АсАТ, Е/л	172,80±9,80	446,30±83,79*	258,70±29,92	219,20±23,74
ГГТП, Е/л	4,29±0,38	5,72±0,70	5,12±0,28	4,40±0,57
SH-группы свободные, нмоль/мг белка	18,38±1,67	4,01±0,60*	6,24±1,16*	9,06±1,07*#
GST, нмоль ХДНБ/ мин/ мг белка	289,9±15,3	208,7±6,3*	202,6±15,8*	234,5±26,4
ГР, нмоль НАДФН/ мин/мг белка	49,68±2,04	27,75±0,94*	28,85±2,62	29,15±3,62
Г6ФДГ, нмоль НАДФН/мин/мг белка	4,86±0,78	3,59±1,00*	6,27±1,84	6,73±1,32
ИЦДГ, нмоль НАДФН/ мин/мг белка	81,50±7,54	45,09±10,14*	52,09±3,28	50,07±9,87

Примечание – * – $p < 0,05$ относительно контроля; # – $p < 0,05$ относительно группы «АРАР»

Как CCl_4 , так и АРАР через сутки после введения вызывали нарушение про/антиоксидантного равновесия с развитием окислительного стресса. При этом CCl_4 не вызывал изменения содержания свободных SH-групп, представленных в основном GSH. При интоксикации АРАР содержание свободных SH-групп резко снижалось (в 4,6 раза), а изменение активности ферментов системы глутатиона было более выражено (Таблицы 1, 2). Это, вероятно, связано с различными механизмами повреждающего действия CCl_4 и АРАР на гепатоциты.

Учитывая то, что лимитирующим фактором эффективной работы глутатионовой антиоксидантной системы является уровень НАДФН, одним из факторов, негативно сказывающихся на ее функционировании, может быть снижение активности НАДФН-генерирующих ферментов Г6ФДГ и ИЦДГ при токсических гепатитах, вызванных как CCl_4 , так и АРАР (Таблицы 1, 2).

Нормализующее действие силимарина на активность ферментов системы глутатиона в определенной степени могло быть опосредовано его способностью ослаблять угнетающее действие CCl_4 и АРАР на активность НАДФН-продуцирующих ферментов. Введение силимарина в составе СЭС, обеспечивающей его большую биодоступность, способствовало более существенному вкладу в поддержании нормальных значений активности Г6ФДГ и ИЦДГ и, соответственно, более эффективному предупреждению нарушения функции глутатионового звена антиоксидантной системы.

Выводы. Предварительное введение силимарина в составе СЭС при токсическом гепатите у крыс, вызванном CCl_4 и АРАР, вероятно, в связи с увеличением его биодоступности, в большей степени по сравнению с его введением в свободном виде предотвращает снижение активности Г6ФДГ и ИЦДГ, что может быть одним из механизмов предупреждения нарушения функции глутатионового звена антиоксидантной системы печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Javed, S. Reassessing bioavailability of silymarin / S. Javed, K. Kohli, V. Ali // Altern. Med. Rev. – 2011. – Vol. 16. – P. 239–249.
2. Dokania, S. Self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) – challenges and road ahead / S. Dokania, A. K. Joshi // Drug Deliv. – 2015. – Vol. 22. – P. 675–690.

ОЦЕНКА МАРКЕРОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У БЕРЕМЕННЫХ С НАРУШЕНИЯМИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ

Сюсюка В.Г., Беленичев И.Ф., Макурина Г.И.

Запорожский государственный медицинский университет

Актуальность. В многочисленных исследованиях указывается на участие или сопряженность окислительного стресса в развитии как физиологической, так и