

ЛИТЕРАТУРА

1. *Барина С.С., Медведева Л.А., Анисимова О.В.* Биоразнообразие водорослей – индикаторов окружающей среды. Тель-Авив, 2006. 498 с.
2. Биоиндикация экологического состояния равнинных рек. Под ред. О.В. Бухарина, Г.С. Розенберга. М.: Наука, 2007. 403 с.
3. *Раимбеков К.Т.* Использование макрофитов для доочистки городских сточных вод. Инновации в науке: научный журнал. 2017. № 4(65). С. 8-10.
4. ГОСТ 32426-2013. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Испытание ряски на угнетение роста.
5. *Жмур Н.С.* Экотоксикологический контроль. Приемы исследования и лабораторная практика. М.: Издательство «АКВАРОС», 2018. 472 с.

КОРРЕКЦИЯ И НИТРОЭРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ ПРИ ПАРАЦЕТАМОЛОВОМ ГЕПАТИТЕ КВЕРЦЕТИНОМ И ЕГО СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫМ КОМПЛЕКСОМ С ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

CORRECTION OF THE AND NITROERGIC SYSTEM OF THE LIVER IN PARACETAMOL HEPATITIS WITH QUERCETIN AND ITS SUPRAMOLECULAR COMPLEX WITH GLYCYRRHISIAN ACID

**Г. Б. Умарова¹, Д. Д. Тухтаев¹, С. Н. Далимова¹,
Ш. Н. Кузиев¹, М. Х. Юнусова¹, А. Г. Сыса², А. В. Алексейчик²
G. B. Umarova¹, D. D. Tukhtaev¹, S. N. Dalimova¹,
Sh. N. Kuziev¹, M. Kh. Yunusova¹, A. G. Sysa², A. V. Alekseychik²**

¹Национальный университет имени Мирзо Улугбека, НУУз, г. Ташкент, Республика Узбекистан
gulbahor_umarova@mail.ru

²Учреждение образования «Международный государственный экологический институт
имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
kbb@iseu.by, maks.khanchevskiy@bk.ru

¹Mirzo Ulugbek National University, NUUZ, Tashkent, Republic of Uzbekistan

²International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU,
Minsk, Republic of Belarus

Изучено влияние супрамолекулярного комплекса МАСГК/кверцетин на образование малонового диальдегида (МДА) в аскорбат-зависимой и НАДН-зависимой системах перекисного окисления липидов (ПОЛ) при парацетамоловом гепатите, обнаружено его выраженное антиоксидантное действие. В клетках печени животных с парацетамоловым гепатитом нарушается нормальное состояние NO-системы, и можно предположить, что это нарушение связано с повышением активности индуцибельного фермента (iNOS) образующего NO.

The effect of the supramolecular complex MASHA/quercetin on the formation of MDA in ascorbate-dependent and NADH-dependent LPO systems in paracetamol hepatitis was studied, and its pronounced antioxidant effect was found. In the liver cells of animals with paracetamol hepatitis, the normal state of the NO system is disturbed, and it can be assumed that this violation is associated with an increase in the activity of the inducible enzyme (iNOS) forming NO.

Ключевые слова: токсический гепатит, моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты, кверцетин, перекисное окисление липидов, малоновый диальдегид, нитриты, нитраты.

Keywords: toxic hepatitis, glycyrrhizic acid monoammonium salt, quercetin, lipid peroxidation, malondialdehyde, nitrites, nitrates.

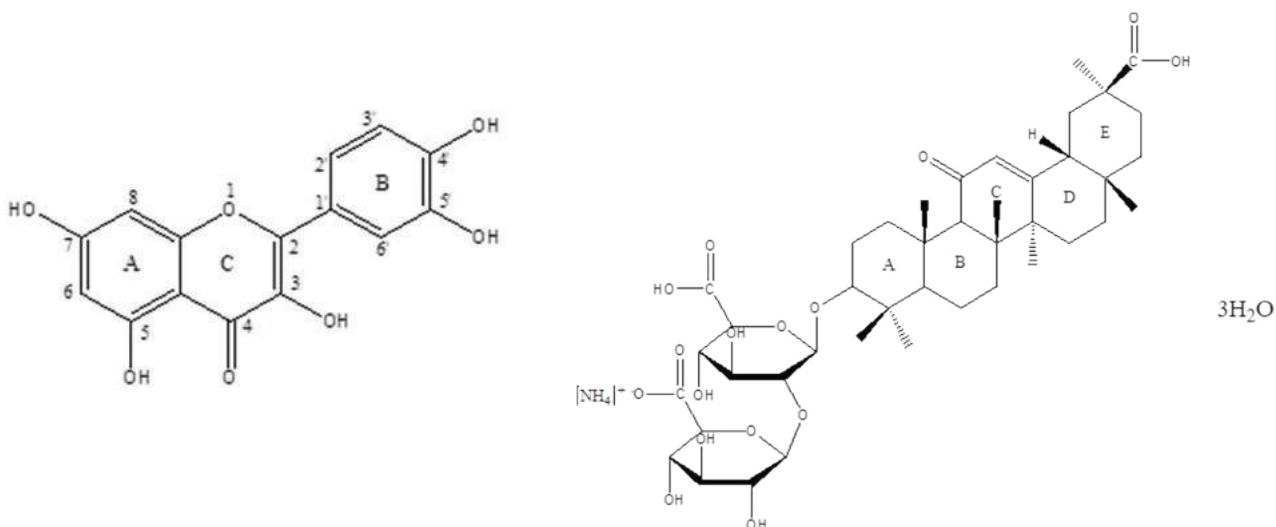
<https://doi.org/10.46646/SAKH-2023-1-417-420>

Изучение молекулярных механизмов развития патологических процессов в печени, разработка эффективных методических подходов к коррекции выявленных нарушений, поиск соединений, способствующих защите и восстановлению важных биохимических показателей печени, являются в настоящее время актуальной задачей.

Печень вовлекается в различные патологические процессы, и её повреждение приводит к значительным метаболическим нарушениям [1]. Одним из механизмов, которые могут вызвать гибель гепатоцитов, является

нитрозирующий и окислительный стресс. Особый интерес представляет изучение оксида азота (NO) и его продуцирующих ферментов, являющихся медиаторами межклеточной сигнализации в патогенезе гепатитов.

Целью нашей работы явилось исследование влияния на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и содержание метаболитов оксида азота - нитритов (NO_2^-) и нитратов (NO_3^-) в печени крыс с парацетамоловым гепатитом флавоноида кверцетина и его супрамолекулярного комплекса на основе моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (МАСГК).



Кверцетин

Моноаммонийная соль глицирризиновой кислоты (МАСК)

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах, весом 180-200 гр. Животные были разделены на следующие группы: 1-интактные крысы (контрольная группа); 2-модельные животные с парацетамоловым гепатитом; 3-модельные крысы, которым вводили кверцетин в дозе 50 мг/кг; 4-гепатитные крысы, получавшие МАСГК/кверцетин в дозе 25,0 мг/кг; 5 – модельные крысы, получавшие коммерческий препарат сравнения Neostrong (STD), содержащий глицирризиновую кислоту, глицин и аминокислоту L-цистеин. Все исследуемые соединения вводили экспериментальным животным в течение 7 дней. Для создания модели парацетамолового гепатита в желудок крыс вводили препарат парацетамол в дозе 500 мг/кг в течение 2 дней [2]. В “грубой” фракции печени крыс определяли количество малонового диальдегида (МДА)-продукта ПОЛ [3]. Количество оксида азота рассчитывают по сумме его метаболитов – нитратов и нитритов (NO_2^- и NO_3^-) определяли по методу П.П.Голикова [4].

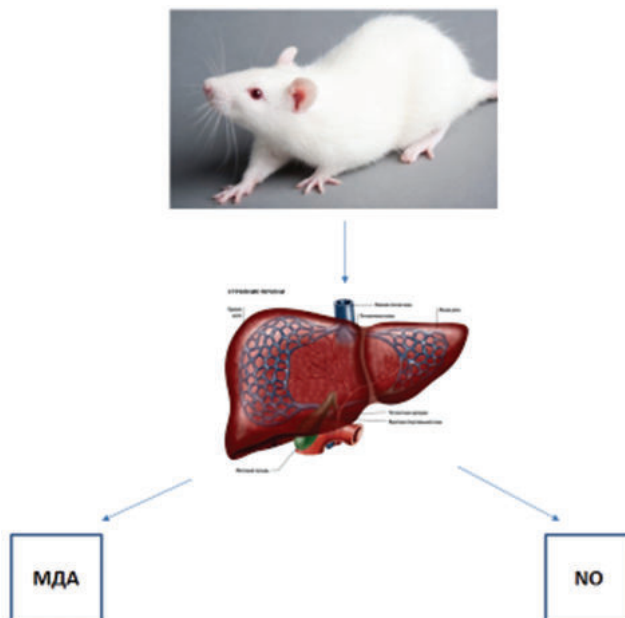


Рисунок 1 – дизайн проведения эксперимента

При создании модели парацетамолового гепатита наблюдали гибель 30% животных в результате введения крысам парацетамола, в результате чего развивался токсический гепатит и количество МДА в «грубой» фракции плазматических мембран клеток печени модельных животных увеличилась более чем в два раза в аскорбатзависимой и НАДН-зависимой системах. Инициация цепной реакции перекисного окисления липидов свободными

радикалами приводит к структурной и функциональной перестройке в плазматических мембранах гепатоцитов, повышению их проницаемости для ионов с последующим разобщением окислительных цепей, повреждениями ферментативных систем клетки.

Для коррекции этого состояния крысам вводили гепатопротектор STD а также по отдельности кверцетин, МАСГК и комплекс МАСГК/Кв. Как видно из таблицы 1, эффекты вводимых соединений различались, но все они обладали в различной степени выраженной антиоксидантной активностью. Например, STD, который является препаратом сравнения, содержащий аминокислоты с глицирризиновой кислотой, значительно снижал количество МДА до 176 и 172%, но наиболее значимый эффект наблюдался при использовании супрамолекулярного комплекса МАСГК/кверцетин. Под влиянием этого комплекса количество МДА почти приблизилось к значениям контрольной группы.

В настоящее время поиск водорастворимых антиоксидантов весьма актуален, так как процесс перекисного окисления протекает в виде цепных реакций в липидной фазе мембран и липопротеидов, а начальные (возможно, промежуточные) стадии сложной системы этих реакций протекают в водной фазе.

В качестве водорастворимых соединений могут быть флавоноиды, большая группа биологически активных соединений, получаемых из растений. Известно, что одним из факторов, обеспечивающих биологическую активность кверцетина и некоторых его производных, является ингибирующее действие на образование супероксидных анион-радикалов и уровень свободнорадикальных процессов.

Полученные в наших исследованиях результаты ингибирующего действия супрамолекулярного комплекса МАСГК/кверцетин на образование МДА на процессы ПОЛ подтверждают это предположение. Анализ полученных результатов показал, что МАСГК/кверцетин на уровень ПОЛ в обеих системах при парацетамоловом гепатите оказывает выраженное антиоксидантное действие.

Таблица 1

Влияние природных соединений на изменение содержания МДА в гомогенате печени крыс с парацетамоловым гепатитом (n = 8; M ± m)

№	Группы животных	Малоновый диальдегид, МДА нмоль/мг белка			
		Аскорбат-зависимый	%	NADH- зависимый	%
1	Контроль	0,335±0,017	100	0,357±0,015	100
2	Парацетамоловый гепатит (ПГ)	0,835±0,013*	249	0,897±0,011**	253
3	ПГ + СТГ	0,589±0,67**	176	0,611±0,023**	172
4	ПГ+Кверцетин	0,595±0,47**	178	0,587±0,67**	165
5	ПГ+ МАСГК	0, 623±0,59**	186	0,654±0,87**	183
6	ПГ + МАСГК/Кверцетин	0,426±0,012**	125	0,523±0,012	138

* $p < 0,01$ ПГ по отношению к контролю

** $p < 0,05$ ПГ по отношению к другим препаратам.

Предположительно, причина высокой эффективности этого комплекса должна заключаться в химическом строении вещества. Известно, что супрамолекулярный комплекс МАСГК/кверцетин состоит из двух биологически активных соединений и обладает высокой растворимостью в воде. Напротив, биологический потенциал кверцетина ограничен из-за низкой растворимости в воде (0,02–0,03 % при 20 °C) и низкой биодоступности (5,3 %) [5]. Показано, что самостоятельно глицирризиновая кислота и кверцетин, используемые независимо друг от друга, обладают антиоксидантным действием.

Известно, что одним из основных механизмов развития лекарственного поражения печени является нарушение структуры и функции мембран клеток печени [6]. Мембранные нарушения включают функциональные и биохимические изменения обмена белков, жиров, углеводов, снижение активности ферментов плазматических мембран. При лечении заболеваний печени используется большая группа препаратов – гепатопротекторов, вызывающих адекватную фармакологическую коррекцию поврежденных звеньев метаболизма печеночной клетки.

В настоящее время в современной фармацевтической индустрии создание фармакологических препаратов на основе растительного сырья является приоритетным направлением благодаря отсутствию у последних серьёзных побочных эффектов. С этой точки зрения одним из перспективных классов веществ являются флавоноиды. Большинство флавоноидов обладают уникальным терапевтическим потенциалом, но низкой биодоступностью. В связи с чем актуальной является разработка современных лекарственных форм на основе флавоноидов, позволяющих обеспечить их оптимальную биодоступность. Одним из эффективных способов повышения их биодоступности является создание супрамолекулярных комплексов. Комплексообразование ведёт к синергетическому эффекту повышения их биологической активности с одновременным снижением токсичности, ульцерогенного действия и повышает растворимость лекарственного препарата в водных средах, т.е. улучшается транспорт лекарственного соединения через липофильные мембраны клеток и их биодоступность. Это способствует поддержанию необходимой концентрации препарата в крови и более быстрой доставки к пораженным органам. С давних пор глицирризиновая кислота (ГК) известна как соединение, обладающее противовоспалительной активностью. В частности, показано, что ГК ингибирует продукцию таких первичных медиаторов воспаления, как TNF-α, интерлейкинов IL-1β и IL-6. Предполагают, что противовоспалительная активность ГК связана с её антиоксидантной активностью. Антиоксидантная активность глицирризиновой кислоты в значительной мере

обуславливает также её гепатопротекторную активность в отношении ряда токсичных соединений. Главной причиной создания лекарственных средств, на основе глицирризиновой кислоты и ее производных, является ее хорошо выраженные комплексообразующие и солубилизирующие свойства. Многие плохо растворимые или даже не растворимые в воде субстанции лекарственных препаратов (аспирин, индометацин и др.), хорошо растворяются в воде в присутствии даже небольшого количества глицирризиновой кислоты. Причиной комплексообразующих свойств этого природного вещества является, межмолекулярное взаимодействие, возникающее при контакте глицирризиновой кислоты с различными органическими веществами в растворе.

В настоящее время NO рассматривают как сигнальную молекулу систем организма, так как он стимулирует расслабление гладких мышц пищевода, желудка, тонкой и толстой кишки, желчного пузыря и др. Можно полагать, что с нарушениями в активности NOS усиливаются процессы проникновения через слизистую оболочку желудка и кишечника в местную систему кровообращения, а затем через воротную вену в печень экотоксинов и тем самым усиливается нагрузка на детоксикационную активность гепатоцитов, что еще в большей степени осложняет тяжесть развития патологического процесса.

На следующем этапе наших исследований проводилось определение количества метаболитов оксида азота в гомогенате печени животных с парацетамоловым гепатитом. Результаты представлены в таблице-2. В результате проведенных экспериментов было установлено, что в печени гепатитных крыс количество NO увеличилось почти в 2 раза. При введении крысам флавоноида кверцетин, а также супрамолекулярного комплекса МАСГК/кверцетин и препарата сравнения СТД наблюдалось снижение количества метаболитов оксида азота и приближение его к уровню показателя здоровых животных. В наших экспериментах было отмечено, что МАСГК/кверцетин более эффективен среди исследуемых препаратов.

Известно, что в гепатоцитах монооксид азота (NO) ингибирует синтез белка, глюконеогенез, синтез цитохрома P-450, процесс дыхания в митохондриях и активирует гуанилатциклазу [7]. Монооксид азота также играет важную роль в регуляции внутрипеченочной гемодинамики.

Таблица 2

Влияние соединений на метаболиты NO в гомогенатах печени крыс с парацетамоловым гепатитом ($n=7$; $M \pm m$)

№	Группы животных	Продукты обмена NO (нитраты/нитриты), мкмоль/л
1	Интактные животные	16,5±0,231
2	парацетамоловый гепатит (ПГ)	31,7±0,115**
3	ПГ+СТД	24,6±0,287*
4	ПГ+кверцетин	22±0,241*
5	ПГ+ МАСГК	25,7±0,255*
6	ПГ+ МАСГК/КВ	19,7±0,305*

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

На основании полученных результатов в клетках печени животных с парацетамоловым гепатитом нарушается нормальное состояние NO - системы, и можно предположить, что это нарушение связано с повышением активности индуцибельного фермента (iNOS) образующего NO. По данным литературы, iNOS активируется при патологических состояниях, что приводит к увеличению количества оксида азота. Это в свою очередь, вызывает усиление свободно-радикальных реакций, развитие гипоксии. Под действием кверцетина и особенно супрамолекулярного комплекса МАСГК/Кв наблюдается стабилизация в NO-эргической системе гепатоцитов.

Таким образом, при парацетамоловом гепатите наблюдается усиление окислительного стресса в печени приводящее к нарушению деятельности NO-эргической, антиоксидантной систем, и этот конфликт может быть одним из факторов быстрого развития апоптоза и некроза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Полунина Т.Е. Лекарственные поражения печени // Лечащий врач. – 2005. – № 3. – С. 69–72.
2. Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс // Проксиданты и антиоксиданты, – Москва: Изд-во Слово, 2006. – 554 с.
3. Мышкин В.А., Еникеев Д.А. Химические поражения организма (молекулярно-клеточные механизмы, патогенез, клиника, лечение). Учебное руководство. – Уфа. - 2000.
4. Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Гавриленко И.А. и др. Оксид азота и перекисное окисление липидов как факторы эндогенной интоксикации при неотложных состояниях // Пат. Физ. и эксп. тер. – 2000. – № 2. – С. 6–9.
5. Махмутов Б.Б., Абдралилов Б.С., Ким Ю.А. Антирадикальное и мембранотропное действия кверцетина и его комплекса с алюминием // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2022. – № 7. – С. 83–88.
6. Хомерики С.Г. Патогенетические механизмы и морфологические проявления лекарственных поражений печени // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2011. – № 6. – С. 11–21.
7. Бабак О.Я., Ярмиш Н.В., Панченко Г.Ю. Механизмы гепатопротекторного и токсического влияния азота оксида // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 5(31). – С. 76–84.