



О. І. Єзерська, І. М. Гаврилюк, О. М. Гаврилюк, І. О. Нектегаєв, Т. Г. Калинюк

Вивчення гепатопротекторної активності екстракту цикорію (*Cichorium intybus L.*)

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Ключові слова:

гепатопротекторна дія, екстракт цикорію, тетрахлорметан, аланінамінотрансфераза, аспаратамінотрансфераза.

Навели результати визначення гепатопротекторної активності екстракту цикорію на моделі хронічного ушкодження печінки тетрахлорметаном. Показали, що екстракт цикорію виявляє гепатопротекторні властивості, знижуючи активність аланінамінотрансферази, аспаратамінотрансферази, а також зменшуючи ознаки пошкодження в печінці.

Изучение гепатопротекторной активности экстракта цикория (*Cichorium intybus L.*)

О. И. Езерская, И. М. Гаврилюк, О. М. Гаврилюк, И. О. Нектегаев, Т. Г. Калинюк

Приведены результаты определения гепатопротекторной активности экстракта цикория на модели хронического повреждения печени тетрахлорметаном. Показано, что экстракт цикория оказывает гепатопротекторное действие, снижая активность аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, а также уменьшая признаки повреждения в печени.

Ключевые слова: гепатопротекторное действие, экстракт цикория, тетрахлорметан, аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2014. – № 1 (14). – С. 20–23

The study about hepatoprotective activity of chicory extract (*Cichorium intybus L.*)

O. I. Yezerska, I. M. Gavrilyuk, O. M. Gavrilyuk, I. O. Nektgayev, T. G. Kalinyuk

The results of hepatoprotective activity determination of chicory extract in chronic liver injury by tetrachloromethane are presented in this article. It is shown that extracts of chicory exhibit hepatoprotective properties, reducing the activity of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and reducing tissue injury of liver.

Key words: hepatoprotective effect, chicory extracts, tetrachloromethane, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2014; № 1 (14): 20–23

Захворювання печінки є одними з найпоширеніших у сучасному світі і часто призводять до тяжких станів і смерті, а отже, і до значних економічних втрат. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, за останні 20 років у світі відзначено тенденцію до збільшення кількості хронічних захворювань печінки різної етіології (алкогольна, вірусна, що зумовлена метаболічними порушеннями або гепатотоксичними лікарськими препаратами). Кількість хворих із патологіями гепатобіліарної системи перевищує 2 млрд [4].

Для неспецифічної терапії захворювань печінки, при хронічних гепатитах різної етіології, цирозі й токсичних ураженнях печінки, що викликані алкоголем, деякими лікарськими засобами й отрутохімікатами, використовують гепатопротектори. Їх дія спрямована на нормалізацію гомеостазу в печінці, підвищення стійкості до патогенних впливів, нормалізацію функціональної активності печінки, стимуляцію регенеративних процесів [1].

Однак нині немає гепатопротекторів, які б відповідали вимогам клініки. Тому одним з актуальних завдань сучасної фармації та фармакології є пошук нових високоефективних гепатопротекторів.

Найбільш безпечними та уживаними в медичній практиці є гепатопротектори рослинного походження [5]. Одним із перспективних джерел створення лікарських

засобів із гепатопротекторною активністю є корені цикорію (*Cichorium intybus L.*), що характеризуються високим вмістом біологічно активних речовин (БАР). Аналіз фітохімічного складу БАР коренів цикорію засвідчив: вони містять значну кількість фенольних сполук (гідроксикоричні кислоти, флавоноїди), що відомі за антиоксидантними й антицитолітичними властивостями [2,7].

Варто відзначити, фенольні субстанції природного походження викликають найбільший інтерес у науковців і медиків як потенційні джерела для створення гепатопротекторних засобів. Це зумовлено здатністю фенольних сполук впливати на головні ланки патогенезу захворювань гепатобіліарної системи [10].

У низці досліджень вивчено окремі аспекти гепатозахисної дії [3] та антиоксидантної активності екстрактів цикорію, що свідчить про перспективність застосування цикорію як ефективного гепатопротектора [9]. Фармакологічні властивості цієї рослини експериментально підтверджено недостатньо, що обмежує спектр його обґрунтованого застосування у медичній практиці.

Враховуючи відзначене, а також те, що в народній медицині цикорій здавна використовують при хронічних хворобах печінки та жовчного міхура [8], доцільним є продовження дослідження гепатопротекторної активності екстракту цикорію.

Мета роботи

Вивчення гепатопротекторної активності екстракту цикорію та впливу на морфологію і деякі показники функціональної активності печінки щурів на моделі її хронічного ушкодження тетрахлорметаном.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом вивчення був екстракт із коренів цикорію, котрий отриманий із використанням 50% етанолу методом реперколяції, вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту становив $0,0242 \pm 0,0005\%$. Експериментальні дослідження виконали на 18 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 180 ± 20 г із віварію ЛНМУ ім. Данила Галицького. Тварин утримували в умовах стандартного водно-харчового раціону відповідно до санітарно-гігієнічних норм, при доступі до води та їжі *ad libitum*. Усі дослідження виконували згідно з методиками та вимогами ДЕЦ МОЗ України та «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншими цілями» (м. Страсбург, 1986) [6].

Тварин випадковим способом поділили на 6 груп по 6 щурів у кожній. Перша група – інтактні тварини. Другій групі протягом експерименту щоденно інтрагастрально вводили 50% етанол у дозі 0,15 мл/кг маси тварини. Третій, четвертий, п'ятий і шостий групам тварин для моделювання хронічного токсичного ушкодження печінки інтрагастрально вводили тетрахлорметан у вигляді 20% олійного розчину в дозі 0,2 мл/100 г маси тіла двічі на тиждень протягом 30 днів. Четвертій групі тварин протягом експерименту щодня інтрагастрально вводили 50% етанол у дозі 0,15 мл/кг маси тварини, п'ятій групі – щодня інтрагастрально екстракт цикорію в дозі 150 мг/кг маси тіла, шостій групі – щодня інтрагастрально силібор у дозі 150 мг/кг маси тіла. Біологічний матеріал (кров і печінку) забирали на 3 добу після останнього введення речовин шляхом декапітації на тлі ефірного наркозу.

Для оцінювання функціонального стану печінки визначали вміст аспаратамінотрансферази (АСТ), аланінамінотрансферази (АЛТ), лужної фосфатази

(ЛФ), γ -глутамілтранспептидази (ГГТП), альбумінів, білірубину та холестерину у сироватці крові тварин за допомогою біохімічного аналізатора BTS-370 (Іспанія).

Для гістологічного дослідження праву частину печінки кожної тварини фіксували в забуференому 10% розчині формаліну протягом 24 годин. У всіх випадках використовували забарвлення гематоксилін-еозином (ГЕ) і трихромом Массона (ТМ). Вивчали 10 різних ділянок тканини при кожному забарвленні. На зрізах, що забарвлені ГЕ, досліджували основні патогістологічні зміни, визначали ступінь вираженості пошкодження гепатоцитів (вакуолізація цитоплазми). Колагенові волокна (ступінь фіброзу) оцінювали при забарвленні ТМ.

Для порівняння виявлених змін основні патологічні процеси описували за допомогою напівкількісних шкал. Ступінь вираженості пошкодження: 0 – цитоплазма гепатоцитів без вакуолей (пошкодження немає); 1 – фокальні дрібно- чи великовакуольні зміни (незначне пошкодження); 2 – множинні перисептальні вогнища або дифузні вакуольні зміни гепатоцитів (виражене пошкодження). Ступінь фіброзу: 0 – звичайні портальні тракти (ПТ) (фіброзу немає); 1 – склероз ПТ і поодинокі короткі сполучнотканинні септи (незначний фіброз); 2 – множинні довгі сполучнотканинні септи (порто-центральні) (виражений фіброз).

Результати дослідження статистично опрацювали, визначаючи ступінь вірогідності за допомогою t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення

У результаті токсикометричних досліджень установили: значення LD_{50} дає змогу вважати, що отриманий екстракт цикорію належить до V класу безпеки, тобто за ступенем токсичності й небезпеки він відповідає вимогам, котрі ставляться до лікарських засобів.

Результати визначення активності ферментів сироватки крові у групах тварин наведено у таблиці 1.

Статистично вірогідних відмінностей показників функціонального стану печінки першої та другої груп тварин не виявили. Не відрізнялись вони між собою і під час морфологічного дослідження.

Таблиця 1

Активність ферментів сироватки крові у групах тварин

Групи тварин	АЛТ (од/л)	АСТ (од/л)	ЛФ (од/л)	ГГТП (од/л)
1 група інтактні	95,9±21,8	209,0±36,5	265,8±59,9	16,6±4,6
2 група 50% етанол	92,0±27,8	189,9±30,5	272,2±53,9	17,5±2,6
3 група тетрахлометан	481,5±156,5 $P_{1-3} < 0,0001$	407,8±82,6 $P_{1-3} < 0,0003$	435,0±86,2 $P_{1-3} < 0,003$	15,2±3,4
4 група тетрахлометан + 50% етанол	479,4±174,8 $P_{2-4} < 0,0003$	409,1±86,9 $P_{2-4} < 0,0001$	447,2±89,4 $P_{2-4} < 0,002$	14,9±4,5
5 група тетрахлометан + екстракт цикорію на 50% етанолі	209,6±42,9 $P_{2-5} < 0,0002$ $P_{4-5} < 0,004$	303,4±50,1 $P_{2-5} < 0,0008$ $P_{4-5} < 0,03$	339,2±52,7 $P_{4-5} < 0,03$	15,1±6,5
6 група тетрахлометан+силібор	229,2±39,0 $P_{1-6} < 0,00002$ $P_{3-6} < 0,003$	296,2±49,9 $P_{1-6} < 0,006$ $P_{3-6} < 0,02$	355,0±73,8 $P_{1-6} < 0,04$	15,2±3,9

Хронічне введення CCl_4 третій і четвертій групам тварин призвело до збільшення активності індикаторних ферментів печінки. Зокрема, у третій групі активність АЛТ зростала у 5 разів ($p < 0,0001$), АСТ – в 1,9 раза ($p < 0,0003$), ЛФ – в 1,6 раза ($p < 0,003$) у порівнянні з першою групою. Аналогічні зміни спостерігали й у четвертій групі у порівнянні із другою: АЛТ підвищувалась у 5,2 раза ($p < 0,0003$), АСТ – 2,1 раза ($p < 0,0001$), ЛФ – в 1,6 раза ($p < 0,002$). Рівень ГГТП, альбумінів та білірубину при цьому не змінювався. Протягом морфологічного дослідження у третій і четвертій групах тварин виявлено ознаки пошкодження: мікро-/макровакуольні зміни гепатоцитів із дифузним поширенням або у вигляді множинних перисептальних вогнищ і фокуси гепатоцитів з еозинофільною цитоплазмою, а також прояви вираженого фіброзу – склероз портальних трактів і короткі й поодинокі довгі сполучнотканинні септи, нодулярність (рис. 1). При цьому не виявили відмінностей морфофункціонального стану печінки тварин третьої та четвертої груп.

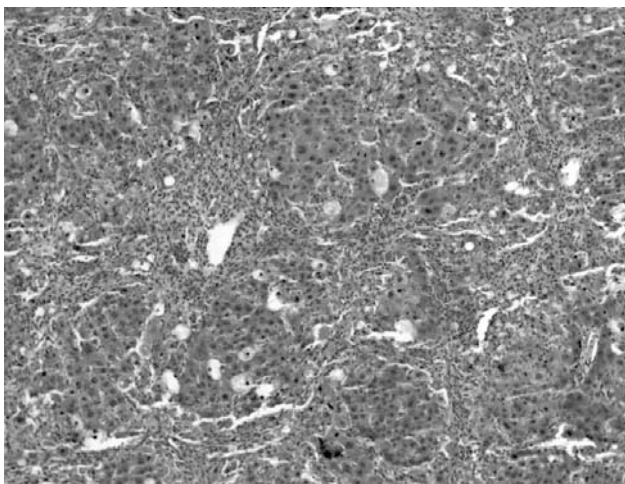


Рис. 1. Зміни в тканині печінки при введенні тетрахлоретану (четверта група). Множинні перисептальні скупчення гепатоцитів із дрібно- та великовакуольними змінами й дистрофічно змінених клітин із вираженою еозинофільною цитоплазми. Численні прошарки сполучної тканини різної товщини, які проникають у глибокі відділи часточок або оточують паренхіматозні вузли (пошкодження та фіброз значного ступеня). Четверта група тварин, ураження тетрахлорметаном. Забарвлення гематоксилін-еозином, збільшення $\times 100$.

У п'ятій групі тварин, яким разом із CCl_4 вводили екстракт цикорію, спостерігали менше виражені порушення функціонального стану печінки. Зокрема, активність АЛТ підвищувалась лише у 2,3 раза ($p < 0,0002$) у порівнянні з другою групою, АСТ – в 1,6 раза ($p < 0,0008$). Ці показники активності ферментів, маркерів цитолізу були статистично достовірно нижчими, ніж у четвертій групі тварин: АЛТ – у 2,3 раза ($p < 0,004$), АСТ – в 1,3 раза ($p < 0,027$), ЛФ – в 1,3 раза ($p < 0,028$). Водночас у п'ятій групі тварин виявили ознаки пошкодження незначного ступеня: у різних відділах часточок спостерігали невеликі фокуси мікро-/макровакуольних

змін гепатоцитів. Прояви фіброзу у тварин були переважно помірною ступеня, з формуванням тонких септ із проникненням у глибокі відділи паренхіми і подекуди тенденцією до утворення вузлів (рис. 2).

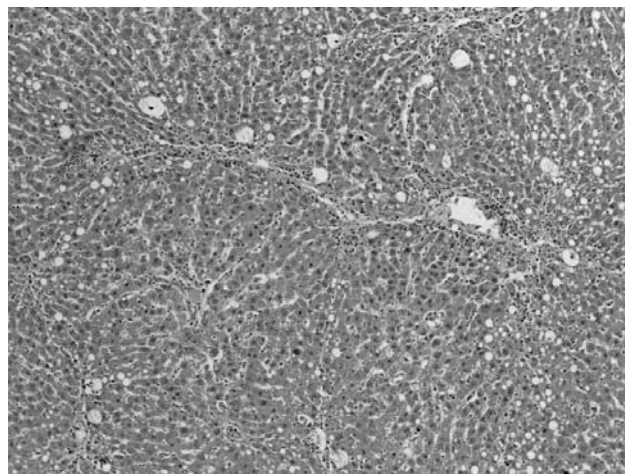


Рис. 2. Зміни у тканині печінки у групі тварин, яких лікували екстрактом цикорію. Невеликі вогнища гепатоцитів із вакуолізованою цитоплазмою за змішаним типом (мікро-/макровакуоли), розміщені у різних відділах часточок. Помірно виражений фіброз із формуванням множинних сполучнотканинних септ. Група тварин, яким на фоні тетрахлорметану вводили екстракт цикорію. Забарвлення гематоксилін-еозином, збільшення $\times 100$.

У п'ятій групі тварин виявлено тенденцію до нормалізації функціонального стану печінки (зниження активності АСТ, АЛТ і ЛФ), що підтверджується меншим, ніж у четвертій групі тварин, ступенем пошкодження та тканинної перебудови. Описані зміни свідчать про гепатопротекторний ефект препарату.

Гепатопротекторну дію спостерігали також під час застосування силібору (у шостій групі тварин). Вона виявлялась меншим зростанням активності АЛТ і АСТ у порівнянні з третьою групою (у 2 ($p < 0,003$) і 1,4 ($p < 0,017$) раза відповідно). При цьому не відбувалось повної нормалізації активності індикаторних ферментів печінки, залишалась підвищеною у порівнянні з показниками інтактних тварин: АЛТ – в 2,3 раза ($p < 0,00002$), АСТ – 1,4 раза ($p < 0,006$), ЛФ – в 1,2 раза ($p < 0,04$). Під час морфологічного дослідження спостерігали поодинокі вогнища гепатоцитів із дрібними та великими цитоплазматичними вакуолями, які розміщувались переважно у периферичних відділах часточок. Сполучнотканинні септи були тонкими, різної довжини, подекуди оточували нечітко сформовані вузли (фіброз помірною ступеня).

Висновки

Результати роботи засвідчили, що екстракт цикорію характеризується гепатопротекторною дією на тлі хронічного ураження печінки CCl_4 у щурів, що виявляється зниженням активності АСТ, АЛТ і ЛФ у сироватці крові, а також зменшенням ознак пошкодження у печінці. За гепатопротекторною активністю екстракт цикорію не поступається силібору.

Отже, водно-спиртовий екстракт цикорію є перспективним для подальшого вивчення щодо створення лікарського засобу з гепатопротекторними властивостями.

Список літератури

1. Бакулин И.Г. Возможности применения гепатопротекторов в практике врача-терапевта / И.Г. Бакулин, Ю.Г. Сандлер // *Consilium medicum. Гастроэнтерология.* – 2010. – № 8. – С. 72–76.
2. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений / В.А. Барабой. – К. : Наук. думка, 1976. – 260 с.
3. Крылова С.Г. Гепатозащитное действие экстракта из корня *Cichorium intybus* (Asteraceae) / С.Г. Крылова, Л.А. Ефимова, З.К. Вымятина, Е.П. Зуева // *Растительные ресурсы.* – 2007. – № 2. – С. 89–94.
4. Попович В.П. Тенденції ринку гепатопротекторів в Україні / В.П. Попович, Б.П. Громовик, П.В. Глуховський // *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики.* – 2012. – № 1. – С. 95–99.
5. Румянцева Ж.Н. Поиск гепатопротекторов среди препаратов растительного происхождения / Ж.Н. Румянцева, Я.С. Гудивок // *Раст. ресурсы.* – 1993. – № 1. – С. 88–97.
6. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / [за ред. О.В. Стефанова]. – К. : Авіцена, 2001. – 568 с.
7. Яворський О.І. Біологічно активні речовини та фармакологічна активність коренів цикорію / О.І. Яворський, Б.М. Зузук, Л.Я. Роговська // *Фармац. журн.* – 1993. – № 1. – С. 70–75.
8. Яворський О.І. Ліки з цикорію – цінні та ефективні засоби в арсеналі практичного лікаря / О.І. Яворський // *Практична медицина.* – 1997. – № 1–2. – С. 48–53.
9. Papetti A. Anti- and pro-oxidant water soluble activity of *Cichorium* genus vegetables and effect of thermal treatment / A. Papetti, M. Daglia, G. Gazzani // *J. Agric. Food. Chem.* – 2002. – Vol. 506. – № 16. – P. 4696-4704.
10. Walsh K. Update on chronic viral hepatitis / Walsh K., Alexander G.J. // *Postgrad Med. J.* – 2001. – Vol. 77. – P. 498–505.

Відомості про авторів:

Сзерська О.І., аспірант каф. технології ліків і біофармації, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, E-mail: o_yezerska@mail.ru.

Гаврилук І.М., к. мед. н., доцент каф. фармакології, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького.

Гаврилук О.М., к. мед. н., доцент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького.

Нектегаєв І.О., наук. співробітник Центральної науково-дослідної лабораторії, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького.

Калинюк Т.Г., д. фарм. н., професор каф. технології ліків і біофармації, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького.

Надійшла в редакцію 01.04.2013 р.