

Влияние полифенольных комплексов ядровой древесины и клеточной культуры мааки амурской на магнитно-резонансные томографические показатели печени

Чучалин В.С.¹, Ратькин А.В.¹, Ратькин Е.В.¹, Федореев С.А.², Булгаков В.П.³

Effect of polyphenolic complexes wood and cellular culture *Maackia amurensis* on the MR tomography performance of a liver

Chuchalin V.S., Ratkin A.V., Ratkin Ye.V., Fedoreyev S.A., Bulgakov V.P.

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, г. Владивосток

³ Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток

© Чучалин В.С., Ратькин А.В., Ратькин Е.В. и др.

Проведена сравнительная оценка гепатопротективных свойств полифенольной фракции ядровой древесины мааки амурской (максар) и полифенольного комплекса клеточной культуры мааки амурской.

Терапевтическую эффективность исследуемых объектов оценивали по их влиянию на магнитно-резонансные томографические показатели печени крыс с экспериментальным CCl₄-гепатитом. Установлено, что гепатопротективная активность полифенольного комплекса клеточной культуры мааки амурской не уступает эффекту оригинального препарата «Максар».

Ключевые слова: маакия амурская, максар, томография, гепатопротекторы.

Comparative evaluation of hepatoprotective properties of polyphenolic fraction from wood (Maksar) and a polyphenolic complex of cell culture of *Maackia amurensis*.

Therapeutic efficacy of the objects was assessed by their effect on the MR tomographic performance of the liver of rats with experimental CCl₄-hepatitis. Hepatoprotective activity of polyphenol complex cell culture *Maackia amurensis* is not inferior to the original effect of the drug Maksar.

Key words: *Maackia amurensis*, Maksar, MR tomography, hepatoprotectors.

УДК 616.36-073.756.8-073.86:615.322:582.736

Введение

Поиск новых источников субстанций для получения лекарственных средств, способных усиливать регенераторные процессы в печени, и внедрение их в широкую медицинскую практику являются важнейшей задачей, решение которой позволит удовлетворить в полном объеме запросы здравоохранения. Маакия амурская (*Maackia amurensis* Rupr. et Maxim.) семейства бобовых (*Fabaceae*) — реликтовое растение Дальнего Востока — служит сырьем для гепатопротективного препарата «Максар». Его запасы невелики и достаточно медленно самовозобновляются. Перспектива решения данной проблемы связана с возможностями калусных культур, которые способны

обеспечить практически неограниченные количества исходного материала. В связи с этим важно оценить возможности использования клеточной культуры мааки в качестве альтернативного источника сырья для получения гепатопротективных препаратов [1, 3, 4].

Цель исследования — оценить возможность коррекции структуры печени полифенольными комплексами ядровой древесины и клеточной культуры мааки амурской при эксперименте.

Материал и методы

Максар — полифенольная фракция ядровой древесины мааки амурской — получен в Тихоокеанском институте биоорганической химии ДВО РАН (г. Владивосток). На основании результатов клинической апро-

бации Фармакологический государственный комитет МЗ РФ рекомендовал максар в качестве гепатопротектора для медицинского применения и промышленного выпуска. В исследованиях использовали субстанцию сухого экстракта мааки амурской, содержащую по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии 21,6% полифенолов, состав которых на 8,9% представлен стильбенами и на 12,7% изофлавоноидами [4, 6].

Полифенольный комплекс мааки амурской (ПКМА) получен в 2002 г. в Тихоокеанском институте биоорганической химии ДВО РАН из клеточной культуры растения с помощью экстракции 95%-м этанолом. Клеточная культура *Maackia amurensis* (штамм А-18) и экстрактивный комплекс на ее основе состоят из изофлавоноидов, включая изофлавоны и птерокарпаны, а также их моно-, ди- и малонилглюкозиды. В отличие от нативного экстракта из ядровой древесины мааки амурской ПКМА не содержит мономерных и димерных стильбенов. Нарботка препарата осуществлена в рамках исследований по созданию новой технологии для получения воспроизводимого источника изофлавоноидов, а также для изучения путей их биосинтеза [5, 7].

Эксперименты проведены в осенне-зимний период на 50 беспородных белых крысах-самцах массой тела 180—210 г. Животные находились в стандартных условиях содержания на естественном световом режиме, при свободном доступе к воде и пище (температура воздуха в виварии 20—22 °С, влажность 50—60%, световой режим (день — ночь) — 1 к 1. Кормление животных осуществляли дважды в день с использованием специальных сертифицированных гранул с минеральными и витаминными добавками. Содержание животных соответствовало Правилам лабораторной практики (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.). Все манипуляции (взвешивание, введение препаратов, декапитацию) осуществляли с 09.00 до 12.00, опыты выполняли, соблюдая Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных, утвержденные МЗ РФ.

Крысы были разделены на пять групп по 10 особей в каждой: I группа — интактные животные; II — с СС₁₄-гепатитом, которым ежедневно в течение 4 сут вводили в желудок 1,25 мл тетрахлорметана в 50%-м масляном растворе на 1 кг массы тела; III—IV — крысы, получавшие за 2 ч до введения гепатотоксина внутривенно максар из ядровой древесины или

ПКМА в ранее установленной для максара оптимальной эффективной дозе 200 мг/кг массы тела в форме суспензии на 1%-й крахмальной слизи (по 100 мг/кг массы тела за 2 ч до введения тетрахлорметана и спустя 2 ч после введения гепатотоксина); V — контрольные животные, получавшие эквивалентные количества растворителей.

Терапевтическую эффективность препаратов оценивали по их влиянию на томографические показатели печени. Исследование проводили на магнитно-резонансном томографе PharmaScan US 70/16 фирмы Bruker BioSpin MRI (Coventry, Великобритания), который служит для визуализации высококачественных изображений различных органов и тканей животных массой тела до 350 г. Прибор включает операционный модуль Avance, рабочую станцию Hewlett Packard и программное обеспечение ParaVision 3.0.1.

С помощью программы Region of Tool Instruments, обеспечивающей работу томографа, был проведен сравнительный анализ объемов печени крыс, а также измерена интенсивность сигнала, отраженного от паренхимы органа.

Характер интенсивности сигнала в МРТ определяется четырьмя параметрами: протонной плотностью (количеством протонов в исследуемой ткани), временем спин-решетчатой релаксации T₁, временем спин-спиновой релаксации T₂, движением или диффузией исследуемых структур.

Были получены T₁- и T₂-взвешенные изображения (T₁-ВИ и T₂-ВИ) печени крыс в режимах RARE 8 и FLASH в аксиальной и коронарной проекциях. Для получения T₂-ВИ использовали импульсную последовательность с параметрами: TR = 2 579,8 мс; TE = 44,5 мс; FOV = 6—8 см, матрица 256 × 256; толщина среза 2 мм; количество срезов от 16 до 18. Для T₁-ВИ использована быстрая импульсная последовательность FLASH, адаптированная для фармакскана, с параметрами: TR = 100 мс; TE = 3 мс; FOV = 6—8 см, матрица 264 × 264; толщина среза 2 мм; количество срезов от 16 до 18.

Экспериментальные данные представлены в виде среднего арифметического *M* и его стандартной ошибки *m*. Сравнение средних между группами проводили по непараметрическому критерию *H* Краскала—Уоллиса, различия в группах считали значимыми при *p* < 0,05. Расчеты выполняли с использованием программы Statistica 6.0 для Windows [2].

Результаты и обсуждение

МРТ имеет некоторые преимущества в визуализации патологических изменений печени, вызванных применением гепатотоксинов: исследование не сопровождается лучевой нагрузкой, позволяет получать целостные изображения печени в любой проекции, выявлять их взаимосвязь с билиарной системой без применения контрастных веществ, позволяет оценить отеки и признаки кровотечения. МРТ дает возможность изучить количественную и качественную оценку состояния органа у исследуемых животных.

С ее помощью показано, что терапия ПКМА оказывала защитное действие на клетки печени при интоксикации тетрахлорметаном, что выражалось в уменьшении размеров органа и сокращении интенсивности сигнала от него. При CCl_4 -гепатите регистрировалось увеличение линейных размеров печени на 20% по сравнению с показателями контрольной группы животных. Вероятно, это свидетельствует об острой воспалительной реакции и связанным с ней отеком печеночной ткани. Терапия ПКМА и максаром на фоне интоксикации тетрахлорметаном сохраняла объем печени крыс на уровне размеров органа в контрольной группе (таблица). При этом достоверно значимых различий в степени влияния на геометрические параметры органа между ПКМА и максаром не выявлено. На фоне лечения отмечалась тенденция к нормализации линейных размеров печени в большей степени за счет ее правой доли. Введение растворителей препаратов не сопровождалось изменением параметров, регистрируемых у интактных животных. Таким образом, ПКМА, нормализуя метаболические изменения в печени, препятствует развитию отека и ограничивает воспалительное увеличение органа, тем самым сохраняя ее объем.

Влияние ПКМА и гепатопротектора «Максар» на объем печени и интенсивность сигнала от паренхимы печени крыс на T1-ВИ и T2-ВИ при остром CCl_4 -гепатите ($M \pm m$, средние из 6—10 определений)

Показатель	Экспериментальная группа			
	Контрольная	CCl_4 -гепатит	Максар и CCl_4	ПКМА и CCl_4
Объем печени, см ³	269,4 ± 14,9	320,2 ± 18,9*	219,5 ± 17,6 [#]	248,9 ± 26,4 [#]
Интенсивность сигнала T1-ВИ, усл. ед.	149,1 ± 8,3	224,8 ± 17,7*	114,0 ± 5,5 [#]	137,9 ± 8,0 [#]
Интенсивность сигнала T2-ВИ, усл. ед.	51,8 ± 7,3	105,0 ± 12,3*	67,1 ± 7,0 [#]	84,4 ± 13,3 [#]

* $p < 0,05$ по отношению к контрольным животным для CCl_4 -гепатита.

[#] $p < 0,05$ по отношению к CCl_4 -гепатиту для препаратов.

При терапии ПКМА и максаром на фоне интоксикации гепатотоксином интенсивность сигналов от паренхимы печени крыс изменялась. В группе животных, получавших тетрахлорметан, интенсивность сигнала на T2-ВИ не менее чем на 50 усл. ед. была выше по сравнению с соответствующим показателем в контрольной группе. Наиболее существенное увеличение интенсивности сигналов зарегистрировано на T1-ВИ печени отравленных тетрахлорметаном животных, которое составило 75 усл. ед. Введение ПКМА, так же как и максара, обеспечивало нормализацию интенсивности сигнала от паренхимы органа. Изменение интенсивности сигнала на T1-ВИ и T2-ВИ при остром CCl_4 -гепатите, возможно, связано с застойными явлениями в печени, нарушениями ее гемодинамики. При этом у крыс с тетрахлорметановым гепатитом заметно увеличение долевых венозных протоков по сравнению с соответствующими показателями контрольных животных и крыс, леченных ПКМА и максаром (рис. 1—4).



Рис. 1. Томографический снимок печени крысы контрольной группы

на 5-й день наблюдения



Рис. 2. Томографический снимок печени крысы на фоне острого CCl_4 -гепатита на 5-й день наблюдения



Рис. 3. Томографический снимок печени крысы при терапии максаром на фоне острого CCl_4 -гепатита на 5-й день наблюдения



Рис. 4. Томографический снимок печени крысы при терапии ПКМА на фоне острого CCl_4 -гепатита на 5-й день наблюдения

Заключение

Полифенольный комплекс клеточной культуры мааки амурской, так же как и гепатопротективный

препарат «Максар», при остром экспериментальном гепатите, вызванном тетрахлорметаном, ограничивает развитие морфологических и функциональных нарушений в печени за счет нормализации кровообращения, уменьшения воспаления и отека ткани.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 09-04-99130.

Литература

1. Булгаков В.П., Федореев С.А., Журавлёв Ю.Н. Биотехнология — здоровью человека: научные достижения и первые шаги инноваций на Дальнем Востоке // Вестн. ДВО РАН. 2004. № 3. С. 93—99.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.
3. Кулеш Н.И., Максимов О.Б., Глебо Л.И. и др. «Максар» — гепатозащитный препарат из дальневосточного растительного сырья // Тез. докл. на регион. ассамблее «Здоровье населения Дальнего Востока». Владивосток, 1996. С. 263.
4. Федореев С.А., Кулеш Н.И., Веселова М.В. и др. Препарат максар из мааки амурской — эффективное гепатозащитное средство // Материалы регион. науч. конф. «Исследования в области физико-химической биологии и биотехнологии»: сб. тез. докл. Владивосток, 2004. С. 98—99.
5. Fedoreyev S., Bulgakov V. Isoflavonoid composition of the *Maackia amurensis* callus culture // Journal of Biotechnology. 2008. V. 136. P. 140—143.
6. Fedoreyev S.A., Kulesh N.I., Glebo L.I. et al. Maksar: a preparation based on Amur Maackia // Pharm. Chem. J. 2004. V. 38. P. 605—610.
7. Fedoreyev S.A., Pokushalova T.V., Veselova M.V. et al. Isoflavonoid production by callus cultures of *Maackia amurensis* // Fitoterapia. 2000. V. 71. P. 365—372.

Поступила в редакцию 16.02.2011 г.

Утверждена к печати 01.04.2011 г.

Сведения об авторах

В.С. Чучалин — д-р фарм. наук, зав. кафедрой фармацевтической технологии СибГМУ (г. Томск)

А.В. Ратькин — канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической технологии СибГМУ (г. Томск).

Е.В. Ратькин — ассистент кафедры фармацевтической технологии СибГМУ (г. Томск).

С.А. Федорев — д-р хим. наук, ст. науч. сотрудник Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН (г. Владивосток).

В.П. Булгаков — д-р биол. наук, член-корреспондент РАН, Биолого-почвенный институт ДВО РАН (г. Владивосток).

Для корреспонденции

Чучалин Владимир Сергеевич, тел.: 8-913-116-43-43, (3822) 42-09-58; e-mail: phtech@ssmu.ru