

# ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ХИТОЗАНА ИЛИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЙ ХИТОЗАН В КАЧЕСТВЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРА

**З.И. Галеева**

Ташкентская медицинская академия

Ташкент, zulfiagalieva76@gmail.com

**Аннотация:** Данная статья посвящена изучению гепатопротективного действия хитозана или низкомолекулярного хитозана в качестве гепатопротектора. Исследование охватывает анализ влияния данных веществ на функциональное состояние печени, их механизмы действия, эффективность и перспективы использования в клинической практике.

**Ключевые слова:** гепатопротектор, хитозан, низкомолекулярный хитозан, функциональное состояние печени, механизмы действия, эффективность, клиническая практика, заболевания печени, лечение

Острые и хронические поражения печени являются одной из актуальных проблем современной гепатологии. В мире сохраняется высокая частота поражений печени вирусными, бактериальными, химическими агентами и различными лекарственными препаратами [1, 7]. Токсический гепатит – это один из наиболее распространенных видов патологии, вызываемых различными химическими веществами и различными эндотоксинами. Основными методами лечения острых токсических гепатитов является устранение причин и предотвращение возможного повторного действия химических веществ на организм и подбор фармакологических схем с учетом клинической картины ГПП [9, 10, 12]. Существует огромная группа гепатопротекторов, различающихся по химической природе и строению. Поэтому для выбора препаратов необходимо подходить дифференцированно.

Хитин и, особенно его дезацетилированное производное – хитозан, а также его различные производные сульфат хитозана (сульфапорин),

нанопроизводных хитозана, синтезируемые на основе хитозана, полученного из *Bombux mori*, зарекомендовали себя как наиболее перспективные энтеросорбенты из класса природных пищевых волокон, они снижают высокий уровень холестерина в крови, обладают гипогликемическим действием, выводят из организма ионы тяжелых и переходных металлов и радионуклеидов, повышают иммунитет [4]. Однако их гепатопротективные свойства не исследованы.

Целью настоящего исследования явилась оценка гепатопротективной активности низкомолекулярного хитозана, полученного из куколок *Bombux mori* на модели острого токсического поражения печени (ОТПП).

#### Материал и методы исследования

Для решения поставленных задач проведены эксперименты на 40 половозрелых крысах-самцах исходной массой тела 160-180 гр., содержащихся на стандартном режиме вивария. Экспериментальные исследования проведены в соответствии с требованиями Хельсинской декларации по гуманному обращению с животными. Для воспроизведения ОТПП 30 крысам  $CCl_4$  вводили 4-хкратно в дозе 2,5 мл/кг массы тела подкожно в течение 4-х дней. Летальность не наблюдалась. Фармакотерапию ОТПП проводили спустя 24 часа после заключительного введения токсиканта. Животные были разделены на следующие группы: контрольная группа (10 крыс) с ОТПП+плацебо ( $H_2O$ ); группа сравнения (10 крыс) с ОТПП+препарат сравнения карсил в дозе 100 мг/кг; основная группа (10 крыс) с ОТПП+НМХ в дозе 25 мг/кг. Препараты вводили в виде суспензии внутривентриально через специальный зонд в течение 12 дней.

Для оценки детоксицирующей функции печени через 24 часа после заключительного введения препаратов проводили этаминаловый тест. Через 24 часа после проведения пробы животных декапитировали под легким эфирным наркозом, собирали кровь для биохимических исследований и печень для морфологии. В сыворотке крови определяли активность аланин- (АЛТ) и аспаргатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ),

гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), содержание общего белка, альбуминов, глюкозы, холестерина, билирубина, мочевины, креатинина, мочевой кислоты на биохимическом анализаторе MINDRAY BA-88A (Китай) с использованием специальных тест-наборов. Полученные при исследовании данные подвергли статистической обработке на персональном компьютере Pentium-IV с помощью программного пакета MicrosoftOffice Excel-2012, включая использование встроенных функций статистической обработки.

#### Результаты и их обсуждение

Анализ биохимических показателей показал, что у крыс контрольной группы с ОТПП в сыворотке крови выявлена тенденция к снижению содержания общего белка. Содержание альбуминов статистически значимо снизилось в 1,39 раза ( $P < 0,05$ ), тогда как уровень глобулинов имел тенденцию к увеличению. Такие изменения в белковом спектре экспериментальных животных привели к достоверному снижению альбумин/глобулинового соотношения в 1,43 раза ( $P < 0,05$ ) относительно значений интактных крыс. Полученные результаты указывают на достаточно выраженное снижение синтетической функции гепатоцитов на фоне активизации звездчатых клеток и наличия воспалительных процессов в печени экспериментальных животных. Фармакотерапия ОТПП НМХ несколько повышала уровень альбуминов, глобулинов, а соотношение их сохранялось низким. При использовании классического гепатопротектора карсила изменения белкового спектра сыворотки крови экспериментальных животных носили такой же характер. Полученные данные указывают на слабый эффект изученных препаратов в коррекции белоксинтезирующей функции печени при ее остром токсическом поражении.

При ОТПП в сыворотке крови крыс активность АЛТ статистически значимо возросла в 1,83 раза ( $P < 0,01$ ) относительно значений интактной группы крыс. Повышение активности данного фермента свидетельствует о цитолизе гепатоцитов, так как самых больших концентраций она достигает в печени. Степень подъёма активности аминотрансфераз свидетельствует о

выраженности цитолитического синдрома, но не указывает прямо на глубину нарушений собственно функции органа. Активность АСТ в сыворотке крови острым токсическим гепатитом статистически значимо возросла в 2,73 раза ( $P < 0,001$ ), что характерно для тетрахлорметанового гепатита, повреждающего в основном митохондрии гепатоцитов. Активность ЩФ возросла в 3,31 раза ( $P < 0,001$ ), свидетельствуя о деструкции гепатоцитов (печёчно-клеточный механизм) или нарушения транспорта жёлчи (холестатический механизм). Печёчно-клеточный механизм повышения активности ЩФ играет ведущую роль при токсических и лекарственных повреждениях печени. В ряде случаев активность фермента повышается вследствие одновременного действия обоих механизмов повреждения. На наш взгляд, при ОТПП, вызванным тетрахлорметаном, повышение активности ЩФ связано как за счет печеночно-клеточного, так и холестатического механизмов. Активность ГГТП у крыс с ОТПП статистически значимо возросла в 3 раза ( $P < 0,001$ ) относительно значений интактных крыс. Данный фермент в основном локализован в мембранах микросом и цитоплазматической мембраной клеток, поэтому повышение активности ГГТП в сыворотке крови указывает на повреждение этих структур и имеет большое диагностическое значение при заболеваниях печени и гепатобилиарного тракта. Как видно из приведенных данных, использованная нами модель ОТПП адекватна и характеризуется всеми развивающимися синдромами поражения печени.

Экспериментальная фармакотерапия ОТПП карсиллом в течение 12 дней привела к снижению активности изучаемых ферментов в сыворотке крови крыс. Так, активность АЛТ, АСТ, ЩФ и ГГТП снизилась в 1,62 ( $P < 0,05$ ); 1,2; 1,43 ( $P < 0,05$ ) и 1,84 раза ( $P < 0,01$ ), соответственно. Если активность АЛТ несколько приблизилась к значениям интактных крыс, АСТ, ЩФ и ГГТП все еще сохранялись выше значений интактной группы крыс в 2,28 ( $P < 0,001$ ); 2,32 ( $P < 0,001$ ) и 1,64 раза ( $P < 0,01$ ). Это свидетельствует о сохранении дистрофических изменений в гепатоцитах и холестаза у экспериментальных животных.

Следует сказать, что у крыс ОТПП развивается выраженная гипербилирубинемия, проявляющаяся повышением уровня общего билирубина в сыворотке крови в 3,66 раза ( $P < 0,001$ ) относительно значений интактной группы крыс. Учитывая, что причинами гипербилирубинемии могут быть различные этиологические факторы, можно предположить, что в данном случае она связана поражением паренхимы печени с нарушением её билирубинвыделительной функции, конкретно с нарушением активности ферментного звена, обеспечивающего биосинтез глюкуронидов билирубина и печёночной секреции конъюгированного билирубина в жёлчь. Фармакотерапия ОТПП карсиллом привела к достоверному снижению содержания общего билирубина в сыворотке крови крыс в 3 раза ( $P < 0,001$ ) относительно значений контрольной группы крыс, и приближению к показателям интактных животных. Это было связано наличием в составе карсилласилимарина. Механизм действия его связан стабилизацией мембран гепатоцитов, ускорением процессов репарации, нейтрализацией свободных радикалов, активацией системических процессов, замедлением проникновения в клетки печени некоторых гепатотоксинов [3]. При применении НМХ содержание общего билирубина в сыворотке крови крыс с ОТПП статистически значимо снизилось в 2,31 раза ( $P < 0,001$ ) относительно значений контрольной группы. Однако данный показатель все еще сохранялся выше значений интактной группы крыс в 1,58 раза ( $P < 0,01$ ).

В сыворотке крови крыс с ОТПП резко возрастал уровень общего холестерина, превышая показатели интактной группы крыс в 2,08 раза ( $P < 0,001$ ), свидетельствуя о нарушении превращения их в желчные кислоты. С другой стороны, при остром и хроническом поражении печени, вследствие сдавления желчных протоков отеком гепатоцитов и воспалительными процессами увеличивается внутрипечёночный холестаза, что также приводит к развитию гиперхолестеринемии. Фармакотерапия ОТПП карсиллом способствовала достоверному снижению в 1,92 раза ( $P < 0,001$ ) общего холестерина в сыворотке крови экспериментальных животных и

приближению к значениям интактных крыс. Это было связано желчегонным действием силимарина, входящего в состав карсила. Содержание общего холестерина в сыворотке крови крыс с ОТПП, леченных НМХ также статистически значимо снизилось в 1,5 раза ( $P < 0,05$ ). Несмотря на такое снижение уровень общего холестерина в сыворотке крови превышал показатели интактных животных в 1,39 раза ( $P < 0,05$ ).

Анализ продолжительности гексеналового сна в контрольной группе крыс показал его удлинение в 2,42 раза ( $P < 0,001$ ), свидетельствуя о замедлении фармакометаболизующей функции поврежденных гепатоцитов. В группе сравнения (ОТПП+карсил) продолжительность гексеналового сна укоротилась в 1,89 раза ( $P < 0,01$ ) относительно значений контрольной группы, но все еще сохранялась выше в 1,27 раза ( $P < 0,05$ ) показателей интактных крыс. Применение НМХ в дозе 25 мг/кг в течение 12 дней способствовало укорочению продолжительности сна в 1,58 раза ( $P < 0,01$ ) по сравнению с показателями контрольной группы, но все еще достоверно превышало значения группы сравнения и интактных крыс в 1,2 ( $P > 0,05$ ) и 1,53 раза ( $P < 0,05$ ), соответственно.

Таким образом, различные производные хитозана уменьшали выраженность гипербилирубинемии, гипертриглицеридемии и гиперхолестеринемии, характерной для крыс с токсическим поражением печени. В исследованиях Иноятовой Ф.Х., Милушевой Р.Ю., Кутликовой Г. (2016-2018 гг.) была показана эффективность хитозана и, особенно его сульфатированной формы, в снижении риска развития атерогенеза, что подтверждалось низкими значениями общего холестерина и холестерина в липопротеинах очень низкой и низкой плотности у крыс с гиперхолестеринемией [1, 2]. По мнению авторов, они подавляли высокий уровень эндотелина-1, гомоцистеина и СРб, повышали активность eNOS и содержание оксида азота, что совпадало с его выраженным гипополипидемическим свойствами.

Следует сказать, что функциональная активность хитозана зависит от трех реакционных групп: одной аминогруппы и двух гидроксильных групп в каждом гликозидном остатке. Аминогруппа имеет основное значение, т.к. она имеет катионную природу, чувствительна к изменениям pH среды и отвечает за различные физико-химические свойства. Растворимость хитозана зависит от аминогрупп, которые способны при низком значении pH образовывать растворимые полисахариды. Амино группы образуют полиэлектролитные комплексы с отрицательно заряженными биомолекулами, что увеличивает проходимость их через клеточную мембрану[5, 6]. Но под действием ферментов хитиназ N-ацетил-β-1,4-глюкозаминидная связь в хитозане не гидролизуется, что делает его биоразлагаемым[8]. Клинически доказано, что хитозан проявляет противовоспалительное действие за счет снижения высвобождения интерлейкина-8 (ИЛ-8) и фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-α) из тучных клеток[11]. Согласно данным литературы, токсичность хитозана очень низкая [2].

Основываясь на вышеизложенных можно сказать, что низкомолекулярный хитозан в дозе 25 мг/кг обладает гепатопротективным действием. Его можно рассматривать в качестве перспективной субстанции для изготовления гепатопротекторов.

### **Список литературы**

1. Кутликова Г.М. The influence of sulfate porcine on indicators of nitric oxide system at experimental hypercholesterolemia // Журнал European science review. –Vienna, 2016. -№ 1-2. -С. 71-73.
2. Кутликова Г.М. Экспериментал атеросклерозда хитозанни қўллаш имкониятлари//Автореф.дисс....PhD.-Ташкент, 2018.- 40 с.
3. Матвеев А.В., Коняева Е.И., Курченко В.П., Щекатишна А.С. Гепатопротективные свойства силимарина. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.- 2011.- №2.- С.130-135.
4. Рашидова С.Ш., Милушева Р.Ю., // Хитин и хитозан *Bombyx Mori*: синтез, свойства и применение. – Ташкент: ФАН, 2009. – 246с.

5. Cheung R.C., Ng T.B., Wong J.H., Chan W.Y. Chitosan: updated information on potential biomedical and pharmaceutical applications // *Marine drugs*.- 2015.- Vol.13(8).- P.5156–5186.
6. Garg P., Kumar S., Pandey S., Sanwu H., Chung P.H., Koh J., Chang J.H. Chitosan bound to triphenylamine with high buffering capacity and low viscosity for enhanced transfection in mammalian cells, in vitro and in vivo // *Journal of Materials Chemistry B*.- 2013.- Vol.1 (44 ).- P. 6053-6065.
7. <https://www.worldlifeexpectancy.com/ru/uzbekistan-liver-disease>
8. Islam N., Moore I.D., Taha M.. Decomposition of micro/nanoparticles of chitosan for drug delivery to the lungs // *Helium oh*.- 2019.- Vol.5(5).- e01684.
9. Larrey D., Ursic-Bedoya J., Meunier L. Drug-Induced hepatotoxicity // *Schiff's diseases of the liver*. – 2017. URL: <https://doi.org/10.1002/9781119251316.ch27>
10. Masoumeh A., Mamak S., Sabereh M. Comparison between ursodeoxycholic acid and silymarin in anticonvulsive drugs induced hypertransaminasemia // *Inflamm. Cel Signal*. – 2015. – Vol. 10(2). – P. 234-267.
11. Park B.K., Kim M. Application of chitin and its derivatives in biological medicine. // *International J. Mol. sci*.- 2010.- Vol.10.- P.3390.
12. Sass D.A., Shakil A.O. Fulminant hepatic failure // *Liver Transpl*. – 2005. – Vol. 11. – P.594-605.