

Влияние экстрактов из листьев ольхи серой и ольхи черной на биохимические показатели крови при генерализованном воспалении

О.В. Мушкина, С.А. Гурин

Учреждение образования «Витебский государственный медицинский университет»

Изучено изменение биохимических показателей крови лабораторных животных в ходе развития генерализованного асептического воспаления, вызванного введением 1% раствора каррагинина, а также влияние водных настоев листьев ольхи серой и ольхи черной на данные показатели. Оценка показателей воспаления проведена на четвертые и седьмые сутки развития патологического процесса. Специфический показатель воспаления – С-реактивный белок и другие биохимические маркеры воспаления под действием водных настоев листьев ольхи серой и ольхи черной достоверно снижаются, что позволяет установить выраженную противовоспалительную активность листьев ольхи серой и ольхи черной.

Ключевые слова: воспаление, С-реактивный белок, ольха серая, ольха черная.

The influence of extracts from alnus incana and alnus glutinosa leaves on biochemical indicators of blood at generalized inflammation

O.V. Mushkina, S.A. Gurin

Educational establishment «Vitebsk State Medical University»

The change of biochemical indicators of laboratory animals' blood in the process of generalized aseptic inflammation caused by the introduction of 1% carragenin solution, as well as the influence of water infusions of Alnus glutinosa and Alnus incana leaves on these indicators has been investigated. The estimation of inflammation indicators of the development of the pathological process is made on the fourth and seventh days. The C-reactive protein and other biochemical markers are specific indicators of inflammation which under the influence of water infusions of Alnus glutinosa and Alnus incana leaves reliably decreases; this allows to establish distinct anti-inflammatory activity of Alnus glutinosa and Alnus incana leaves.

Key words: inflammation, C-reactive protein, Alnus incana, Alnus glutinosa.

Воспаление – это типовой патологический процесс, развивающийся в ответ на повреждение ткани флогенным агентом (экзогенного и эндогенного происхождения). Воспаление характеризуется местными стадийными изменениями состояния терминального сосудистого русла и системы микроциркуляции, соединительной ткани и нервной системы. Патолофизиологическая роль процесса воспаления состоит в отграничении, уничтожении и/или удалении флогена из органов и тканей и в восстановлении их структуры и функции.

Как правило, воспаление сопровождается общей реакцией организма как единого целого – системной или генерализованной воспалительной реакцией на действие флогена. Главными компонентами такой реакции являются: изменение функции печени, развитие лейкоцитоза и развитие лихорадки. Метаболическим ответом организма на воспаление является изменение активности в крови индикаторных ферментов АлАт (аланинаминотрансферазы), АсАт

(аспартатаминотрансферазы), ГГТ (γ-глутамил-трансферазы), уровня С-реактивного белка, МДА (малонового диальдегида), ДК (диеновых конъюгатов), АОО (антиоксидантной активности), ПОЛ (перекисного окисления липидов). В этой связи актуальной задачей является поиск биологически активных веществ природного происхождения, которые снижают активность биохимических маркеров воспаления и могут использоваться в качестве противовоспалительных средств [1–2].

Листья ольхи применяют в народной медицине при различных патологиях. Алглютин – жидкий экстракт листьев – рекомендован в качестве слабительного средства при хронических запорах. Настой листьев – как противовоспалительное и вяжущее при болезнях горла и кишечника, как потогонное при простудных заболеваниях и кашле, ранозаживляющее при ревматизме и подагре. Отвар – при раке груди, привратнике желудка, поджелудочной железы, двенадцатиперстной кишки, пищевода, прямой кишки, горла,

языка, матки и других опухолях, а также как кровоостанавливающее средство. Свежие листья ольхи используют для приготовления сухих ванн, которые эффективны при простудных заболеваниях, остром ревматизме, артритах, подагре, суставных болях и сердечной недостаточности [3–4]. В последние годы интерес ученых привлекает противоопухолевая активность препаратов, полученных из коры, соплодий и листьев ольхи [5].

Листья ольхи серой и ольхи черной официально не применяются, поэтому актуальным является изучение фармакологической активности этих новых видов лекарственного растительного сырья.

Целью работы является изучение динамики биохимических показателей крови при генерализованном воспалительном процессе и возможности их коррекции извлечениями из листьев ольхи серой и ольхи черной.

Материал и методы. В исследовании были использованы крысы (самки) беспородные, полученные из питомника «Рапполово» (Ленинградская область, Всевожский район) в зимний период времени (январь). Средняя масса крыс составляла 270–350 г. Животные содержались в соответствии с установленными требованиями [6–7] в помещении вивария при температуре 20–22°C, влажности воздуха 45–50%, при естественном освещении. Животные находились в одноклеточных клетках с передней стенкой из проволоочной сетки, снабженной поилкой. Все группы животных получали стандартный рацион вивария [8] и необходимое количество чистой, свежей, кипяченой воды.

Для проведения биологических исследований из высушенных листьев ольхи серой и листьев ольхи черной готовили водные извлечения согласно статье «Настои и отвары» ГФ СССР XI изд., вып. 2 [9]. Полученные извлечения выпаривали, взвешивали, растворяли в воде и вводили животным с помощью металлического зонда, представляющего собой изогнутую инъекционную иглу с напаянной на конец оливой.

Противовоспалительную активность водных настоев листьев ольхи серой и листьев ольхи черной изучали на модели каррагенинового воспаления [10–11].

Воспаление индуцировали внутрибрюшинным введением 1 мл 1% раствора каррагенина на изотоническом растворе хлорида натрия. Через 2 часа вводили полученные водные извлечения из листьев ольхи в дозе 200 мг/кг. Препараты вводили ежедневно. На 4-е и 7-е сутки животных выводили из эксперимента методом дислокации шейных позвонков.

О противовоспалительной активности судили по активности индикаторных ферментов АлАт (аланинаминотрансферазы), АсАт (аспартатаминотрансферазы), ГГТ (γ -глутамилтрансферазы), уровню С-реактивного белка, МДА (малонового диальдегида), ДК (диеновых конъюгатов), АОА (антиоксидантной активности), ПОЛ (перекисному окислению липидов).

АлАт, АсАт, ГГТ определяли кинетическим методом с помощью диагностических наборов фирмы «Cormay». Уровень СРБ определяли также с помощью диагностического набора для определения концентрации С-реактивного белка фирмы «Cormay». АОА и ПОЛ исследовали биохимиллюминесцентным методом на приборе БХЛ-06. МДА и ДК определяли унифицированными методами [12–13].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета «анализ данных» программы Microsoft Excel'2003 из стандартного набора поставки MS Office и компьютерной программы «Statistica 6.0» с соблюдением общих рекомендаций для биологических исследований. При анализе использовали непараметрические методы исследования, которые соответствовали критериям проводимого эксперимента (небольшая выборка групп $n \leq 8$, вид распределения неизвестен). Для сравнения двух групп использовали непараметрические критерии Манна–Уитни, при этом значения считались значимыми при $p < 0,05$ [14].

Результаты и их обсуждение. Результаты определения показателей генерализованного асептического воспаления представлены в табл. 1 и 2 в виде $\bar{X} \pm \sigma$, где $\bar{X}$ – среднее выборки, σ – стандартное отклонение.

Из табл. 1 видно, что под действием настоев листьев ольхи серой происходит достоверное снижение специфических показателей воспаления СРБ и ГГТ [15]. Под действием настоев листьев ольхи серой на четвертые сутки, по сравнению с контрольной группой, достоверно изменяется ряд биохимических показателей: АлАт, ПОЛ крови и печени, АОА крови и печени и МДА печени. К седьмым суткам достоверно отличаются от контрольной группы ПОЛ печени, МДА и ДК крови.

Таблиця 1

Показатели воспаления при лечении настоями листьев ольхи серой (n=8)

Показатель	Интактная группа	Контроль (воспаление) 4 сутки	Ольха серая 4 сутки	Контроль (воспаление) 7 сутки	Ольха серая 7 сутки
СРБ мг/мл	1,19 ± 0,11*#	21,57 ± 5,45	13,70 ± 1,89*	36,11 ± 3,16	10,98 ± 1,70#
ГГТ Е/л	1,22 ± 0,08*#	7,3 ± 2,09	3,45 ± 1,01*	2,79 ± 0,73	1,3 ± 0,69#
АлАт Е/л	44,98 ± 0,88*	79,26 ± 7,17	44,53 ± 7,45*	54,6 ± 6,83	53,94 ± 9,71
АсАт Е/л	136,07 ± 4,48*	168,50 ± 18,96	152,19 ± 12,47	180,66 ± 19,83	168,6 ± 11,47
ПОЛ крови	6,69 ± 0,43*#	10,48 ± 0,27	9,58 ± 0,29*	8,6 ± 0,4	10,6 ± 0,69#
АОА крови	0,16 ± 0,01*	0,22 ± 0,01	0,18 ± 0,02*	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,02
ПОЛ печени	5,09 ± 0,17*#	6,43 ± 0,63	5,63 ± 0,32*	4,53 ± 0,26	5,43 ± 0,44#
АОА печени	0,16 ± 0,003*	0,13 ± 0,002	0,16 ± 0,02*	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,02
МДА крови нМ/г белка	63,09 ± 2,05*#	81,64 ± 10,30	83,83 ± 10	112,46 ± 8,98	155,16 ± 11,74#
ДК крови нМ/г липидов	366,61 ± 28,0*#	128,35 ± 7,35	122,05 ± 14,05	448,61 ± 59,68	286,29 ± 71,06#
МДА печени нМ/г белка	1174,8 ± 62,3*#	636,2 ± 55,3	705,53 ± 91,4*	906,94 ± 103,17	1101,9 ± 13
ДК печени нМ/г липидов	130,50 ± 24,22	111,87 ± 12,59	97,44 ± 15,21	120,91 ± 23,61	125,14 ± 12,55

* – p < 0,05 по сравнению с контрольным воспалением на 4 сутки.

– p < 0,05 по сравнению с контрольным воспалением на 7 сутки.

Таблиця 2

Показатели воспаления при лечении настоями листьев ольхи черной (n=8)

Показатель	Интактная группа	Контроль (воспаление) 4 сутки	Ольха черная 4 сутки	Контроль (воспаление) 7 сутки	Ольха черная 7 сутки
СРБ мг/мл	1,19 ± 0,11*#	21,57 ± 5,45	9,89 ± 1,94*	36,11 ± 3,16	11,28 ± 2,44#
ГГТ Е/л	1,22 ± 0,08*#	7,3 ± 2,09	3,56 ± 1,44*	2,79 ± 0,73	1,05 ± 0,04#
АлАт Е/л	44,98 ± 0,88*	79,26 ± 10,34	56,58 ± 8,09*	55,06 ± 6,67	50,06 ± 6,06
АсАт Е/л	136,07 ± 4,48*#	168,5 ± 18,96	140,09 ± 16,7	180,66 ± 19,83	157,46 ± 16,27#
ПОЛ крови	6,69 ± 0,43*#	10,48 ± 0,37	9,38 ± 0,53*	8,6 ± 0,4	8,73 ± 1,07
АОА крови	0,16 ± 0,01*	0,22 ± 0,01	0,19 ± 0,01*	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,01
ПОЛ печени	5,09 ± 0,17*#	6,49 ± 0,63	5,87 ± 0,34*	4,53 ± 0,26	5,34 ± 0,33#
АОА печени	0,16 ± 0,02*#	0,13 ± 0,01	0,16 ± 0,02*	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,02
МДА крови нМ/г белка	63,09 ± 2,05*#	81,64 ± 10,30	72,58 ± 10,34	112,46 ± 15,74	147,96 ± 8,74#
ДК крови нМ/г липидов	366,61 ± 28,0*	128,35 ± 7,35	192,1 ± 18,97*	448,61 ± 59,68	398,31 ± 48,7
МДА печени нМ/г белка	1174,8 ± 62,3*#	636,2 ± 55,3	730,0 ± 72,5*	906,3 ± 103,6*	1272,1 ± 142,1#
ДК печени нМ/г липидов	130,50 ± 24,22	111,87 ± 12,6	96,94 ± 14,25	120,91 ± 23,61	132,33 ± 18,21

* – p < 0,05 по сравнению с контрольным воспалением на 4 сутки.

– p < 0,05 по сравнению с контрольным воспалением на 7 сутки.

Из табл. 2 видно, что под действием настоев листьев ольхи черной происходит достоверное снижение специфических показателей воспаления СРБ и ГГТ. Кроме того, под действием настоев листьев ольхи черной на четвертые сутки, по сравнению с контрольной группой, достоверно изменяется ряд биохимических показателей: АлАт, АсАт, ПОЛ крови и печени, АОА крови и печени, ДК крови и МДА крови. К седьмым суткам достоверно отличаются от контрольной группы АсАт, ПОЛ печени, МДА крови и печени.

Из табл. 1–2 видно, что все изучаемые показатели, кроме ДК печени, на четвертые сутки в ходе развития генерализованного воспаления изменяются и достоверно отличаются от исходных. К седьмым суткам ряд показателей: АлАт, АОА крови и ДК крови – приходят в норму, т.е. достоверно не отличаются от исходных.

Заключение. Выявлена противовоспалительная активность настоев листьев ольхи серой и ольхи черной при генерализованном асептическом воспалении.

Отмечается достоверное снижение специфического показателя воспаления после введения водного настоя листьев ольхи черной: СРБ с $21,57 \pm 5,45$ мг/мл до $9,89 \pm 1,94$ мг/мл на четвертые сутки и с $36,11 \pm 3,16$ мг/мл до $11,28 \pm 2,44$ мг/мл на седьмые сутки; под действием водных настоев листьев ольхи серой СРБ снижается с $21,57 \pm 5,45$ мг/мл до $13,70 \pm 1,89$ мг/мл на четвертые сутки, с $36,11 \pm 3,16$ мг/мл до $10,98 \pm 1,70$ мг/мл на седьмые сутки. Аналогичная зависимость наблюдается и для других показателей. Это указывает на выраженную противовоспалительную активность листьев ольхи черной и ольхи серой.

ЛІТЕРАТУРА

1. Чернух, А.М. Воспаление / А.М. Чернух. – М.: Медицина, 1979. – 447 с.
2. Шебеко, В.И. Курс лекций по патофизиологии / В.И. Шебеко, Ю.Я. Родионов. – Витебск, 2003. – С. 125–160.
3. Хворост, О.П. Химический состав, лекарственное и хозяйственное значение видов *ALNUS MILL.* S. L. / О.П. Хворост, А.Г. Сербин, Н.Ф. Комисаренко // Растительные ресурсы. – 1984. – Вып. 3. – С. 430–442.
4. Вільха сіра, вільха біла *Alnus incan* (L.), Moench. Аналітичний огляд / Б.М. Зузук [и др.] // Провизор. – 2007. – № 9. – С. 37–41.
5. Разина, Т.Г. Фитопрепараты и биологически активные вещества лекарственных растений в комплексной терапии злокачественных новообразований: автореф. ... дис. д-ра биол. наук: 14.00.25 / Т.Г. Разина. – Томск, 2006. – 47 с.
6. Западнюк, И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. – Киев: Вища шк., 1974. – 303 с.
7. Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев): СанПин 21.2.12.-18.-2006 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.minzdrav.by>. – Дата доступа: 16.12.2007.
8. Нормативы затрат кормов лабораторных животных в учреждениях здравоохранения: Приказ МЗ СССР 10.10.1983, № 1179.
9. Государственная фармакопея СССР. XI издание: в 2 т. / МЗ СССР. – М.: Медицина, 1987–1990. – Вып. 1: Общие методы анализа. – 1987. – 334 с.; Вып. 2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. – 1990. – 398 с.
10. Противовоспалительные свойства ряда препаратов растительного происхождения / А.В. Горбачева [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2003. – № 1. – С. 12–14.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакол. в-в / под ред. Р.Х. Хабриева. – 2-е изд. – М., 2005. – 399 с.
12. Андреева, Л.И. Модификация методов определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
13. Гаврилов, В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропиловых экстрактов / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Н.Д. Хмара // Лаб. дело. – 1988. – № 2. – С. 60–64.
14. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2003. – 312 с.
15. Мусил, Я. Основы биохимии патологических процессов / Я. Мусил. – М.: Медицина, 1985. – 314 с.

Поступила в редакцию 27.09.2010

Адрес для корреспонденции: г. Витебск, ул. Правды, д. 66, корп. 2, кв. 123, тел.: +375-29-711-63-55 – Мушкина О.В.