

- COPD eligible for pulmonary rehabilitation // *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993. Vol. 147. P. 1151–1156.
13. Vermeeren M.A.P., Wouters E.F.M., Geraerts A.J.W., Schols A.M.W.J. Nutritional support in patients with chronic obstructive pulmonary disease during hospitalization for an acute exacerbation; a randomized controlled feasibility trial // *Clin Nutr.* 2004. Vol. 23, No. 5. P. 1184–1192.
14. Westerterp K.R. Energy metabolism and body composition: general principles // *J. nutrit. metabol. chron. respirat. disease.* 2003. No. 24. P. 1–10.
15. Wouters E.F. Nutrition and metabolism in COPD // *Chest.* 2000. Vol. 117. P. 274–280.

Поступила в редакцию 20.07.2009.

NUTRITIONAL STATUS AND ITS CORRECTION UNDER CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASE

V.A. Nevzorova¹, D.A. Barkhatova¹, T.A. Brodskaya¹, V.A. Kudryavtseva², T.K. Kalenik³, E.V. Motkina¹, P.A. Lukianov⁴
¹ Vladivostok State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russia), ² Municipal Allergo-Respiratory Centre

(10 Sportivnaya St. Vladivostok 690034 Russia), ³ Pacific State University of Economics (19 Okeanskiy Av. Vladivostok 690091 Russia), ⁴ Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS (159 100 Ann. of Vladivostok Av. Vladivostok 690022 Russia)
 Summary – The paper is aimed to estimate possibility of correcting nutritional status under chronic lung disease with functional meat products and biologically active additive 'Timarin'. 67 sick and 20 healthy study volunteers were examined for nutritional status: screening interviews, anthropometry, laboratory tests (including 6 and 10 interleukin level, tumour necrosis factor α , and oxidative index detection). The traditional therapy was supplemented with anti-oxidant 'Timarin' in 10 cases, and meat functional products in 34 cases. As indicated, the functional food products and the anti-oxidant have positive effect on the nutritional status of patients suffering from chronic obstructive lung disease by stimulating body-weight increase, increasing albuminemia level and decreasing inflammation and oxidative activity in blood.

Key words: chronic obstructive lung disease, nutritional status, nutrition, anti-oxidants.

Pacific Medical Journal, 2010, No. 4, p. 28–32.

УДК 615.244:582.272

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ФУКОИДАНА ИЗ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ *FUCUS EVANESCENS*

Т.А. Кузнецова¹, И.Г. Агафонова², Т.С. Крохмаль¹, Т.Н. Звягинцева², Н.В. Филонова¹

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1),

² Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН (690022 г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 159)

Ключевые слова: токсический гепатит, тетрахлорметан, гепатопротекторы, фукоиданы.

С помощью магнитно-резонансной томографии и биохимического анализа изучено гепатопротекторное действие фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* при экспериментальном хроническом токсическом гепатите у мышей, индуцированном тетрахлорметаном. Выявлена нормализация морфологической структуры и функционального состояния печени при пероральном применении фукоидана с лечебной и с профилактической целями. Полученные результаты свидетельствуют о гепатопротекторной активности фукоидана и открывают новые перспективы его клинического применения.

Хронический токсический гепатит представляет собой диффузное воспалительно-дистрофическое поражение печени, обусловленное воздействием различных химических соединений, таких как алкоголь, лекарственные препараты, гепатотропные яды и др. Одним из основных принципов терапии заболеваний печени, в том числе токсических гепатитов, является гепатопротекция, обеспечивающая предохранение клеток органа от повреждающего воздействия и способствующая восстановлению его функций.

Группа гепатопротекторов весьма гетерогенна и включает вещества различного химического строения с разнонаправленным влиянием на метаболические процессы. Однако ни один из имеющихся в настоящее время на фармацевтическом рынке препаратов не удовлетворяет в полной мере всем

требованиям гепатопротекции, в связи с чем поиск и разработка высокоэффективных и безвредных препаратов такого действия являются актуальными. В частности, сульфатированный полисахарид из бурой водоросли *Fucus evanescens* – фукоидан, обладающий иммуномодулирующей, антикоагулянтной, противоопухолевой, антивирусной и другими видами активности, является одним из перспективных в плане гепатопротекции препаратов [1, 5, 6].

Целью настоящего исследования явился анализ гепатопротекторного эффекта фукоидана на модели хронического токсического гепатита.

Материал и методы. Фукоидан – сульфатированный полисахарид с молекулярной массой 30–40 кДа, выделенный путем горячей экстракции из бурой водоросли Охотского моря *Fucus evanescens*, представляет собой линейный полимер, состоящий из чередующихся (1→3)- и (1→4)-связанных остатков фукозы, сульфатированных в основном по С-2. Кроме фукозы (90%), фукоидан содержит незначительные количества ксилозы (3%), маннозы (2%) и галактозы (5%); соотношение SO_4^{2-} и фукозы составляет 0,8:1,0 [7].

Эксперимент выполнен на 4 группах животных, томографические исследования проведены на мышцах линии (СВА×С57В1/6)F₁ (по 10 животных в группе), биохимические исследования – на неинбрендных мышцах (по 20 животных в группе): 1-я группа – интактные мыши; 2-я группа – мыши с индуцированным токсическим гепатитом (контроль); 3-я группа – мыши, получившие фукоидан по лечебной схеме

(30 дней на фоне индукции гепатита); 4-я группа – мыши, которым вводили фукоидан по профилактической схеме (ежедневно в течение 30 дней до индукции гепатита). Препарат давали перорально в дозе 50 мг/кг.

Мышей получали из питомника «Столбовая» и содержали с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755). Экспериментальные исследования проведены с разрешения комитета по биомедицинской этике НИИЭМ СО РАМН.

Гепатит индуцировали путем внутрижелудочного введения мышам четыреххлористого углерода (тетрахлорметана) по следующей схеме: 1,25 мл/кг в виде 40% масляного раствора 3 раза в неделю в течение двух месяцев [2]. Интактные животные получали эквивалентное количество воды.

Магнитно-резонансную томографию (МРТ) выполняли на томографе высокого разрешения PharmaScan 70/16 US фирмы Bruker с программным обеспечением Para Vision 3.0.2. Для визуализации и идентификации патологических изменений использованы два основных режима: T1-ВИ и T2-ВИ – взвешенные послойные изображения печени в режимах RARE_8 и FLASH в аксиальной и корональной проекциях. У экспериментальных животных также определяли массу печени. Для оценки функциональной активности органа в сыворотке крови мышей исследовали уровень глюкозы, билирубина, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы при помощи коммерческих наборов «Ольвейкс Диагностикум», Санкт-Петербург, в соответствии с прилагаемой инструкцией. Полученные данные статистически обрабатывали с использованием критериев Крускалла–Уоллиса и Стьюдента.

Результаты исследования. Масса печени у мышей 2-й группы под действием тетрахлорметана увеличивалась до $1,69 \pm 0,20$ г (в 1-й группе – $1,40 \pm 0,15$ г, $p < 0,05$). В группах животных, получавших фукоидан по лечебной и профилактической схемам, масса печени составила соответственно $1,55 \pm 0,20$ и $1,48 \pm 0,20$ г, что статистически значимо отличалось от показателей во 2-й группе и не

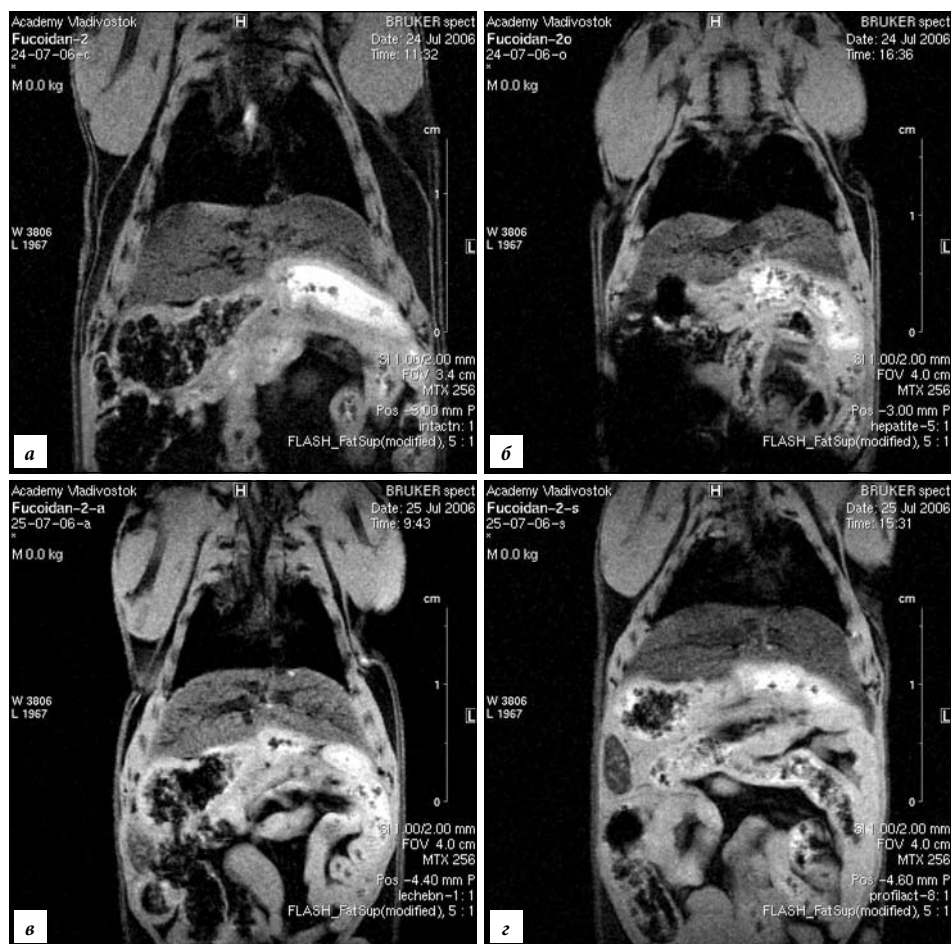


Рис. 1. МРТ печени мышей:

а – 1-я группа, б – 2-я группа, в – 3-я группа, г – 4-я группа. Режим T1-ВИ. Основное изображение получено при TR=187,2 мс, TE=3,3 мс, FOV=4 см, матрица – 256×256, толщина среза – 1 мм, расстояние между срезами 2 мм, угол наклона 30°, количество срезов от 12 (описание в тексте).

имело достоверного отличия от массы печени у интактных животных.

При МРТ у мышей 2-й группы выявлено увеличение обеих долей печени, в большей степени правой. Края долей были неровными и просматривались нечетко. Строма и паренхима были резко деформированы, в них преобладали воспалительные изменения, что не позволяло четко выделить структурно-функциональную единицу печени – печеночную дольку. Отмечалось венозное полнокровие (рис. 1). О воспалительных изменениях в паренхиме печени свидетельствовала гипоинтенсивность в режиме T1-ВИ: 2-я группа – $149,2 \pm 2,3$ отн. ед., 1-я группа – $225,5 \pm 7,2$ отн. ед. (рис. 2, а). Гиперинтенсивность сигнала от паренхимы зарегистрирована в режиме T2-ВИ: интенсивность сигнала во 2-й группе составила $104,1 \pm 5,9$ отн. ед., в 1-й – $52,2 \pm 6,7$ отн. ед. (рис. 2, б). На фоне применения фукоидана (3-я и 4-я группы) отмечена тенденция к нормализации линейных размеров печени, более выраженная при профилактической схеме введения препарата. Нормализовалась интенсивность сигнала от паренхимы печени при режимах T1-ВИ и T2-ВИ, при этом лечебный эффект фукоидана составил соответственно 15,8 и 24% в 3-й группе и 35,8 и 40,6% – в 4-й группе (рис. 2).

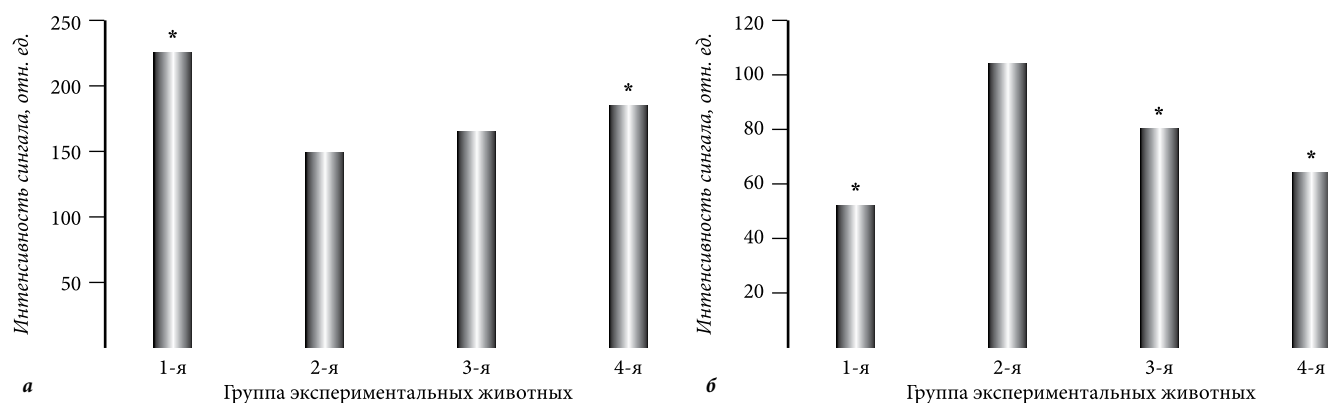


Рис. 2. Изменение интенсивности сигнала от паренхимы печени:

а – режим T1-VI, б – режим T2-VI; * различия достоверны по отношению к показателям 2-й группы.

По данным МРТ, у животных 3-й и 4-й групп, получавших фукоидан, структура печени частично восстанавливалась. Большая часть гепатоцитов формировала нормальные печеночные долики, которые мало отличались по форме и размерам от таковой у интактных мышей. Деформации паренхимы и строны органа не регистрировалось, желчные протоки были не изменены (рис. 1).

В биохимической картине крови в условиях хронического токсического поражения печени четыреххлористым углеродом выявлено повышение уровня аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы, глюкозы и билирубина, что связано с общей интоксикацией и нарушением барьерной и пигментообразующей функций печени. У животных, получавших фукоидан по лечебной и профилактической схемам, наблюдалась нормализация показателей аминотрансфераз и лактатдегидрогеназы, снижение уровня глюкозы (табл.).

Обсуждение полученных данных. Печень вовлечена во многие патологические процессы, и ее повреждение вызывает глубокие нарушения метаболизма, иммунного ответа и процессов детоксикации. В гепатоцитах происходят основные процессы биологической трансформации токсинов и ксенобиотиков (в том числе и лекарственных средств), в связи с чем стабилизация клеточных мембран и предотвращение деструктивных изменений клеток имеют первостепенное значение для нормального функционирования печени.

С морфологических позиций хронический гепатит является диффузным воспалительно-дистрофическим поражением печени, характеризующимся гистиоцитоплазматической инфильтрацией портальных полей, гиперплазией купферовских клеток, умеренным фиброзом в сочетании с дистрофией печеночных клеток при сохранении нормальной дольковой структуры органа.

Согласно существующим взглядам на патогенез токсического поражения печени, при действии четыреххлористого углерода оно связано со свободнорадикальными метаболитами последнего (CCl_3 , CCl_2), образующимися в результате гемолитического разрыва молекул CCl_4 . В результате усиления перекисного окисления липидных комплексов внутриклеточных мемб-

ран гепатоцитов нарушается активность ферментов и ряда функций печени (синтез белков, углеводов, обмен липопротеидов, метаболизм лекарств) [9, 15]. Под влиянием четыреххлористого углерода повышается содержание основных ферментов печени, глюкозы и билирубина [3]. Известно также, что длительное введение тетрахлорметана в желудок животного ведет к развитию цирротических изменений в печени [8].

Гепатопротекторы не оказывают влияния на здоровую печень, их терапевтические эффекты проявляются нормализацией метаболизма при жировом гепатозе, остром и хроническом гепатитах, циррозе печени токсической, алкогольной и вирусной этиологии. Особенно велика потребность в гепатопротекторах при терапии заболеваний, вызванных воздействием гепатотоксинов.

Поиск гепатопротекторов активно ведется среди препаратов природного происхождения полисахаридной природы, обладающих детоксирующими, сорбционными, антиоксидантными, иммуномодулирующими свойствами – альгинатов, каррагинанов, хитозанов и фукоиданов [4, 10–12]. Многочисленные исследования последних 15 лет посвящены биологическому действию полисахаридов бурых водорослей – фукоиданов. Наиболее широко изучено влияние этих полисахаридов на гуморальные и клеточные иммунные реакции, на факторы врожденного и приобретенного иммунитета. Особый интерес вызывают антикоагулянтные свойства фукоиданов. Нужно отметить, что полисахариды, подобные фукоиданам, в наземных организмах еще не найдены, возможно, этим и объясняется их необычное действие на макроорганизм, которое, наряду с отсутствием токсичности, делает их перспективными для внедрения в качестве медицинских препаратов [13]. Исследованиями гепатопротекторного действия фукоиданов посвящены немногочисленные работы. Так, В.И. Коненков и др. [4] показали, что фукоидан в составе иммуноэнтросорбента, применяемого с лечебной целью, оказывал гепатопротекторный эффект, выражавшийся в усилении энергетической функции гепатоцитов, восстановлении их ультраструктуры и структуры печени в целом при ожоговой травме. В исследовании

Таблица

Влияние фукоидана на биохимические показатели крови мышей с хроническим токсическим гепатитом ($M \pm m$)

Показатель ¹	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
АлАТ, мккат/л	0,50±0,10	0,90±0,20 ²	0,50±0,07 ³	0,62±0,08 ³
АсАТ, мккат/л	0,40±0,08	0,80±0,10 ²	0,50±0,10 ³	0,45±0,07 ³
ЛДГ, мккат/л	0,40±0,10	0,80±0,04 ²	0,40±0,10 ³	0,50±0,10 ³
Глюкоза, ммоль/л	1,90±0,10	3,50±0,10 ²	2,70±0,10 ^{2,3}	2,30±0,10 ^{2,3}
Билирубин, мкмоль/л	0,20±0,05	0,70±0,15 ²	0,30±0,06 ³	0,20±0,05 ³

¹ АлАТ – аланинаминотрансфераза, АсАТ – аспаратаминотрансфераза, ЛДГ – лактатдегидрогеназа.² Различие с 1-й группой статистически значимо.³ Различие со 2-й группой статистически значимо.

Л.Н. Сониной [10] также показаны гепатопротекторные свойства фукоидана при экспериментальной патологии печени. О гепатопротекторном и противовоспалительном действии свидетельствуют данные исследования, в котором показано, что фукоидан предотвращал КонА-индуцированное повреждение печени у мышей путем усиления синтеза интерлейкина-10 и снижения уровня провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухоли- α и γ -интерферон) в плазме крови и печеночной ткани [14].

С учетом того, что реализация основных принципов лечения гепатитов включает применение препаратов, нормализующих метаболизм, обладающих противовоспалительными, иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами, в качестве гепатопротекторного средства может быть перспективен исследуемый нами фукоидан из *F. evanescens*.

Таким образом, учитывая полученные результаты по восстановлению под влиянием фукоидана из *F. evanescens* морфологической структуры и функциональной активности печени, а также полученные ранее данные о его иммуномодулирующей, антикоагулянтной, антиоксидантной активности, можно рекомендовать применение этого препарата при лечении хронических токсических гепатитов и продолжить исследование механизмов его гепатопротекторного действия.

Литература

- Алексеев Т.В., Жанаева С.Я., Венедиктова А.А. и др. Противоопухолевая и антиметастатическая активность сульфатированного полисахарида фукоидана, выделенного из бурой водоросли Охотского моря *Fucus evanescens* // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2007. Т. 143, № 6. С. 675–677.
- Башкирова Ю.В. Показатели функциональной активности печени под влиянием энтеросорбентов при хроническом токсическом гепатите: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 1999. 18 с.
- Близнецова Г.Н. Пероксидное окисление, антиоксидантная система и оксид азота при токсическом повреждении печени: дис. ... канд. биол. наук. Воронеж, 2004. 194 с.
- Коненков В.И., Любарский М.С., Бгатова Н.П. и др. Гепатопротекторные свойства нового энтеросорбента с фукоиданом в условиях ожоговой травмы // Вестник лимфологии. 2008. № 1. С. 32–39.
- Кузнецова Т.А., Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н. и др. Иммуностимулирующая и антикоагулянтная активность фукоидана из бурой водоросли Охотского моря *Fucus evanescens* // Антибиотики и химиотерапия. 2003. Т. 48, № 4. С. 11–13.

- Макаренкова И.Д., Компанец Г.Г., Беседнова Н.Н. и др. Скрининг биополимеров из морских гидробионтов, влияющих на адсорбцию вируса Хантаан // Вopr. вирусол. 2007. № 2. С. 29–32.
- Пат. № 2135518 (РФ). Способ получения водорастворимых полисахаридов бурых водорослей / Т.Н. Звягинцева, Н.М. Шевченко, И.Б. Попивнич и др. // Бюл. 1999. № 24.
- Подымова С.Д. Болезни печени: руководство для врачей. М.: Медицина, 2005. 768 с.
- Саратиков А.С., Буркова В.Н., Венгеровский А.И., Куракова Е.А. Новые гепатопротективные и противовоспалительные препараты пеллоидов. Томск: ТГУ, 2004. 178 с.
- Сонина Л.Н. Сравнительная активность полисахаридов при экспериментальном поражении печени: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2007. 24 с.
- Хасина Э.И., Серебнева М.Н., Ермак И.М., Горбач В.И. Хитозан и неспецифическая резистентность организма // Вестник ДВО РАН. 2005. № 1. С. 51–55.
- Хотимченко Ю.С., Хасина Э.И., Ковалев В.В. и др. Эффективность пищевых некрахмальных полисахаридов при экспериментальном токсическом гепатите // Вopr. питания. 2000. № 1–2. С. 22–26.
- Berteau O., Mulloy B. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and overview of enzymes active toward this class of polysaccharide // Glycobiology. 2003. Vol. 13, No. 6. P. 29–40.
- Saito A., Yoneda M., Yokohama S. et al. Fucoidan prevents concanavalin A-induced liver injury through induction of endogenous IL-10 in mice // Hepatol. Res. 2006. Vol. 35 (3). P. 190–198.
- Zhu, W., Fung P.C.W. The roles played by crucial free radicals like lipid free radicals, nitric oxide, and enzymes NOS and NADPH in CCL4-induced acute liver injury of mice. // Free rad. biol. & Med. 2000. Vol. 29, No. 9. P. 870–880.

Поступила в редакцию 17.07.2009.

HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES OF FUCUS EVANESCENS-DERIVED FUCOIDAN

T.A. Kuznetsova¹, I.G. Agafonova², T.S. Krokhmal¹, T.N. Zvyagintseva², N.V. Filonova¹¹ Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of RAMS (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia),² Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS (159 100 Ann. of Vladivostok Av. Vladivostok, 690022 Russia)

Summary – MR-imaging and biochemical testing allowed to study hepatoprotective properties of fucoidan derived from brown algae *Fucus evanescens* under experimental chronic toxic tetrachlorololnethane-induced hepatitis in mice, and identify stabilisation of morphological structure and functional state of liver due to peroral introduction of fucoidan for treatment and prevention purposes. The findings are indicative of hepatoprotective activity of fucoidan and open up new opportunities to achieve its clinical application.

Key words: toxic hepatitis, tetrachlorolnethane, hepatoprotectors, fucoidans.

Pacific Medical Journal, 2010, No. 4, p. 32–35.