

Естественные науки. 2022. № 1 (6). С. 4–11.

Yestestvennyye nauki = Natural Sciences. 2022; no. 1(6):4–11. (In Russ.).

Научная статья

УДК 577.125.8

doi 10.54398/1818-507X_2022_1_4

**ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ЛОТОСА ОРЕХОНОСНОГО
(*NELUMBO NUCIFERA*) НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ
ПЕЧЕНИ САМОК КРЫС НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ
ТЕТРАХЛОРМЕТАНА**

*Кондратенко Елена Игоревна*¹ ✉, *Ломтева Наталья Аркадьевна*²,
*Абделхамид Хассан Мустафа Салахелдин*³

^{1,2}Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия

³Университет Загазиг, Загазиг, Египет

¹molecula01@yandex.ru ✉

Аннотация. Целью данной работы было изучение влияния экстракта плодов-коробочек лотоса орехоносного на физиологические параметры печени самок крыс при индуцированном повреждении тетрахлорметаном. В работе изучали морфофункциональные параметры печени крыс на фоне воздействия тетрахлорметана при введении экстракта лотоса орехоносного. У животных оценивали активность щелочной фосфатазы (ЩФ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и общего билирубина в сыворотке крови. Установлено, что исследуемый экстракт лотоса орехоносного в дозах 50 и 100 мг/кг массы тела достоверно уменьшает уровень содержания АлАТ, АсАТ, общего билирубина в сыворотке крови в сравнении с аналогичными показателями у животных с индуцированным ССl₄-повреждением печени, возвращая показатели к исходным значениям контрольной группы, проявляя при этом защитное действие. Гепатопротекторное действие исследуемого экстракта лотоса орехоносного проявляется через восстановление основных биохимических показателей и улучшение морфофункциональных характеристик паренхимы печени. Эффективность экстракта плодов-коробочек лотоса орехоносного сопоставима с известным гепатопротекторным препаратом – силимарином.

Ключевые слова: морфофизиологические параметры печени, экстракты лотоса орехоносного, гепатопротекторные свойства, ССl₄-индуцированные повреждения печени

Для цитирования: Кондратенко Е. И., Ломтева Н. А., Абделхамид Хассан Мустафа Салахелдин. Исследования паразитофауны промысловых видов рыб Казахской части Каспийского моря // Естественные науки. 2022. № 1 (6). С. 4–11. https://doi.org/10.54398/1818-507X_2022_1_4.

**INFLUENCE OF THE *NELUMBO NUCIFERA* EXTRACTS
ON THE PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF THE FEMALE RATS
LIVER AGAINST THE BACKGROUND OF EXPOSURE
TO CARBON TETRACHLORIDE**

**Kondratenko Elena I.¹✉, Lomteva Natalya A.², Abdelhamid Hassan
Mustafa Salaheldin³**

^{1,2}Astrakhan State University, Astrakhan, Russia

³Zagazig University, Zagazig, Egypt

¹molecula01@yandex.ru ✉

Abstract. The aim of this work was to study the effect of the extract of the nelumbo nucifera fruit-pods on the physiological parameters of the female rats liver induced by carbon tetrachloride damage. In the work, the morphofunctional parameters of the liver of rats were studied under the influence of carbon tetrachloride with the introduction of an nelumbo nucifera extract. In animals, the activity of alkaline phosphatase (AP), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and total bilirubin in blood serum was evaluated. It was established that the studied nelumbo nucifera extract at doses of 50 and 100 mg/kg of body weight significantly reduces the level of ALT, AST, total bilirubin in the blood serum in comparison with similar indicators in animals with CCl₄-induced liver damage, returning the indicators to the initial values of the control groups, while exhibiting a protective effect. The hepatoprotective effect of the nelumbo nucifera studied extract manifests itself through the restoration of the main biochemical parameters and the improvement of the morphological and functional characteristics of the liver parenchyma. The effectiveness of the fruit-boxes nelumbo nucifera extract is comparable to the well-known hepatoprotective drug – silymarin.

Keywords: morphophysiological parameters of the live, nelumbo nucifera extracts, hepatoprotective properties, CCl₄-induced liver damage.

For citation: Kondratenko E. I., Lomteva N. A., Abdelkhamid Hassan Mustafa Salakheldin. Research of the parasite fauna of commercial fish species of the Kazakhstan part of the Caspian Sea. *Yestestvennye nauki = Natural Sciences*. 2022; no. 1(6):4–11. https://doi.org/10.54398/1818-507X_2022_1_4.

Важнейшим условием нормального функционирования физиологических систем организма является сбалансированность синтеза, хранения и выведения химических соединений, оптимальная работа ферментативного аппарата, а также биологическая активность веществ, поступающих извне. Печень играет огромную роль на каждом этапе метаболизма и, наряду с другими системами, отвечает за адекватное реагирование организма на внешние и внутренние изменения.

В связи с увеличением насыщением окружающей среды продуктами промышленного и химического синтеза всё большую актуальность приобретают гепатопротективные препараты, повышающие резистентность печени к действию химических агентов и нормализующих её функции в состоянии токсического стресса.

CCl₄ является мощным гепатотоксическим агентом, вызывающим некроз печени, генерируя свободные радикалы у животных. Четырёххлористый

углерод накапливается в клетках печеночной паренхимы и метаболизируется в CCl_3 с помощью цитохрома печени P450-зависимой монооксигеназы [1]. Одной из главных причин CCl_4 -индуцированного повреждения печени является перекисное окисление липидов и ускорение свободных радикалов производных CCl_4 [2]. Модель CCl_4 -индуцированной гепатотоксичности часто используется для исследования гепатопротекторного действия лекарств и растительных экстрактов.

Среди веществ, обладающих гепатопротекторным действием, – синтетические и растительные препараты, обладающие не менее выраженным защитным действием на печень. Учитывая мягкость влияния растительных препаратов и меньшее число побочных эффектов, изучение их гепатопротекторных свойств приобретает особую актуальность. В этом плане интерес представляет лотос орехоносный (*Nelumbo nucifera*) – реликтовое растение, ценнейшее по своим лечебным свойствам и произрастающее на территории Астраханской области [3]. Биологически активные вещества лотоса орехоносного обладают многопрофильным действием на организм, проявляя адаптогенную, гиполипидемическую и другие виды активности [4–7]. Антиоксидантная активность различных частей лотоса орехоносного хорошо известна [8]. Экстракт семян лотоса орехоносного обладает гепатопротекторным и снижающим интенсивность процессов свободнорадикального окисления действием [9].

Материалы и методы исследования. Для приготовления экстрактов плоды-коробочки измельчали до порошкообразного состояния. 20 г порошка помещали в 500 мл 60%-го этанола на 3 ч при 60 °С в термостате. Экстракт фильтровали, а затем отгоняли спирт в ротационном испарителе при 60 °С. Раствор экстрактов лотоса орехоносного вводили животным внутрижелудочно с помощью зонда в дозах 50 и 100 мг/кг массы тела.

В эксперименте были использованы 35 самок беспородных крыс, содержащихся в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище. Животные были разделены на пять групп по 7 крыс в каждой.

Животные I группы получали внутрижелудочно физиологический раствор ежедневно в течение 7 недель (интактная группа).

Животные II–V групп получали 2 мл/кг массы тела раствора четыреххлористого углерода (1 % CCl_4 в оливковом масле) внутрижелудочно один раз в день в течение четырех дней на протяжении 7 недель: II группа – контрольная (животные, получавшие только CCl_4); III группа – животные, получавшие внутрижелудочно силимарин (50 мг/кг массы тела) ежедневно в течение 7 недель; IV и V группы – животные, получавшие внутрижелудочно экстракт плодов-коробочек лотоса орехоносного (50 и 100 мг/кг массы тела соответственно) ежедневно в течение 7 недель.

Через 5 ч после введения CCl_4 вводили экстракты ЛО и силимарина, чтобы избежать нарушения абсорбции каждого вещества. Декапитацию животных проводили после предварительной наркотизации легким диэтиловым эфиром на 49-м дне введения растворов.

Для оценки влияния экстрактов лотоса орехоносного на биохимические параметры изучали активность АлАТ и АсАТ, ЩФ, общего билирубина в сыворотке крови, используя наборы реактивов «Ольвекс диагностикум» (г. Санкт-Петербург). Активность щелочной фосфатазы определяли унифицированным методом по конечной точке [10], активность АлАТ и АсАТ – унифицированным методом Райтмана – Френкеля [11], концентрации общего билирубина – методом Йендрашека – Грофа [12].

Для морфологического исследования часть печени извлекали не позднее 15 мин. после забоя животного и фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина. После проводки и заливки в парафин изготавливали срезы толщиной 5–6 мкм. Для морфометрии поперечные срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Морфологическое исследование гистологических препаратов проводили при помощи светооптического микроскопа Leica DM LS (Германия) в пяти полях зрения при увеличении 200. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры Leica DC320 (Германия).

Статистическую значимость результатов анализировали по критерию Стьюдента.

Результаты исследования. Активность ферментов АлАТ, АсАТ, ЩФ, а также концентрация общего билирубина в сыворотке крови животных, получавших ССl₄, значительно повышалась в сравнении с интактным контролем (табл.).

Таблица – Влияние экстракта коробочка ЛО на биохимические показатели

Показатели	Группы				
	Группа I (физ. р-р)	Группа II (ССl ₄)	Группа III (ССl ₄ + силимарин)	Группа IV (ССl ₄ + ЭКЛО (50 мг/кг мас- сы тела))	Группа V (ССl ₄ + ЭКЛО (100 мг/кг массы тела))
АлАТ, ммоль/(ч.л)	1,38±0,32	2,77±0,76##	1,55±0,24**	1,51±0,68**	1,48±0,37**
АсАТ (ммоль/(ч.л))	0,87±0,27	1,59±0,61##	0,96±0,19*	1,04±0,38*	0,99±0,29*
ЩФ (нмоль/ с.л)	710,74± ±191,68	2083,86± ±775,32##	806,53± ±293,29**	1710,45± ±688,36●●	1494,99± ±472,58●
Общий би- лирубин (мкмоль/л)	1,86±0,96	14,32± ±1,95####	2,06±0,93***	7,40±0,71***	6,50±1,03***

Условные обозначения: #достоверность различий между I (физ. р-р) и II (ССl₄); *достоверность различий между II (ССl₄) и III–V группами животных; ●достоверность различий между III (силимарин) и IV и V (экстракт лотоса) группами животных (по Стьюденту), # (*,●) – p≤0,05; ## (**,●●) – p≤0,01; ### (***,●●●) – p≤0,001 (по Стьюденту).

При введении животным силимарина изучаемые биохимические показатели значительно снижались в сравнении с группой крыс, получавших ССl₄, и достигали значений, характерных для контрольных животных. Активность АлАТ, АсАТ, общего билирубина в сыворотке крови животных, получавших экстракт плодов-коробочек ЛО, незначительно отличались

от показателей концентрации сыворотки крови животных, получавших силимарин (табл.).

Выявлено, что под действием CCl_4 нарушается балочная структура печени. Следует отметить значительные нарушения микроциркуляции: неравномерно расширенные капилляры, в которых заметен стаз клеток крови (в основном эритроцитов), множество мелких кровоизлияний (геморрагий) вдоль стенок сосудов (рис. 1). В цитоплазме гепатоцитов обнаружены многочисленные жировые пустоты, что указывает на жировую дистрофию печени: гибель клеток печени сопровождается слиянием жировых капель. Характерно, что пустоты по объёму превышали диаметр печёночных клеток. Внутриклеточные пустоты также были довольно значительными, что указывает на крупноклеточный характер ожирения гепатоцитов. Жировая инфильтрация охватывала всю паренхиму печени: наблюдалось её диффузное ожирение. В паренхиме обнаружено большое количество некрозов (1/3 органа), захватывавших 2–4 гепатоцита. По наличию и состоянию ядер клетки делились на три типа: безъядерные, клетки с тёмноокрашенным плотным ядром, клетки со светлым крупным ядром. Кроме того, появились клетки с гигантскими ядрами. Оболочки клеток чётко не различались из-за массивного отека ткани. Отёк затронул и эндотелий сосудистых стенок. В условиях CCl_4 -индуцированного повреждения печени более чем на 70 % увеличивается диаметр гепатоцитов. Диаметр ядер гепатоцитов увеличивается на 50 %.

Таким образом, отмечена следующая патология печёночной паренхимы: нарушение микроциркуляции; отёк паренхимы органа, жировой гепатоз, некроз, полиморфизм клеток и ядер гепатоцитов. Жировой гепатоз находился во второй – третьей степени развития. Это ожирение ткани органа в сочетании с некробиозом гепатоцитов и начинающимся изменением дольчатой структуры печени.

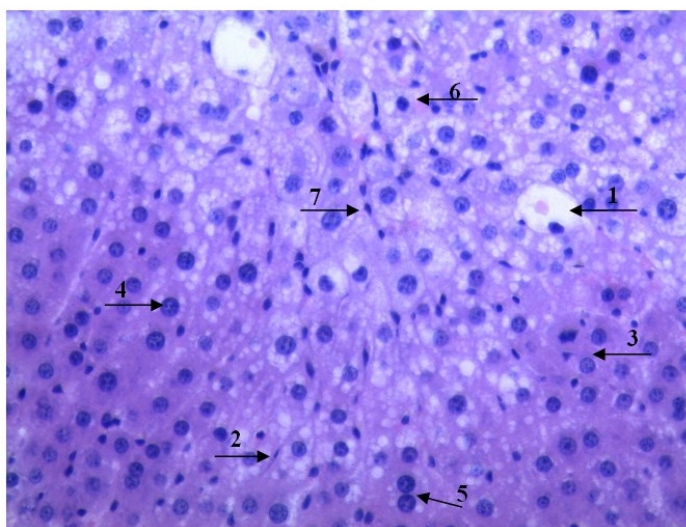


Рисунок 1 – Препарат печени крыс. Тетрахлорметан (окраска гематоксилин-эозином, ок. $10 \times$ об. 40): 1 – некроз нескольких клеток печени; 2 – жировая дистрофия цитоплазмы клетки печени; 3 – отёк паренхимы органа, отсутствие границ между клетками; 4 – гигантское ядро клетки печени; 5 – амитоз клеток печени; 6 – некроз ядра гепатоцита; 7 – спазм капилляров

Силимарин, вводимый на фоне CCl_4 -индуцированного повреждения печени, значительно нивелировал гистоструктурные и морфометрические проявления интоксикации: уменьшалась степень микроциркуляторного расстройства и отёк паренхимы, существенно снижалось количество некрозов. Диаметр ядер не отличался от контроля, число всех типов клеток также было в пределах нормы.

Экстракт плодов-коробочек лотоса орехоносного при внутривенном введении снижал токсическое влияние тетрахлоэтана, но менее значительно. Так, гистологическое исследование показало, что балочная структура по-прежнему нарушена из-за отёка паренхимы печени, сохраняется небольшой отёк сосудов. Капилляры остаются несколько расширенными и заполненными цепочкой из эритроцитов (рис. 2). Наблюдаются мелкие кровоизлияния. Выявлен полиморфизм ядер: большинство ядер крупные, светлые, даже гигантские. Имеются и мелкие, плотные, интенсивно окрашенные. Отмечены незначительные участки некроза, признаков жировой дистрофии не обнаружено, что говорит о достаточно высокой степени деинтоксикационного воздействия экстракта семян лотоса орехоносного в дозе 100 мг/кг м. т. Имеющиеся небольшие изменения гепатоцитов почти полностью соответствуют изменениям клеток печени контрольной группы.

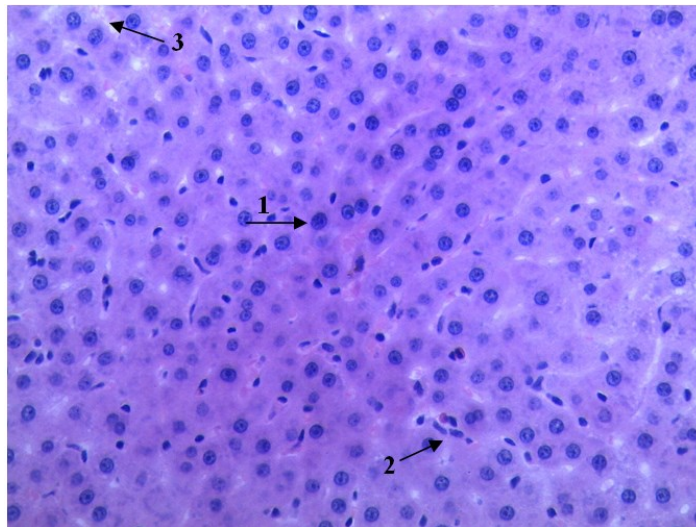


Рисунок 2 – Препарат печени крысы. Тетрахлорметан + экстракт семян лотоса орехоносного (100 мг /кг массы тела животного; окраска гематоксилин-эозином, ок. $10 \times$ об. 40): 1 – гигантское ядро гепатоцита; 2 – расширенный участок капилляра; 3 – мелкий участок некроза

Гепатопротекторная активность экстрактов плодов-коробочек, вводимых крысам в двух концентрациях, оказалась достаточно высокой, однако степень повреждения паренхимы печени по сравнению с действием силимарина была выше.

Таким образом, гепатопротекторное действие исследуемого экстракта лотоса орехоносного проявляется через восстановление основных биохимических показателей и улучшение морфофункциональных характеристик паренхимы печени. Эффективность экстракта плодов-коробочек лотоса

орехоносного сопоставима с известным гепатопротекторным препаратом – силимарином.

Список литературы

1. Recknagel R. O. A new direction in the study of carbon tetrachloride hepatotoxicity / R. O. Recknagel // *Life Science*. – 1983. – № 33. – С. 401–408.
2. Maling H. M. Nature of protection against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity produced by pretreatment with dibenamine N-chloroethyldipenzylamine / H. M. Maling, F. M. Eichelbaum, W. Saul, I. G. Spies, G. A. B. Brown & J. R. Gillette // *Biochemical Pharmacology*. – 1974. – № 23. – С. 1479–1491.
3. Кондратенко Е. И. Химический состав и антиоксидантная активность экстрактов семян *Nelumbo nucifera* / Е. И. Кондратенко, А. В. Великородов, А. Э. А. Мохамад, Н. А. Ломтева, К. Н. Кондратенко // *Химия растительного сырья*. – 2012. – № 3. – С. 115–120.
4. Mukherjee P. K. Antipyretic activity of *Nelumbo nucifera* rhizome extract / P. K. Mukherjee, J. Das, K. Saha, S. N. Giri, M. Pal, B. P. Saha // *Indian Journal of Experimental Biology*. – 1996. – Vol. 34, № 3. – P. 275–276.
5. Mukherjee P. K. Diuretic activity of the rhizomes of *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Fam. Nymphaeaceae) / P. K. Mukherjee, J. Das, K. Saha, M. Pal, B. P. Saha // *Phytotherapy Research*. – 1996. – № 10. – P. 424–425.
6. Mukherjee P. K. Studies on psychopharmacological effects of *Nelumbo nucifera* Gaertn rhizome extract / P. K. Mukherjee, K. Saha, R. Balasubramanian, M. Pal, B. P. Saha // *Journal of Ethnopharmacology*. – 1996. – Vol. 54, № 2–3. – P. 63–67.
7. Park S. Inhibitory effects of betulinic acid isolated from *Nelumbo nucifera* (Lotus) on breast cancer-mediated bone destruction / S. Park, K. Park, W. Chung // *Cancer Res*. – 2012. – Vol. 72. – P. 34.
8. Jiang Y. Immunoregulatory and anti-HIV-1 enzyme activities of antioxidant components from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) rhizome / Y. Jiang, T.B. Ng, Z. Liu, C. Wang, N. Li, W. Qiao, F. Liu // *Biosci. Rep*. – 2011. – № 5 (30). – P. 381–390.
9. Sohn D. H. Hepatoprotective and free radical scavenging effects of *Nelumbo nucifera* / D.H. Sohn, Y.C. Kim, S.H. Oh et al. // *Phytomedicine*. – 2003. – № 10. – С. 165–169.
10. Bessey O. A. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum / O. A. Bessey, O. H. Lowry, M. J. Brock // *J. biol. Chem*. – 1946. – № 164. – С. 321–329.
11. Reitman S. Лабораторные методы исследования в клинике / S. Reitman, S. Frankel // *Amer. J. Clin. Pathol*. – 1957. – P. 28–56.
12. Jendrassik L. Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Bilirubins / L. Jendrassik, P. Grof // *Biochem. Z*. – 1938. – № 297. – P. 81–89.

References

1. Recknagel R. O. A new direction in the study of carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Life Science*. 1983; no. 33:401–408.
2. Maling H. M., Eichelbaum F. M., Saul W., Spies I. G., Brown G. A. B., Gillette J. R. Nature of protection against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity produced by pretreatment with dibenamine N-chloroethyldipenzylamine. *Biochemical Pharmacology*. 1974; no. 23:1479–1491.
3. Kondratenko E. I., Velikorodov A. V., Mochamad A., Lomteva N. A., Kondratenko, K. N. Khimicheskii sostav i antioksidantnaya aktivnost' ekstraktov semyan *Nelumbo nucifera*. *Khimiya rastitel'nogo syrya = Chemistry of plant raw materials*. 2012; no. 3:115–120.

4. Mukherjee P. K., Das J., Saha K., Giri S. N., Pal M., Saha B. P. Antipyretic activity of *Nelumbo nucifera* rhizome extract. *Indian Journal of Experimental Biology*. 1996; vol. 34, no. 3:275–276.
5. Mukherjee P. K., Das J., Saha K., Pal M., Saha B. P. Diuretic activity of the rhizomes of *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Fam. Nymphaeaceae). *Phytotherapy Research*. 1996; no. 10:424–425.
6. Mukherjee P. K., Saha K., Balasubramanian R., Pal M., Saha B. P. Studies on psychopharmacological effects of *Nelumbo nucifera* Gaertn rhizome extract. *Journal of Ethnopharmacology*. 1996; vol. 54, no. 2–3:63–67.
7. Park S., Park K., Chung, W. Inhibitory effects of betulinic acid isolated from *Nelumbo nucifera* (Lotus) on breast cancer-mediated bone destruction. *Cancer Res*. 2012; vol. 72:34.
8. Jiang Y., Ng T. B., Liu Z., Wang C., Li N., Qiao W., Liu F. Immunoregulatory and anti-HIV-1 enzyme activities of antioxidant components from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) rhizome. *Biosci. Rep*. 2011; no. 5(30):381–390.
9. Sohn D. H., Kim Y. C., Oh S. H. et al. Hepatoprotective and free radical scavenging effects of *Nelumbo nucifera*. *Phytomedicine*. 2003; no. 10:165–169.
10. Bessey O. A., Lowry O. H., Brock M. J. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J. Biol. Chem*. 1946; no. 164:321–329.
11. Reitman S., Frankel S. Лабораторные методы исследования в клинике. *Amer. J. Clin. Pathol*. 1957:28–56.
12. Jendrassik L., Grof P. Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung des Bilirubins. *Biochem. Z*. 1938; no. 297:81–89.

Информация об авторах

Кондратенко Е. И. – доктор биологических наук, профессор, декан;
Ломтева Н. А. – доктор биологических наук, доцент, и. о. заведующей кафедрой;
Абделхамид Хассан Мустафа Салахелдин – доцент.

Information about the authors

Kondratenko Elena I. – Doctor of Biological Sciences, Professor, Dean;
Lomteva Natalya A. – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Acting Head of the Department;
Abdelkhamid Khassan Mustafa Salakhheldin – Assistant Professor.

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.
The authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 14.02.2022; одобрена после рецензирования 16.02.2022; принята к публикации 18.02.2022.

The article was submitted 14.02.2022; approved after reviewing 16.02.2022; accepted for publication 18.02.2022.