

УДК 616.36 - 002 - 099.3
© Коллектив авторов

КОРРЕКЦИЯ МЕКСИДОЛОМ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ, ВЫЗЫВАЕМОЙ У КРЫС ВВЕДЕНИЕМ ТУБЕРКУЛОСТАТИКОВ

О.Ю. Катикова¹, В.И. Рузов¹, Л.Д. Смирнов²

¹Государственный университет, Ульяновск, Россия
432063, Ульяновск, ул. К. Либкнехта, 1. тел.: (8422) 32-53-83

²Институт биохимической физики РАН им. Н.М. Эмануэля, Россия
119991, Москва, ул. Косыгина, 4; тел.: (095) 939-74-09; факс: (095) 137-41-01

Введение токсических доз средств специфической туберкулостатической химиотерапии крысам вызывает развитие лекарственного поражения печени, почек, поджелудочной железы. Использование мексидола и гептрала позволяет уменьшить выраженность патологического влияния туберкулостатиков на организм лабораторных животных. Доказано дозозависимое корригирующее влияние мексидола. Наибольшую цитопротекторную активность выявило применение его в дозе 50 мг/кг массы тела животного. Антиоксидантные свойства мексидола определили его мембранопротекторные эффекты.

Ключевые слова: мексидол, антиоксидант, лекарственный гепатит, туберкулостатики.

ВВЕДЕНИЕ. Проведение настоящего исследования обусловлено актуальностью коррекции гепатотоксичности, вызываемой препаратами специфической туберкулостатической химиотерапии, в условиях эпидемиологической значимости туберкулеза в России. Применение специфических средств химиотерапии туберкулеза в ряде случаев сопровождается нежелательными побочными эффектами [1,2]. Изониазид вызывает острый гепатоцеллюлярный некроз у 20% больных, лечившихся этим препаратом [3]. Метаболизация изониазида осуществляется в цитоплазме гепатоцитов (в меньшей степени в ретикулоэндотелиальных клетках селезенки, легких, кишечника) путем ацетилирования [4]. Образующиеся метаболиты (ацетилгидразин) обладают повреждающим действием на фосфолипиды мембран печеночных клеток. Тяжесть поражения печени увеличивается при одновременном применении с рифампицином, который является сильнодействующим индуктором ферментов системы гемопотеинов цитохрома P450 (P450-111-A), эндоплазматического ретикула гепатоцитов [5]. Индукция ферментов является причиной гепатомегалии и развития гепатита после начала лекарственной терапии [4]. При сочетании изониазида с пипразинамидом значительно увеличивается смертность [6].

Реализация гепатотоксических эффектов туберкулостатиков осуществляется на фоне разобщения тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях гепатоцитов. В результате подавления функций митохондрий снижается энергетический потенциал печеночных клеток, уменьшается количество внутриклеточных макроэргов (АТФ, креатинфосфата, NADH, NADPH) [1,7]. Активные формы кислорода, являющиеся продуктами его одно- и

КОРРЕКЦИЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ ТУБЕРКУЛОСТАТИКОВ

двухэлектронного восстановления, инициируют повреждения мембран и биомакромолекул по типу свободнорадикального окисления липидов и биополимеров [2,7]. Нарушение цитоскелета, повышение вязкости, пористости и уменьшение текучести мембран, блокада Na^+/K^+ -зависимой АТФазы, нарушение функций синтранспортных систем, повышение внутриклеточного содержания кальция определяют гибель гепатоцитов [3-6]. Возникающие нарушения усугубляются ингибирующим действием метаболитов туберкулостатиков на ферменты антиоксидантной системы (АОС) [1,2]. В связи с вышеизложенным целью исследования стало изучение гепатопротекторного действия антиоксиданта мексидола (2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцината - СЭМОП) в эксперименте с поражением крыс туберкулостатиками.

МЕТОДИКА Опыты проводили на 69 беспородных крысах-самках весом 220-250 г, которым вводили туберкулостатики (рифампицин 50 мг/кг + изониазид 50 мг/кг + пиразинамид 150 мг/кг (РИП)) [2] в течении 14 дней. Содержание и исследование животных осуществляли в соответствии с действующими принципами Хельсинской декларации по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Перед началом и в ходе эксперимента крыс содержали в стандартных условиях вивария на сбалансированной диете. Животные были разделены на 5 групп. Контрольная группа получала туберкулостатики (РИП) интрагастрально посредством жесткого зонда. Мексидол на фоне поражения РИП вводили внутримышечно в дозах 25 мг/кг (1 группа) и 50 мг/кг (2 группа) массы тела через день. Курсовая доза составила 200 и 400 мг/кг соответственно. В качестве препарата сравнения выбран гептрал (S-аденозил-L-метионин), вводимый интрагастрально в дозе 200 мг/кг ежедневно. Животные интактной и контрольной групп получали эквивалентный объем воды интрагастрально. Введение препаратов осуществлялось в лечебно-профилактическом режиме с началом за два дня до введения туберкулостатиков, затем - в течение эксперимента. Животных предварительно наркотизированных диэтиловым эфиром, забивали через 24 часа после заключительного введения РИП.

Функциональное состояние печени и динамику лабораторных показателей гомеостаза оценивали по биохимическим показателям в сыворотке крови (активностям АСТ, АЛТ, ЩФ, ГГТП, амилазы, уровням альбумина, креатинина, мочевины, железа, альбумино-глобулиновому индексу), которые определяли на интегрированной лабораторной системе НІТАСНІ - 911 фирмы "Boehringer Mannheim" (Германия) со стандартными наборами реактивов "Lachema FS". Активность глутатионредуктазы (ГР) [8], каталазы (КАТ) [9], уровень малонового диальдегида (МДА) [10]. Средние молекулы [11] в сыворотке крови определяли спектрофотометрически. Результаты эксперимента обработаны с помощью компьютерной программы "Биостат", используемой в медико-биологической статистике [12]. Существенность различий средних оценивали по Стьюденту. Достоверно значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. При двухнедельном введении лабораторным животным токсических доз туберкулостатиков выявлены изменения биохимических показателей, указывающие на нарушение функций печени, поджелудочной железы, почек (табл.). О цитолизе гепатоцитов свидетельствовало достоверное повышение активностей АСТ и АЛТ на 206,4 и 154,6% соответственно. Применение мексидола и гептрала ограничило ферментемию. Корректирующее влияние гептрала и мексидола, используемого в дозе 50 мг/кг, на уровень активности АЛТ был однозначным. Уровень активности АСТ на фоне применения мексидола в дозе 25 мг/кг и гептрала оказался сопоставимым по степени выраженности, а использование больших доз мексидола предупредило рост активности АСТ в сыворотке крови.

Одним из факторов токсического воздействия туберкулостатиков на печеночные клетки является активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) при неадекватности напряжения антиоксидантной защиты (АОЗ) [2,4,7]. В

Таблица. Влияние СЭМОП (мексидола) и гептрала на лабораторные показатели сыворотки крови крыс на фоне поражения туберкулоstaticами (РИП)

Показатель	Интактные	РИП	РИП		
			СЭМОП 25 мг/кг	СЭМОП 50 мг/кг	Гептрал 200 мг/кг
АЛТ, Ед/л	21,73±2,94	55,33±3,00**	33,70±6,25	22,0±2,67*	21,50±5,45*
АСТ, Ед/л	46,78±5,40	143,33±14,76**	80,70±6,95**	48,90±5,55*	85,78±9,84**
МДА, мкм/мл	11,06±1,70	13,15±2,33**	9,11±1,94*	10,01±1,50*	11,08±2,45
ГР, мккат/л/мин	1,05±0,43	0,92±0,38	2,12±1,10*	2,79±0,93**	1,02±0,80
КАТ, каг/с/мл белка	0,049±0,007	0,067±0,013**	-	0,075±0,012**	0,077±0,011**
Железо, мкм/л	22,84±3,62	49,99±0,96**	30,54±4,36*	22,07±3,09*	45,19±6,75**
ЩФ, Ед/л	258,89±30,68	415,22±21,12**	372,09±38,25**	263,30±18,15*	390,55±69,39**
ГТТФ, Ед/л	0,70±0,48	4,56±0,53**	1,82±1,25	1,10±0,74*	1,40±0,51
Альбумин, г/л	31,60±2,93	22,63±2,15**	23,61±2,28**	30,47±2,15*	26,33±1,97
Альбумины /глобулины	0,99±0,35	0,68±0,15**	0,71±0,14	0,83±0,15	0,82±0,09
Средние молекулы, у.е.	0,292±0,023	0,363±0,049	0,373±0,021**	-	0,354±0,045
Креатинин, мкм/л	31,22±2,86	48,82±3,82**	42,09±4,83**	30,90±2,51*	41,18±4,62**
Мочевина, ммоль/л	3,18±0,75	7,64±0,92**	3,70±0,54*	3,43±0,46*	7,42±0,97**
Амилаза, Ед/л	1416,9±125,27	2049,0±199,3**	1676,7±149,7*	1437,5±173,06*	1721,6±166,46**

Примечание: ** - достоверность ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными, * - достоверность ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными (РИП).

проведенном нами эксперименте отмечается повышение содержания конечного продукта ПОЛ - МДА на 18,9% ($p = 0,035$), активности каталазы на 36,7% ($p = 0,005$) и снижение активности ГР на 12,4% ($p = 0,529$) в сыворотке крови контрольных животных. Применение мексидола в дозе 50 мг/кг в большей степени повысило антиперекисную активность каталазы (на 49,0%, $p < 0,001$). Это может косвенно свидетельствовать о препятствии росту количества молекулярных субстратов для образования цитотоксичных вторичных радикалов [7]. При использовании мексидола отмечается достоверное снижение уровня МДА в сыворотке крови, а также значительный рост активности ГР, определяющий, вероятно, потенциальные возможности достаточного образования восстановленного глутатиона, необходимого как для реализации механизмов естественной детоксикации ксенобиотиков путем конъюгации [13,14], так и для АОЗ [1,2,13]. Точные механизмы значительного повышения активности ГР на фоне использования мексидола не ясны, но вероятно, что напряжение изучаемого ферментативного звена АОС определило его гепатопротективные свойства. Использование препарата сравнения гептрала выявило однонаправленные с мексидолом изменения в динамике активности каталазы и содержания МДА. Отсутствие роста активности ГР на фоне применения гептрала объясняется тем, что в процессе транссульфирования из поступающего экзогенно S-аденизил-L-метионина синтезируется глутатион, участвующий в окислительно-восстановительных механизмах клеточной детоксикации [15].

Неферментативное ПОЛ осуществляется в присутствии металлов переменной валентности - двухвалентных ионов железа и меди, которые обладают способностью многократно восстанавливаться из окисленной формы, поддерживая таким образом окислительный процесс [16]. Восстановление этих ионов при неферментативной пероксидации осуществляется за счет окисления аскорбиновой кислоты и сульфгидрильных групп [7,16]. В группе контрольных животных отмечается достоверное увеличение плазменного железа на 118,9%. Использование мексидола значительно ограничило рост железа в сыворотке крови, следовательно, препятствовало возможности его каталитического участия в процессах избыточной пероксидации фосфолипидов биологических мембран и их альтерации.

Повреждение цитоплазматических и внутриклеточных мембран гепатоцитов под действием повреждающего фактора определяет развитие воспалительно-некротических изменений печеночных клеток и нарушение внутрипеченочной

КОРРЕКЦИЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ ТУБЕРКУЛОСТАТИКОВ

микродинамики [4]. Результатом возникшего повреждения явились холестатические изменения, о чем свидетельствует рост активностей ЩФ и ГГТП, индикаторов синдрома холестаза. В группе контрольных животных отмечается рост активностей ЩФ и ГГТП на 60,4 и 551,4%. Применение мексидола в дозе 50 мг/кг, проявившего наибольшую выраженность антицитолитическую активность, выявило также наибольшую способность препятствовать развивающемуся холестазу. Использование мексидола в меньших дозах, а также препарата сравнения гептрала, выявило сопоставимую по силе эффекта, но меньшую по степени выраженности антихолестатическую активность.

Введение мексидола в дозе 25 мг/кг не предупреждало падение содержания альбумина в сыворотке крови лабораторных животных на фоне интоксикации. Как в группе контрольных животных, так и при использовании мексидола в этой дозе отмечается падение альбумино/глобулинового коэффициента на 31,3 и 28,3% соответственно. Применение мексидола в больших дозах и гептрала выявило способность препятствовать развивающейся гепатоцеллюлярной недостаточности. Отсутствие значительного падения уровней альбумина и альбумино/глобулинового коэффициента на фоне применения СЭМОПа в дозе 50 мг/кг и гептрала позволяет говорить о способности исследуемых препаратов препятствовать развитию воспаления мезенхимально-стромальных (неэпителиальных) печеночных структур, диспротеинемии и коллоидной нестойкости белков плазмы.

В опытных и контрольной группах отмечается незначительное повышение содержания в сыворотке крови средних молекул, отражающих степень интоксикации и свидетельствующих о преимущественном катаболизме белков, снижении почечного клиренса по метаболитам ксенобиотиков и эндогенно образующихся веществ [17]. Использование мексидола и гептрала ограничило повреждающее действие токсических доз туберкулостатиков на почки и поджелудочную железу лабораторных животных. Применение мексидола в дозе 50 мг/кг оказало протективное воздействие на панкреатоциты и клетки почек, препятствуя росту активности амилазы и уровней креатинина и мочевины в сыворотке крови. Использование мексидола в более низких концентрациях и гептрала уменьшило выраженность патологических изменений функций почек и поджелудочной железы по сравнению с группой контроля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Скакун Н.П. (1987) Врачебное дело, №10, 86-91.
2. Скакун Н.П., Сливка Ю.И. (1992) Эксперим. клин. фармакол., 55, №3, 52-54.
3. Mitchell J.R. (1976) Ann. Intern. Med., 84, 181.
4. Шерлок Ш., Дули Дж. (1999) Заболевания печени и желчных путей. М., Гэотар медицина, 386-404.
5. Steele M.A., Burk R.F., DesPrez R.M. (1991) Chest, 99, 465.
6. Durand F., Bernuau J., Pessayre D. et al. (1995) Hepatology, 21, 926.
7. Сорокина И.В., Крысин А.П., Хлебникова Т.Б. и др. (1997) Роль фенольных антиоксидантов к повышению устойчивости органических систем к свободнорадикальному окислению. Новосибирск. Сибирское отделение РАН, с 29-55.
8. Ushijama M., Mihara M. (1978) Analyt. Biochem., 86, 271-278.
9. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. (1988) Лаб. дело, №1, 16-19.

10. Carlberg I., Mannervik B. (1975) J. Biol. Chem., **250**, 5475-5480.
11. Брасюк Д.Л. (1995) Клин. лаб. диагн., №1, 18.
12. Глац С. (1999) Медико-биологическая статистика. М., Практика.
13. Тиунов Л.А. (1995) Вестник РАМН, №3, 9-13.
14. Чекман И.С., Гриневич А.И. (1988) Фармакология и токсикология, №1, 86-89.
15. Friedel H.A., Goa K.L., Benfield P. (1989) Drugs, **38**, 389-416.
16. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г. и др. (1992) Перекисное окисление и стресс. СПб., Наука, с.30-52.
17. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. (2000) Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М., Медицина, с.136-137.

Поступила 26.01.2002

**CORRECTION BY 2-ETHYL-6-METHYL-3-HYDROXYPYRIDINE SUCCINATE OF THE
HEPATOTOXIC, CAUSED AT RATS INTRODUCTION TUBERCULOSTATICS**

O.J. Katikova¹, V.I. Rusov¹, L.D. Smirnov²

¹Ulyanovsk State University, K. Libknekhta, Ulyanovsk, 1432063 Russia ; tel.: (8422) 32-53-83

²N.M.Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russia Kosygina, 4, Moscow, 119991 Russia

Administration of toxic doses of means specific tuberculostatics chemotherapy to rats caused development of medicinal damages of liver, kidneys, and pancreas. Use of 2-ethyl-6-methyl-hydroxypyridine succinate (SEMOP) and S-adenosyl-L-methionine reduced manifestations of pathological effects of tuberculostatics an organism of laboratory animals. There was clear dose-dependence of SEMOP effects. The highest cytoprotective effect was observed at the SEMOP dose of 50 mg/kg. Antioxidant properties of SEMOP determined it membrane protective effects.

Key words: antioxidant, medicinal hepatiteis, tuberculostatics.