

В.О. Астахина², И.Ф. Беленичев¹, М.В. Воевудский², А.В. Абрамов¹, С.И. Коваленко¹, А.В. Харченко²,
Н.В. Бухтиярова¹, С.В. Павлов¹, Г.В. Жернова¹

ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНОГО 6,8-ДИМЕТИЛ-4-R-ТИО-1-ОКСО-1,2-ДИГИДРОПИРРОЛО[1,2-D][1,2,4]ТРИАЗИН-7-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ И АЛКОГОЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ

¹Запорожский государственный медицинский университет,

²Украинский государственный химико-технологический университет, г. Днепропетровск

Ключові слова: токсичний та алкогольний гепатит, похідне 6,8-диметил-4-R-тіо-1-оксо-1,2-дигідропіроло[1,2-d][1,2,4] триазин-7-карбонової кислоти, гепатопротекторна активність.

Ключевые слова: токсический и алкогольный гепатит, производное 6,8-диметил-4-R-тио-1-оксо-1,2-дигидропирроло[1,2-d][1,2,4]триазин-7-карбоновой кислоты, гепатопротекторная активность.

Key words: toxic and alcoholic hepatitis, derivative of 6,8-dimethyl-4-R-thio-1-oxo-1,2-dihydropyrrolo[1,2-d][1,2,4]triazine-7-carboxylic acid, hepatoprotective activity.

Нове похідне 6,8-диметил-4-R-тіо-1-оксо-1,2-дигідропіроло[1,2-d][1,2,4]триазин-7-карбонової кислоти («АСТ-87») виявляє виражену гепатопротекторну активність на моделях токсичного й алкогольного гепатиту при пероральному шляху введення, запобігаючи смертності тварин і клінічним проявам при цій патології. Досліджувана речовина характеризується мембраностабілізуючою дією, достовірно підвищує детоксикаційну функцію печінки. У механізмі гепатопротекторної дії досліджуваної речовини на всіх моделях токсичного ураження печінки важливим моментом є антиоксидантна активність, виражена в достовірному підвищенні активності СОД і ГПР, зниженні маркерних продуктів окислювальної модифікації білка.

Новое производное 6,8-диметил-4-R-тио-1-оксо-1,2-дигидропирроло[1,2-d][1,2,4]триазин-7-карбоновой кислоты («АСТ-87») проявляет выраженную гепатопротекторную активность на моделях токсического и алкогольного гепатита при пероральном пути введения, предотвращая смертность животных и клинические проявления при данной патологии. Исследуемое вещество обладает мембраностабилизирующим действием, достоверно повышает детоксикационную функцию печени. В механизме гепатопротекторного действия исследуемого вещества на всех моделях токсического поражения печени важным моментом являются антиоксидантная активность, выраженная в достоверном повышении активности СОД и ГПР, снижении маркерных продуктов окислительной модификации белка.

A new derivative of 6,8-dimethyl-4-R-thio-1-oxo-1,2-dihydropyrrolo[1,2-d][1,2,4]triazine-7-carboxylic acid («AST-87») shows significant hepatoprotective activity in models of toxic and alcoholic hepatitis with oral route of administration, preventing the animal mortality and clinical manifestations of this pathology. Test substance has a membrane stabilizing effect, significantly increases the detoxification function of liver. An important point in the mechanism of hepatoprotective action in all models of toxic liver damage was the antioxidant activity of the investigated substance. It was reflected in a significant increase in Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities, reducing markers of oxidative modification of protein products.

Лечение и профилактика заболеваний печени являются одной из актуальных проблем современной медицины [2,7,9,13,16,18]. Этиологическую роль в развитии заболеваний печени могут играть разнообразные факторы, в том числе, вирусы, гормональные и метаболические нарушения, токсические поражения, вызванные разными веществами (алкоголь, эфиры и эпоксидные соединения, ароматические амины, лекарственные противогрибковые и противотуберкулезные препараты, нестероидные противовоспалительные средства, пестициды и др.) [1,9]. В соответствии с современными принципами лечения заболеваний печени, программа комплексной терапии этой патологии включает 2 основных направления. Первое представляет этиотропную терапию, направленную на подавление патологического возбудителя, его элиминацию и санацию организма. В клинической практике этиотропную терапию применяют только при вирусных гепатитах с парентеральным механизмом заражения. Второе направление соответствует патогенетической терапии, имеющей целью адекватную фармакологическую коррекцию

универсальных, мультифакторных звеньев патогенеза [1,7,8,17]. В целом, ассортимент лекарственных средств, применяемых в комплексной терапии заболеваний печени и желчевыводящих путей, насчитывает более 1000 наименований. Однако среди такого многообразия препаратов выделяют сравнительно небольшую группу оказывающих избирательное действие на печень – гепатопротекторов. В настоящее время преобладающее использование имеют средства растительного происхождения (до 54%), в то время как на фосфолипидные препараты приходится 16%, на другие синтетические средства – до 30% от общего количества «истинных» гепатозащитных препаратов [1, 7–10,13,15,16–18]. К сожалению, на сегодня ни один из используемых в медицинской практике гепатопротекторов растительной и фосфолипидной природы не удовлетворяет в полной мере всем требованиям клинической гепатологии [7,9,17]. В современной гепатологии ведущее место занимают препараты, защищающие печень от повреждающего воздействия как экзогенных, так и эндогенных факторов и усиливающие ее нормальную регенерацию. Поиск новых



гепатопротекторов является актуальной проблемой современной фармакологии [1,2,8,12,14].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение и оценка гепатопротекторной активности производного 6,8-диметил-4-*R*-тио-1-оксо-1,2-дигидропирроло[1,2-*d*][1,2,4]триазин-7-карбоновой кислоты («АСТ-87») на модели токсического гепатита, вызванного дихлорэтаном, и на модели хронического алкогольного поражения печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования является производное 6,8-диметил-4-*R*-тио-1-оксо-1,2-дигидропирроло[1,2-*d*][1,2,4] триазин-7-карбоновой кислоты («АСТ-87»), синтезированное на кафедре технологии органических веществ и фармацевтических препаратов ГВУЗ «Украинский государственный химико-технологический университет».

Экспериментальные исследования проводились на 160 нелинейных белых крысах-самцах, полученных из питомника Института фармакологии и токсикологии АМН Украины. Возраст крыс составил 4,5 месяца, масса тела – 170–190 г. Ежедневно на протяжении 20 дней всех животных взвешивали и осматривали. Осмотр включал в себя оценку общего состояния и поведения.

Токсический гепатит моделировали используя дихлорэтан, который вводили перорально через металлический атравматичный зонд в дозе 500 мл/кг в виде 50% раствора на подсолнечном масле 1 раз в день на протяжении 4 дней [1,3,4]. На 5 день эксперимента введение токсического агента прекращали, на протяжении 10 дней животным опытных групп вводили вещество «АСТ-87» внутривентрикулярно с помощью металлического зонда в виде суспензии на 1% крахмальной слизи. Введение вещества «АСТ-87» проводили 1 раз в сутки в дозе 1/50 ЛД₅₀ (10 мг/кг) и «Эссенциале» из ампул по 2 мл/кг [1]. Биохимические исследования проводили на 20 день эксперимента.

Алкогольный гепатит моделировали путем перорального введения этанола в виде 40% водного раствора в дозе 10 мл/кг 1 раз в сутки в течение 30 суток [1,12]. Препараты вводили через час после введения этанола, вещество «АСТ-87» – внутривентрикулярно с помощью металлического зонда в виде суспензии на 1% крахмальной слизи 1 раз в сутки в дозе 1/50 ЛД₅₀ (10 мг/кг) и «Эссенциале» из капсул в дозе 200 мг/кг.

Об эффективности экспериментальной терапии судили по клинической картине, динамике массы тела, содержанию билирубина, активности трансаминаз (аланинаминотрансфераза (АлТ), аспартатаминотрансфераза (АсТ)), фосфатаз (щелочная (КФ) и кислая (ЩФ)), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), общего белка, липидов сыворотки крови, нагрузочным пробам (гексеналовый тест, тимоловая, бромсульфоалеиновая проба) [3,4]. По содержанию глюкозы, глюкозо-6-фосфата, гликогена, АТФ, малата и активности цитохром-С-оксидазы, малат дегидрогеназы судили об изменениях энергетического метаболизма печени [6]. По содержанию глутатиона, SH-групп, цитохрома P450, активности супероксиддисмутазы (СОД), глутатиопероксидазы (ГПП), накоплению продуктов окислительной модификации

белка (альдегидфенилгидразонов (АФГ) и карбоксифенилгидразонов (КФГ)) оценивали состояние антиоксидантной, детоксикационной системы печени и процессов оксидативного стресса [4,13,19,20]. Процессы адаптивного протеинсинтеза оценивали по содержанию общего белка, РНК, свободных аминокислот и мочевины [3,4,13].

Статистическую обработку результатов проводили методами математической статистики с применением пакетов прикладных программ «Биостатистика для Windows, версия 4.03» и «Microsoft Excel 2002». Для каждого исследуемого признака определяли показатели среднего арифметического (*M*) и стандартной ошибки среднего арифметического (*m*). Нормальность распределения проверяли с использованием теста Колмогорова-Смирнова. При условии соответствия нормальности распределения достоверность полученных различий сопоставляемых величин оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента. Достоверность отличий относительных величин оценивалась с применением критерия χ^2 . Достоверными считали отличия с уровнем значимости более 95% ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

К 20 дню эксперимента в группе токсического поражения печени дихлорэтаном без лечения погибло 50% животных, при лечении веществом «АСТ-87» и «Эссенциале» летальность животных снизилась (табл. 1).

Таблица 1

Выживаемость и масса тела животных при дихлорэтановом повреждении печени на 16 день эксперимента

| Группа | Количество на 1 сутки | Количество на 16 сутки | Масса тела на 1 сутки | Масса тела на 15 сутки |
|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|
| интакт | 10 | 10 | 178±5 | 180±3 |
| контроль (дихлорэтан) | 10 | 5 | 191±6 | 158±4 |
| «АСТ-87» | 10 | 7 | 168±3 | 160±57 |
| «Эссенциале» | 10 | 8 | 177±3 | 160±6 |

Клиническая картина в группах животных без лечения характеризовалась гиподинамией, снижением аппетита (уменьшением потребления корма и воды), заторможенностью, взъерошенностью шерсти. Наблюдали желтушность слизистых оболочек и склер, увеличение размеров печени. При интоксикации животных дихлорэтаном достоверно снижалась их масса тела. Лечение животных «АСТ-87» и «Эссенциале» позволило повысить массу тела.

Для изучения гепатопротекторного действия препаратов изучены биохимические показатели крови у животных в контрольных и опытных группах до и после лечения на 16 день (табл. 2).

Биохимические показатели крови животных свидетельствуют о явных нарушениях функции печени. Так, на 16 день эксперимента у животных групп контроля, получивших дихлорэтан, отмечалось выраженное повышение активности ферментов АлТ, АСТ, ЩФ, КФ и ЛДГ (табл. 2). Это свидетельствовало о нарушении функционального

Таблица 2

Биохимические показатели крови животных при дихлорэтановом повреждении печени на 16 сутки эксперимента

| Показатели | Интакт | Контроль (дихлорэтан) | «АСТ-87» | «Эссенциале» |
|---------------------------------|-----------|-----------------------|------------|--------------|
| Общий белок, г/л | 64±2,1 | 40,2±4 | 53,1±2,1* | 56,2±2,0* |
| Общие липиды, г/л | 3,7±0,3 | 2,8±0,2 | 3,3±0,2* | 3,1±0,3 |
| Глюкоза, ммоль/л | 5,1±0,3 | 3,2±0,6 | 4,5±0,3 | 4,7±0,6 |
| Холестерин, ммоль/л | 1,72±0,44 | 1,92±0,3 | 1,78±0,12 | 1,68±0,36 |
| Общий билирубин, мкмоль/л | 3±0,3 | 6,7±0,4 | 4,8±0,2 | 3,2±0,4* |
| АлТ, Ед/л | 0,2±0,03 | 1,62±0,11 | 0,37±0,03* | 0,32±0,06* |
| АсТ, Ед/л | 0,6±0,05 | 0,98±0,12 | 0,48±0,06* | 0,52±0,12* |
| ЩФ, Ед/л | 0,69±0,1 | 2,12±0,24 | 0,78±0,04* | 0,96±0,14* |
| КФ, мкмоль/л | 0,74±0,12 | 1,98±0,2 | 0,74±0,07* | 0,72±0,13* |
| ЛДГ, моль/ч/л | 4,92±0,32 | 10,76±1,32 | 6,22±0,23* | 5,96±0,45* |
| Тимоловая проба, ед. помутнения | 1,46±0,04 | 5,77±0,36 | 1,58±0,12* | 1,56±0,18* |
| SH-группы, мкмоль/л | 165,2±9,0 | 36,2±2,1 | 74±1,2** | 48,7±3,0* |
| Бромсульфалеин, на 10 мин, мг/% | 13,96±1,2 | 36,6±2,4 | 18,9±0,5** | 24,2±1,6* |

Примечание: * – достоверное отличие от контрольных животных (p<0,05); + – достоверное отличие от животных, получавших «Эссенциале» (p<0,05).

Таблица 3

Функционально-биохимические показатели печени животных при дихлорэтановом токсическом гепатите

| Показатели | Интакт | Контроль (дихлорэтан) | «АСТ-87» | «Эссенциале» |
|--|------------|-----------------------|-------------|--------------|
| Восстановленный глутатион, мкм/г | 16±0,5 | 6,7±1 | 16±1,1** | 11±0,6* |
| Гликоген, мг/г | 25±1 | 7,5±0,9 | 11±1,1 | 18±2* |
| Цитохром Р 450, ммоль/г белка | 1,24±0,03 | 0,96±0,08 | 1,1±0,06* | 1±0,08* |
| Цитохром-С-оксидаза, ммоль/мг белка /мин | 0,85±0,04 | 0,56±0,03 | 0,62±0,08 | 0,62±0,06 |
| Гексеналовый сон, мин | 25±1,5 | 46,5±2,5 | 33±1,2* | 36±1,5* |
| Глюкозо-6-фосфат, мкм/г | 0,734±0,04 | 0,432±0,03 | 0,511±0,01* | 0,564±0,05* |
| АТФ, мкм/г | 2,89±0,07 | 1,44±0,11 | 1,51±0,11 | 1,67±0,12 |
| Малат, мкм/г | 0,46±0,02 | 0,21±0,02 | 0,22±0,03 | 0,23±0,04 |
| Пируват, мкм/г | 0,734±0,04 | 0,432±0,03 | 0,477±0,02 | 0,564±0,05* |
| Белок цитоплазматический, мг/г | 115,6±2,0 | 98,0±7,7 | 100±1,1 | 98,6±5,8 |
| РНК, мг/г | 2,45±0,22 | 1,54±0,11 | 2±0,2* | 2±0,2* |
| Мочевина, мкмол/г | 3,88±0,12 | 4,76±0,21 | 3,3±0,11* | 3,85±0,17* |
| Свободные аминокислоты, мкмол/г | 2,11±0,32 | 4,23±0,56 | 2,81±0,33 | 2,88±0,65* |

Примечание: * – достоверное отличие от показателей контрольных животных (p<0,05); + – достоверное отличие от показателей животных, получавших «Эссенциале» (p<0,05).

Таблица 4

Показатели антиоксидантной системы и маркеров оксидативного стресса при дихлорэтановом повреждении печени

| Показатели | Интакт | Контроль (дихлорэтан) | «АСТ-87» | «Эссенциале» |
|------------------|------------|-----------------------|-------------|--------------|
| СОД, у.е./мг/мин | 288,2±11,6 | 106,7±7,5 | 214,7±9,1** | 120,4±12,0 |
| ГПР, мкм/мг/мин | 123,8±3,2 | 67,3±2 | 81,8±5,1* | 77±4,8 |
| АФГ, у.е./г | 5,32±0,1 | 16,8±0,3 | 9,15±0,5* | 12,5±0,7* |
| КФГ, у.е./г | 7,6±0,2 | 28,7±1 | 12,2±1,7** | 22,4±2,6 |

Примечание: * – достоверное отличие относительно контрольных животных (p<0,05); + – достоверное отличие относительно животных, получавших «Эссенциале» (p<0,05).

состояния печени и развитии токсического гепатита. Так, уровень билирубина в группе с дихлорэтаном достоверно повысился в 2,33 раза, по сравнению с показателями интактных животных. Об этом свидетельствовало также и повышение активности ЩФ и КФ в 3,07 и 2,67 раза соответственно. Значительно повышаются печеночные пробы – тимоловая и бромсульфалеиновая (в 2–4 раза).

Важно отметить, что при интоксикации в печени снижал-

ся уровень детоксикационного цитохрома Р450, уровень восстановленного глутатиона и тиольных групп (табл. 3). Токсическое повреждение печени сопровождалось снижением уровня антиоксидантной защиты (угнетение активности СОД и ГПР) и активации оксидативного стресса, о чем свидетельствовало повышение уровня маркеров окислительной модификации белка – АФГ и КФГ (табл. 4). Повышение свободных форм кислорода и перекисных



продуктов приводило и к угнетению энергетического метаболизма (уменьшение углеводных субстратов – гликогена и глюкозо-6-фосфата в печени и глюкозы в крови, малата и активности цитохром-С-оксидазы), результатом чего стало уменьшение окислительной продукции АТФ и развитие энергодефицита (табл. 3).

Гепатотоксическое действие дихлорэтана выражалось и в угнетении процесса протеинсинтеза и активации катаболизма белков. В печени животных, получавших дихлорэтан, снижался уровень РНК, общего белка, что приводило к накоплению содержания мочевины и свободных аминокислот (табл. 3). Поражение печени и развитие токсического гепатита подтверждалось снижением ее функциональной активности в отношении микросомальных ферментов. Возрастала продолжительность гексеналового сна в 1,86 раз, по сравнению с интактной группой животных (табл. 3).

При изучении лечебного эффекта вещества «АСТ-87» на этой модели гепатита установлено, что он обладает выраженным гепатопротекторным действием. По основным показателям действие «АСТ-87» сопоставимо с действием «Эссенциале». Так, уровень общего белка в крови после лечения повышался на 32% и приближался к показателям в интактной группе животных (табл. 3). «АСТ-87» повышал уровень цитоплазматического белка на 2,04% в печени, тормозил нарастание фонда свободных аминокислот в 1,5 раза и снижал мочевинообразование на 44% по отношению к контролю, что выгодно отличало его от препарата сравнения «Эссенциале».

В результате применения «АСТ-87» активность трансаминаз в крови снижалась, достоверно снижался также и уровень других ферментов (табл. 2). Так, активность ферментов АлТ, АсТ, ЛДГ снижалась в 4,37, 2,04 и 1,73 раза относительно контрольной группы животных. Наблюдалось снижение содержания билирубина и щелочной фосфатазы. Этот факт указывает на активное мембранопротективное действие «АСТ-87».

Исследуемое вещество характеризуется также гипохолестеринемическим действием в условиях токсического гепатита, снижая уровень общего холестерина на 7,8%. «АСТ-87» обладает выраженным антиоксидантным эффектом (табл. 4). В группах животных, получавших «АСТ-87» наблюдалось значительное повышение активности СОД и ГПР, снижение образования маркеров окислительной модификации белка – АФГ и КФГ. У «Эссенциале» отмечен незначительный антиоксидантный эффект.

Назначение «АСТ-87» обеспечило восстановление детоксикационной функции печени, о чем судили по повышению уровня восстановленного глутатиона. Введение «АСТ-87» приводило к повышению уровня цитохрома Р450. Восстановление детоксикационной функции печени под действием исследуемого вещества подтверждалось и уменьшением продолжительности гексеналового сна крыс (табл. 3). Кроме того, «АСТ-87» оказывал умеренное энерготропное действие, сопоставимое с действием «Эссенциале».

Алкогольный гепатит (потребление крысами 40% этанола) приводит к гибели половины животных и сопровождается

признаками, характеризующими состояние алкогольной интоксикации: ригидность хвоста, гиперемия мордочки, хаотичное передвижение животных по клетке. Отмечено угнетение ориентировочно-исследовательской активности, развитие когнитивного дефицита (табл. 5).

Таблица 5

Влияние АСТ-87 на выживаемость и интегративную функцию ЦНС животных при алкогольном гепатите

| Группа животных | Количество горизонтальных движений (3 мин) | Количество вертикальных движений (3 мин) | Количество заглядываний в норку (3 мин) | Выживаемость |
|-------------------|--|--|---|--------------|
| Интакт | 36,5±11,8 | 14,5±5,2 | 28,8±6 | 10 (10) |
| Контроль (этанол) | 17,7±2,5 | 5,2±1,5 | 7±1 | 5 (10) |
| «АСТ-87» | 19,8±3,1 | 7,0±2,7 | 11,7±2 | 7 (10) |
| «Эссенциале» | 18,7±4,5 | 6,3±1,4 | 10±2,5 | 6 (10) |

Примечание: в скобках отмечено исходное количество животных.

У животных контрольной группы снижалось количество горизонтальных, вертикальных перемещений и заглядываний в «норку». Тогда как назначение «АСТ-87» приводило к отсутствию летальности и значительно снижало признаки алкогольной интоксикации ЦНС – у животных активировалась ориентировочно-исследовательская деятельность. Так, у животных, получавших исследуемое вещество, наблюдалось достоверное увеличение количества горизонтальных, вертикальных перемещений и увеличение числа заглядываний в «норку».

Алкогольный гепатит также характеризовался резким угнетением функции печени. Так, в крови экспериментальных животных на 30 сутки наблюдалось увеличение активности маркерных ферментов – АлТ, АсТ, увеличение показателя тимоловой и бромсульфалеиновой пробы, что свидетельствовало о нарушении целостности мембран гепатоцитов (табл. 5), повышался уровень билирубина. Алкогольный гепатит приводил к угнетению детоксикационной функции печени, о чем свидетельствовало снижение уровня цитохрома Р450, тиольных групп и восстановленного глутатиона. Угнетение детоксикационной функции печени приводило к увеличению длительности гексеналового сна до 2 раз (показатель активности микросомального окисления в печени). Назначение «АСТ-87» животным с алкогольным гепатитом значительно снижало гиперферментемию маркерных ферментов (АлТ и АсТ в 2,3 и 1,3 раза) и печеночных проб (тимоловая, бромсульфалеиновая у 1,9 и 2,2 раза), что свидетельствует о выраженном мембраностабилизирующем действии последнего (табл. 6). Исследуемое вещество повышало активность детоксикационной функции печени, увеличивая уровень тиольных групп на 151%, восстановленного глутатиона – на 16,5% и стимулируя микросомальное окисление (уменьшение длительности гексеналового сна) (табл. 7).

Кроме того, алкогольное поражение печени характеризуется нарушением липидного обмена (повышение уровня

Таблица 6

Биохимические показатели печени при алкогольном повреждении печени на 30 сутки эксперимента

| Показатели | Интакт | Контроль (этанол) | «АСТ-87» | «Эссенциале» |
|---------------------------------|-----------|-------------------|-------------|--------------|
| Общий белок, г/л | 65±1,7 | 35,5±2,3 | 47±2* | 46±2* |
| Холестерин, ммоль/л | 1,64±0,32 | 2,33±0,11 | 1,87±0,1* | 2±0,12 |
| Общий билирубин, мкмоль/л | 3,7±0,11 | 7,9±0,10 | 4±0,1* | 4,1±0,2* |
| АлТ, Ед/л | 0,17±0,03 | 1,98±0,11 | 0,87±0,02* | 0,93±0,02* |
| АсТ, Ед/л | 0,54±0,06 | 0,98±0,07 | 0,77±0,01* | 0,8±0,02* |
| Тимоловая проба, ед. помутнения | 1,23±0,02 | 7,54±0,51 | 3,87±0,11* | 4,72±0,24* |
| SH-группы, мкмоль/л | 165±9 | 44,5±2,7 | 112,1±2,5*+ | 64,5±3,3* |
| Бромсульфалеин, на 10 мин, мг/% | 11,7±1,2 | 50,4±1,1 | 22,7±1,7* | 37±1,8* |

Примечание: * – достоверное отличие относительно контрольных животных (p<0,05).

Таблица 7

Функционально-биохимические показатели печени животных при алкогольном гепатите

| Показатели | Интакт | Контроль (этанол) | «АСТ-87» | «Эссенциале» |
|---|-------------|-------------------|-------------|--------------|
| Восстановленный глутатион, мкм/г | 16 ± 0,5 | 7,8 ± 0,8 | 12,9±0,2** | 8,7± 0,5 |
| Гликоген, мг/г | 25,1± 1,0 | 6,8 ± 0,7 | 8 ± 1,0* | 10± 2,3* |
| Цитохром Р 450, ммоль/г белка | 1,24 ± 0,03 | 0,88 ± 0,02 | 1,00 ± 0,08 | 0,92 ± 0,04 |
| Цитохром –С-оксидаза, ммоль/мг белка /мин | 0,85 ± 0,04 | 0,46 ± 0,02 | 0,51 ± 0,07 | 0,57 ± 0,03 |
| Гексеналовый сон, мин | 25,2 ± 1,5 | 48,5 ± 1,8 | 33 ± 1,7* | 37 ± 3,0* |
| Глюкозо-6-фосфат, мкм/г | 0,734±0,04 | 0,400±0,07 | 0,510±0,04 | 0,511±0,05 |
| АТФ, мкм/г | 2,89±0,07 | 1,48±0,10 | 1,63±0,07 | 1,60±0,10 |
| Малат, мкм/г | 0,46±0,02 | 0,22±0,03 | 0,30±0,02 | 0,24±0,08 |
| Пируват, мкм/г | 0,734±0,04 | 0,411±0,06 | 0,508±0,05 | 0,500±0,02 |
| Белок цитоплазматический, мг/г | 115,6±2,0 | 97,0±5,2 | 102,5±1,2 | 97,6±7,6 |
| РНК, мг/г | 2,45±0,22 | 1,48±0,17 | 2,07±0,3 | 1,91±0,8 |
| Мочевина, мкмол/г | 3,88±0,12 | 4,78±0,32 | 3,45±0,12 | 3,77±0,14 |
| Свободные аминокислоты, мкмол/г | 2,11±0,32 | 4,11±0,50 | 2,77±0,41* | 2,80±0,22* |

Примечание: * – достоверное отличие относительно контрольных животных (p<0,05); + – достоверное отличие относительно животных, получавших «Эссенциале» (p<0,05).

холестерина в крови). «АСТ-87» снижал уровень холестерина. Алкогольное поражение печени приводило к нарушению протеинсинтеза и усилению катаболизма белков, что морфологически подтверждалось наличием белковой дистрофии печени. Так, в контрольной группе животных отмечалось снижение уровня цитоплазматического и сывороточного белка, РНК и увеличение уровня свободных аминокислот и мочевины (табл. 7).

Назначение животным с алкогольным гепатитом «АСТ-87» приводило к умеренной активации адаптивного протеинсинтеза (увеличение сывороточного и цитоплазматического белка у 1,32 и 1,13 раз соответственно на фоне снижения свободных аминокислот и мочевины).

Одним из звеньев патогенеза алкогольного гепатита является оксидативный стресс, проявляющийся в угнетении активности СОД и окислительной модификации белка (повышение маркеров – АФГ и КФГ). Назначение «АСТ-87» крысам с алкогольным гепатитом приводило к торможению окислительной модификации белка (снижение АФГ и КФГ на 65,8 и 52,8% соответственно) и реактивации СОД и ГПР в печени (табл. 8).

Приведенные данные, а также протекторное действие препарата в отношении пула восстановленных тиолов указывают на значение антиоксидантного компонента в механизме гепатопротекторного действия «АСТ-87» (табл. 8).

Таблица 8

Показатели антиоксидантной системы и маркеров оксидативного стресса в печени животных при ее алкогольном повреждении

| Показатели | Интакт | Контроль (этанол) | «АСТ-87» | «Эссенциале» |
|------------------|------------|-------------------|-------------|--------------|
| СОД, у.е./мг/мин | 288,2±11,6 | 166,7±5 | 227,4±5,7** | 170,4±11,5 |
| ГПР, мкм/мг/мин | 123,8±3,2 | 60,3±7 | 77,3±3,2** | 62±4,2 |
| АФГ, у.е./г | 5,32±0,1 | 12,8±0,6 | 8,43±0,5 | 10,8±0,7 |
| КФГ, у.е./г | 7,6±0,2 | 23,3±2,7 | 12,3±1,2* | 20±3,5 |

Примечание: * – достоверное отличие от контрольных животных (p<0,05); + – достоверное отличие от животных, получавших «Эссенциале» (p<0,05).

«Эссенциале» на этой модели гепатита оказывал слабое антиоксидантное действие.

Алкогольное поражение печени приводит к нарушению окислительной продукции энергии в гепатоцитах, что проявляется в снижении содержания АТФ, малата, пирувата, «расходованию» углеводных резервов – глюкозо-6-фосфата и гликогена, а также угнетению активности цитохром-С-оксидазы. Важно отметить, что исследуемое соединение на модели алкогольного гепатита не оказывало заметного энерготропного действия.



ВЫВОДЫ

Производное 6,8-диметил-4-R-тио-1-оксо-1,2-дигидропирроло[1,2-d][1,2,4]триазин-7-карбоновой кислоты («АСТ-87») проявляет гепатопротекторную активность на двух моделях токсического гепатита при пероральном пути введения, предотвращая смертность животных и клинические проявления при данной патологии.

Исследуемое вещество обладает мембраностабилизирующим действием (снижение активности АлТ, АсТ, ЛДГ, ЩФ, КФ, билирубина) при дихлорэтановом и алкогольном поражении печени.

В механизме гепатопротективного действия исследуемого вещества на всех моделях токсического поражения печени важная роль принадлежала антиоксидантной активности, выраженной в достоверном повышении активности СОД и ГПР и снижении маркерных продуктов окислительной модификации белка – АФГ и КФГ. По силе антиоксидантного действия исследуемое вещество достоверно превосходило «Эссенциале».

Назначение животным с токсическим гепатитом исследуемого вещества достоверно повышало детоксикационную функцию печени, что выражалось в увеличении уровня тиольных групп, восстановленного глутатиона, цитохрома P450 и уменьшении продолжительности гексеналового сна (активация митохондриального окисления).

ЛИТЕРАТУРА

1. Байматов Н.В. Коррекция морфофункциональных нарушений печени в комплексном хирургическом лечении ее токсических поражений (экспериментально-клиническое исследование): дисс. ... канд. мед. наук / Байматов Н.В. – Уфа, 2007. – 177 с.
2. Буеверов А.Ю. Место гепатопротекторов в лечении заболеваний печени / Буеверов А.Ю. // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2006. – №5. – С. 67–78.
3. Воронина Т.А. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Воронина Т.А., Серединин С.Б. – МЗ РФ ЗАО ИИА Ремедиум, 2002. – 320 с.
4. Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств / Стефанов А.В. – К.: Авиценна, 2002. – 568 с.
5. Пасхина Е.А. Изучение энергетического обмена / Пасхина Е.А. – М.: Медицина, 1982. – 427 с.
6. Прохорова М.А. Современные методы в биохимии / Прохорова М.А. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1986. – 368 с.
7. Климова Е.А. Хронический гепатит С: рациональная противовирусная терапия / Климова Е.А., Знойко О.О., Максимов С.Л., Юцук Н.Д. // Фарматека. – 2003. – №7. – С. 10–16.
8. Ушкалова Е.А. Место эссенциальных фосфолипидов в современной медицине / Ушкалова Е.А. // Фарматека. – 2003. – №10. – С. 40–46.
9. Лопаткина Т.Н. Алкогольная болезнь печени / Лопаткина Т.Н. // Новый мед. журн. – 1995. – №1. – С. 16–18.
10. Хазанов А.И. К вопросу об алкогольных поражениях печени / Хазанов А.И. // Рос. мед. вести. – 1998. – №1. – С. 40–44.
11. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей: Практическое руководство / Шерлок Ш., Дули Д.; под ред. З.Г. Анросиной, Н.А. Мухина; пер. с англ. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 864 с.
12. Яковенко Э.П. Метаболические заболевания печени: проблемы терапии / Яковенко Э.П., Григорьев П.Я., Агафонова Н.А. // Фарматека. – 2003. – №10. – С. 47–52.
13. Abbittan C. Alcohol liver disease / Abbittan C., Lieber C.S. // Clin. Perspect. Gastroenterol. – 1999. – Vol. 257. – P. 63.
14. Bergamini E. Ageing and oxidative stress: A role for dolichol in the antioxidant machinery of cell membranes / Bergamini E., Bizzarri R. // J. Alzheimers Disease. – 2004. – Vol. 6, №4. – P. 129–135.
15. Jakobsson A. Uptake and modification of dietary poliprenols and dolichols in rat liver / Jakobsson A., Swiezewska E., Chojnaki T., Dallner G. // FEBS Lett. – 1989. – Vol. 255. – P. 32–36.
16. Klimov A.N. Essential phospholipids versus nicotinic acid in the treatment of patients with type IIb hyperlipoproteinemia and ischemic heart disease / Klimov A.N., Konstantinov V.O., Lipovetsky B.M. // Cardiovasc. Drugs Ther. – 1995. – Vol. 9. – P. 779–784.
17. Morris G.N. A micromethod for the estimation of blood dolichol / Morris G.N., Pullarkat R.K. // Lipids. – 1987. – Vol. 22. – P. 58–60.
18. Steinke D.T. The epidemiology of liver disease in Tayside database: a population-based record linkage study / Steinke D.T., Weston T.L., Morris A.D. // J. Biomed. Inform. – 2002. – Vol. 35. – P. 186–193.
19. Van Dessel G. Intracellular and extracellular flow of dolichol / Van Dessel G., De Wolf M., Hilderson Y.J. // Subcell. Biochem. J. – 1990. – Vol. 227. – P. 277.
20. Halliwell B. Free radicals in biology and medicine / Halliwell B., Gutteridge M.C. – Oxford: Clarendon Press, 1985. – 347 p.

Сведения об авторах:

Астахина В.О., аспирант каф. технологии органических веществ и фармацевтических препаратов УГХТУ.

Беленичев И.Ф., д. биол. н., профессор, зав. каф. фармакологии и медицинской рецептуры ЗГМУ.

Воеводский М.В., к. хим. н., доцент каф. технологии органических веществ и фармацевтических препаратов УГХТУ.

Абрамов А.В., д. мед. н., профессор каф. патологической физиологии ЗГМУ, начальник ЦНИЛ ЗГМУ.

Коваленко С.И., д. фарм. н., профессор каф. фармацевтической химии ЗГМУ.

Харченко А.В., д. хим. н., профессор, зав. каф. технологии органических веществ и фармацевтических препаратов УГХТУ.

Бухтиярова Н.В., к. мед. н., доцент каф. фармакологии и медицинской рецептуры ЗГМУ.

Павлов С.В., к. биол. н., ст. преподаватель каф. фармакологии и медицинской рецептуры ЗГМУ.

Жернова Г.В., м. н. с. ЦНИЛ ЗГМУ.

Сведения об авторах:

Астахина Валерия Олеговна. 49005, г. Днепрпетровск, пр. Гагарина, 8, Украинский государственный химико-технологический университет.

Тел.: (0562) 68 22 33.

E-mail: torfp@list.ru