

ФАРМАКОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА БЕМИТИЛА НА МОДЕЛИ ДЛИТЕЛЬНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

С. В. Оковитый¹, Н. Н. Безбородкина², И. В. Зарубина¹, О. П. Миронова¹,
Б. Н. Кудрявцев², С. Н. Шуленин¹

На модели экспериментального цирроза печени у крыс установлено, что синтетический адаптоген бемитил (2-этилтиобензимидазола гидробромид) при лечебно-профилактическом применении оказывает гепатопротекторное действие: проявляет антицитолитическое действие, восстанавливает участие печени в пигментном обмене, нормализует работу системы микросомального окисления, метаболизирующую ксенобиотики. Происходит некоторое улучшение гистологической картины поврежденного органа и уменьшение степени его фиброзирования. Показано наличие у препарата способности повышать активность антиоксидантной системы и ограничивать процессы перекисного окисления белков и липидов.

Ключевые слова: бемитил, цирроз печени, гепатопротекторное действие

ВВЕДЕНИЕ

Изучение регенерации цирротически измененной печени человека и животных показало, что амплитуда регенераторного ответа при его стимуляции и обратимость цирроза во многом определяются тяжестью и глубиной патологических изменений в органе [8]. Возможно, из-за различий в методах оценки тяжести цирроза печени и уровня восстановительных процессов полученные результаты оказались противоречивыми [8, 9]. Тем не менее, в подавляющем большинстве они свидетельствуют лишь о частичном восстановлении структуры и функции цирротической печени [3, 6]. В то же время следует отметить, что нормализация функции пораженного органа происходит быстрее и в более полной мере, чем восстановление ее структуры [5, 10]. Исходя из сказанного, можно предположить, что задача поддержания функции патологически измененного органа в настоящее время может решаться не только путем поиска способов полного восстановления исходной дольковой структуры печени, но и посредством улучшения условий жизнедеятельности паренхимы печени, продолжающей сохранять основные морфологические черты цирроза. Подобный результат может быть достигнут с помощью препаратов, способных усиливать компенсаторно-приспособительные процессы в патологически измененном органе [4].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На модели длительного (6 месяцев) токсического поражения печени тетрахлорметаном (ТХМ) изучено репаративное действие синтетического адаптогена бемитила (2-этилтиобензимидазола гидробромид, "ICN-Октябрь"). Белых беспородных крыс-самцов массой 200–250 г подвергали хроническому ингаляционному воздействию насыщенным парам ТХМ (7 мл на 100 л объема) в специальной герметичной камере по 20 мин 3 раза в неделю в течение 6 мес [2]. Перед ингаляцией токсиканта на 1, 2, 4 и 6-й месяцы отравления опытной группе крыс внутрибрюшинно вводили водный раствор исследуемого препарата (бемитил, 12,5 мг/кг), а контрольной — физраствор. В качестве позитивного контроля использовали интактных животных такого же возраста и массы. Через 7 дней после последнего введения токсиканта животных забивали и забирали материал для исследования.

На автоматическом биохимическом анализаторе Abbot-spectrum ("Abbot laboratories s.a.", США) в сыворотке крови определяли концентрацию аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), общего билирубина, азота мочевины, креатинина, общего белка, глюкозы.

Продукты перекисного окисления липидов — гидроперекиси определяли в 10 % гомогенатах тканей, приготовленных на 25 мМ трис-НСl буфере с добавлением 175 мМ КCl (pH 7,4) по методу Л. А. Романовой и И. Д. Стальной [7]. Содержание ТБК-связывающих продуктов в пересчете на концентрацию малонового диальдегида (МДА) оценивали методом, предложенным М. Uchigama и М. Michera [14]. При определении восстановленного глутатиона использовали метод J. Seldak и R. M. Lindsay [13]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по торможению восстановления нитросинего тетразолия в присутствии НАДН и феназинметасульфата по Е. Е. Дубининой [1], а каталазы — по скорости разложения перекиси водорода в пересчете на мг белка [12]. Активность всех изучаемых ферментов относили к содержанию белка в пробах, количество которого определяли унифицированным методом О. Н. Lowry [11].

На 7-й день после окончания отравления ТХМ для оценки степени восстановления функциональной активности печени у крыс проводили стандартную пробу — определяли продолжительность гексеналового сна, отражающую состояние микросомальной системы печени, метаболизирующей ксенобиотики. Гексенал вводили внутрибрюшинно в дозе 80 мг/кг [15].

¹ Кафедра пропедевтики внутренних болезней (начальник — проф. С. Н. Шуленин) и кафедра фармакологии (зав. — проф. П. Д. Шабанов) Военно-медицинской академии, Санкт-Петербург, 194044, ул. Лебедева 6.

² Лаборатория клеточной патологии (зав. — проф. Б. Н. Кудрявцев) Института цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194044, пр. Тихорецкий 4.

Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с применением пакета прикладных программ Statgraphics на персональном компьютере IBM PC/AT, а также с помощью непараметрических методов с использованием критерия Вилкоксона – Манна – Уитни.

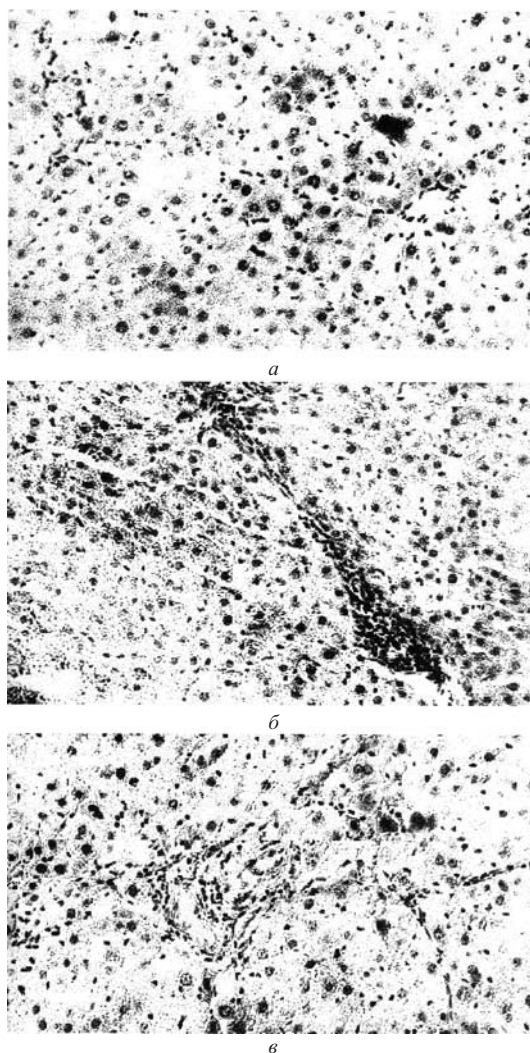
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что длительное, в течение 6 мес, отравление ТХМ приводит к формированию у животных выраженного поражения печени, проявляющегося нарушением морфологической структуры органа с развитием фибротического процесса и значительными функционально-метаболическими сдвигами. Полученные данные представлены в табл. 1, 2 и на рисунке.

Так, активность характеризующих выраженность цитолитических процессов АЛТ и АСТ в сыворотке крови повышалась соответственно в 2,02 и 1,42 раза. Нарушалось участие печени в пигментном обмене — уровень общего билирубина возрастал в 1,7 раза. Резко увеличивалась продолжительность гексеналового сна (в 5,42 раза), свидетельствующая о повреждении системы микросомального окисления печени. Заметно повышалось содержание МДА — в 1,46 раза и незначительно увеличивался уровень диеновых конъюгатов (ДК) (в 1,07 раза). Одновременно снижались показатели отдельных звеньев антиоксидантной системы — активность СОД и каталазы уменьшалась соответственно в 1,19 и 1,61 раза. Практически не изменялся уровень восстановленного глутатиона.

Под действием бемитила активность АЛТ в сыворотке крови (по сравнению с контролем) снижалась в 1,23 раза, АСТ — в 1,22 раза, что свидетельствует о способности препарата ограничивать цитоллиз гепатоцитов. Содержание общего билирубина сыворотки уменьшалось в 1,33 раза, а уровень глюкозы — в 1,43 раза. Несколько повышалась концентрация креатинина и азота мочевины в сыворотке крови, однако это изменение не было достоверным.

На содержание общего белка, натрия и калия бемитил заметного воздействия не оказывал. Продолжительность гексеналового сна сокращалась в 4,12 раза по сравнению с контролем.



Срезы печени крыс в норме (а), при экспериментальном циррозе (б) и при циррозе на фоне лечения бемитилом (в)

Ван-Гизон. Об. 20×, ок. 4×.

Уровень ДК в ткани печени на фоне применения препарата практически не изменялся, а содержание МДА уменьшалось в 1,43 раза. Среди показателей АОС следует отметить влияние бемитила на актив-

Таблица 1. Влияние бемитила на функционально-метаболические показатели состояния печени при длительной (6 месяцев) интоксикации тетрахлорметаном ($X \pm s_x$)

Показатель	Группы животных (n = 10)		
	интактная	контрольная (цирроз)	опытная (цирроз + бемитил)
Аланинаминотрансфераза, нмоль/с · л	140,11 ± 5,16	283,08 ± 9,05 ¹	230,18 ± 8,60 ²
Аспаратаминотрансфераза, нмоль/с · л	160,81 ± 8,13	228,01 ± 14,63 ¹	186,20 ± 9,11 ²
Общий билирубин, мкмоль/л	5,81 ± 0,14	9,90 ± 0,28 ¹	7,42 ± 0,17 ²
Креатинин, мкмоль/л	54,38 ± 4,21	51,30 ± 5,72	63,62 ± 4,48
Азот мочевины, ммоль/л	21,04 ± 3,34	16,25 ± 2,79	26,20 ± 1,68
Глюкоза, ммоль/л	5,54 ± 0,21	5,47 ± 0,43	3,82 ± 0,21 ²
Общий белок, г/л	64,60 ± 5,73	61,01 ± 3,34	61,80 ± 5,44
Гексеналовый сон, мин.	16,42 ± 0,68	89,01 ± 9,34 ¹	21,60 ± 2,71 ²

Примечание. Здесь и в табл. 2 различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению: ¹ — с интактной группой; ² — с контрольной группой.

Таблица 2. Влияние бемитила на некоторые показатели ПОЛ и АОС в печени при длительной (6 месяцев) интоксикации тетрахлорметаном ($\bar{X} \pm s_x$)

Показатель	Группы животных (n = 10)		
	интактная	контрольная (цирроз)	опытная (цирроз + бемитил)
Диеновые конъюгаты, мкмоль/г	55,56 ± 3,81	59,45 ± 2,85	54,02 ± 1,07
Малоновый диальдегид, мкмоль/г	22,71 ± 1,35	33,15 ± 4,43 ¹	23,23 ± 1,23 ²
Восстановленный глутатион, мкмоль/г	77,19 ± 5,43	82,32 ± 2,56	84,48 ± 3,52
Супероксиддисмутаза, Е/мг белка	4,01 ± 0,17	3,36 ± 0,46	4,31 ± 0,19 ²
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мин	105,65 ± 7,99	65,56 ± 10,30 ¹	113,19 ± 5,03 ²

ность СОД и каталазы в ткани печени, которая увеличивалась соответственно в 1,28 и 1,74 раза. В то же время содержание восстановленного глутатиона практически не изменялось.

Гистологическое исследование печени крыс, в течение 6 месяцев подвергавшихся воздействию ТХМ, обнаружало, что у животных развивался типичный фиброз печени, характеризующийся заметным увеличением количества соединительной ткани, появлением очагов лейкоцитарных инфильтратов, а также нарушением дольковой структуры органа (рисунок).

Морфометрический анализ нормальной и цирротически измененной печени показал, что доля паренхимы при циррозе снижалась, а доля соединительной ткани увеличивалась в 4 раза по сравнению с нормой ($p < 0,001$).

Введение бемитила крысам на фоне хронической интоксикации ТХМ привело к некоторому снижению доли соединительной ткани в печени. Тем не менее ее относительное количество превышало норму примерно в 3 раза ($p < 0,001$). Кроме того, структура печени в данной группе животных характеризовалась исчезновением инфильтратов лейкоцитов и снижением количества звездчатых ретикулоэндотелиоцитов, что свидетельствовало о тенденции к восстановлению нормальной структуры органа. Однако полного восстановления нормальной структуры печени в этом случае не происходило.

ВЫВОД

На модели экспериментального цирроза печени установлено, что бемитил при лечебно-профилактическом применении ограничивает явления цитолиза, восстанавливает участие печени в пигментном обмене, нормализует работу системы микросомального

окисления, улучшает гистологическую картину поврежденного органа, уменьшает степень его фиброзирования, повышает активность антиоксидантной системы, ограничивает процессы перекисного окисления липидов в печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Е. Дубинина, Л. А. Сальникова, Л. Ф. Ефимова, *Лаб. дело*, № 10, 30 – 33 (1983).
2. А. В. Емельянов, *Автореф. дис. канд. биол. наук*, СПб (1997).
3. М. В. Кудрявцева, *Цитология*, **36**(6), 200 – 210 (1994).
4. М. В. Кудрявцева, Н. Н. Безбородкина, С. В. Оковитый и др., *Цитология*, **44**(7), 668 – 676 (2002).
5. М. В. Кудрявцева, А. В. Емельянов, Г. А. Сакута и др., *Цитология*, **38**(9), 934 – 948 (1996).
6. С. А. Муслимов, *Морфологические аспекты регенеративной хирургии*, Башкортостан, Уфа (2000).
7. Л. А. Романова, И. Д. Стальная, *Современные методы в биохимии*, В. Н. Орехович (ред.), Медицина, Москва (1977), 64 – 66.
8. Б. П. Солопаев, *Регенерация, адаптация, гомеостаз*, Волго-Вятское изд-во, Горький (1990).
9. W. M. Brady, *Postgrad. Med.*, **102**(5), 201 – 202, 205 – 207, 211 – 212 (1997).
10. M. F. Chen and T. L. Hwang, *Proc. Nat. Sci. Council. Repub. China*, **18**(2), 71 – 75 (1994).
11. O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. L. Farr, and R. J. Randall, *J. Biol. Chem.*, **193**(1), 265 – 275 (1951).
12. H. Luck, *Methods of enzymatic analysis*, H. O. Bergmayer (ed.), Academic Press, New York, London (1971), 885 – 893.
13. J. Seldak and R. M. Lindsay, *Anal. Biochem.*, **25**(1–3), 192 – 195 (1968).
14. M. Uchigama and M. Michera, *Anal. Biochem.*, **86**(1), 271 – 278 (1978).
15. W. C. Verly, *The control of liver growth*, Chalmers, New York (1976).

Поступила 28.03.05

STUDYING THE HEPATOPROTECTOR EFFECT OF BEMITHYL ON A MODEL OF CHRONIC TOXIC LIVER DAMAGE

S. V. Okovityi¹, N. N. Bezborodkina², I. V. Zarubina¹, O. P. Mironova¹, B. N. Kudryavtsev², and S. N. Shulenin¹

¹ St. Petersburg State Military Medical Academy, ul. Lebedeva 6, St. Petersburg, 194044 Russia;

² Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, pr. Tikhoretskii 4, St. Petersburg, 194044 Russia

A prophylactic and therapeutic introduction of the synthetic adaptogen bemithyl (2-ethylthiobensimidazole hydrobromide) produces a hepatoprotector effect in rats with experimental cirrhosis. The drug exhibits an anticytolytic activity, restores liver participation in the pigment exchange, and normalizes the function of the microsomal oxidation system responsible for the metabolism of xenobiotics. The treatment with bemithyl also leads to a certain improvement of a histologic picture of the damaged liver and to a decrease in the degree of fibrosis. The drug is also capable of increasing the activity of the antioxidant system and inhibiting the process of lipid peroxidation of proteins and lipids in the liver.