

Д.С. Суханов¹, Е.Б. Артюшкова², В.Т. Дудка³

Сравнительное гепато- и эндотелиопротективное действие растворов ремаксола и S-аденозил-L-метионина при экспериментальном поражении печени противотуберкулезными препаратами основного ряда в сочетании с алкоголем

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения РФ, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

² Научно-исследовательский институт экологической медицины Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Курского государственного медицинского университета» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305041, Курск, ул. К. Маркса, 3

³ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 305041, Курск, ул. К. Маркса, 3

Введение в течение 12 сут. противотуберкулезных препаратов: изониазид, рифампицин, пиразинамид в сочетании с алкоголем приводит к тяжелому токсическому поражению печени, сопровождающемуся характерной динамикой гистологических и биохимических маркеров в сочетании с развитием эндотелиальной дисфункции на фоне нормальных для данного вида животных значений артериального давления. Применение ремаксола и S-аденозил-L-метионина уменьшает гистологические признаки жировой дистрофии печени, приводя биохимические показатели в пределы физиологической нормы для данного вида животных. Гепатопротективное действие более выражено при применении ремаксола. Изучаемые препараты обладают выраженным эндотелиопротективным действием на выбранной модели патологии и приводят к снижению коэффициента эндотелиальной дисфункции и его приближению к уровню интактных животных.

Ключевые слова: *противотуберкулезные препараты, ремаксол, S-аденозил-L-метионин, эндотелиопротективная активность, гепатопротективная активность*

D.S. Sukhanov¹, E.B. Artyushkova², V.T. Dudka³

Comparative hepato- and endotelioprotective effect of remaxol and S-adenosyl-L-methionine in experimental defeat of a liver by antituberculosis essential drugs in a combination to alcohol

¹ I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, 41, Kirochnayastr., Saint-Petersburg, 191015, Russia

² Ecological Medicine Institute of Kursk State Medical University, 3, Karl Marks str., Kursk, 305041, Russia

³ Kursk State Medical University, 3, Karl Marks str., Kursk, 305041, Russia

Introduction within 12 days of antituberculosis drugs: the isoniazid, rifampicin, pyrazinamide in a combination to alcohol leads to heavy toxic defeat of the liver, being accompanied characteristic dynamics of histologic and biochemical markers in a combination to development of endothelial dysfunction against normal for this type of animal values of arterial pressure. Application of remaxol and S-adenosyl-L-methionine reduces histologic symptoms of fatty dystrophy of a liver, bringing biochemical indicators into limits of physiological norm for this species of animals. Hepatoprotective activity is more expressed at application of remaxol. Studied medicines possess the expressed endotelioprotective activity on the chosen model of pathology and lead to decrease in factor of endothelial dysfunction and its approach to level of intact animals.

Key words: *antituberculosis drugs, remaxol, S-adenosyl-L-methionine, endotelioprotective activity, hepatoprotective activity*

Патология печени, являющейся центральным органом химического гомеостаза, у больных туберкулезом характеризуется разнообразием этиологических и патогенетических факторов, среди которых выделяют специфические и неспецифические изменения. Первое место в ряду неспецифических изменений занимают лекарственные поражения печени [2—4]. Установлено, что практически все противотуберкулезные препараты (ПТП) оказывают гепатотоксическое действие различной степени выраженности [7, 13]. В то же время, злоупотребление алкоголем, выявленное более чем у 50% больных туберкулезом, усугубляет проявления лекарственной гепатотоксичности [5]. В комплексном лечении лекарственных поражений печени целесообразно использование метаболической и коферментной терапии, положительно влияющей на повышение устойчивости гепатоцитов к токсическому воздействию и оказывающей детоксикационный эффект с восстановлением функции пораженного органа [6].

В клинической практике положительно зарекомендовали себя препараты антигипоксического действия на основе янтарной кислоты. Одним из сукцинатсодержащих препаратов является реамберин (раствор Na,N-метилглюкаминасукцината), позиционируемый как дезинтоксикационное средство антигипоксического действия при ряде патологических состояний [9]. Созданный на его основе оригинальный гепатопротекторный препарат ремаксол, содержащий янтарную кислоту (в виде N-метилглюкаминовой соли), метионин, рибоксин и никотинамид в комплексе с электролитами, доказал свою эффективность в ряде доклинических и клинических исследований [8, 11].

Цель работы — оценка эффективности использования гепатопротекторов с выраженным эндотелиопротективным действием при моделировании токсического поражения печени комбинацией противотуберкулезных препаратов и алкоголя.

Методика

Исследование проведено на базе лаборатории доклинических исследований НИИ ЭМ КГМУ в соответствии с утвержденными правилами лабораторной практики. Исследование выполнено на 40 белых крысах-самцах массой 180—200 г.

Токсическое поражение печени (ПТП) моделировали применением изониазида, рифампицина, пиразинамида и этилового спирта с учетом дозировок, используемых в СПб НИИ фтизиопульмонологии [10, 12]. Изониазид вводили подкожно 50 мг/кг; рифампицин и пиразинамид — внутривенно (250 и 45 мг/кг соответственно). Алкоголь (10%-ный раствор алкоголя с добавлением в качестве вкусовой добавки 0,1% сахара) находился в поилке в свободном до-

ступе. Исследуемые препараты вводили в дозах: ремаксол — 25 мл/кг, адemetионин (лиофилизат) — 0,9 мл/кг. Препараты вводили в течение 12 сут., оценку показателей производили на 13-е сутки эксперимента.

Все животные методом рандомизации были разделены на следующие группы (n=10 в каждой группе):

- интактные;
- контроль (ПТП + алкоголь);
- ПТП + алкоголь + ремаксол;
- ПТП + алкоголь + S-аденозил-L-метионин (SAM, адemetионин).

Определяли уровень общего билирубина, общего белка, холестерина, триглицеридов, активности АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы на биохимическом анализаторе Виталон 400. Оценка эффективности препаратов подтверждалась гистологическим исследованием печени. Материал фиксировали в 10% формалине. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Показатели гемодинамики — систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) измеряли непрерывно посредством аппаратно-программного комплекса «Віорас». Проводили функциональные сосудистые пробы: эндотелий-зависимую вазодилатацию (ЭЗВД) — внутривенное введение ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного, а также эндотелий-независимую вазодилатацию (ЭНВД) в ответ на внутривенное введение раствора нитропрусида натрия (НП) в дозе 30 мг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного.

Коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) рассчитывали [1] как отношение площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение НП (SHП) к площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение АХ (SAX):

$$КЭД = \frac{S_{НП}}{S_{АХ}}$$

Результаты обрабатывали статистически. Оценка статистической значимости различий при межгрупповых сравнениях производилась по двустороннему t-критерию Стьюдента для независимых групп. Различия считались статистически значимыми при значениях $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Статистически значимых различий показателей массы тела, сердца и печени между интактными, контрольными и экспериментальными группами крыс на 13-е сутки эксперимента выявлено не было.

Биохимические показатели в экспериментальных группах
через 12 сут. после моделирования поражения печени и его коррекции

| Препарат | Триглице- риды | АсАТ, Ед./л | АлАТ, Ед./л | Щелочная фосфатаза, Ед./л | Билирубин, мкмоль/л | Общий белок, г/л | Холестерин, ммоль/л |
|----------------------------------|-------------------|----------------|----------------|---------------------------------|------------------------|---------------------|------------------------|
| Интактные (n=10) | 0,30±0,05 | 162,8±11,1 | 69,2±8,4 | 152,9±16,3 | 1,7±0,4 | 58,0±1,5 | 0,86±0,08 |
| Контроль (ПТП + алкоголь) (n=10) | 0,77±0,13* | 218,5±11,2* | 72,7±9,6 | 365,6±72,7* | 19,3±7,4* | 60,6±1,8 | 1,75±0,25* |
| ПТП + алкоголь + ремаксол (n=10) | 0,29±0,08** | 137,5±5** | 66,9±3,8 | 112,8±10,5** | 2,7±1,1** | 61,2±2,0 | 0,73±0,03** |
| ПТП + алкоголь + SAM (n=10) | 0,33±0,05** | 137,8±6,6** | 69,0±12,4 | 148,5±21,3** | 4,21±1,93** | 58,5±1,7 | 0,71±0,05** |

Примечание. * — $p < 0,05$ в сравнении с интактными животными; ** — $p < 0,05$ в сравнении с ПТП + алкоголь 12 сут.

При оценке биохимических показателей через 12 сут. после моделирования поражения печени обнаружено статистически значимое увеличение концентрации триглицеридов, АСТ, щелочной фосфатазы, общего билирубина и холестерина что свидетельствует о вовлечении печени в патологический процесс (таблица).

Введение ремаксолола и адеметионина на фоне комбинации противотуберкулезных препаратов и алкоголя выявило статистически значимое снижение показателей, характеризующих поражение паренхимы печени, и их максимальное приближение к таковым у интактных животных (таблица).

При гистологическом исследовании через 12 сут. после ПТП выявлена диффузная крупнокапельная и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов, с тотальным поражением долек (рис. 1).

Отмечается нарушение структуры балок, на обширных участках коллабируются синусоидные капилляры. Очагово наблюдается кариолизис в гепатоцитах. Изменения были однотипны во всех зонах печеночных долек.

У животных, получавших ремаксол, участки с очаговой крупнокапельной и мелкокапельной жировой

дистрофией гепатоцитов, чередовались с участками печеночной ткани с полным отсутствием патологических изменений (рис. 2).

Гистологическая картина у животных, получавших раствор адеметионина, схожа с таковой в группе животных, получавших ремаксол.

Моделирование поражения печени в течение 12 сут., а также введение растворов ремаксолола и адеметионина не приводило к статистически значимому изменению исходного артериального давления во всех сериях экспериментов.

При внутривенном введении экспериментальным животным раствора ацетилхолина наблюдалось падение уровня артериального давления с последующим его восстановлением. Моделирование поражения печени и введение исследуемых препаратов статистически значимо не влияло на уровень снижения артериального давления во всех экспериментальных группах. Статистически значимых различий между действием изучаемых препаратов также не наблюдалось. Время восстановления артериального давления при введении ремаксолола и SAM составило $44,2 \pm 2,2$ и $43,1 \pm 1,9$ с соответственно ($p < 0,05$ в обоих случаях по сравнению с группой контроля).

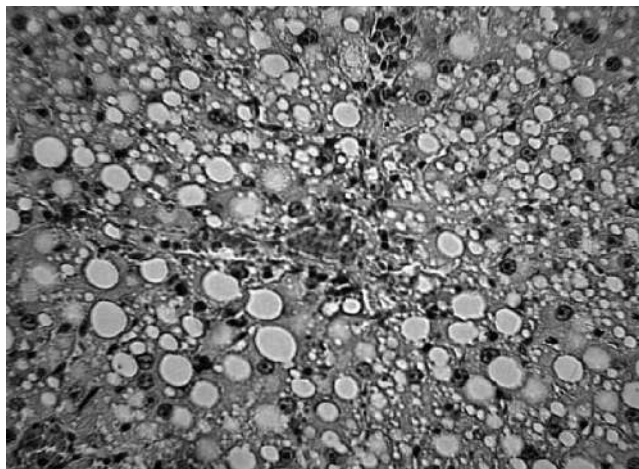


Рис. 1. Печень крысы контрольной группы на 13-е сут. эксперимента. Выраженная крупнокапельная и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 280$.

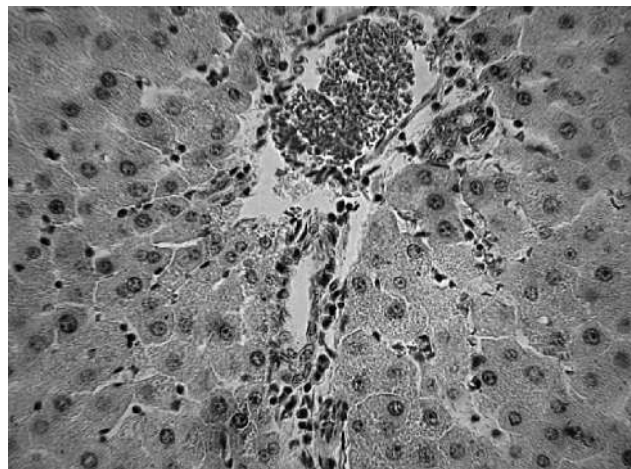


Рис. 2. Ремаксол в/б. Участок с нормальным гистологическим строением печеночных долек. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 280$.

У животных, получавших в течение 12 сут. противотуберкулезные препараты и алкоголь, время реакции эндотелийзависимой вазодилатации сокращалось на 22,8% (с $46,5 \pm 3,6$ до $35,9 \pm 3,1$ с, $p < 0,05$).

Введение растворов ремаксола и адеметионина в течение 12 сут. на фоне моделирования поражения печени ПТП статистически значимо пролонгировало реакцию эндотелийзависимой вазодилатации, приближая ее значения к таковым в группе интактных животных. В ответ на введение раствора нитропрусида натрия также наблюдалось падение значений систолического и диастолического артериального давления с последующей постепенной нормализацией показателей. При этом ПТП в сочетании с алкоголем и исследуемыми препаратами не влияло на выраженность реакции эндотелийнезависимой вазодилатации по систолическому АД и диастолическому АД.

Было установлено, что у крыс, получавших противотуберкулезные препараты и алкоголь в течение 12 сут., продолжительность реакции эндотелийнезависимой вазодилатации увеличивалась на 25,8% (с $49,6 \pm 2,5$ до $61,9 \pm 5,5$ с, $p < 0,05$). Исследуемые препараты статистически значимо уменьшали время эндотелийнезависимой вазодилатации.

При расчете коэффициента эндотелиальной дисфункции, было установлено, что под влиянием введения противотуберкулезных препаратов и алкоголя через 12 сут. КЭД увеличивался в 1,8 раза, составив $2,2 \pm 0,19$. Статистически значимым положительным воздействием на величину коэффициента эндотелиальной дисфункции обладали оба исследуемых препарата (при введении ремаксола величина КЭД составила $1,3 \pm 0,12$), что свидетельствует об эффективной коррекции моделируемого поражения печени и важной роли в данной патологии сосудистого эндотелия.

Таким образом, токсическое поражение печени сопровождается характерной динамикой гистологических и биохимических маркеров в сочетании с выраженной эндотелиальной дисфункцией.

Используемые препараты обладают гепатопротективными эндотелиопротективным действием, причем данная характеристика у ремаксола более выражена, чем у адеметионина.

Растворы ремаксол и адеметионин обладают выраженным эндотелиопротективным действием на выбранной модели патологии, характеризующимся уменьшени-

ем коэффициента эндотелиальной дисфункции через 12 сут. после моделирования поражения печени.

Список литературы

1. *Артюшкова Е.Б., Покровский М.В., Покровская Т.Г.* Эндотелио- и кардиопротективные эффекты препарата фосфоглив при экспериментальном моделировании дефицита оксида азота // Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. — 2008. — №4. — С. 42—47.
2. *Борзакова С.Н., Аксенова Б.А., Рейзис А.Р.* Лекарственные поражения печени у детей, больных туберкулезом // Туберкулез и бол. лёгких. — 2010. — №8. — С. 3—12.
3. *Вольф С.Б., Суханов Д.С., Романцов М.Г.* Медикаментозные поражения печени при полихимиотерапии туберкулеза // Вестник СПбГМА им. И.И. Мечникова. — 2009. — №1. — С. 172—176.
4. *Гурьева М.Э.* Туберкулез и заболевания печени. Фтизиатрия (национальное руководство). — М.: Гэотар-Медиа, 2007.
5. *Загдын З.М., Браженко Н.А., Браженко О.Н.* и др. Коморбидность туберкулеза, алкоголизма и наркомании // Пульмонология. — 2007. — Вып. 2. — С. 22—27.
6. *Зборовский А.Б., Тюренков И.Н., Белоусов Ю.Б.* Неблагоприятные побочные эффекты лекарственных средств. — М.: МИА, 2008.
7. Клиническая фармакология: Национальное руководство / Под ред. Ю.Б. Белоусова, В.Г. Кукеса, В.К. Лепахина, В.И. Петрова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009.
8. *Коваленко А.Л., Суханов Д.С., Романцов М.Г.* Эффективность оригинального препарата «Ремаксол, раствор для инфузий» при поражениях печени различного генеза // Фарм. промышл. — 2010. — №4. — С. 58—61.
9. Реамберин (пострегистрационные клинические исследования 1999—2005) // Рефераты опубликованных в печати научных статей. — СПб., 2005.
10. *Сливка Ю.И.* Сравнительная характеристика гепатотоксичности изониазида, рифампицина и пиразинамида // Фармакология и токсикология. 1989. — Т. 52, №4. — С. 82—85.
11. *Суханов Д.С., Коваленко А.Л., Романцов М.Г., Петров А.Ю., Саватеева Т.Н.* Цитопротекторная активность сукцинатсодержащих препаратов на функциональную активность печени в эксперименте // Экспер. Клин. фармакол. — 2010. — Т. 73, №8. — С. 35—39.
12. *Суханов Д.С., Виноградова Т.И., Заболотных Н.В.* и др. Сравнительное изучение гепатопротективного действия ремаксола, реамберина и адеметионина при повреждении печени противотуберкулезными препаратами (экспериментальное исследование) // Антибиотики и химиотерапия. — 2001. — Т. 56, №1—2. — С. 12—16.
13. *Senaratne W.V., Piniyapathirage M.J., Perera G.A.* et al. Anti-tuberculosis drug Induced Hepatitis — a Sri Lankan experience // Ceylon Med. J. — 2006. — Vol. 51, №2. — P. 9—14.

Поступила 10.09.12

Сведения об авторах:

Артюшкова Елена Борисовна, д-р биол. наук, дир. НИИ ЭМ ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава РФ
Дудка Виктор Тарасович, зав. каф. патологической анатомии ГБОУ ВПО