

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ОТРАВЛЕНИЙ

DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-4-18-21

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ОРГАНИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ МАГНИЯ У БЕРЕМЕННЫХ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГЕПАТИТОМ

Е. В. Блинова, М. А. Хальзова, Д. С. Блинов, М. Х. С. Яхья,
А. И. Мелешкин, Н. А. Курганов, О. И. Героева¹

В опытах на беременных крысах на первой неделе гестации установлена способность соединения 2-аминоэтансульфоната магния (лабораторный шифр ЛБК-527) сдерживать формирование цитолитического и холестатического синдромов на парацетамоловой и алкогольной моделях повреждения печени при введении вещества внутрь в дозе 28 мг/кг в сутки. На микроскопическом уровне с использованием морфометрии показано, что у крыс, получавших ЛБК-527, сохраняется балочная структура печени, тормозится на 38 % ($p = 0,017$) развитие острой жировой токсической дистрофии, обусловленной введением 40 % этанола в дозе 10 мл/кг/сут в течение 7 сут и на 23 % ($p = 0,034$) парацетамола в дозе 500 мг/кг в сутки. Для вещества ЛБК-527 не характерна эмбрио- и фетотоксичность.

Ключевые слова: гепатит; беременность; цитолиз; холестаз; соединения магния; введение внутрь; этанол; парацетамол; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Патогенетическое лечение гепатита у беременной женщины является одной из актуальных проблем современной клинической медицины [1]. Ее значимость определяется не только природой и тяжестью заболевания, но и тем, что фармакологические возможности, доступные в настоящее время для данной категории пациентов, существенно ограничены [2]. Использование многих эффективных гепатопротекторов природного происхождения, производных аминокислот и других органических кислот, витаминных препаратов, производных различных химических групп на различных сроках гестации широко дискутируется как в России, так и за ее рубежами [4]. Все это определяет интерес к разработке и исследованию новых веществ с потенциальными гепатопротекторными свойствами, которые бы оказывали минимальное нежелательное воздействие на организмы матери и плода и позволяли эффективно контролировать течение патологического процесса в печени беременной. В связи с этим целью настоящего исследования явилось экспериментальное исследование гепатопротекторной активности нового отечественного соединения магния на фоне беременности.

¹ ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва», Медицинский институт, Россия, 430005, Саранск, ул. Большевикская, 68.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования выбрано оригинальное отечественное соединение — 2-аминоэтансульфонат магния (лабораторный шифр ЛБК-527), разработанное в отделе химии и технологии синтетических лекарственных средств АО «ВНЦ БАВ» (Россия). В работе использовали субстанцию вещества в виде белого кристаллического порошка. Раствор для введения готовили *ex tempore* с использованием стерильной воды для инъекций.

При выборе препарата сравнения руководствовались тем, что при беременности в комплекс рекомендованной терапии невирусных поражений печени входят, как правило, препараты жирорастворимых витаминов и, в частности, витамин Е [3, 5]. В работе применяли масляный 10 % раствор α -токоферола ацетата во флаконах по 50 мл (производитель «Марбиофарм», Россия).

Исследуемое вещество и препарат сравнения вводили животным внутрь в дозе, пропорциональной 5 % от показателя DL_{50} , определенной у мышей при пероральном введении, с учетом межвидового переноса доз [8] и составившей 28 и 36 мг/кг, соответственно.

Гепатит моделировали на белых половозрелых лабораторных крысах-самках, массой (189 ± 12) г, полученных из филиалов «Столбовая» и «Электрогорский» ФГБНУ НЦБМТ ФМБА России. При проведении экспериментов основывались на принципах гуманного обращения с животными, регламентированных Приказом Минздрава России № 708н от 23 авгу-

ста 2010 г. “О правилах лабораторной практики” [7]. Протокол исследования прошел экспертизу и был одобрен на заседании Локального этического комитета ФГБОУ ВПО “МГУ им. Н. П. Огарёва” от 20.11.2014 г. На момент воспроизведения повреждения печени животные находились на 1-й неделе гестации. С целью максимального приближения к условиям клинической практики, мы остановились на 2 моделях гепатита — лекарственном и алкогольном.

Первый воспроизводили введением внутрь парацетамола [7] (таблетки по 0,5 производства “Уралбиофарм”, Россия) в крахмальном клейстере через желудочный катетер в суточной дозе 500 мг/кг и объеме 1 мл в течение 2 дней. Соединение ЛБК-527 и препарат сравнения вводили в том же виде в дозах 28 и 36 мг/кг, соответственно, в течение 6 сут, начиная с первого дня применения парацетамола. Алкогольное поражение печени индуцировали 7-суточным введением беременным крысам внутрь 10 мл/кг в сутки 40 % раствора этанола [7]. Режим дозирования и введения 2-аминоэтансульфоната магния и витамина Е не отличался от предыдущей модели. В обоих случаях контрольные группы беременных и интактных животных получали внутрь 0,9 % изотонический раствор хлорида натрия в эквивалентном количестве крахмального клейстера.

На 7 сут после введения ЛБК-527 и препарата сравнения на обеих моделях гепатита животных выводили из эксперимента под общей анестезией (тиопентал-натрий 50 мг/кг, внутривенно). Из хвостовой вены забирали кровь и выделяли плазму (сыворотку), которую хранили при температуре 4 °С. Определяли уровень общего белка, общего билирубина, щелочной фосфатазы (ЩФ), аспарагиновой (АСТ) и аланиновой (АЛТ) аминотрансфераз, γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП) с помощью тест-систем “FUJI-FILM” на автоматическом ветеринарном анализаторе “FUJI” (Япония).

Извлеченную у животных печень фиксировали в 20 % формалине. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и просматривали в световом микроскопе

“Canon” (Япония). Для количественной оценки морфологических изменений использовали морфометрическую программу-приложение того же производителя.

Эмбриотоксическое и фетотоксическое действие ЛБК-527 изучали у беременных крыс. Соединение вводили с 1 по 19 сут гестации в 10-кратной терапевтической дозе, составляющей 280 мг/кг/сут внутрь. На 20 сут гестации крыс под общей анестезией (тиопентал-натрий 50 мг/кг внутривенно) выводили из эксперимента, извлекали плоды. Состояние внутренних органов оценивали методом Стейплса [7], также изучали состояние скелета плодов.

Обработку полученных результатов осуществляли методами вариационной статистики [6] с использованием лицензионного пакета программ “Statistics 6.0”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гепатит, вызванный парацетамолом, сопровождается развитием цитолитического синдрома, нарушением белкового, пигментного обмена и снижением концентрации щелочной фосфатазы. Введение соединения ЛБК-527 на представленной модели гепатита в дозе 28 мг/кг внутрь, начиная с первых суток введения токсического агента, сопровождалось ограничением цитолитического синдрома, что проявлялось в снижении гиперферментемии по сравнению с животными контрольной группы с токсическим гепатитом, при этом эффект был сопоставим с таковым для препарата сравнения. Исследуемое соединение не индуцировало явлений холестаза, корригировало белоксинтезирующую и выделительную функцию органа (табл. 1).

При микроморфологическом исследовании с использованием морфометрической методики установлена способность вещества ЛБК-527 к сохранению балочной структуры печени, в сравнении с животными группы 2 на 23 % ($p = 0,034$, при сравнении с морфологической картиной печени животных группы 2).

Результаты изучения активности соединения магния ЛБК-527 при алкогольном гепатите приведены в табл. 2. Из представленных данных видно, что веществ

Таблица 1. Влияние ЛБК-527 на биохимические показатели крови беременных крыс при гепатите, вызванном парацетамолом ($M \pm m$)

Группа животных	<i>n</i>	АЛТ, Ед/л	АСТ, Ед/л	ЩФ, У/л	Общий белок, г/л	Общий билирубин, мкмоль/л
Группа 1 (интактные беременные животные)	10	11,3 ± 1,4	13,8 ± 3,3	330,5 ± 12,5	28,5 ± 3,2	16,5 ± 2,2
Группа 2 (беременные животные с лекарственным гепатитом)	10	136,4 ± 10,3*	202,3 ± 17,1*	221,6 ± 13,3*	37,25 ± 4,3	43,5 ± 3,4*
Группа 3 (беременные животные с лекарственным гепатитом, получавшие витамин Е)	10	75,5 ± 8,4*#	148,5 ± 11,4*#	383,3 ± 16,1#	39,4 ± 4,2	12,5 ± 3,2#
Группа 4 (беременные животные с лекарственным гепатитом, получавшие ЛБК-527)	10	56,4 ± 4,3*#	137,4 ± 9,3*#	293,1 ± 11,2#	38,5 ± 5,3	16,2 ± 4,3#

* Различия при сравнении с животными группы 1 достоверны при $p < 0,05$;

различия при сравнении с животными группы 2 достоверны при $p < 0,05$ (одномерный дисперсионный анализ, критерий Ньюмена — Кейлса).

Таблица 2. Влияние ЛБК-527 на биохимические показатели крови беременных крыс при алкогольном гепатите ($M \pm m$)

Группа животных	<i>n</i>	АЛТ, Ед/л	АСТ, Ед/л	ЩФ, У/л	Общий белок, г/л	Общий билиру- бин, мкмоль/л	ГТП, Ед/л
Группа 1 (интактные беременные животные)	10	11,3 ± 2,4	13,8 ± 3,3	330,5 ± 15,5	28,5 ± 2,2	16,5 ± 1,2	7,1 ± 1,1
Группа 2 (беременные животные на модели этанолового гепатита)	10	69,1 ± 4,2*	281,3 ± 4,2*	293,5 ± 10,1	32,8 ± 2,4	17,5 ± 0,2	27,8 ± 1,2*
Группа 3 (беременные животные на модели этанолового гепатита, получавшие витамин Е)	10	44,2 ± 3,2*#	153,5 ± 9,3*#	260,2 ± 9,6*	35,2 ± 3,3	15,5 ± 1,1	8,1 ± 0,2#
Группа 4 (беременные животные на модели этанолового гепатита, получавшие ЛБК-527)	10	36,5 ± 3,3*#	126,1 ± 8,4*#	130,5 ± 112*#	30,1 ± 2,2	12,5 ± 3,2	6,3 ± 0,9#

* Различия при сравнении с животными группы 1 достоверны при $p < 0,05$;

различия при сравнении с животными группы 2 достоверны при $p < 0,05$ (одномерный дисперсионный анализ, критерий Ньюмена — Кейлса).

во в суточной дозе 28 мг/кг при введении внутрь в течение 7 сут эффективно сдерживает формирование массивного цитолиза, развивающегося под действием токсических доз этанола у животных контрольной группы. Причем в большей степени об этом свидетельствует способность вещества стабилизировать уровень ГТП на уровне интактных животных. Производное магния на рассматриваемой модели также не подавляет основные функции печени.

На светооптическом уровне нами установлена заметная органопротекторная активность ЛБК-527, выражающаяся в торможении на 38 % ($p = 0,017$, при сравнении с животными группы 2) формирования морфологической картины острой алкогольной жировой дистрофии по типу гепатоза — сохранении балочной структуры органа, ограничении лимфогистиоцитарной инфильтрации.

При изучении эмбрио- и фетотоксического действия нового соединения мы установили отсутствие значимых различий в интранатальной летальности по сравнению с животными контрольной группы, не были зафиксированы ни внешние, ни внутренние аномалии развития (табл. 3).

Таблица 3. Эмбрио- и фетотоксическое действие соединения ЛБК-527

Показатель	Контрольная группа (<i>n</i> = 10)	Группа на фоне введения ЛБК-527 (<i>n</i> = 10)
Масса плодов, г	1,37 ± 0,046	1,46 ± 0,051
Краниокаудальный размер плода, см	2,62 ± 0,091	2,93 ± 0,097
Количество плодов с внешними аномалиями развития	0	0
Количество плодов с внутренними аномалиями развития	0	0
Эмбриональная гибель, %	0	0

Проведенное исследование свойств ЛБК-527 свидетельствует о наличии у этого вещества гепатопротекторного эффекта при 6-суточном введении внутрь, начиная с первого дня формирования гепатита, в терапевтической дозе. Соединение значимо при сравнении с контрольной группой животных “сдерживает” формирование цитолитического синдрома и уменьшает гиперферментемию, нормализует показатели белкового и пигментного обмена, особенно заметно на модели поражения печени, вызванного парацетамолом. Использование морфологических методов исследования позволило установить, что использование 2-аминсульфоната магния ограничивает площадь и глубину повреждающего действия этанола и парацетамола в токсических дозах на печеночную паренхиму. Кроме того, чрезвычайно важным является и то обстоятельство, что 2-аминоэтансульфонат магния не обладает эмбрио- и фетотоксичным действием при 19-суточном пероральном введении в 10-кратной терапевтической дозе.

ВЫВОДЫ

1. Оригинальное отечественное соединение 2-аминоэтансульфонат магния (ЛБК-527) обладает гепатопротекторным действием при 6-суточном введении внутрь в дозе 28 мг/кг в сутки беременным крысам с формирующимся алкогольным (этанол внутрь 10 мл/кг в сутки, 6 сут) и лекарственным (парацетамол внутрь 500 мг/кг в сутки, 2 сут) гепатитом. Гепатопротекторная активность выражена в снижении гиперферментемии на обеих моделях гепатита, нормализации уровня общего белка и билирубина на парацетамоловой модели гепатита.

2. При морфометрическом анализе микропрепаратов печени беременных крыс с алкогольным гепатитом, получавших соединение ЛБК-527, установлено снижение на 38 % ($p = 0,017$) при сравнении с группой контроля площади паренхимы с явлениями жировой дистрофии; у животных с лекарственным пораже-

нием печени введение производного магния внутрь позволило увеличить на 23 % ($p = 0,034$) площадь печеночной ткани с сохраненной балочной структурой.

3. Соединение 2-аминоэтансульфонат магния при 19-суточном введении внутрь беременным крысам в дозе 280 мг/кг в сутки, составляющей 10-кратную терапевтическую, не оказывает фето- и эмбриотоксического действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Болезни печени и желчевыводящих путей*, В. Т. Ивашкин (ред.), Москва (2005).
2. *Болезни органов пищеварения и беременность: руководство по гастроэнтерологии*, Ф. И. Комаров (ред.), Москва (2005).
3. *Заболевания печени и беременность*, А. Н. Ивонян (ред.), Смоленск (2003).
4. А. В. Кривоусова, *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.*, 7(5), 149 (1997).
5. В. Н. Кузьмин, Л. В. Адамян, *Акушерство и гинекол.*, 1, 25 – 29 (2009).
6. *Методическое пособие по использованию программы STATISTICA при обработке данных биологических исследований*, С. Э. Мастицкий (ред.), Минск (2009).
7. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А. Н. Миронов (ред.), Москва (2013).
8. E. J. Freireich, et al., *Cancer Chemoter. Repl.*, 50(4), 219 – 244 (1966).

Поступила 18.12.17

HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF ORGANIC MAGNESIUM DERIVATIVE IN PREGNANT RATS WITH EXPERIMENTAL HEPATITIS

E. V. Blinova, M. A. Khal'zova, D. S. Blinov, M. H. S. Yah'ya, A. N. Meleshkin, N. A. Kurganov, and O. N. Geroeva

N. P. Ogarev Mordovia State University, ul. Bolshevistskaya 68, Saransk, Mordovia, 430005 Russia

It is established that new domestic compound of magnesium 2-aminoethanesulfonate (laboratory name LBK-527) administered daily at a dose of 28 mg/kg p.o. during 6 days limits cytolytic and cholestatic syndromes caused by either paracetamol or ethanol intake in experiments on pregnant rats. It has been shown that the liver of pregnant rats treated with LBK-527 remains structurally close to normal, while the development of acute fatty liver toxic dystrophy caused by either 500 mg/kg paracetamol or 10 mL/kg 40% ethanol for 7 days is suppressed by 38% ($p = 0.017$) and 23% ($p = 0.034$), respectively. Administered at a dose tenfold higher than therapeutic, LBK-527 did not exhibit fetotoxicity and embryototoxicity in experimental rats.

Keywords: hepatitis; pregnancy; cytolysis; cholestasis; magnesium derivative; prophylactic oral administration; ethanol; paracetamol; rats.