

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ОТРАВЛЕНИЙ

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-11-20-26

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА

В. В. Яснецов¹, Ю. В. Иванов¹, Вик. В. Яснецов¹,
Е. Г. Цублова², С. Я. Скачилова³

В экспериментах на крысах с острым токсическим гепатитом, вызванным тетра-хлорметаном, установлено, что новое производное 3-гидроксипиридина 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина L-аспарагинат (3-ГПА) в дозе 30 мг/кг/сут в течение 5 суток (профилактическое введение) оказало выраженное гепатопротекторное действие, снижая летальность животных с 24 до 0 %. 3-ГПА обладал выраженными гепатопротекторными свойствами, снижая проявления синдромов поражения печени (цитолита — активности аспаратамино-трансферазы, аланинаминотрансферазы и γ -глутамилтранспептидазы; холестаза — активности щелочной фосфатазы, γ -глутамилтранспептидазы, содержания общего и прямого билирубина; синдрома недостаточности синтетических процессов в гепатоцитах — концентрации общего белка, альбуминов, общего холестерина, триглицеридов, мочевины и креатинина в крови), энзимной токсемии (активность α -амилазы), а также синдрома поражения почек (уровень мочевины и креатинина) на 5 и 7 сут исследования, а на 10 сут нормализуя указанные показатели до исходных значений. Кроме того, 3-ГПА уменьшал на 5 и 7 сут исследования показатели перекисного окисления липидов (содержание диеновых конъюгатов, оснований Шиффа и ТБК-активных продуктов) и активность каталазы, повышал активность супероксиддисмутазы, а на 10 сут нормализовал указанные показатели до исходных значений. По выраженности действия он превосходил препарат сравнения гепатопротектор гептрал (50 мг/кг/сут).

Ключевые слова: новое производное 3-гидроксипиридина; острый токсический гепатит; гепатопротекторное действие; крысы.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в мире растет число заболеваний печени, обуславливающих высокую смертность, а количество больных с гепатобилиарной патологией превышает 3 млрд человек, причем в Российской Федерации более 50 % жителей страдают различными нарушениями деятельности печени [5, 13].

Гепатопротекторы с успехом применяют для патогенетической терапии острых и хронических гепатитов, цирроза печени и жирового гепатоза токсической, лекарственной и алкогольной этиологии. При этом они менее эффективны при вирусном гепатите [1, 8].

Широко известен такой гепатопротектор, как адemetионин (гептрал), обладающий антиоксидантными, холеретическими и холекинетическими свойствами, являющийся донатором метильных групп и обеспечивающий окислительно-восстановительный механизм клеточной

детоксикации. Его широко применяют при лечении различных заболеваний печени (токсические поражения печени, алкогольный стеатоз, хронический гепатит, цирроз печени и др.) [8, 10]. Однако он имеет ряд существенных недостатков, ограничивающих применение (способен вызывать серьезные побочные эффекты, должен применяться с осторожностью при биполярных расстройствах и др.) [2].

В связи с изложенным разработка новых эффективных методов лекарственного лечения и профилактики заболеваний печени — важная проблема современной медицины, а поиск новых гепатопротекторов весьма актуален.

Наше внимание привлекло новое производное 3-гидроксипиридина 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина L-аспарагинат (3-ГПА), обладающее антиоксидантными, мембранопротекторными, антиамнестическими, нейропротекторными и другими ценными фармакологическими свойствами [9]. Поэтому задачей настоящего исследования явилось изучение гепатопротекторного действия 3-ГПА в сравнении с гептралом на модели острого токсического гепатита у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 221 белой нелинейной крысе-самце массой 220–280 г (филиал “Столбовая” ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, Московская область) с

¹ ФГБУН “Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук”, Россия, 123007, Москва, Хорошевское шоссе, 76А.

² ФГБОУ ВО “Брянский государственный инженерно-технологический университет”, Россия, 241037, Брянск, проспект Станке Димитрова, 3.

³ АО “Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ”, Россия, 142450, Московская область, Ногинский район, Старая Купавна, ул. Кирова, 23.

использованием рекомендованных модели и методов [6]. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики и приказу Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016 № 199н “Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики”. Исследования выполнены с соблюдением национальных и международных требований по содержанию и гуманному обращению с животными.

У крыс моделировали острый токсический гепатит подкожным введением тетрахлорметана (CCl_4 , четыреххлористый углерод; по 4 мл/кг 50 % масляного раствора) в течение 4 сут. Как известно, CCl_4 — классический гепатотропный яд, который широко используют в эксперименте для моделирования острого токсического гепатита; он, в частности, вызывает интенсивное перекисное окисление липидов (ПОЛ) бислоя клеточных мембран гепатоцитов [1, 11].

Животным вводили внутривенно 3-ГПА (в виде субстанции-порошка действующего вещества в 0,9 % растворе натрия хлорида; АО “ВНЦ БАВ”, РФ) в дозе 30 мг/кг, а также препарат сравнения гептрал (адеметионин, лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения; Hospira S.p.A., Италия) в дозе 50 мг/кг за 1 ч до введения CCl_4 1 раз в сутки в течение 5 сут. В контрольной группе крысы получали внутривенно только 0,9 % раствор натрия хлорида в эквивалентном количестве.

Биохимическое исследование крови (с учетом рекомендаций [4]) производили как до начала, так и на 5, 7 и 10 сут эксперимента. В гепаринизированной плазме крови крыс с помощью стандартных коммерческих наборов реагентов фирмы “DiaSys” (Германия) определяли следующие показатели: активность α -амилазы, аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП), концентрацию общего белка, альбуминов, общего холестерина, триглицеридов, общего и непрямого билирубина, мочевины и креатинина. Измерения проводили на биохимическом анализаторе “Targa BT 3000” (Biotechnica Instruments, Италия). Также определяли в плазме крови содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты, в первую очередь малоновый диальдегид), диеновых конъюгатов (ДК), оснований Шиффа [3, 7] и активность антиоксидантных ферментов каталазы и супероксиддисмутазы (СОД).

Таблица 1. Влияние 3-ГПА и препарата сравнения гептрала (профилактическое введение) на летальность крыс с острым токсическим гепатитом, вызванным тетрахлорметаном

Соединение	Число крыс	Летальность, %
Контроль	33	24
3-ГПА (30 мг/кг/сут 5 сут)	30	0* [#]
Гептрал (50 мг/кг/сут 5 сут)	30	17

Различия статистически значимы по сравнению с контролем с гептралом соответственно (точный метод Фишера): * или [#] — $p < 0,05$.

Статистическую обработку результатов исследований проводили параметрическими (критерий Стьюдента) и непараметрическими (точный метод Фишера) методами с использованием программы BioStat 2009 Professional.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Было установлено, что в контрольной группе CCl_4 вызывал гибель 24 % (8 крыс из 33) животных (табл. 1).

3-ГПА в дозе 30 мг/кг/сут значимо ($p < 0,05$) снижал летальность крыс до 0 %.

Препарат сравнения гептрал в дозе 50 мг/кг/сут уменьшал летальность животных до 17 %, но недостоверно ($p > 0,05$).

По выраженности действия в отношении летальности 3-ГПА превосходил гептрал на 17 % ($p < 0,05$).

3-ГПА в дозе 30 мг/кг/сут 5 сут оказывает выраженное гепатопротекторное действие, значительно превосходя по влиянию на летальность крыс гептрал (50 мг/кг/сут).

Установлено, что у животных контрольной группы CCl_4 вызывал на 5 – 10 сут исследования развитие гиперферментемии. Так, на 5 сут активность α -амилазы в плазме крови значимо ($p < 0,001$) увеличивалась в 2,5 раза, по сравнению с интактными крысами. На 7 сут она превышала исходный уровень (здесь и далее имеется в виду уровень у интактных животных) в 1,8 раза, а на 10 сут — в 1,3 раза (табл. 2).

3-ГПА в дозе 30 мг/кг/сут ослаблял активность α -амилазы на 5 сут в 1,8 раза, на 7 сут — в 1,5 раза и на 10 сут — в 1,4 раза (даже несколько ниже исходного уровня).

Гептрал в дозе 50 мг/кг/сут уменьшал данный показатель на 5 сут в 1,4 раза, на 7 сут — в 1,3 раза и на 10 сут — также в 1,3 раза (практически полностью восстанавливая его до исходного уровня).

По выраженности действия в отношении активности α -амилазы 3-ГПА превосходил гептрал на 5 сут в 1,3 раза, а на 7 и 10 сут — в 1,1 раза.

Выявлено, что у животных контрольной группы CCl_4 вызывал на 5 – 10 сут исследования развитие синдрома цитолиза. Так, на 5 сут активность в плазме крови аминотрансфераз АСТ и АЛТ значительно увеличивалась — в 6,6 и 5,7 раза ($p < 0,001$) соответственно, по сравнению с группой интактных крыс; причем на 7 сут она превышала исходный уровень в 5,8 и 4,7 раза, соответственно, а на 10 сут — в 3 и 2 раза, соответственно (табл. 2).

3-ГПА (30 мг/кг/сут) уменьшал активность АСТ и АЛТ на 5 сут в 1,8 и 1,9 раза, соответственно, на 7 сут — в 1,9 и 2,3 раза, соответственно, и на 10 сут — в 3,4 и 2,2 раза, соответственно (даже ниже исходного уровня).

Гептрал (50 мг/кг/сут) уменьшал активность АСТ и АЛТ на 5 сут в 1,4 и 1,3 раза, соответственно, на 7 сут — в 1,6 и 1,8 раза, соответственно, и на 10 сут — в 2,9 и 2 раза, соответственно (практически полностью восстанавливая ее до исходного уровня).

По выраженности действия в отношении активности АСТ 3-ГПА превосходил гептрал на 5 – 7 сут в 1,2 раза ($p < 0,001$) и на 10 сут — в 1,1 раза ($p < 0,05$), а в отношении активности АЛТ на 5 сут — в 1,5 раза ($p < 0,001$), на 7 сут — в 1,3 раза ($p < 0,001$) и на 10 сут — в 1,1 раза ($p < 0,05$).

Обнаружено, что у животных контрольной группы CCl_4 вызывал на 5 – 10 сут исследования развитие синдрома холестаза. Так, на 5 сут активность ЩФ (основной показатель синдрома холестаза) в плазме крови увеличивалась в 4,6 раза, по сравнению с группой интактных крыс. На 7 сут она значимо ($p < 0,001$) превышала исходный уровень в 3,1 раза, а на 10 сут — в 2,3 раза (табл. 2).

3-ГПА (30 мг/кг/сут 5 сут) уменьшал активность ЩФ на 5 сут в 1,9 раза, на 7 сут — в 2 раза и на 10 сут — в 2,6 раза (даже ниже исходного уровня).

Гептрал (50 мг/кг/сут 5 сут) значимо ($p < 0,001$) уменьшал данный показатель на 5 сут в 1,6 раза, на 7 сут — в 1,7 раза и на 10 сут — в 2,3 раза (практически полностью восстанавливая его до исходного уровня).

По выраженности действия в отношении активности ЩФ 3-ГПА превосходил гептрал на 5 – 10 сут применения в 1,2 раза ($p < 0,01$).

Было также выявлено, что у животных контрольной группы CCl_4 вызывал на 5 – 10 сут исследования резкое повышение активности в плазме крови другого показателя холестаза — ГГТП, являющегося также индикатором цитолиза. Так, на 5 сут активность данного фермента увеличивалась в 5,6 раза, по сравнению с группой интактных крыс. На 7 сут она превышала исходный уровень в 4,2 раза, а на 10 сут — в 2,6 раза (табл. 2).

3-ГПА (30 мг/кг/сут) уменьшал активность ГГТП на 5 сут в 1,9 раза, на 7 сут — в 2 раза и на 10 сут — в 2,6 раза (до исходного уровня).

Гептрал (50 мг/кг/сут) уменьшал данный показатель на 5 – 7 сут в 1,4 раза и на 10 сут — в 2,6 раза.

По выраженности действия в отношении активности ГГТП 3-ГПА превосходил гептрал на 5 сут в 1,3 раза ($p < 0,001$), на 7 сут — в 1,4 раза ($p < 0,001$) и 10 сут — в 1,03 раза ($p < 0,05$).

Из других показателей синдрома холестаза в плазме крови также наблюдалось увеличение содержания общего и непрямого (свободного) билирубина (табл. 3). Так, например, на 5 сут концентрация общего и непрямого билирубина в плазме увеличивалась в 2,6 и 3,9 раза, соответственно, по сравнению с группой интактных крыс; на 7 сут превышала исходный уровень в 2 и 3,2 раза, соответственно ($p < 0,001$), а на 10 сут — в 1,6 и 1,9 раза, соответственно ($p < 0,001$).

3-ГПА (30 мг/кг/сут) снижал содержание общего билирубина на 5 сут в 1,8 раза, на 7 сут — в 1,7 раза и на 10 сут — в 2,4 раза (значительно ниже исходного уровня). Концентрацию непрямого билирубина он уменьшал на 5 сут в 2,2 раза, на 7 сут — в 2,3 раза и на 10 сут — в 2,8 раза (значительно ниже исходного уровня).

Гептрал (50 мг/кг/сут) также уменьшал содержание общего билирубина на 5 сут в 1,5 раза, на 7 сут — в 1,4 раза и на 10 сут — в 1,6 раза (до исходного уровня), а непрямого билирубина на 5 сут — в 2 раза, на 7 сут — в 1,9 раза и на 10 сут — в 1,6 раза.

По выраженности действия в отношении снижения содержания общего билирубина 3-ГПА превосходил гептрал на 5 – 7 сут в 1,2 раза ($p < 0,01$) и на 10 сут — в 1,5 раза ($p < 0,001$), а в отношении снижения концентрации непрямого билирубина на 5 сут в 1,1 раза, на 7 сут — в 1,2 раза и на 10 сут — в 1,7 раза ($p < 0,001$).

Таблица 2. Влияние 3-ГПА и препарата сравнения гептрала (профилактическое введение) на динамику активности ферментов крови у крыс с острым токсическим гепатитом, вызванным тетрахлорметаном ($M \pm m$)

Фермент	Интактные крысы	Срок исследования			Группа
		5 сут ($n = 10$)	7 сут ($n = 10$)	10 сут ($n = 10$)	
α -Амилаза, МЕ/л	1109 \pm 12 ($n = 12$)	2787 \pm 21 ^{ooo}	1978 \pm 19 ^{ooo}	1486 \pm 17 ^{ooo}	Контроль
		1536 \pm 17 ^{***,###}	1362 \pm 14 ^{***,###}	1036 \pm 12 ^{***,###}	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		1953 \pm 19 ^{***}	1497 \pm 16 ^{***}	1112 \pm 13 ^{***}	Гептрал (50 мг/кг/сут)
АСТ, МЕ/л	98 \pm 4 ($n = 12$)	648 \pm 16 ^{ooo}	569 \pm 14 ^{ooo}	294 \pm 10 ^{ooo}	Контроль
		362 \pm 11 ^{***,###}	293 \pm 10 ^{***,###}	87 \pm 3 ^{***,#}	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		447 \pm 13 ^{***}	355 \pm 11 ^{***}	100 \pm 4 ^{***}	Гептрал (50 мг/кг/сут)
АЛТ, МЕ/л	71 \pm 2 ($n = 12$)	403 \pm 14 ^{ooo}	336 \pm 12 ^{ooo}	143 \pm 5 ^{ooo}	Контроль
		207 \pm 10 ^{***,###}	145 \pm 5 ^{***,###}	64 \pm 2 ^{***,##}	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		301 \pm 11 ^{***}	182 \pm 7 ^{***}	73 \pm 2 ^{**}	Гептрал (50 мг/кг/сут)
ЩФ, МЕ/л	169 \pm 6 ($n = 12$)	778 \pm 17 ^{ooo}	524 \pm 13 ^{ooo}	389 \pm 11 ^{ooo}	Контроль
		412 \pm 12 ^{***,###}	263 \pm 8 ^{***,###}	147 \pm 5 ^{***,##}	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		486 \pm 13 ^{***}	317 \pm 9 ^{***}	171 \pm 6 ^{***}	Гептрал (50 мг/кг/сут)
ГГТП, МЕ/л	4,02 \pm 0,04 ($n = 12$)	22,57 \pm 0,83 ^{ooo}	16,86 \pm 0,38 ^{ooo}	10,48 \pm 0,20 ^{ooo}	Контроль
		11,96 \pm 0,13 ^{***,###}	8,41 \pm 0,09 ^{***,###}	3,96 \pm 0,03 ^{***,##}	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		15,83 \pm 0,16 ^{***}	11,98 \pm 0,12 ^{***}	4,09 \pm 0,04 ^{***}	Гептрал (50 мг/кг/сут)

Здесь и далее в табл. 3, 4 различия статистически значимы, по сравнению с данными животных интактной группы: ^o — $p < 0,05$, ^{oo} — $p < 0,01$, ^{ooo} — $p < 0,001$; контрольной группы: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$; группы гептрала: # — $p < 0,05$, ## — $p < 0,01$, ### — $p < 0,001$ (критерий Стьюдента).

Было установлено, что у животных контрольной группы CCl_4 вызывал на 5–10 сут исследования развитие синдрома недостаточности синтетических процессов в гепатоцитах. Так, например, на 5 сут уровень общего белка и альбуминов в плазме крови снижился в 1,4 и 1,3 раза, соответственно, по сравнению с группой интактных крыс. На 7 сут концентрация общего белка и альбуминов была ниже исходного уровня в 1,1 и 1,2 раза, соответственно, а на 10 сут — в 1,05 ($p < 0,01$) и 1,1 раза ($p < 0,001$), соответственно (табл. 3).

3-ГПА (30 мг/кг/сут) повышал уровень общего белка на 5 сут в 1,3 раза ($p < 0,001$), на 7 сут — в 1,1 раза ($p < 0,001$) и на 10 сут — в 1,05 раза ($p < 0,05$; до исходного уровня). Также он увеличивал и концентрацию альбуминов: на 5 сут в 1,2 раза, а на 7–10 сут — в 1,1 раза (до исходного уровня на 10 сут).

Гептрал (50 мг/кг/сут) только на 5 сут повышал уровень общего белка в 1,2 раза, а на 7–10 сут достоверно не влиял на этот показатель. Концентрацию альбуминов он значимо увеличивал на 5 и 7 сут в 1,2 ($p < 0,001$) и 1,1

раза ($p < 0,05$), соответственно, достоверно не влияя на данный показатель на 10 сут.

По выраженности действия в отношении повышения уровня общего белка 3-ГПА превосходил гептрал в 1,1 раза ($p < 0,05$), а в отношении увеличения концентрации альбуминов на 5 сут — в 1,04 раза ($p < 0,05$), а на 7–10 сут — в 1,1 раза ($p < 0,01$).

В плазме крови наблюдалось снижение содержания общего холестерина и триглицеридов (табл. 3). Так, на 5 сут уровень общего холестерина и триглицеридов в плазме снижались в 2,1 и 5,5 раза, соответственно, по сравнению с группой интактных крыс. На 7 сут концентрация общего холестерина и триглицеридов была ниже исходного уровня в 1,7 и 4 раза, соответственно, а на 10 сут — в 1,1 раза ($p < 0,05$) (табл. 3).

3-ГПА (30 мг/кг/сут) повышал уровень общего холестерина на 5 сут в 1,7 раза ($p < 0,001$), на 7 сут — в 1,6 раза ($p < 0,001$), а на 10 сут — в 1,4 раза ($p < 0,01$; даже несколько выше исходного уровня). Концентрацию триглицеридов он повышал на 5 сут в 2,3 раза, на 7 сут — в

Таблица 3. Влияние 3-ГПА и препарата сравнения гептрала (профилактическое введение) на динамику некоторых биохимических показателей крови у крыс с острым токсическим гепатитом, вызванным тетрахлорметаном ($M \pm m$)

Показатель	Интактные крысы	Срок исследования			Группа
		5 сут ($n = 10$)	7 сут ($n = 10$)	10 сут ($n = 12$)	
Общий белок, г/л ($n = 24$)	$76,7 \pm 0,8$	$55,1 \pm 1,0^{000}$	$67,1 \pm 1,1^{000}$	$73,1 \pm 0,9^{00}$	Контроль
		$69,1 \pm 1,1^{***,##}$	$73,4 \pm 1,1^{***,#}$	$76,9 \pm 1,0^{*,#}$	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		$64,3 \pm 0,7^{***}$	$68,9 \pm 1,2$	$72,9 \pm 1,1$	Гептрал (50 мг/кг/сут)
Альбумины, г/л ($n = 24$)	$42,8 \pm 0,4$	$32,6 \pm 0,5^{000}$	$36,9 \pm 0,7^{000}$	$39,1 \pm 0,6^{000}$	Контроль
		$40,1 \pm 0,5^{***,#}$	$42,0 \pm 0,6^{***,##}$	$43,1 \pm 0,6^{***,##}$	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		$38,4 \pm 0,5^{***}$	$39,0 \pm 0,6^*$	$40,1 \pm 0,6$	Гептрал (50 мг/кг/сут)
Общий холестерин, ммоль/л ($n = 24$)	$2,21 \pm 0,02$	$1,07 \pm 0,06^{000}$	$1,28 \pm 0,07^{000}$	$1,98 \pm 0,08^{\circ}$	Контроль
		$1,84 \pm 0,06^{***,##}$	$2,08 \pm 0,07^{***,##}$	$2,76 \pm 0,14^{***,##}$	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		$1,48 \pm 0,05^{**}$	$1,75 \pm 0,06^{**}$	$2,19 \pm 0,10$	Гептрал (50 мг/кг/сут)
Триглицериды, ммоль/л ($n = 24$)	$1,70 \pm 0,02$	$0,31 \pm 0,02^{000}$	$0,42 \pm 0,03^{000}$	$1,53 \pm 0,06^{\circ}$	Контроль
		$0,71 \pm 0,05^{***,##}$	$1,04 \pm 0,07^{***,##}$	$2,07 \pm 0,10^{***,##}$	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		$0,49 \pm 0,03^{***}$	$0,63 \pm 0,04^{***}$	$1,68 \pm 0,07$	Гептрал (50 мг/кг/сут)
Билирубин общий, мкмоль/л ($n = 24$)	$6,21 \pm 0,05$	$16,3 \pm 0,2^{000}$	$12,7 \pm 0,3^{000}$	$9,8 \pm 0,1^{000}$	Контроль
		$9,3 \pm 0,3^{***,##}$	$7,4 \pm 0,2^{***,##}$	$4,1 \pm 0,1^{***,##}$	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		$10,9 \pm 0,3^{***}$	$8,9 \pm 0,2^{***}$	$6,0 \pm 0,2^{***}$	Гептрал (50 мг/кг/сут)
Билирубин не-прямой, мкмоль/л ($n = 24$)	$1,81 \pm 0,01$	$7,01 \pm 0,15^{000}$	$5,73 \pm 0,11^{000}$	$3,42 \pm 0,06^{000}$	Контроль
		$3,19 \pm 0,06^{***,##}$	$2,47 \pm 0,04^{***,##}$	$1,23 \pm 0,02^{***,##}$	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		$3,59 \pm 0,07^{***}$	$3,04 \pm 0,05^{***}$	$2,14 \pm 0,03^{***}$	Гептрал (50 мг/кг/сут)
Мочевина, ммоль/л ($n = 24$)	$8,21 \pm 0,06$	$21,6 \pm 1,4^{000}$	$15,4 \pm 0,4^{000}$	$9,6 \pm 0,2^{000}$	Контроль
		$12,6 \pm 0,3^{***,##}$	$9,3 \pm 0,2^{***,##}$	$7,1 \pm 0,1^{***,##}$	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		$16,7 \pm 0,5^{***}$	$11,9 \pm 0,4^{***}$	$8,1 \pm 0,2^{***}$	Гептрал (50 мг/кг/сут)
Креатинин, мкмоль/л ($n = 24$)	$46,8 \pm 0,2$	$112,2 \pm 2,6^{000}$	$76,3 \pm 1,1^{000}$	$63,6 \pm 0,8^{000}$	Контроль
		$57,4 \pm 0,9^{***,##}$	$53,2 \pm 0,7^{***,##}$	$43,7 \pm 0,4^{***,##}$	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		$65,9 \pm 1,1^{***}$	$63,2 \pm 0,9^{***}$	$50,1 \pm 0,6^{***}$	Гептрал (50 мг/кг/сут)

2,5 раза и на 10 сут — в 1,4 раза (даже выше исходного уровня).

Гептрал (50 мг/кг/сут) увеличивал уровень общего холестерина на 5 и 7 сут в 1,4 раза ($p < 0,01$), достоверно не влияя на этот показатель на 10 сут. Концентрацию триглицеридов он увеличивал на 5 и 7 сут в 1,6 и 1,5 раза, соответственно, также достоверно не влияя на данный показатель на 10 сут.

По выраженности действия в отношении повышения содержания общего холестерина 3-ГПА превосходил гептрал на 5–7 сут в 1,2 раза и на 10 сут — в 1,3 раза, а в отношении увеличения концентрации триглицеридов на 5 сут — в 1,4 раза ($p < 0,01$), на 7 сут — в 1,7 раза ($p < 0,001$) и на 10 сут — в 1,2 раза ($p < 0,05$).

Было обнаружено, что в плазме крови отмечается повышение содержания мочевины (главный конечный продукт обмена белков, синтезируемый в печени) и креатинина (табл. 3). Так, на 5 сут уровень мочевины и креатинина в плазме увеличивался в 2,6 и 2,4 раза, соответственно, по сравнению с группой интактных крыс. На 7 сут концентрация мочевины и креатинина превышала исходный уровень в 1,9 и 1,6 раза, соответственно, а на 10 сут — в 1,2 и 1,4 раза, соответственно (табл. 3).

3-ГПА (30 мг/кг/сут) уменьшал уровень мочевины на 5–7 сут в 1,7 раза и на 10 сут — в 1,4 раза (даже ниже исходного уровня). Концентрацию креатинина он снижал на 5 сут в 2 раза, соответственно, на 7 сут — в 1,4 раза и на 10 сут — в 1,5 раза (даже ниже исходного уровня).

Гептрал (50 мг/кг/сут) уменьшал уровень мочевины на 5 и 7 сут в 1,3 раза, а на 10 сут — в 1,2 раза. Концентрацию креатинина он снижал на 5 сут в 1,7 раза, на 7 сут — в 1,2 раза и на 10 сут — в 1,3 раза.

По выраженности действия в отношении уменьшения уровня мочевины 3-ГПА превосходил гептрал на 5–7 сут в 1,3 раза и на 10 сут — в 1,1 раза, а в отношении снижения концентрации креатинина на 5 сут — в 1,1 раза, на 7 сут — в 1,2 раза и на 10 сут — в 1,1 раза ($p < 0,001$).

Хорошо известно, что поражение паренхимы печени сопровождается снижением образования креатинина и мочевины. Поэтому естественно было бы наблюдать падение концентрации креатинина и мочевины в крови, а не возрастание их содержания. В этот факт, безусловно, определенный вклад вносит цитоллиз гепатоцитов. Однако ведущую роль играет острое поражение почек CCl_4 , наблюдаемое одновременно с поражением печени [12]. Следует подчеркнуть, что креатинин — биохимический маркер поражения почек (выделяется только клубочками и не подвергается реабсорбции в канальцах почек).

Таким образом, 3-ГПА в дозе 30 мг/кг/сут оказывает выраженное гепатопротекторное действие у крыс с острым токсическим гепатитом, вызванным CCl_4 , снижая проявление синдромов поражения печени (цитолиза — АСТ, АЛТ и ГГТП; холестаза — ЩФ, ГГТП, общий и непрямой билирубин; синдрома недостаточности синтетических процессов в гепатоцитах — общий белок, альбумины, общий холестерин, триглицериды, мочевина и креатинин), почек (мочевина и креатинин), а также энзимной токсемии (α -амилаза) на 5 и 7 сут исследования, а на 10 сут нормализуя указанные показатели до исходных значений (или даже превосходя их). При этом по выраженности действия он превосходит препарат сравнения гептрал (50 мг/кг/сут).

Данные о динамике показателей ПОЛ и отражающие состояние системы эндогенной антиоксидантной защиты

Таблица 4. Влияние 3-ГПА и препарата сравнения гептрала (профилактическое введение) на динамику некоторых показателей ПОЛ и антиоксидантных ферментов в крови у крыс с острым токсическим гепатитом, вызванным тетрахлорметаном ($M \pm m$)

Показатель	Интактные крысы	Срок исследования			Группа
		5 сут ($n = 10$)	7 сут ($n = 10$)	10 сут ($n = 10$)	
ДК, нмоль/мл	1,8 ± 0,1 ($n = 12$)	11,7 ± 0,6 ⁰⁰⁰	9,3 ± 0,5 ⁰⁰⁰	4,3 ± 0,2 ⁰⁰⁰	Контроль
		6,8 ± 0,3 ^{***,##}	4,1 ± 0,2 ^{***,###}	1,5 ± 0,1 ^{***,#}	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		8,6 ± 0,4 ^{***}	6,0 ± 0,3 ^{***}	1,8 ± 0,1 ^{***}	Гептрал (50 мг/кг/сут)
Основания Шиффа, отн. ед.	20,2 ± 0,2 ($n = 12$)	137,3 ± 4,0 ⁰⁰⁰	129,6 ± 2,3 ⁰⁰⁰	46,6 ± 1,2 ⁰⁰⁰	Контроль
		91,7 ± 3,5 ^{***,#}	39,8 ± 1,0 ^{***,###}	14,9 ± 0,3 ^{***,###}	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		105,8 ± 3,9 ^{***}	60,2 ± 1,8 ^{***}	18,3 ± 0,4 ^{***}	Гептрал (50 мг/кг/сут)
ТБК-активные продукты, нмоль/мл	2,5 ± 0,1 ($n = 12$)	18,9 ± 0,5 ⁰⁰⁰	16,3 ± 0,4 ⁰⁰⁰	6,2 ± 0,2 ⁰⁰⁰	Контроль
		9,3 ± 0,3 ^{***,###}	7,2 ± 0,2 ^{***,###}	2,0 ± 0,1 ^{***,##}	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		12,4 ± 0,4 ^{***}	10,1 ± 0,3 ^{***}	2,4 ± 0,1 ^{***}	Гептрал (50 мг/кг/сут)
Каталаза, мкат/л	53 ± 2 ($n = 12$)	193 ± 6 ⁰⁰⁰	136 ± 4 ⁰⁰⁰	109 ± 3 ⁰⁰⁰	Контроль
		85 ± 4 ^{***,##}	61 ± 3 ^{***,##}	48 ± 2 ^{***,##}	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		109 ± 5 ^{***}	78 ± 4 ^{***}	55 ± 2 ^{***}	Гептрал (50 мг/кг/сут)
СОД, ед. акт./мл эритроц.	185 ± 5 ($n = 12$)	98 ± 3 ⁰⁰⁰	132 ± 4 ⁰⁰⁰	154 ± 4 ⁰⁰⁰	Контроль
		158 ± 4 ^{***,###}	172 ± 4 ^{***,##}	194 ± 5 ^{***,#}	3-ГПА (30 мг/кг/сут)
		136 ± 3 ^{***}	153 ± 4 ^{**}	179 ± 4 ^{***}	Гептрал (50 мг/кг/сут)

по изучению таких антиоксидантных ферментов, как каталаза и СОД, представлены в табл. 4. Из нее видно, что в плазме крови крыс контрольной группы отмечалось (за счет воздействия CCl_4) значительное повышение содержания ДК, появляющихся на начальных этапах ПОЛ. Так, концентрация ДК в плазме резко увеличивалась на 5 сут в 6,5 раз по сравнению с группой интактных крыс, на 7 сут — в 5,2 раза, а на 10 сут — в 2,4 раза (табл. 4).

3-ГПА (30 мг/кг/сут) уменьшал уровень ДК на 5 сут в 1,7 раза, на 7 сут — в 2,3 раза и на 10 сут — в 2,9 раза (даже ниже исходного уровня).

Гептрал (50 мг/кг/сут) снижал концентрацию ДК на 5 сут в 1,4 раза, на 7 сут — в 1,6 раза, а на 10 сут — в 2,4 раза (до исходного уровня).

По выраженности действия в отношении уменьшения уровня ДК 3-ГПА превосходил гептрал на 5 сут в 1,3 раза ($p < 0,01$), на 7 сут — в 1,5 раза, соответственно ($p < 0,001$), и на 10 сут — в 1,2 раза ($p < 0,05$).

В плазме крови наблюдали значительное повышение содержания оснований Шиффа — вторичных продуктов взаимодействия N-концевых остатков белков, аминокислот и аминокислот фосфолипидов с альдегидами, возникающими в ходе реакций ПОЛ (табл. 4). Так, например, на 5 сут уровень оснований Шиффа в плазме крови увеличивался в 6,8 раза, по сравнению с группой интактных крыс. На 7 сут концентрация оснований Шиффа значимо превышала исходный уровень в 6,4 раза, а на 10 сут — в 2,3 раза (табл. 4).

3-ГПА (30 мг/кг/сут) значимо уменьшал уровень оснований Шиффа на 5 сут в 1,5 раза, на 7 сут — в 3,3 раза и на 10 сут — в 3,1 раза (значительно ниже исходного уровня).

Гептрал (50 мг/кг/сут) снижал концентрацию оснований Шиффа на 5 сут в 1,3 раза, на 7 сут — в 2,2 раза, а на 10 сут — в 2,5 раза (даже несколько ниже исходного уровня).

По выраженности действия в отношении уменьшения уровня оснований Шиффа 3-ГПА превосходил гептрал на 5 сут в 1,2 раза ($p < 0,05$), на 7 сут — в 1,5 раза ($p < 0,001$) и на 10 сут — в 1,2 раза ($p < 0,001$).

Установлено, что у животных контрольной группы CCl_4 вызывал на 5 – 10 сут исследования резкое повышение концентрации ТБК-активных продуктов (табл. 4). Так, на 5 сут их концентрация в плазме крови увеличивалась в 7,6 раза, по сравнению с группой интактных крыс. На 7 сут она значимо ($p < 0,001$) превышала исходный уровень в 6,5 раза, а на 10 сут — в 2,5 раза (табл. 4).

3-ГПА (30 мг/кг/сут) уменьшал концентрацию ТБК-активных продуктов на 5 сут в 2 раза, на 7 сут — в 2,3 раза и на 10 сут — в 3,1 раза (значительно ниже исходного уровня).

Гептрал (50 мг/кг/сут) уменьшал данный показатель на 5 сут в 1,5 раза, на 7 сут — в 1,6 раза, а на 10 сут — в 2,6 раза (до исходного уровня).

По выраженности действия в отношении снижения концентрации ТБК-активных продуктов 3-ГПА превосходил гептрал на 5 сут в 1,3 раза ($p < 0,001$), на 7 сут — в 1,4 раза ($p < 0,001$) и на 10 сут — в 1,2 раза ($p < 0,01$).

Выявлено, что у животных контрольной группы CCl_4 вызывал на 5 – 10 сут исследования резкое повышение

активности каталазы (табл. 4). Так, на 5 сут ее активность в плазме крови увеличивалась в 3,6 раза, по сравнению с группой интактных крыс. На 7 сут она превышала исходный уровень в 2,6 раза, а на 10 сут — в 2,1 раза (табл. 4).

3-ГПА (30 мг/кг/сут) ослаблял активность каталазы на 5 сут в 2,3 раза, соответственно, на 7 сут — в 2,2 раза и на 10 сут — в 2,3 раза (даже несколько ниже исходного уровня).

Гептрал (50 мг/кг/сут) уменьшал данный показатель на 5 сут в 1,8 раза, на 7 сут — в 1,7 раза, а на 10 сут — в 2 раза (практически полностью восстанавливая его до исходного уровня).

По выраженности действия в отношении снижения активности каталазы 3-ГПА превосходил гептрал на 5 – 7 сут в 1,3 раза ($p < 0,01$) и на 10 сут — в 1,1 раза ($p < 0,05$).

Показано, что у животных контрольной группы CCl_4 вызывал на 5 – 10 сут исследования снижение активности СОД (табл. 4). Так, на 5 сут ее активность в крови (эритроцитах) уменьшилась в 1,9 раза, по сравнению с группой интактных крыс. На 7 сут она значимо ($p < 0,001$) была ниже исходного уровня в 1,4 раза, а на 10 сут — в 1,2 раза (табл. 4).

3-ГПА (30 мг/кг/сут) повышал активность СОД на 5 сут в 1,6 раза, на 7 и 10 сут — в 1,3 раза (даже несколько выше исходного уровня).

Гептрал (50 мг/кг/сут) увеличивал данный показатель на 5 сут в 1,4 раза, на 7 сут — в 1,2 раза, а на 10 сут — в 1,2 раза (практически полностью восстанавливая его до исходного уровня).

По выраженности действия в отношении повышения активности СОД 3-ГПА превосходил гептрал на 5 сут в 1,2 раза ($p < 0,001$), на 7 – 10 сут — в 1,1 раза ($p < 0,05$).

Таким образом, 3-ГПА в дозе 30 мг/кг/сут оказывает выраженное гепатопротекторное действие у крыс с острым токсическим гепатитом, вызванным CCl_4 , уменьшая на 5 и 7 сут исследования показатели ПОЛ (содержание ДК, оснований Шиффа и ТБК-активных продуктов) и активность каталазы и повышая активность такого антиоксидантного фермента, как и СОД, а на 10 сут нормализуя указанные показатели до исходных значений (или даже превосходя их). При этом по выраженности действия он превосходит препарат сравнения гептрал (50 мг/кг/сут).

У крыс на модели острого токсического гепатита, вызванного CCl_4 , 3-ГПА в дозе 30 мг/кг/сут (ежедневно в течение 5 сут) оказывает выраженное гепатопротекторное действие, уменьшая летальность животных с 24 % (контроль) до 0 %. По выраженности действия в отношении летальности он значительно превосходит препарат сравнения гепатопротектор гептрал (50 мг/кг/сут) на 17 %. 3-ГПА нормализует все исследованные биохимические показатели, в том числе отражающие синдромы поражения печени, а именно цитолиза (АСТ, АЛТ и ГГТП), холестаза (ЩФ, ГГТП, общий и непрямой билирубин), синдрома недостаточности синтетических процессов в гепатоцитах (общий белок, альбумины, общий холестерин, триглицериды, мочевины и креатинин), почек (мочевина и креатинин) и свидетельствующие об энзимной токсемии (α -амилаза), а также показатели ПОЛ (содержание ДК, оснований Шиффа и ТБК-активных

продуктов) и состояние эндогенной антиоксидантной защитной системы (по активности таких антиоксидантных ферментов, как каталаза и СОД). При этом по выраженности действия 3-ГПА существенно превосходит гептрал (в большей дозе).

ВЫВОДЫ

1. 3-ГПА (30 мг/кг/сут) при профилактическом внутрибрюшинном введении в течение 5 сут у крыс с острым токсическим гепатитом, вызванным тетрахлометаном, оказывает выраженное гепатопротекторное действие, снижая летальность животных с 24 до 0 % и превосходя препарат сравнения гепатопротектор гептрал (50 мг/кг/сут).

2. 3-ГПА (30 мг/кг/сут профилактически внутрибрюшинно в течение 5 сут) снижает проявление синдромов поражения печени (цитоллиза — активность АСТ, АЛТ и ГГТП; холестаза — активность ЩФ, ГГТП, содержание общего и непрямого билирубина; синдрома недостаточности синтетических процессов в гепатоцитах — концентрация общего белка, альбуминов, общего холестерина, триглицеридов, мочевины и креатинина), почек (уровень мочевины и креатинина), а также энзимной токсемии (α -амилаза) на 5 и 7 сут исследования, а на 10 сут нормализуя указанные показатели до исходных значений. По выраженности действия он превосходит гептрал.

3. 3-ГПА (30 мг/кг/сут профилактически внутрибрюшинно в течение 5 сут) уменьшает на 5 и 7 сут исследования показатели ПОЛ (содержание ДК, оснований Шиффа и ТБК-активных продуктов) и активность каталазы, повышает активность СОД, а на 10 сут нормализует указанные показатели до исходных значений. По выраженности действия он превосходит гептрал.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Венгеровский, В. В. Удут, Д. В. Рейхарт, А. М. Дыгай, *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть первая, Гриф и К, Москва (2012), сс. 710 – 718.
2. *Государственный реестр лекарственных средств*. Электронный ресурс. <http://grls.rosminzdrav.ru/default.aspx> (17.07.2018 г.).
3. О. Е. Колесова, А. А. Маркин, *Лаб. дело*, № 1, 540 – 546 (1985).
4. *Лабораторные методы исследования в клинике: справочник*, В. В. Меньшиков (ред.), Москва (1987).
5. *Рациональная фармакотерапия в гепатологии: руководство для практикующих врачей*, В. Т. Ивашкин, А. О. Буевров (ред.), Литтерра, Москва (2009).
6. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть первая, Гриф и К, Москва (2012).
7. И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили, *Современные методы в биохимии*, В. Н. Орехович (ред.), Москва, Медицина (1977), сс. 66 – 68.
8. *Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (формулярная система)*, Выпуск XVII, А. Г. Чучалин, В. В. Яснецов (ред.), Видокс, Москва (2016).
9. В. В. Яснецов, Е. Г. Цублова, Вик. В. Яснецов и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **79**(2), 3 – 8 (2016).
10. T. Guo, L. Chang, Y. Xiao, Q. Liu, *PLoS One*, **10**(3), e0122124 (2015).
11. L. Li, Y. F. Zhou, Y. L. Li, et al., *World J. Gastroenterol.*, **23**(16), 2912 – 2927 (2017).
12. T. Mukai, K. Mera, K. Nishida, et al., *Biol. Pharm. Bul.*, **25**(11), 1494 – 1497 (2002).
13. I. A. Rowe, *Dig. Dis.*, **35**(4), 304 – 309 (2017).

Поступила 28.03.19

HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF A NEW 3-HYDROXYPYRIDINE DERIVATIVE

V. V. Yasnetsov¹, Yu. V. Ivanov¹, Vic. V. Yasnetsov¹, E. G. Tsublova², and S. Ya. Skachilova³

¹ Institute of Biomedical Problems, State Scientific Center of the Russian Federation, Russian Academy of Sciences, Khoroshevskoe shosse 76a, Moscow, 123007 Russia.

² Bryansk State University of Engineering and Technology, Stanke Dimitrova prosp. 3, Bryansk, 241037 Russia.

³ All-Russia Center for Safety Testing of Biologically Active Substances, ul. Kirova 23, Staraya Kupavna, Moscow oblast, 142450 Russia.

New 3-hydroxypyridine derivative 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine L-aspartate (3-HPA; 30 mg/kg per day for 5 days) produced marked hepatoprotective effect reducing lethality from 24 to 0% in rats with acute toxic hepatitis caused by carbon tetrachloride. The hepatoprotective properties of 3-HPA were also manifested in reducing liver damage syndromes of cytolysis (activity of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and g-glutamyltransferase), cholestasis (activity of alkaline phosphatase, g-glutamyltransferase, level of total and indirect bilirubin), syndrome of synthetic failure in hepatocytes (concentration of total protein, albumins, total cholesterol, triglycerides, urea and creatinine), kidney damage syndrome (urea and creatinine level), and a-amylase enzyme toxemia on the 5th and 7th day of the study, and normalization of these indicators to initial values on the 10th day. In addition, 3-HPA on the 5th and 7th day of the study reduced lipid peroxidation (content of diene conjugates, Schiff bases, and thiobarbituric acid reactive products) and catalase activity, increased the activity of superoxide dismutase, and on the 10th day normalized these indicators to baseline values. 3-HPA was more effective than the reference hepatoprotector heptral (50 mg/kg per day).

Keywords: new 3-hydroxypyridine derivative; acute toxic hepatitis; hepatoprotective effect; rats.