

ФАРМАКОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РЕАМБЕРИНА И МАФУСОЛА НА МОДЕЛЯХ ОСТРОГО ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

А. Ю. Петров², В. А. Заплутанов², Д. С. Суханов², М. Г. Романцов¹, А. Л. Коваленко²

На модели токсического поражения печени хлоридом аммония проведена сравнительная характеристика инфузионных лекарственных препаратов Реамберин и Мафусол. Реамберин способствовал более быстрой нормализации показателей за счёт роста резервных субстратных метаболитов для энергетического обмена. При алкогольной интоксикации только в группе животных, получавших Реамберин, к концу эксперимента удалось нормализовать систему антиоксидантной защиты (восстановленный глутатион, тиоловые группы) и функциональную активность печени до уровня группы контроля (здоровые животные).

Ключевые слова: токсическое поражение печени, реамберин, мафусол, меглюмина натрия сукцинат, отравление этанолом, коррекция энергетического обмена, антиоксидантная защита

ВВЕДЕНИЕ

В структуре этиологических факторов, инициирующих развитие острых токсических поражений печени, преобладают этанол и лекарственные препараты [1, 2].

Как правило, независимо от повреждающего фактора, одним из первых звеньев в цепочке патологических нарушений является мембраноповреждающий эффект, который приводит к расстройству функционирования каскада митохондриальных и микросомальных ферментов, участвующих в поддержании гомеостаза клетки, её репарации и элиминации ксенобиотиков. Следующим этапом становится нарушение энергообразования в клетке и, как следствие, избыточное образование свободных радикалов, что в свою очередь приводит к двум типичным интегральным механизмам повреждения и гибели клеток: гипоксическому и свободнорадикальному некробиозу [3]. Возникший порочный круг не даёт возможности гепатоцитам реализовать механизмы естественной цитопротекции [4]. Таким образом, весьма существенной помощью с точки зрения фармакологической коррекции для клеток печени является восстановление энергетического обеспечения и антиоксидантная цитопротекция. Наиболее перспективными по механизму действия и получению конечного результата при данном патологическом состоянии являются лекарственные препараты, содержащие интермедиаты цикла трикарбоновых кислот.

Цель исследования — сравнительная оценка гепатопротекторных свойств реамберина (меглюмина на-

трия сукцинат — МНС, калия хлорид, натрия хлорид) и мафусола (натрия фумарат, калия хлорид, магния хлорид, натрия хлорид) на экспериментальных моделях острого токсического поражения печени, индуцированных этанолом и хлоридом аммония.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе экспериментального исследования отобраны две модели острого токсического поражения печени для изучения гепатопротекторной активности электролитсодержащих растворов с субстратными компонентами цикла трикарбоновых кислот (ЦТК): реамберина, в состав которого входит N-(1-дезоксиде-глюцитол-1-ил)-N-метиламмония натрия сукцинат (меглюмина натрия сукцинат), и мафусола, содержащего натрия фумарат.

На модели отравления хлоридом аммония (ХА) крысы линии Вистар ($n = 60$) были разделены на 4 равные группы. Животным 1-й группы однократно в суточной дозе 125 мг/кг (ЛД₃₀) в изотоническом растворе хлорида натрия вводили внутривенно ХА. Животным 2-й и 3-й групп, используя те же дозы, вводили ХА, однако во 2-й группе животные дополнительно получали 2 мл 1,5 % раствора МНС (реамберин), а в 3-й — 2 мл раствора фумаровой кислоты (мафусол). В 4-й (контрольной) группе, животные получали только 0,9 % раствор хлорида натрия. Длительность эксперимента составила 7 дней, по итогам которого изучен уровень биохимических показателей у выживших животных, отражающих нарушения процессов внутриклеточного дыхания и системы перекисного окисления липидов — антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОС): пируват, 3-Д-гидроксипуруват, оксоглутарат (α -кетоглутарат), фосфоенолпируват, гли-

¹ Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И. И. Мечникова.

² ООО «Научно-технологическая фармацевтическая фирма «ПОЛИСАН», 191119, Санкт-Петербург, Лиговский пр., 112.

коген, креатинфосфат, аденозинтрифосфат (АТФ), малоновый диальдегид (МДА).

На модели отравления этанолом на протяжении 5 суток крысам линии Вистар вводили 3 раза в день в желудок этанол в дозе 4 г/кг (1/2 LD₅₀). В ходе эксперимента сформировано 4 группы по 15 животных в каждой. В 1-ой (контрольной) группе были интактные животные. Животным 2-й, 3-й и 4-й групп вводили этанол по описанной выше схеме. Начиная с 6-го дня после моделирования алкогольной интоксикации, помимо этанола животным 3-й группы вводили раствор МНС, а животным 4-й группы — раствор 5 % глюкозы в дозе 6 мл/кг 2 раза в день.

Оценивали степень выраженности воздействия этанола по показателям, отражающим систему ПОЛ-АОС (МДА, восстановленный глутатион в печени) и степень выраженности цитолиза с оценкой функциональной активности печени (АЛаТ, АСаТ, активность щелочной фосфатазы, креатинфосфат, СДГ, ЛДГ, тимоловая проба, содержание общего белка и липидов, холестерина, уровень глюкозы, интенсивность тканевого дыхания, уровень молочной кислоты).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При введении хлорида аммония в дозе ЛД₃₀ выживаемость животных в 1-й группе, не получавших терапию, составила 58,3 % против 100 % в остальных группах. Уровень гликогена печени был выше в 1,5 и 1,3 раза у животных 1-й группы (46,3 ± 1,9 %), что свидетельствует о прямом токсическом действии хло-

рида аммония на мембраны гепатоцитов и разобщение процессов фосфорилирования с нарушением включения гликогена в энергетический обмен, против более низких показателей уровня гликогена животных, получавших МНС (29,9 ± 1,8%) и мафусол (36,7 ± 1,5%), табл. 1.

У животных 1-й группы, не получавших терапию, потребность в глюкозе для работы основных жизненно важных функций привела к запуску анаплеротических реакций, направленных на создание субстратных компонентов глюконеогенеза [5]. Это проявилось снижением в 1,6 и 1,3 раза уровня пирувата печени в 1-й группе (49,2 ± 6,5 нмоль/г) по сравнению с животными, получавшими МНС (77,4 ± 8,3 нмоль/г) и мафусол (62,7 ± 3,9 нмоль/г). Показатели оксоглутарата значительно снижены у животных 1-й группы, составив 21,7 ± 2,4 нмоль/г против 91,2 ± 2,9 нмоль/г у животных 2-й группы и 89,6 ± 1,4 нмоль/г у 3-й группы. Таким образом, сдвиг показателя (Δ) был выше у животных 2-й и 3-й групп, указывая на субстратную компенсацию промежуточных компонентов цикла трикарбонных кислот, с максимальной выраженностью у животных, получавших МНС (+ 69,5).

Уровень фосфоенолпирувата (ФЕП), как промежуточного метаболита глюконеогенеза, оказался значительно выше у животных в 1-й группе (106,8 ± 1,3 нмоль/г) и в группе получавших мафусол (93,6 ± 1,7 нмоль/г), а у животных, получавших МНС (2-я группа), и в группе контроля (4) показатели ФЕП

Таблица 1. Коррекция метаболических нарушений в печени на модели ее химического повреждения хлоридом аммония

Параметры	Группы животных			
	группа 1, хлорид аммония + физиологический раствор	группа 2, МНС + хлорид аммония	группа 3, мафусол + хлорид аммония	группа 4, физиологический раствор (контроль)
Число выживших животных, %	58,3	100	100	100
Гликоген печени, %	46,3 ± 1,9	29,9 ± 1,8	36,7 ± 1,5	29,2 ± 0,5
Пируват печени, нмоль/г	49,2 ± 6,5	77,4 ± 8,3	62,7 ± 3,9	85,7 ± 1,1
Сдвиг показателя Δ		+ 28,2*	+ 13,5	+ 36,5**
3-Д-гидроксибутират в печени, нмоль/г	48,8 ± 3,2	98,6 ± 1,9	92,4 ± 1,6	156,3 ± 2,6
Сдвиг показателя Δ		+ 49,8*	+ 43,6*	+ 107,5*
Оксоглутарат печени, нмоль/г	21,7 ± 2,4	91,2 ± 2,9	89,6 ± 1,4	86,4 ± 2,2
Сдвиг показателя Δ		+ 69,5*	+ 67,9*	+ 64,7*
Фосфоенолпируват, нмоль/г	106,8 ± 1,3	72,7 ± 1,6	93,6 ± 1,7	78,4 ± 1,2
Сдвиг показателя Δ		- 34,1*	- 13,2*	- 28,4*
Креатинфосфат, мкм/г	0,92 ± 0,05	2,2 ± 0,14	1,74 ± 0,2	2,4 ± 0,08
Сдвиг показателя Δ		+ 1,28*	+ 0,82	+ 1,48*
АТФ, нмоль/г	659 ± 16	1490 ± 42	1376 ± 66	1800 ± 45
Сдвиг показателя Δ		+ 831*	+ 717*	+ 1141*
МДА, нмоль/г	5,7 ± 0,6	3,2 ± 0,4	4,9 ± 0,9	2,2 ± 0,7
Сдвиг показателя Δ		- 2,5*	- 0,8*	- 2,2*

Примечание.

* сдвиг показателя (Δ) — разница между группами животных контроля, а также получавших реамберин и мафусол, по сравнению с 1-й группой животных, получавших только хлорид аммония.

Таблица 2. Функциональное состояние печени животных при интоксикации этанолом

Показатели	Группы животных и препараты для лечения интоксикации этанолом			
	1-я группа животных, не получавших лечения, $n = 15$	2-я группа животных, получавших МНС, $n = 15$	3-я группа животных, получавших 5 % раствор глюкозы, $n = 15$	Интактные животные (контроль) $n = 15$
Общий белок, г/л	40 ± 4	58 ± 6	46 ± 6	64 ± 2
АЛаТ, мккат/л	1,6 ± 0,1	0,20 ± 0,03	0,3 ± 0,06	0,52 ± 0,08
Δ		- 1,4*	- 1,3*	- 1,28*
АСаТ, мккат/л	0,98 ± 0,12	0,72 ± 0,06	0,88 ± 0,12	0,60 ± 0,05
Δ		- 0,26*	- 0,10*	- 0,38*
Щелочная фосфатаза, мккат/л	2,12 ± 0,2	0,73 ± 0,08	0,96 ± 0,14	0,69 ± 0,10
Δ		- 1,39*	- 1,16*	- 1,43*
Гликоген, мг %	850 ± 80	2000 ± 150	1800 ± 20	2500 ± 100
Δ		+ 1150*	+ 950*	+ 1650,0*

Примечание.

* сдвиг показателя (Δ) — разница между группами животных контроля, а также получавших реамберин и 5 % р-р глюкозы, по сравнению с 1-ой группой животных, получавших только этанол.

были ниже и сопоставимы (Δ – 34,1 и – 28,4 в сравнении с животными 1-й группы). Очевидно, неспособность ФЕП метаболизироваться связана с нарушением процессов фосфорилирования в последующем каскаде биохимических реакций. Меглюмина натрия сукцинат увеличивает биодоступность интермедиатов цикла трикарбоновых кислот путём поляризации клеточной мембраны с последующим проникновением янтарной кислоты в митохондрии, объясняя нормализацию уровня ФЕП у животных 2-й группы (реамберин) по сравнению с животными 1-й и 3-й групп.

У животных, которым применяли фармакологическую коррекцию, повышение уровня оксоглутарата при снижении уровня ФЕП указывает на преобладание аэробного окисления за счёт активизации процессов окислительного фосфорилирования. Сдвиг этих

показателей метаболизма свидетельствует об активации окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты (ПВК) с последующим включением Ацетил-СоА в ЦТК с активацией функционирования ферментов дыхательной цепи [6].

Разобщённость энергетических процессов вследствие острого токсического воздействия хлоридом аммония на фоне отсутствия терапевтической коррекции у животных 1-й группы привела к снижению кофермента энергетического обмена — АТФ (659 ± 16 нмоль/г) в 1,7 раза в сравнении с контролем, в то время как у животных 2-й и 3-й групп показатели АТФ были выше (1490 ± 42 и 1376 ± 66 нмоль/г).

Быстрое восстановление АТФ возможно путём переноса фосфатной группы креатинфосфата (КФ) на АДФ, однако этот резервный потенциал носит кратко-

Таблица 3. Коррекция нарушений метаболизма у животных при интоксикации этанолом

Показатели	Группы животных и препараты для лечения интоксикации этанолом			
	1-я группа животных, не получавших лечения, $n = 15$	2-я группа животных, получавших реамберин, $n = 15$	3-я группа животных, получавших 5 % раствор глюкозы, $n = 15$	Интактные животные (контроль), $n = 15$
Молочная кислота, кровь, мг %	35 ± 5	15 ± 5	25 ± 5	20 ± 5
Δ		- 20,0	- 10,0	- 15
СДГ, печень, мкг/г/белка/ч	210 ± 30	480 ± 50	280 ± 20	500 ± 50
Δ		+ 270	+ 70	+ 290
Креатинфосфокиназа, мккат/л	1,98 ± 0,2	0,77 ± 0,09	0,96 ± 0,11	0,74 ± 0,12
Δ		- 1,21*	- 1,02*	- 1,24*
Лактатдегидрогеназа, моль/ч/л	6,9 ± 0,36	4,9 ± 0,4	6,7 ± 0,4	4,9 ± 0,3
Δ		- 2,0*	- 0,2*	- 2,0*
Интенсивность тканевого дыхания, печень, мкл/О ₂ /100	42 ± 6	80 ± 10	50 ± 10	85 ± 5
Δ		+ 38	+ 8	+ 43

Примечание.

* сдвиг показателя (Δ) — разница между группами животных контроля, а также получавших реамберин и 5 % р-р глюкозы, по сравнению с 1-ой группой животных, получавших только этанол.

временный характер, проявляясь снижением уровня КФ у животных 1-й группы ($0,92 \pm 0,05$ мкм/г) по сравнению с животными, получавшими МНС ($\Delta + 1,28$), мафусол ($\Delta + 0,82$), и группой контроля ($\Delta + 1,48$). Необходимо отметить, что у животных 2-й группы уровень КФ сопоставим с таковым группы контроля (4), указывая на положительное влияние реамберина на энергообмен с пополнением резервных эндогенных субстратных источников макроэргов.

При длительном “энергетическом голодании” (на протяжении 10 дней) основными энергоносителями становятся кетоновые тела, синтезируемые в митохондриях печени [7]. Этим объясняется самый низкий уровень 3-Д-гидроксibuтирата у животных 1-й группы ($48,8 \pm 3,2$ нмоль/г) по сравнению с животными группы контроля ($156,3 \pm 2,6$ нмоль/г). Уровень 3-Д-гидроксibuтирата у животных с фармакологической коррекцией выше, чем в 1-й группе, но так и не достиг величин контрольных значений. Очевидно, на фоне интоксикации хлоридом аммония возросла потребность нервной ткани в кетоновых телах как в резервных энергоносителях.

Уровень малонового диальдегида (МДА) у животных 1-й группы повышен в 2,6 раза по сравнению с животными группы контроля (4), указывая на нарушение системы антиоксидантной защиты.

У животных, получавших мафусол, к окончанию лечения уровень МДА не достиг показателей нормы ($4,9 \pm 0,9$ нмоль/г), а у животных, получавших МНС, нормализовался. На фоне применения МНС отмечено значительное снижение (в 2,5 раза) уровня МДА, что указывает на выраженное торможение процессов перекисного окисления липидов (табл. 1).

На модели острой алкогольной интоксикации выявлено нарушение функционального состояния печени, особенно у животных 1-й группы, на что указывает повышение ферментов — маркеров цитолиза и холестаза: АСаТ до $0,98 \pm 0,12$ мккат/л, АЛаТ до $1,6 \pm 0,1$ мккат/л, ЩФ до $2,12 \pm 0,2$ мккат/л (табл. 2).

Лишь у животных, получавших 5 % раствор глюкозы, отмечалась тенденция к восстановлению показателей уровня ферментов. Только у животных 2-й группы, получавших реамберин, показатели, отражающие цитолиз, достигли уровня контрольных значений (табл. 2). У животных, не получавших терапию (1 группа), отравление этанолом нарушило белоксинтезирующую функцию печени (ОБ 40 ± 4 г/л), как и у животных 3-й группы, получавших глюкозу (ОБ 58 ± 6 г/л), что связано с угнетением энергообразования и торможением процессов биосинтеза белка на рибосомах. У животных, получавших реамберин, белоксинтезирующая функция сохранялась (ОБ 58 ± 6 г/л) и была сопоставима с уровнем контроля (ОБ 64 ± 2 г/л). Этим же объясняется более высокий уровень гликогена в печени животных 2-й группы (2000 ± 150 мг %) по сравнению с животными 1-й и 3-й групп (табл. 2).

В группе животных (1), подвергшихся интоксикации этанолом и не получавших лечения, выявлено увеличение содержания молочной кислоты выше нормы в 1,8 раза, повышение в 1,4 раза активности лактатдегидрогеназы (“отрицательный” эффект Пастера), табл. 3. Отмечено усиление активности фермента цитолиза — креатинфосфокиназы. Уровень сукцинатдегидрогеназы, по сравнению с группой контроля, снизился в 2,4 раза, указывая на преобладание процессов анаэробного окисления субстратов, проявляясь снижением интенсивности тканевого дыхания до 42 ± 6 мкл/О₂/100. В 2,4 раза, в сравнении с нормой, снизился уровень сукцинатдегидрогеназы (табл. 3), подтверждая преобладание процессов анаэробного окисления субстратов. В группе животных, получавших реамберин, интенсивность тканевого дыхания нормализовалась и сопоставлялась с аналогичными показателями животных группы контроля (табл. 3).

Реамберин, содержащий сукцинат, способствовал восстановлению аэробного окисления субстратов и белоксинтезирующей функции печени. Нормализация процессов у животных 2-й группы достигнута благодаря наличию мембраностабилизирующего действия

Таблица 4. Функциональное состояние системы ПОЛ-АОС у животных на экспериментальной модели интоксикацией этанолом

Показатели	Группы животных и препараты для лечения интоксикации этанолом			
	1-я группа животных, не получавших лечения, $n = 11$	2-я группа животных, получавших реамберин, $n = 11$	3-я группа животных, получавших 5 % раствор глюкозы, $n = 11$	Интактные животные (контроль), $n = 11$
Тиоловые группы, мг %	440 ± 40	990 ± 50	486 ± 40	1650 ± 90
Δ		+ 550*	+ 46,0*	+ 1210,0*
Церулоплазмин, мг/л	840 ± 60	470 ± 30	670 ± 90	$430 \pm 22,0$
Δ		- 370,0*	- 170,0*	- 410,0*
Восстановленный глутатион, мг/%	80 ± 10	130 ± 10	100 ± 10	$160 \pm 5,0$
Δ		+ 50,0*	+ 20,0*	+ 80,0*

Примечание:

* сдвиг показателя (Δ) — разница между группами животных контроля, а также получавших реамберин и 5 % р-р глюкозы, по сравнению с 1-ой группой животных, получавших только этанол.

МНС, что доказывается оценкой состояния системы ПОЛ-АОС (табл. 4). Среди групп животных, получавших этанол, наиболее выраженная антиоксидантная активность была у животных 2-й группы (МНС), что проявилось в более высоком уровне тиоловых групп по сравнению с животными в 1-й (в 2,25 раза) и в 3-й (в 2 раза) группах. Высокий уровень восстановленного глутатиона у животных 2-й группы свидетельствует о высокой антиоксидантной активности реамберина. У животных 1-й и 3-й групп отмечалось снижение уровня тиоловых групп и восстановленного глутатиона по сравнению с животными группы контроля и животными, получавшими реамберин. Уровень “положительного” белка острой фазы церулоплазмينا у животных 1-й и 3-й групп был повышен (в 1,9 и 1,5 раза соответственно) по сравнению с животными группы контроля, указывая на продолжающийся процесс оксидативного стресса. Таким образом, благодаря фармакологической коррекции реамберинотом только у животных 2-й группы удалось нормализовать показатели системы ПОЛ-АОС, функционального состояния печени и энергетического метаболизма за счёт положительного терапевтического эффекта меглюмина натрия сукцината.

ВЫВОДЫ

1. При остром токсическом поражении печени, несмотря на разные этиологические факторы, имеет место цитолиз, обусловленный начальными механизмами гипоксического и свободнорадикального некробиоза.

2. При отравлении хлоридом аммония препараты, содержащие интермедиаты цикла трикарбоновых кислот (реамберин, мафусол) показали положительный терапевтический эффект, что выразилось в увеличении АТФ за счёт стабилизации показателей углеводного и энергетического обмена (гликоген, пируват, оксоглутарат).

3. На модели алкогольной интоксикации в группе животных, получавших реамберин, к окончанию эксперимента удалось восстановить показатели, характеризующие функциональную активность печени и систему ПОЛ-АОС (восстановленный глутатион, тиоловые группы).

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. А. Ушкалова, *Врач*, № 3, 22 – 26 (2007).
2. Irwin M. Arias, Harvey J. Alter, James I. Boyer, et al., *The liver biology and pathobiology*, WILEY-BLACKWELL, USA (2009).
3. А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов, *Общая патофизиология с основами иммунопатологии*, ЭЛБИ-СПБ, Санкт-Петербург (2008).
4. Т. Г. Кожока, *Лекарственные средства в фармакотерапии патологии клетки*, Москва (2007).
5. Я. Кольман, К.-Г. Рём, *Наглядная биохимия*, Мир; БИНОМ Лаборатория знаний, Москва (2009).
6. А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов, *Патохимия*, ЭЛБИ-СПБ, Санкт-Петербург (2009).
7. А. Е. Гаврилова, В. В. Смирнов, *Медицина неотложных состояний*, № 4, 98 – 108 (2011).

Поступила 24.10.11

COMPARATIVE EVALUATION OF REAMBERIN AND MAFUSOL ON ACUTE TOXIC LIVER DAMAGE MODELS

A. Yu. Petrov¹, V. A. Zaplutanov¹, D. S. Sukhanov¹, M. G. Romantsov², and A. L. Kovalenko¹

¹ POLISAN Research and Technology Company, Ligovskii prosp. 112, St. Petersburg, 191119, Russia

² Mechnikov State Medical Academy, Piskarevskii prosp. 47, St. Petersburg, 195067, Russia

Comparative evaluation of the infusion of reamberin and mafusol has been carried out on the model of toxic liver damage caused by ammonium chloride. Reamberin contributed to more rapid normalization of indices due to an increase in the substrate reserve for energy metabolism. In a group of animals with alcohol intoxication, only the treatment with Reamberin allowed the system of antioxidant protection (reduced glutathione, thiol groups) and functional activity of the liver to be normalized by the end of experiments on a level of the control group (intact animals).

Key words: Toxic liver damage, reamberin, mafusol, meglumine sodium succinate, ethanol poisoning, correction of energy metabolism, antioxidant protection