

## ВЛИЯНИЕ МЕКСИДОЛА НА ФУНКЦИИ И СТРУКТУРУ ПЕЧЕНИ, ПАРАМЕТРЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ГИПОДИНАМИИ

О. Ю. Катикова<sup>1</sup>

Установлено, что у кроликов в условиях полноценного питания при 30-дневной гиподинамии формируется нарушение структуры и функций печени по типу неалкогольной жировой болезни. Выявлено повышение активности ферментов аспаратаминотрансферазы (АЛТ) и аланинаминотрансферазы (АСТ), снижение содержания общего белка, преимущественно за счет альбумина. Развитие синдрома мезенхимального воспаления проявляется относительным ростом белковых  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  и  $\gamma$ -фракций. Выраженные нарушения липидного обмена проявились ростом в сыворотке крови содержания  $\beta$ -липопротеидов, триглицеридов, общего холестерина, ЛПНП, снижением уровня ЛПВН. Увеличение содержания МДА сочеталось со снижением активности каталазы в сыворотке крови и эритроцитах. Морфологически в ткани печени обнаружен диффузный мелко- и крупнокапельный стеатоз, наиболее выраженный в центральных зонах долек. Цитохром С и мексидол в различной степени уменьшают выраженность, а в ряде случаев предотвращают развитие патологических изменений.

**Ключевые слова:** мексидол, иммобилизация, печень, антиоксидант

### ВВЕДЕНИЕ

Малоподвижный образ жизни, сочетающийся с неограниченным питанием, способствует увеличению массы тела за счет роста жировой ткани. В США 65 % популяции страдает избыточным весом, 31 % имеет ожирение [9]. В настоящее время не менее 30 % трудоспособного населения России имеет избыточную массу тела, из них 25 % страдает ожирением [2]. Метаболические расстройства на фоне висцерально-абдоминального типа ожирения способствуют развитию “жирной печени” [1, 14, 15]. Нераспознанная неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) уверенно, до 25 % случаев, занимает нишу криптогенного цирроза печени, т.е. “неясной этиологии” [12]. Своевременное распознавание жирового гепатоза и коррекция метаболических нарушений позволяет предотвратить воспаление и следующее за стеатогепатитом более серьезное необратимое поражение печени в виде фиброза. Целью данного исследования явилось изучение влияния антиоксидантного препарата мексидола (3-окси-6-метил-2-этилпиридина сукцинат) в сравнении с цитохромом С на функцию и структуру печени, параметры ПОЛ кроликов при 30-дневной гипокинезии на фоне полноценного сбалансированного питания.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Иммобилизацию кроликов-самцов породы шиншилла массой  $2,5 \pm 0,5$  кг в течение 30 суток производили, помещая животных в клетку малого объема [5]. Обычный пищевой рацион включал зерно, корнеплоды, траву, сено. Интактную группу составили 7 кроликов, содержащихся в обычных условиях вивария. Воздействие иммобилизационного стресса изучали на 33 животных. Контрольную группу составили 15 животных, находящихся в клетке малого объема. В краевую вену уха кроликов контроль-

ной группы со вторых суток иммобилизации вводили 1 мл дистиллированной воды ежедневно. Опытной группе из 9 кроликов, находящихся в клетке малого объема, ежедневно, начиная со вторых суток иммобилизации в краевую вену уха вводили мексидол в дозе 1 мг/кг 1 раз в сутки. Группе сравнения (9 кроликов) аналогично вводили цитохром С в дозе 0,125 мг/кг 1 раз в сутки. До ограничения подвижности и на 30-е сутки эксперимента проводили биохимические исследования крови, забираемой из краевой вены уха, с определением в сыворотке и эритроцитах содержания МДА по реакции с ГБК, каталазы (КТ) [6], общего белка, альбумина, белковых фракций, общего холестерина, общих липидов,  $\beta$ -липопротеидов, триглицеридов (ТГ), ЛПНП, ЛПВП со стандартным набором реактивов фирмы “Лахема” (Чехия), активности АсАТ, АлАТ с набором реактивов Hospitex Diagnostic (Швеция) на полуавтоматическом анализаторе Hospitex Screen master plus (Швеция). Рассчитывали холестеринный коэффициент атерогенности (КА) по Климову А. Н. [8]. По завершении эксперимента животных забивали гильотинным методом, предварительно введя летальную дозу тиопентал-натрия (100 мг/кг в вену). Проводили морфологические и морфометрические исследования срезов печени, окрашенных гематоксилином и эозином. Выраженность патологических изменений оценивали полуколичественными методами по составным компонентам гистологического индекса степени активности (ГИСА) [7, 11]. Результаты эксперимента обработаны методами вариационной статистики.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ограничение двигательной активности кроликов контрольной группы стало причиной гибели 3 животных (20 %). Причиной летальности явился тромбоз сосудов, вызвавший геморрагический инсульт, острый инфаркт миокарда, инфарктную пневмонию, ишемию и некроз кишечника. Гибель животных констатирована на 7, 8 и 13-е сутки. Очевидно, иммобилизация животных способ-

<sup>1</sup> Филиал “Клиническая фармакология” Государственного учреждения НЦ биомедицинских технологий РАМН, Москва, 101000, Петровский бульвар, 8.

ствовала развитию гиперкоагуляционных сдвигов на фоне снижения антикоагулянтной и фибринолитической активности, что реализовало угрозу развития диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. Это согласуется с результатами исследования [13]. Все животные групп, где применяли мексидол или цитохром С выжили.

Во всех трех группах с иммобилизацией отмечается незначительное увеличение массы животных. Так, увеличение массы тела в контрольной группе, группах применения мексидола и цитохрома С отмечалось у 75 % (9 животных из 12 выживших), 66,7 % (6 — из 9) и 66,7 % (6 — из 9), соответственно. Среднее увеличение в группах было одинаковым (на 8,4 % от исходной массы) и составило  $210 \pm 60$  г. Такое незначительное увеличение массы тела при 30-дневной гипокинезии можно объяснить разнонаправленностью процессов аккумуляции жировой ткани подкожной клетчаткой и внутренними органами и гипотрофией, снижением тонуса и ограничением синтетических и репаративных процессов в мышечной ткани. У 92 % (11 из 12) животных контрольной группы, 89 % (8 из 9) животных группы применения цитохрома С, 78 % (7 из 9) животных группы применения мексидола отмечается относительно более выраженное увеличение массы печени. Масса печени животных в контрольной

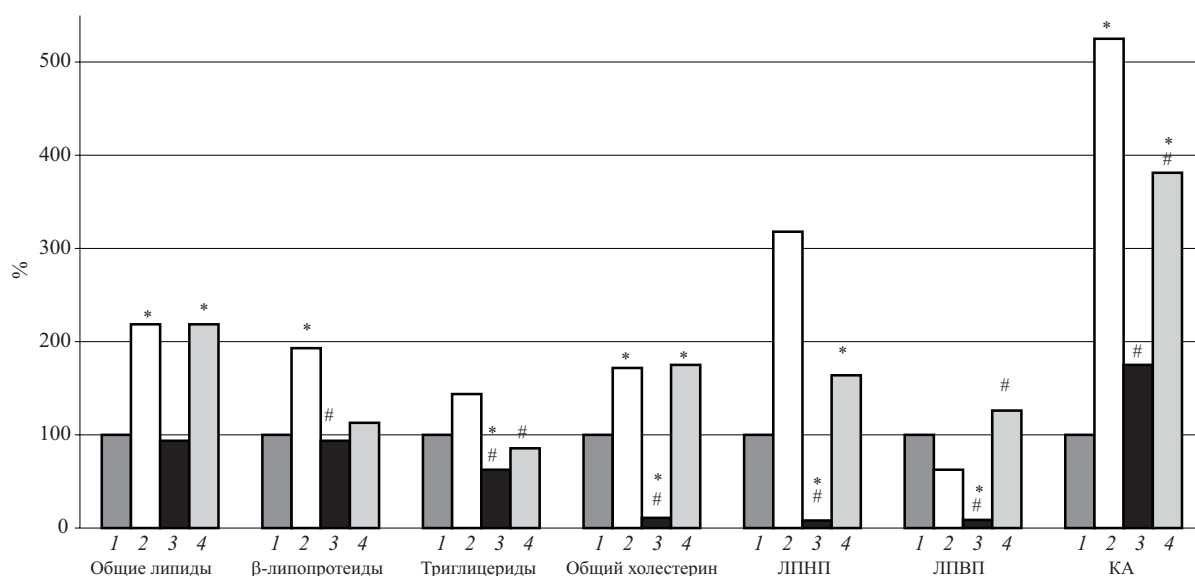
группе увеличилась на 18 % ( $p < 0,01$ ), у животных группы применения цитохрома С — на 15,3 % ( $p < 0,05$ ), мексидола — на 14,8 % ( $p < 0,05$ ). Увеличение массы печени кроликов можно объяснить явлением застойного венозного полнокровия у иммобилизованных животных, а также увеличением липидных включений в гепатоцитах.

В контрольной группе отмечается рост активности АСТ и АЛТ на 36,7 и 35,4 % соответственно (таблица). Коэффициент де Ритиса у интактных животных и в опытных группах до иммобилизации составил в среднем  $0,63 \pm 0,04$ . В контрольной группе на 30-е сутки иммобилизации он имел значение  $0,74 \pm 0,05$ . У 5 (42 %) животных выявлен инфаркт миокарда на ЭКГ (наличие зубца Q), у 7 (58 %) — признаки ишемии (смещение интервала R-ST). Поэтому умеренной степени гиперферментемии можно расценивать и как следствие цитолиза гепатоцитов, и некроза в сердечной мышце на фоне микротромбозов. При применении цитохрома С отмечается менее выраженный рост активности АСТ. Активность АЛТ выросла значительно. Коэффициент де Ритиса составил  $0,46 \pm 0,06$ . Значительно чаще при наличии стеатогепатита повышен уровень аланиновой трансминазы, чем аспартаттрансминазы [9]. Обратное взаимоотношение свидетельствует о глубоких метаболических нарушениях при НАЖБП. Более выраженный рост активности АЛТ и

#### Влияние цитохрома С и мексидола на лабораторные показатели ФПП, ПОЛ, белкового обмена сыворотки и эритроцитов крови кроликов при 30-суточной гиподинамии ( $M \pm m$ )

| Лабораторный показатель                                     | Контроль         |                              | Цитохром С<br>(0,125 мг/кг/сут в вену) |                                 | Мексидол<br>(1 мг/кг/сут в вену) |                                 |
|---|------------------|------------------------------|--|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
|   | Исходные данные  | 30-суточная гиподинамия      | Исходные данные                        | 30-суточная гиподинамия         | Исходные данные                  | 30-суточная гиподинамия         |
| Активность АСТ, ммоль/л<br>% изменений                      | $0,60 \pm 0,02$  | $0,82 \pm 0,05^*$<br>36,7    | $0,39 \pm 0,07$                        | $0,50 \pm 0,06$<br>28,2         | $0,26 \pm 0,02$                  | $0,21 \pm 0,03^{\#}$<br>- 19,2  |
| Активность АЛТ, ммоль/л,<br>% изменений                     | $0,82 \pm 0,10$  | $1,11 \pm 0,1^*$<br>35,4     | $0,70 \pm 0,07$                        | $1,09 \pm 0,10^*$<br>55,7       | $0,82 \pm 0,09$                  | $0,52 \pm 0,04^{\#}$<br>- 35,6  |
| Содержание МДА, ммоль/л,<br>% изменений                     | $1,80 \pm 0,08$  | $4,12 \pm 0,17^*$<br>128,9   | $1,82 \pm 0,08$                        | $4,19 \pm 0,50^*$<br>130,2      | $1,87 \pm 0,02$                  | $1,56 \pm 0,10^{\#}$<br>- 16,6  |
| Содержание МДА эритроцитов,<br>ммоль/л, % изменений         | $2,40 \pm 0,32$  | $2,81 \pm 0,40$<br>17,1      | $2,40 \pm 0,30$                        | $2,99 \pm 0,42$<br>24,6         | $2,40 \pm 0,31$                  | $1,26 \pm 0,18^{*\#}$<br>- 47,5 |
| Активность каталазы,<br>мккат/мл/с, % изменений             | $0,638 \pm 0,09$ | $0,30 \pm 0,09^*$<br>- 53,0  | $0,640 \pm 0,09$                       | $1,20 \pm 0,10^{*\#}$<br>87,5   | $0,460 \pm 0,04$                 | $0,25 \pm 0,01^*$<br>- 45,7     |
| Активность каталазы эритроцитов,<br>мккат/мл/с, % изменений | $2,77 \pm 0,28$  | $1,35 \pm 0,39^*$<br>- 51,3  | $3,7 \pm 0,42$                         | $4,93 \pm 0,72^{*\#}$<br>33,2   | $3,48 \pm 0,37$                  | $1,82 \pm 0,68^*$<br>- 47,7     |
| Содержание общего белка, г/л,<br>% изменений                | $63,80 \pm 1,69$ | $57,20 \pm 1,57^*$<br>- 10,4 | $58,80 \pm 1,77$                       | $65,80 \pm 2,08^*$<br>11,9      | $61,60 \pm 0,60$                 | $66,37 \pm 1,63^{\#}$<br>7,7    |
| Содержание альбумина, %,<br>% изменений                     | $58,7 \pm 3,9$   | $49,3 \pm 2,4^*$<br>- 16,01  | $63,50 \pm 1,73$                       | $53,5 \pm 2,20^{\#}$<br>- 15,75 | $58,66 \pm 3,90$                 | $58,53 \pm 1,91^{\#}$<br>- 0,22 |
| Содержание альбумина, г/л,<br>% изменений                   | $36,01 \pm 1,80$ | $28,40 \pm 1,95^*$<br>- 21,1 | $41,10 \pm 2,90$                       | $35,30 \pm 2,50$<br>- 14,1      | $36,01 \pm 1,80$                 | $39,02 \pm 1,97^{\#}$<br>8,4    |
| Содержание $\alpha_1$ -глобулина, %,<br>% изменений         | $4,46 \pm 0,40$  | $5,55 \pm 0,47^*$<br>24,4    | $5,02 \pm 0,77$                        | $4,0 \pm 0,39$<br>20,3          | $4,46 \pm 0,40$                  | $2,58 \pm 0,13^{\#}$<br>- 42,2  |
| Содержание $\alpha_2$ -глобулина, %,<br>% изменений         | $9,71 \pm 1,10$  | $11,4 \pm 0,33$<br>17,4      | $9,7 \pm 1,0$                          | $14,94 \pm 1,85^*$<br>54,0      | $9,71 \pm 1,10$                  | $15,68 \pm 1,32^{*\#}$<br>61,5  |
| Содержание $\beta_1$ -глобулина, %,<br>% изменений          | $7,59 \pm 1,9$   | $9,04 \pm 0,86^*$<br>19,1    | $7,91 \pm 0,68$                        | $6,46 \pm 1,42$<br>- 18,3       | $7,59 \pm 1,90$                  | $6,81 \pm 0,56^{\#}$<br>- 10,3  |
| Содержание $\beta_2$ -глобулина, %,<br>% изменений          | $3,79 \pm 0,25$  | $7,1 \pm 0,9$<br>87,3        | $3,10 \pm 0,34$                        | $2,86 \pm 0,18$<br>- 7,7        | $3,79 \pm 0,20$                  | $1,63 \pm 0,20^{*\#}$<br>- 57,0 |
| Содержание $\gamma$ -глобулина, %,<br>% изменений           | $14,92 \pm 0,8$  | $19,90 \pm 0,53^*$<br>33,4   | $11,8 \pm 0,44$                        | $17,42 \pm 0,95^*$<br>47,6      | $14,82 \pm 0,80$                 | $16,0 \pm 2,08^{\#}$<br>8,0     |

**Примечание.** Различия достоверны: \* —  $p < 0,05$  по сравнению с исходными данными;  $^{\#}$  —  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой. ФПП — функциональные пробы печени.



Влияние цитохрома С и мексидола на лабораторные показатели липидного спектра сыворотки крови кроликов при 30-суточной гиподинамии.

1 – исходные данные, 2 – контроль (30-суточная гиподинамия), 3 – 30-суточная гиподинамия + цитохром С, 4 – 30-суточная гиподинамия + мексидол. Различия достоверны по отношению: \* – к исходному уровню, # – к контролю.

снижение коэффициента де Ритиса у животных группы применения цитохрома С свидетельствует как о преимущественном поражении печени на фоне длительной гиподинамии, так и об определенном кардиопротекторном эффекте препарата сравнения. Использование мексидола предотвратило рост активностей АСТ и АЛТ в сыворотке крови животных.

Выявлено однонаправленное сопоставимое по выраженности увеличение содержания МДА в сыворотке крови и эритроцитах кроликов в контрольной группе и группе применения цитохрома С. В контрольной группе активность КТ сыворотки крови и эритроцитов снизилась на 53 % ( $p < 0,01$ ) и 51,3 % ( $p < 0,01$ ) соответственно. При применении цитохрома С отмечается рост активности КТ в сыворотке крови (на 87,5 %,  $p < 0,01$ ) и эритроцитах (на 33,2 %,  $p < 0,05$ ). Использование мексидола вызвало достоверное снижение содержания МДА и активности КТ в сыворотке крови и эритроцитах. Можно предположить, что цитохром С, оказывая воздействие на ферментативное звено антиоксидантной защиты, в большей степени действует на КТ, повышая ее активность, и, тем самым, способствуя разложению избытка перекиси водорода как радикалообразующего субстрата. Мексидол как антиоксидантный препарат оказывает более широкое действие на ферменты. Как показывают результаты клинических исследований и экспериментов [4, 10], под действием мексидола увеличивается активность СОД (тем самым инактивируется супероксидрадикал) и пероксидаз, в том числе КТ, глутатионпероксидазы и миелопероксидазы. Использование мексидола не вызвало увеличения содержания вторичных продуктов ПОЛ (МДА), активности фермента антиоксидантной защиты КТ в сыворотке крови и эритроцитах иммобилизованных кроликов, цитолиза гепатоцитов ( $r = 0,94$ ;  $p < 0,05$ ).

При иммобилизации кроликов контрольной группы отмечается снижение содержания общего белка в сыворотке крови преимущественно за счет альбумина, относительное увеличение  $\alpha_1$ ,  $\beta_2$  и  $\gamma$ -глобулиновых белковых фракций, что также подтверждает формирование неалкогольного стеатогепатита [1, 9, 14]. Снижение содержания альбумина в сыворотке является предиктором снижения синтетической функции печени, свидетельствует об ослаблении репаративной регенерации и механизмов биотрансформации, транспортировки и детоксикации ксенобиотиков и эндогенных веществ. Рост  $\alpha_1$ ,  $\beta_2$  и  $\gamma$ -глобулиновых белковых фракций в сыворотке крови определяет наличие острого или подострого воспалительного процесса, гиперлипопротеинемии, сопровождается заболеванием, связанным с вовлечением в патологический процесс соединительной ткани. Использование у иммобилизованных животных цитохрома С не способствовало снижению содержания альбумина в сыворотке крови и не предотвратило диспротеинемии с увеличением содержания  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  и  $\gamma$ -глобулиновых белковых фракций в сыворотке крови. Мексидол предотвратил снижение содержания альбумина в сыворотке крови, но не препятствовал увеличению содержания  $\alpha_2$  и  $\gamma$ -глобулиновых белковых фракций, что подтверждает появление в ходе эксперимента повреждения ткани печени, воспалительную реакцию на некроз и пролиферацию соединительной ткани, хотя и меньше выраженную, чем в группах контроля и применения цитохрома С.

В контрольной группе выявлено увеличение содержания ЛПНП, триглицеридов, общего холестерина, снижение ЛПВП (рисунок), что в совокупности свидетельствует об атерогенных сдвигах, риске инфаркта миокарда, поражении паренхимы печени. КА, отражая отношение атерогенных липопротеинов к содержанию антиатерогенных в плазме крови, подтверждает неблагоприятный

вариант течения гиперлипотеинемии. В целом выявленные нарушения липидного обмена, имеющие черты дислипотеинемии 3-го типа, в клинической практике имеют проявления раннего и тяжело протекающего атеросклероза, поражающего не только сосуды сердца, но и артерии нижних конечностей [8].

Мексидол вызвал незначительное увеличение в сыворотке ЛПНП, но повышенный уровень  $\alpha$ -холестерина может быть расценен как антиатерогенный фактор. Кроме того, при использовании мексидола отмечается незначительное снижение содержания ТГ в сыворотке крови. Уровень образующегося в процессе распада перекисей липидов МДА в группе применения мексидола не увеличился, т.к. основным субстратом для ПОЛ служат полиненасыщенные жирнокислотные остатки, а ТГ являются главной формой накопления жирных кислот в организме [1, 3, 15].

Длительная гипокинезия способствовала развитию морфологических изменений в печени животных: мелко- и крупнокапельной жировой дистрофии гепатоцитов диффузно, но с максимальной выраженностью в центральных отделах печеночных долек, жировых кист, внутриклеточного отека, уменьшению в размерах и деформации ядер, сморщиванию их и оттеснению к периферии, очагов фокального некроза, частично гидропической дистрофии части гепатоцитов около триад, воспалительной инфильтрации в минимальной степени рядом с фокусами или очагами моноцеллюлярного некроза, отложению коллагена в зоне 3 ацинуса, центрлобулярно. Морфометрический ГИСА в контрольной группе составил  $20,3 \pm 4,7$  баллов, увеличившись в 4,8 раза от исходного уровня ( $4,2 \pm 2,1$ ). ГИСА в группах использования мексидола и цитохрома С составил соответственно  $13,5 \pm 3,2$  и  $16,7 \pm 4,6$  баллов. Особенностью мексидола стало наличие минимальной степени выраженности очагов некроза, макрофагальной и лейкоцитарной инфильтрации, фибротических изменений.

## ВЫВОДЫ

1. В экспериментальной модели 30-дневной гипокинезии с неограниченным сбалансированным полноценным

питанием у кроликов зарегистрированы лабораторные и морфологические признаки, аналогичные проявлениям неалкогольной жировой болезни печени по типу стеатоза и стеатогепатита.

2. Мексидол в минимальной дозе (1 мг/кг/сут) предупреждает цитолиз гепатоцитов, рост вторичных продуктов ПОЛ, увеличение содержания ЛПВП, ограничивает рост количества триглицеридов в сыворотке крови иммобилизованных животных, выраженность некротических, воспалительных и фиброзных морфологических изменений в печени.

3. Гепатопротекторные и антиоксидантные свойства мексидола превосходили таковые препарата сравнения цитохрома С.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. О. Буеверов, *Фарматека*, **47**(13), 1 – 4 (2007).
2. С. А. Бутрова, *Consilium-medicum*, **5**(9) (2003).
3. Ю. А. Владимиров, *Вестн. РАМН*, № 7, 43 – 51 (1998).
4. Т. А. Девяткина, Р. В. Луценко, Е. М. Важничная, *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(3), 56 – 58 (2003).
5. Е. А. Коваленко, Н. Н. Гуровский, *Гипокинезия*, Москва (1980).
6. М. А. Корольок, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова и др., *Лаб. дело*, № 1, 31 – 34 (1988).
7. *Морфологическая диагностика заболеваний печени*, В. В. Серов, К. М. Лапиш (ред.), Медицина, Москва (1989).
8. Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун, *Клиническая оценка результатов лабораторных исследований*, Медицина, Москва (2000).
9. М. Ф. Осипенко, Е. А. Бикбулатова, *Гепатология*, № 5, 37 – 42 (2005).
10. Л. В. Прокофьева, *Автореф. дис. канд. фарм. наук*, Саранск (2003).
11. В. В. Серов, Л. О. Севергина, *Тер. архив*, **58**(4), 61 – 64 (1996).
12. А. И. Хазанов, *Рос. жур. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол.*, № 2, 26 – 32 (2005).
13. И. И. Шахматов, Ю. А. Бондарчук, В. М. Вдовин и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **70**(2), 45 – 47 (1997).
14. Е. Н. Широкова, В. С. Ешану, В. Т. Ивашкин, *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол.*, № 2, 74 – 77 (2004).
15. Э. П. Яковенко, *Consilium medicum*, Экстравыпуск (2007).

Поступила 14.08.08

## THE INFLUENCE OF MEXIDOL ON THE LIVER STRUCTURE, FUNCTIONS, AND THE PARAMETERS OF PEROXIDE OXIDATION OF LIPIDS UNDER LONG-TERM HYPODYNAMIA CONDITIONS

O. Yu. Katikova

Clinical Pharmacology Division, Center for Biomedical Technologies, Russian Academy of Medical Sciences, Petrovskii boulevard 8, Moscow, 101000, Russia

It is established that rabbits kept under the conditions of 30-day hypodynamia with high-grade feeding exhibit disorders in both structure and functions of the liver, which are classified as nonalcoholic type fatness. Other disturbances are an increase in the activity of aspartate aminotransferase (AsAT) and alanine aminotransferase (AlAT) and a decrease in the total protein content predominantly at the expense of albumin. The development of a syndrome of mesenchymal inflammation is manifested by a relative growth of the  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  and  $\gamma$ -protein fractions. Pronounced violations of the lipid metabolism were manifested by a growth in the content of  $\beta$ -lipoproteins, triglycerides, general cholesterol, and low-density lipoproteins and by a decrease in the level of high-density lipoproteins in the blood serum of animals. An increase in the content of malonic dialdehyde was accompanied by a drop in the activity of catalases in the blood serum and erythrocytes of rabbits. Investigation of the morphology of liver tissues showed evidence for small- and large-drop diffuse steatosis, which was most expressed in the central zones of lobes. Using of cytochrome C and mексидол, it is possible to reduce the expression of disorders to various degrees and, in some cases, to prevent the development of pathological changes.

**Key words:** mексидол, immobilization, liver, antioxidant