

ТОКСИКОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ВЛИЯНИЕ МЕКСИДОЛА НА СОСТОЯНИЕ ГОМЕОСТАЗА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

О. Ю. Катикова¹

Изучено влияние мексидола (3-окси-6-метил-2-этилпиридина сукцината) на состояние гомеостаза морских свинок при интоксикации парацетамол. Установлено, что в токсических дозах парацетамол нарушает функции печени, почек, липидный, углеводный и минеральный обмен, активирует перекисное окисление липидов, ослабляет антиоксидантную защиту. Использование мексидола (25 мг/кг) позволило ограничить цитолиз гепатоцитов, прогрессирование холестаза, выраженность гепатоцеллюлярной недостаточности, нарастание эндогенной интоксикации, падение содержания кальция, увеличение уровня железа в сыворотке крови, рост содержания конечных продуктов перекисного окисления липидов и активизировать ферментативное звено антиоксидантной системы.

Ключевые слова: мексидол, антиоксидант, печень, гепатит, парацетамол

ВВЕДЕНИЕ

Парацетамол в больших дозах оказывает токсическое действие на клетки печени [9, 10, 12]. Парацетамоловые интоксикации сопровождаются тяжелой клинической симптоматикой: у 30 % пациентов развивается фульминантная печеночная недостаточность, у 20 % — некроз дистальных почечных канальцев [2, 12]. Токсическое поражение печени сопровождается цитолизом гепатоцитов, подъем трансаминаз может достигать 500-кратного уровня. Установлено [15, 18], что в терапевтических дозах парацетамол метаболизируется, превращаясь в конъюгаты с глюкуроновой кислотой (60 %) и сульфатами (35 %). При введении высоких доз ксенобиотика происходит изменение процесса его детоксикации: уменьшается образование сульфатированных метаболитов [11, 16]. Избыточные дозы парацетамола ингибируют функции печеночных митохондрий, снижая скорость глюкуронизации [3, 11]. Таким образом, угнетаются процессы естественной метаболизации парацетамола путем образования нетоксичных глюкуронидов и сульфатов, элиминирующихся из организма. Механизм метаболической адаптации к действию избыточных доз ксенобиотика приводит к увеличению образования токсического продукта взаимодействия парацетамола с гемопротейнами цитохрома P-450-11-E1 — N-ацетил- пара-бензохинонимина (NAPQI), способствующего активации ПОЛ, нарушающего окислительное фосфорилирование в митохондриях, истощающего запасы глутатиона в гепатоцитах [2, 4, 10, 12]. Некрозы в печени развива-

ются после приема не менее 7,5 – 10 г препарата, но реальную токсическую дозу оценить трудно, поскольку быстро развивается рвота. Факторами, способствующими реализации гепатотоксичности, являются пожилой возраст вследствие энзиматической неполноценности ферментативного звена антиоксидантной защиты (АОЗ) и наличия дегенеративных свободнорадикальных болезней (атеросклероз и др.), обменные и хронические воспалительные заболевания печени, гипоальбуминемия, недостаточное поступление биоантиоксидантов [2, 7].

Целью исследования явилось изучение гепатопротекторной эффективности антиоксиданта мексидола (3-окси-6-метил-2-этилпиридина сукцината) в модели парацетамоловой интоксикации у морских свинок.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на 40 морских свинках обоего пола массой 900 ± 50 г путем двухдневного введения парацетамола в желудок в токсической дозе 3,5 г/кг [9]. Содержание и исследование животных осуществляли в соответствии с принципами Хельсинской декларации по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных целей. Перед началом и в ходе эксперимента морских свинок содержали в стандартных условиях вивария на сбалансированной диете. Животные были разделены на 5 групп: 1 — интактные животные; 2 — животные, получавшие парацетамол (контроль); 3 — животные, получавшие на фоне парацетамола мексидол (ООО “Фармасофт”, Москва) внутримышечно в дозе 25 мг/кг; 4 — животные, получавшие на фоне парацетамола гептрал (S-аденозил-L-метионин, “Knoll”, Германия) в желудок в дозе 200 мг/кг; 5 — животные, получавшие на фоне пара-

¹ Кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии (руководитель — проф. Я. В. Костин) Мордовского государственного университета им. Н. П. Огарева, Саранск, 430000, ул. Большевикская, 68.

цетамола тиквеол (ЗАО “Европа-биофарм”, Волгоград), в желудок в дозе 30 капель (1,5 мл) в сутки на 1 кг массы. Животные интактной и контрольной групп получали эквивалентный объем воды в желудок. Введение препаратов осуществлялось в лечебно-профилактическом режиме с началом за два дня до введения парацетамола, затем — в течение эксперимента. Курсовая доза мексидола составила в среднем 120 мг, гептрала — 900 мг, тиквеола — 7,5 мл. Животных, предварительно наркотизированных диэтиловым эфиром, забивали через 48 ч после заключительного введения парацетамола.

Функциональное состояние печени и динамику лабораторных показателей гомеостаза оценивали по биохимическим показателям в сыворотке крови (активностям АСТ, АЛТ, ЩФ, ГГТП, холинэстеразы, альбумино/глобулиновому коэффициенту, содержанию глюкозы, креатинина, железа), которые определяли на интегрированной лабораторной системе НТАСНИ — 911 фирмы “Boehringer Mannheim”, Германия со стандартными наборами реактивов “Diasis”, Германия. Активность глутатионредуктазы (ГР) [17], каталазы (КАТ) [6], уровень малонового диальдегида (МДА) и Fe-индуцированного МДА [13], средние молекулы (СМ) [1] в сыворотке крови определяли с помощью спектрофотометра СФ-46. Проводили морфологическое изучение печеночных срезов.

Результаты эксперимента обработаны с помощью компьютерной программы “Биостат”, используемой в медико-биологической статистике. Существенность различий средних оценивали по Стьюденту. Достоверно значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введение морским свинкам парацетамола в токсических дозах по биохимическим и морфологическим данным вызвало поражение печени умеренной степени. Результаты исследования представлены в таблице. Интоксикация способствовала альтерации гепатоцитов, о чем свидетельствовало повышение активностей АЛТ (на 400,1%), в меньшей степени АСТ (на 150,6%). Мексидол, гептрал и тиквеол уменьшили выраженность воздействия токсиканта на мембраны гепатоцитов и внутриклеточных органелл (митохондрий), что проявилось в снижении роста активности ферментов цитолиза на фоне использования препаратов в опытных группах (таблица). Эффективность мексидола по выраженности антицитолитической защиты гепатоцитов превзошла таковую тиквеола, но оказалась меньше, чем у гептрала.

В механизме токсической солубилизации мембран одним из ведущих повреждающих факторов признается активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) при неадекватном напряжении активности АОЗ [2, 3, 10, 12]. При введении избыточных доз парацетамола отмечено увеличение уровней МДА (на 239,8%), Fe-МДА (на 229,3%), снижение активностей ГР (на 30,8%), КАТ (на 14,3%) в сыворотке крови контрольных животных (таблица). На фоне мексидола отмечается минимальное увеличение уровня сывороточного МДА среди групп сравнения при максимальном повышении активности ГР. Мексидол ингибирующим образом действует на образование перекисей (радикалообразующих молекул). Этим объясняется минимальное значение активности КАТ сыворотки среди опытных групп и высокая активность ГР, способствующей восстановлению окисленного глутатиона, пул которого истощается при парацетамоловой интоксикации [2, 4,

Влияние мексидола на лабораторные показатели сыворотки крови морских свинок при интоксикации парацетамолом ($M \pm m$)

Параметр	Интактная группа ($n = 8$)	Контрольная группа ($n = 8$)	Парацетамол		
			мексидол ($n = 8$)	гептрал ($n = 8$)	тиквеол ($n = 8$)
АСТ, Ед/л	51,38 ± 12,44	128,75 ± 14,09*	70,62 ± 6,41*#	45,50 ± 5,79#	82,75 ± 5,44*#
АЛТ, Ед/л	28,62 ± 3,20	143,13 ± 16,92*	88,50 ± 11,83*#	36,0 ± 6,28#	92,38 ± 9,30*#
МДА, мкм/мл	3,091 ± 0,331	10,50 ± 0,845*	4,120 ± 0,380*#	5,111 ± 0,328*#	4,174 ± 0,560*#
Fe-МДА, мкм/мл	5,874 ± 0,56	19,33 ± 2,21*	10,83 ± 0,82*	9,19 ± 0,89*#	9,94 ± 1,23*#
ГР, мккат/л/мин	0,871 ± 0,095	0,603 ± 0,170*	1,327 ± 0,056*#	1,30 ± 0,154*#	0,893 ± 0,145#
КАТ, мг H ₂ O ₂ /мин · 1 г белка	0,014 ± 0,002	0,012 ± 0,001	0,012 ± 0,002	0,013 ± 0,001	0,021 ± 0,003*#
Железо, мкм/л	34,61 ± 4,80	48,39 ± 4,97*	43,39 ± 4,56*	32,24 ± 5,58#	36,28 ± 4,05#
ЩФ, Ед/л	71,57 ± 7,0	124,0 ± 14,76*	111,90 ± 13,76*	100,33 ± 9,91*#	80,75 ± 7,72*#
ГГТП, Ед/л	7,25 ± 0,89	12,25 ± 1,91*	11,0 ± 1,79*	7,50 ± 1,51#	6,67 ± 0,82*#
ХЭ, Ед/л	2339,5 ± 234,60	1400,6 ± 136,00*	1776,0 ± 192,30*#	1583,2 ± 110,6*#	2018,9 ± 134,39*#
Альб/глобул	1,23 ± 0,18	1,33 ± 0,33	1,52 ± 0,47	1,53 ± 0,46	0,76 ± 0,17#
Глюкоза, ммоль/л	6,82 ± 0,56	3,98 ± 0,59*	5,03 ± 0,45*#	7,12 ± 0,71#	6,12 ± 0,68#
Сред. мол., у.е.	0,301 ± 0,019	0,357 ± 0,035*	0,311 ± 0,057	0,360 ± 0,054*	0,223 ± 0,022*#
Креатинин, мкм/л	38,0 ± 3,93	47,0 ± 4,99*	44,38 ± 4,60	41,67 ± 3,45	37,88 ± 3,98#

Примечание. Различия достоверны по сравнению: * — с интактными животными ($p < 0,05$); # — с контрольными животными ($p < 0,05$).

11]. Менее выраженные антиоксидантные свойства тыквеола объясняют меньшую степень его антицитолитической активности. Использование тыквеола не способствовало сдерживанию образования перекисей, являющихся субстратом для цитотоксичных вторичных радикалов, о чем свидетельствовало значительное повышение антиперекисной активности КАТ (на 50,0%).

Уровень сывороточного железа в группе использования мексидола оказался значительно повышенным (на 25,4%) по сравнению с другими опытными группами. Содержание железа сыворотки в контрольной группе превышало значение соответствующего показателя группы интактных животных на 39,8%. Вероятно, механизм антиоксидантной активности мексидола не включает способности хелатировать ионы металлов переменной валентности. Наличие ионов железа, выступающих катализаторами неферментативного ПОЛ, является фактором повышения интенсивности окислительного процесса в системе [10]. Отсутствие способности к комплексообразованию ограничивает антиоксидантную, а, следовательно, и цитопротекторную активность мексидола.

Гептрал (S-аденозил-L-метионин) рекомендуют использовать при патологических состояниях, сопровождающихся внутрипеченочным холестазом [14]. Эффективность мексидола оказалась практически сопоставимой с таковой гептрала по выраженности антихолестатического действия (таблица). В большей степени холестатические изменения корректировал тыквеол, о чем свидетельствовало максимальное препятствие росту активностей ЦФ и ГГТП при его использовании (таблица). Вероятно, тыквеол, представляющий липидный комплекс семян тыквы и содержащий натуральные фосфолипиды, биофлавоноиды, каротиноиды, токоферолы, свободные аминокислоты, в том числе незаменимые [5], препятствовал патологическому воздействию токсических доз парацетамола на механизмы образования и транспорта желчи на уровне гепатоцитов и внутрипеченочных желчных ходов.

Проявлением нарушения белково-синтетической функции печени является снижение активности ХЭ [12]. Степень снижения активности сывороточной ХЭ обратно пропорциональна тяжести печеночной патологии [8]. Использование тыквеола, в меньшей степени мексидола препятствовало развивающейся гепатоцеллюлярной недостаточности. В то же время, при использовании тыквеола отмечается снижение значения альбумино/глобулинового коэффициента. Преобладание глобулиновой фракции свидетельствует о диспротеинемии, развившейся вследствие острофазового воспаления стромальных (неэпителиальных) печеночных элементов и гепатоцитов [8, 12]. Увеличение альбумино/глобулинового соотношения свидетельствует о метаболической адаптации и напряжении механизмов естественной детоксикации ксенобиотика [3, 8,

10], что мы отмечаем в группах использования мексидола и гептрала.

Уровень СМ, состав которых неоднороден, отражает степень эндогенной интоксикации [8]. По данным таблицы очевидны незначительные изменения этого показателя. Тем не менее, в группе применения гептрала уровень СМ является наиболее высоким, что отражает усиление катаболизма белков и подтверждает несостоятельность белково-синтетической функции печени, развившуюся при интоксикации парацетамолом. При использовании мексидола увеличение уровня СМ по сравнению со значением аналогичного показателя здоровых особей интактной группы было незначительным (на 3,3%).

Уровень креатинина в контрольной группе повысился (на 23,7%), отражая нарушение выделительной и фильтрационной функций почек [8]. Содержание креатинина при использовании гептрала и мексидола повысилось в меньшей степени, эти изменения не являются статистически значимыми.

При гистологическом исследовании в контрольной группе отмечено набухание гепатоцитов, вследствие чего нарушилась четкость балочного строения. Выраженность белковой (гидропической) дистрофии была максимальной на периферии ацинусов. В центральных участках развивается мелко- и крупнокапельная жировая дистрофия, иногда занимающая до 2/3 печеночных долек. В отдельных участках паренхимы встречаются мелкие очаги некроза. Портальные тракты расширены, отечны, инфильтрованы лимфоцитостииоцитарными элементами с примесью нейтрофилов. В отдельных очагах воспалительный инфильтрат выходит из портальных трактов, распространяясь в периферические отделы долек. В целом, признаки парацетамолового повреждения печени носят мозаичный характер. Морфологический индекс повреждения печени (ИПП) равен $0,9 \pm 0,06$ у.е.

Использование мексидола, гептрала и тыквеола оказало неравнозначное гепатопротективное действие. Так, при использовании мексидола уменьшилась выраженность белковой дистрофии, а нарушения балочной структуры имелись лишь на периферии печеночных долек. Уменьшилась отечность портальных трактов (ИПП равен $0,5 \pm 0,07$). Использование гептрала в наибольшей степени препятствовало реализации гепатотоксичности (ИПП равен $0,3 \pm 0,04$). Отличительной особенностью использования гептрала явилось увеличение числа двуядерных гепатоцитов, гипертрофия и пролиферация печеночных клеток и ретикулоэндотелиоцитов, что можно охарактеризовать как напряжение регенераторно-репаративных процессов. Для гистологической картины в группе применения тыквеола в большей степени свойственно наличие белковой мелкозернистой и в меньшей степени жировой мелкокапельной дистрофии. При коррекции повреждающего действия токсина тыквеолом по сравнению с двумя

другими опытными группами отмечается усиление воспалительной инфильтрации портальных трактов макрофагами, лимфоцитами, нейтрофилами. ИПП равен $0,6 \pm 0,07$.

ВЫВОДЫ

1. Парацетамол в высоких дозах (3,5 г/кг) вызвал у морских свинок токсическое поражение печени умеренной степени, активацию перекисного окисления липидов, ослабление антиоксидантной защиты.

2. Антиоксидант мексидол оказал гепатопротекторное действие, выразившееся в ограничении роста индикаторов цитолиза, холестаза, гепатоцеллюлярной недостаточности, мезенхимального воспаления по данным лабораторного исследования, степени некротически-воспалительных изменений печени по данным морфологического исследования.

3. Гепатопротекторный эффект мексидола сопоставимо, а по ряду показателей превышает таковой препаратов сравнения гептрала и тыквеола.

ЛИТЕРАТУРА

1. Д. Л. Брасюк, *Клин. лаб. диагн.*, № 1, 18 (1995).
2. А. О. Буеверов, *Русс. мед. журн.*, 9(13–14), 608–610 (2001).
3. А. И. Венгерский, А. С. Саратиков, *Вопр. мед. хим.*, № 3, 87–91 (1989).
4. В. Т. Ивашкин, В. П. Фисенко, А. А. Шептулин, *Клин. мед.*, № 9, 35–37 (1999).
5. С. Г. Ковалев, М. А. Михалева, В. Ю. Михалев, *Практикующий врач*, № 13 (2), 31–32 (1998).
6. М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова и др., *Лаб. дело*, № 1, 30–34 (1988).
7. В. К. Мазо, *Рос. журн. гастроэнтерол.*, № 1, 47–53 (1998).
8. Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун, *Клиническая оценка результатов лабораторных исследований*, Москва, Медицина (2000), сс. 169–170; 136–137.
9. А. Н. Олейник, *Автореф. дис. докт. мед. наук*, Москва (1984), с. 50.
10. И. В. Сорокина, А. П. Крысин, Т. Б. Хлебникова и др., *Роль фенольных антиоксидантов в повышении устойчивости органических систем к свободнорадикальному окислению*, Новосибирск (1997), сс. 45–56.
11. И. С. Чекман, А. И. Гриневич, *Фармакол. и токсикол.*, № 1, 86–89 (1988).
12. Ш. Шерлок, Дж. Дули, *Заболевания печени и желчных путей*, ГЭОТАР Медицина, Москва (1999), сс. 386–397.
13. I. Carlberg and B. Mannervik, *J. biol. Chem.*, **250**, 5475–5480 (1975).
14. M. Frezza and M. Terpin, *Drug. Invest.*, **4**(Suppl. 4), 101–108 (1992).
15. D. J. Greenblatt, D. R. Abernethy, and M. Divoll, *Europ. J. clin. Pharmacol.*, No. 25, 113–115 (1983).
16. G. J. Mulder, J. R. Dawson, and K. S. Rang, *Biochem. Soc. Trans.*, No. 12, 17–20 (1984).
17. M. Ushijama and M. Mihara, *Analit. Biochem.*, **86**, 271–278 (1978).
18. N. Watari, M. Iwai, and N. Konenina, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, No. 11, 245–272 (1983).

Поступила 26.02.2002

THE EFFECT OF MEXIDOL ON THE STATE OF HOMEOSTASIS AND LIPID PEROXIDATION IN GUINEA PIGS INTOXICATED WITH PARACETAMOL

O. Yu. Katikova

Department of Pharmacology, Mordvinian State University, ul. Bol'shevistskaya 68, Saransk, Mordvinia, 430000 Russia

It is established that mexidol (3-hydroxy-6-methyl-2-ethylpyridine succinate) influences the state of homeostasis in guinea pigs intoxicated with paracetamol. Paracetamol administered in toxic doses disturbs the functions of liver and kidneys, violates the lipid, carbohydrate, and mineral metabolism, activates the lipid peroxidation (LPO) process, and decreases the level of antioxidant protection. Treatment of the test animals with mexidol (25 mg/kg) decreases the cytolysis of hepatocytes, the development of cholestasis, the degree of hepatocellular insufficiency, the growth of endogenous intoxication, the drop of calcium content, the growth of iron content in the blood serum, and the content of final LPO products. The mexidol treatment activated the enzymatic chain of the antioxidant system.