

ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ОТРАВЛЕНИЙ

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСЕНА НА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКЗОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

В. Е. Новиков, Е. И. Климкина¹

В экспериментах на крысах изучено влияние гипоксена на метаболические процессы в ткани печени в условиях интоксикации животных тетрахлоридом углерода. Установлено, что изучаемое лекарственное вещество снижает активность трансаминаз, ЛДГ и уровень общего билирубина в сыворотке крови животных, а также активность свободно-радикального окисления в печени. Такое действие препарата можно расценивать как гепатопротекторное. Эффективность препарата в условиях CCl_4 -интоксикации подтверждена морфологическим исследованием.

Ключевые слова: гипоксен, гепатопротектор, токсическое поражение печени

ВВЕДЕНИЕ

С каждым годом растет число больных, страдающих токсическими поражениями печени [6]. В комплексном лечении таких пациентов используют гепатопротекторы — фармакологическую группу с избирательным защитным действием в отношении печени [2]. Группа гепатопротекторов гетерогенна и включает вещества различного химического строения с разнонаправленным действием на метаболические процессы [1, 5].

Свободнорадикальная концепция поражения печени открыла новые возможности для применения в гепатологии лекарственных средств с антиоксидантной направленностью действия [5].

Целью настоящей работы явилось изучение гепатопротекторных свойств отечественного антиоксиданта-антигипоксанта — гипоксена.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на 40 белых беспородных крысах-самцах массой 150 – 180 г. Количество животных в каждой серии составляло 10 особей. Животные были разделены на 4 группы: I — интактные животные (контроль); II — опытные животные с CCl_4 -индуцированным токсическим поражением печени и введением воды очищенной; III и IV группы — опытные животные, получавшие на фоне токсического поражения печени лекарственные вещества (соответственно гипоксен и токоферола ацетат).

Опытным крысам ежедневно подкожно вводили тетрахлорида углерод в виде 50 % раствора в подсолнечном масле в дозе 0,4 мл на каждые 100 г массы животного 1 раз в день на протяжении 4-х первых дней опыта. Эта схема и доза считаются достаточными для создания полноценной биохимической картины острого токсического поражения паренхимы печени крыс [2]. Гипоксен (олифен) в дозе 10 мг/кг вводили внутривенно 1 раз в

сутки первые 4 дня параллельно с тетрахлоридом углерода за один час до его введения, затем еще три дня. Использована капсулированная лекарственная форма гипоксена, произведенная ЗАО “Корпорация Олифен” (Москва). В качестве препарата сравнения был избран альфа-токоферола ацетат в виде 30 % масляного раствора в ампулах производства ООО “Фармадон” (Ростов-на-Дону). Его вводили внутримышечно в дозе 30 мг/кг/сут по той же схеме, что и гипоксен.

Забой животных производили через 24 ч после заключительного введения исследуемого вещества путем одномоментной декапитации, с учетом требований этического комитета.

В сыворотке крови животных определяли активность ферментов: аспарагиновой (АСТ) и аланиновой аминотрансфераз (АЛТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), а также концентрацию общего билирубина. Эти исследования были выполнены на биохимическом анализаторе “Ultra” фирмы “Kone” (Финляндия) с использованием реактивов фирм “Vital” и “Olvex” (Россия) и фирмы “Human” (Германия).

Оценку показателей свободнорадикального окисления (СРО) проводили методом хемилуминесценции в супернатанте гомогената ткани печени на отечественном люминометре фирмы “Диалог” с помощью программы “CL3603”. Для инициации ПОЛ в исследуемый материал добавляли двухвалентное железо (12,5 мМ) и 3 % раствор перекиси водорода [5] с последующей регистрацией хемилуминесценции в течение 50 циклов при 37 °С с учетом фоновой хемилуминесценции. В качестве оценочного показателя использовали величину светосуммы, отражающую интенсивность образования свободных радикалов и участие в процессе СРО антиоксидантных систем.

Для морфо-гистологического исследования брали образцы ткани печени стандартного размера 3 × 3 × 2 см из левой доли в течение 10 мин после декапитации животных и фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина. Затем готовили парафиновые срезы толщиной 4 – 5 мкм, окрашивали их гематоксилином, эозином и по Ван-Гизону.

¹ Кафедра фармакологии (зав. — проф. В. Е. Новиков) Смоленской государственной медицинской академии, Смоленск, 214019, ул. Крупской, 28.

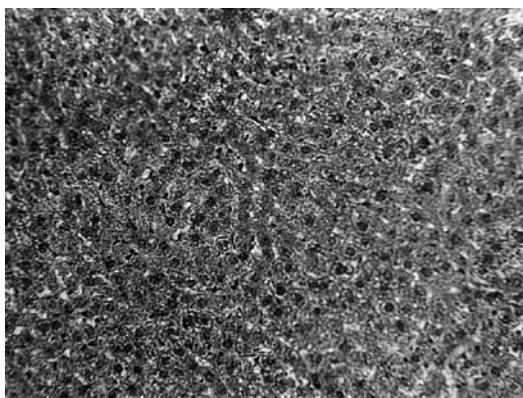


Рис. 1. Печень нормальной гистологической структуры. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 80$.

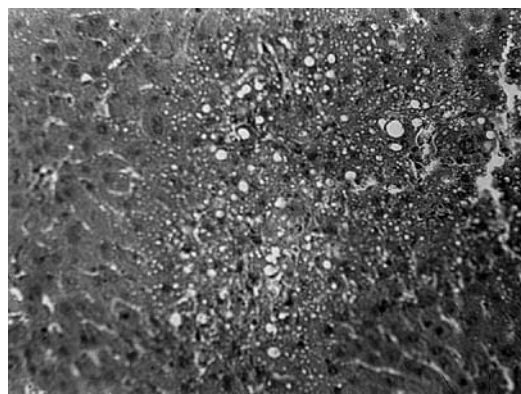


Рис. 2. Печень при CCl_4 -интоксикации. Жировой гепатоз. Крупнокапельные жировые включения в гепатоциты.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Статистическую достоверность изменений оценивали с использованием t -теста Стьюдента для непарных выборок. Все статистические тесты проводили для двусторонней гипотезы при уровне статистической значимости — 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Экзогенная интоксикация крыс CCl_4 вызывает значительные изменения биохимических показателей в сыворотке крови. Как видно из табл. 1, активность АЛТ в опытной группе превышала показатели интактных животных в 8,9 раза ($p < 0,01$), АСТ — в 3,2 раза ($p < 0,01$), ЛДГ — в 1,74 раза ($p < 0,01$). Данные изменения с высокой достоверностью свидетельствуют о синдроме цитолиза. Синдром цитолиза, как известно, характерен для острых повреждений печени и гепатитов токсического генеза [2, 3]. Наряду с возрастанием активности ферментов-маркеров цитолиза в сыворотке крови опытных животных также заметно увеличивалась концентрация общего билирубина (в 1,6 раза) ($p < 0,05$), свидетельствующая о нарушении резорбции этого соединения из крови клетками печени, дальнейшего связывания его с глюкуроновой кислотой и выведения.

На фоне применения гипоксена активность АЛТ снижалась на 76,8 %, АСТ — на 61 %, ЛДГ — на 53 %, концентрация общего билирубина — на 29,8 % (по сравне-

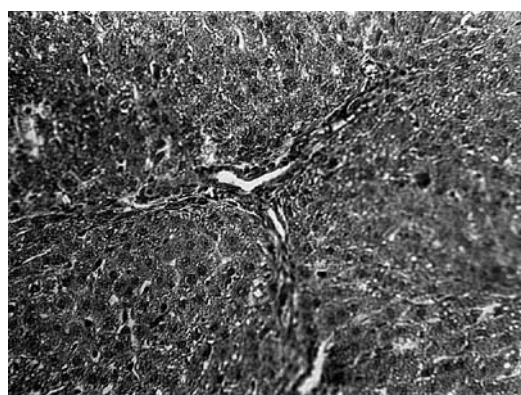


Рис. 3. 7-е сутки коррекции токсического поражения печени гипоксеном. По периферии сохраняются незначительные явления жировой дистрофии гепатоцитов.

нию с опытными животными без лечения). При применении препарата сравнения токоферола ацетата для коррекции токсического поражения печени отмечено снижение активности АЛТ на 66,1 %, АСТ — на 59 %, ЛДГ — на 44,5 % и снижение концентрации общего билирубина в сыворотке крови на 33,7 % по отношению к животным с CCl_4 -интоксикацией без лечения.

Интоксикация животных тетрахлоридом углерода инициировала также увеличение флюоресцирующих продуктов перекисного окисления липидов в гомогенате

Таблица 1. Влияние гипоксена и токоферола на биохимические показатели сыворотки крови при CCl_4 -интоксикации ($M \pm m$)

| Группа животных | АЛТ, ед/л | АСТ, ед/л | ЛДГ, ед/л | Общий билирубин, мкмоль/л |
|---|--|--|--|---|
| Интактные животные (контроль) | 67,11 \pm 7,95 | 195,44 \pm 13,63 | 1601,33 \pm 206,54 | 7,83 \pm 0,12 |
| CCl_4 -интоксикация (без лечения) | 599,91 \pm 153,14 $p < 0,01$ | 623,36 \pm 40,25 $p < 0,01$ | 2781,18 \pm 194,47 $p < 0,01$ | 12,67 \pm 2,10 $p < 0,05$ |
| CCl_4 + гипоксен | 138,90 \pm 17,43 $p < 0,01$ $p_1 = 0,01$ | 243,30 \pm 8,70 $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$ | 1309,10 \pm 119,94 $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$ | 8,90 \pm 0,23 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ |
| CCl_4 + токоферол | 203,27 \pm 14,74 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$ | 255,63 \pm 30,83 $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$ | 1514,80 \pm 175,76 $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$ | 8,40 \pm 0,22 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ |

Примечание. Здесь и в табл. 2 достоверность различий: p — по отношению к показателям интактных животных, p_1 — по отношению к группе CCl_4 -интоксикация без лечения.

печени в 2,2 раза по отношению к показателю группы интактных животных (табл. 2). Это может свидетельствовать как о повышении активности процессов перекисидации в печени, так и о снижении активности антиоксидантных систем.

Проанализировав приведенные в табл. 2 данные, можно констатировать, что гипоксен и токоферол корректируют процессы ПОЛ в печени крыс на фоне интоксикации животных тетрахлоридом углерода, снижая активность перекисного окисления практически до уровня интактных животных. Эффективность гипоксена по показателю величины светосуммы оказалась не меньшей, чем у препарата сравнения токоферола ацетата. Наши данные согласуются с результатами других авторов, показавших высокую антиоксидантную активность гипоксена [4].

Для подтверждения гепатопротекторного действия гипоксена в условиях экзогенной интоксикации животных CCl_4 было проведено морфо-гистологическое исследование биоптатов печени.

Гистологическая картина биоптатов ткани печени при интоксикации CCl_4 значительно отличалась от таковой у интактных животных. Для морфологической картины срезов печени интактных крыс (рис. 1) характерны долики одинаковых размеров, преобладание одноядерных гепатоцитов. При этом ядра гепатоцитов мономорфны, ядрышек не видно. Ядра клеток Купфера не увеличены, пространства Диссе не расширены. Пигмента в цитоплазме нет. В триадах количество соединительной ткани минимально, лейкоциты единичны.

Патогистологическая картина срезов печени крыс после интоксикации тетрахлоридом углерода характеризовалась признаками выраженной средне- и крупнокапельной жировой дистрофии, укрупнением ядер купферовских клеток, появлением ядрышек в ядрах гепатоцитов (рис. 2). Данные признаки свидетельствуют о развитии у животных токсического жирового гепатоза.

Морфологическая картина печени на фоне коррекции гипоксеном токсического поражения отражена на рис. 3. Признаки зернистой белковой дистрофии незначительны. Жировая мелко- и среднекапельная дистрофия выражена значительно меньше по сравнению с токсическим гепатозом без лечения. Ядра купферовских клеток не увеличены. Процент двуядерных гепатоцитов невелик.

Полученные данные свидетельствуют, что гипоксен значительно уменьшает выраженность жировой дистрофии печени в условиях токсического гепатоза.

Таким образом, гипоксен проявляет выраженное гепатопротективное действие в отношении морфофункционального состояния печени на фоне ее экспериментального токсического поражения CCl_4 , о чем свидетельствует положительная динамика биохимических показателей

Таблица 2. Влияние гипоксена и токоферола на активность ПОЛ в гомогенате печени при интоксикации крыс CCl_4 ($M \pm m$)

| Группа животных | Показатель светосуммы | % к интакту |
|-----------------------|--|-------------|
| Интактные животные | 12847,2 ± 1028,7 | 100 |
| CCl_4 -интоксикация | 28558,6 ± 1620,1 $p < 0,01$ | 222,3 |
| CCl_4 + гипоксен | 14488,3 ± 1381,3 $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$ | 112,8 |
| CCl_4 + токоферол | 14690,7 ± 1871,9 $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$ | 114,3 |

крови (активность аминотрансфераз, ЛДГ, концентрация общего билирубина), активность липидной перекисидации в гомогенате печени и гистологическая картина биоптатов печени. По эффективности гепатопротекторного действия гипоксен не уступает токоферола ацетату, а по степени положительного влияния на активность ферментов превосходит его. Полученные результаты дают экспериментальное обоснование для использования гипоксена в клинической практике в качестве гепатопротектора при различных экзогенных интоксикациях.

ВЫВОДЫ

1. Курсовое введение гипоксена в дозе 10 мг/кг/сут в течение 7 дней оказывает выраженное протекторное действие на морфо-функциональное состояние печени при интоксикации тетрахлоридом углерода.

2. Гепатопротекторные свойства гипоксена во многом обусловлены его антиоксидантной и антигипоксантной активностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. О. Буеверов, *Consilium medicum. Диспенсия*, Приложение, 23 – 26 (2002).
2. В. Е. Новиков, Е. И. Климкина, *Гепатопротекторы*, Смоленск, (2006).
3. В. Е. Новиков, Е. И. Климкина, Л. Н. Чемодурова, *Вестн. Смоленской медицинской академии*, 3, 18 – 19 (2004).
4. В. Е. Новиков, С. О. Лосенкова, А. С. Новиков, *Экспер. и клин. фармакол.*, 3, 23 – 25 (2005).
5. Н. П. Скакун, В. В. Шманько, Л. М. Охримович, *Клиническая фармакология гепатопротекторов*, Збруч, Тернополь (1995).
6. Е. А. Ушкалова, *Фарматека*, 4, (2004).

Поступила 16.06.08

EFFECTS OF HYPOXEN ON MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL STATE OF THE LIVER UNDER OF EXOGENOUS INTOXICATION CONDITIONS

V. E. Novikov and E. I. Klimkina

Smolensk State Medical Academy, ul. Krupskoi 28, Smolensk, 214019, Russia

The effects of hypoxen on the metabolic processes in the liver tissue have been investigated on experimental animals (rats) with model tetrachloromethane (CCl_4) induced toxic liver damage. It is established that the drug decreases the activity of transaminases and lactate dehydrogenase, the total bilirubin level in the blood serum, and the rate of free-radical lipid oxidation in the liver. These effects of hypoxen can be considered as manifestations of the hepatoprotective activity. The efficiency of the drug under conditions of CCl_4 intoxication was confirmed by the results of a histological examination.

Key words: Hypoxen, hepatoprotector, toxic liver damage.