

# ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ОТРАВЛЕНИЙ

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТИНДУЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

А. С. Саратиков, Т. П. Новожеева, А. И. Венгеровский<sup>1</sup>

Индукторы монооксигеназной системы печени бензонал, галонал и галодиф в восстановительном периоде после отравления крыс тетрахлорметаном превосходят фенобарбитал и зиксорин по терапевтической эффективности. Они повышают содержание и каталитическую активность цитохрома Р-450, улучшают конъюгацию с восстановленным глутатионом, препятствуют цитолизу гепатоцитов, стимулируют желчеотделение и экскреторную функцию печени.

**Ключевые слова:** ферментиндуцирующие средства, экспериментальный гепатит, бензонал, галонал, галодиф, фенобарбитал, зиксорин

### ВВЕДЕНИЕ

Среди ранее исследованных нами циклических и линейных производных мочевины наиболее активными и малотоксичными индукторами монооксигеназной системы печени и ферментов конъюгации оказались бензонал, галонал (о-фторбензонал) и галодиф (м-хлорбензгидрилмочевина) [6]. Они перспективны для коррекции сниженной антиоксидантной функции печени при различных патологических состояниях.

В настоящей статье рассмотрены терапевтическая эффективность бензонала, галонала и галодифа в сравнении с референтными ферментиндуцирующими средствами фенобарбиталом и зиксорином при экспериментальном токсическом поражении печени, вызванном тетрахлорметаном (CCl<sub>4</sub>). В клинической токсикологии отравления тетрахлорметаном встречаются довольно часто, пациенты с данной патологией составляют до 60 % всех печеночных токсикологических больных [4].

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены в осенне-зимний период на 280 беспородных белых крысах обоего пола массой 190 – 240 г, которых содержали в виварии при естественном световом режиме на стандартной диете при свободном доступе к воде и пище. Острый гепатит вызывали введением в желудок 1 мл/кг тетрахлорметана в 20 % масляном растворе ежедневно в течение 6 дней. Учитывая, что фенобарбитал при сочетании с тетрахлорметаном введении лабораторным животным повышает гепатотоксичность последнего из-за усиленного образования реактивных метаболитов, повреждающих мембранные структуры гепатоцитов [5], препараты начинали вводить через сутки после последнего введения тетрахлорметана, ежедневно, в течение 3 дней в ранее установленных эффективных дозах (в мг/кг): фенобарбитал — 50, бензонал и галонал — 70, зиксорин и галодиф — 100 в форме суспензии на 1 % крахмальной слизи. Животные контрольных групп получали гепатотоксин и эквива-

льное количество растворителя. Крыс декапитировали под эфирным наркозом. Терапевтическую эффективность ферментиндуцирующих средств оценивали по их влиянию на выживаемость животных, длительность гексобарбиталового сна (80 мг/кг внутривенно), скорость секреции желчи, морфологические (количество некротизированных гепатоцитов, степень жировой дистрофии) и биохимические показатели печени и сыворотки крови. По ранее описанным методикам [2, 3] в микросомальной фракции печени определяли содержание цитохромов Р-450 и b<sub>5</sub>, белка, РНК, скорость N-деметилирования аминопирина и п-гидроксилирования анилина. Дыхательную активность микросом исследовали полярографически с помощью закрытого платинового электрода. Для определения оксидоредуктазной активности цепи микросомального окисления применяли искусственный акцептор электронов — цитохром С. В цитозоле клеток печени оценивали активность глутатион-редуктазы и глутатион-S-трансферазы. В сыворотке крови определяли ретенцию бромсульфалеина (БСФ, 5 мг) через 45 мин после внутривенной инъекции красителя, активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ), содержание общего, свободного и конъюгированного билирубина. Результаты обработаны методами вариационной статистики с вычислением среднеарифметической и ее стандартной ошибки и использованием параметрического *t*-критерия Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введенный крысам тетрахлорметан накапливается в эндоплазматическом ретикулеуме гепатоцитов и связывается как с гидрофобным участком апофермента цитохрома Р-450, так и с железом гема. Образующиеся свободные радикалы и электрофильные интермедиаты повреждают мембраны гепатоцитов, вызывая тяжелые нарушения функции печени [7]. В группе крыс с интоксикацией тетрахлорметаном, получавших растворитель, летальность составляла 20 %. При гистологическом исследовании печени выявлялись дисконкомплексация печеночных пластинок, отек вокруг синусоидных пространств, микровезикулярное ожирение, колликвационный некроз 17 % гепатоцитов (в норме 0,7 %), преимущественно в центролобулярной зоне.

У отравленных животных выявлены глубокие изменения в системе микросомальных монооксигеназ, сви-

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии (зав. — проф. А. С. Саратиков) Сибирского государственного медицинского университета, Томск, 634050, Московский тракт, 2.

детельствующие о резком угнетении антиоксидантной функции печени (таблица). Уровень цитохрома Р-450 в микросомальной фракции печени снижался в 1,2 раза по сравнению с показателем у животных интактной группы. Работа НАД $\cdot$ Н и НАДФ $\cdot$ Н-зависимых электронтранспортных цепей замедлялась. Скорость метаболизма аминопирина (субстрат I типа) и анилина (субстрат II типа), активность НАДФ $\cdot$ Н-специфической цитохром С-редуктазы уменьшались. Содержание микросомального белка снижалось в 1,9 раза, РНК — в 1,5 раза.

Активация у крыс с ССI<sub>4</sub>-гепатитом процессов свободнорадикального окисления мембранных фосфолипидов влечет за собой развитие синдромов цитолиза (повышение в крови активности аминотрансфераз и ЩФ в 1,4 – 1,5 раза) и холестаза (замедление секреции желчи в 1,6 раза, увеличение в крови содержания общего билирубина в 2,5 раза, свободной фракции билирубина — в 4,4 раза, ретенции БСФ — в 3,2 раза). В цитозоле гепатоцитов отравленных животных существенно уменьшалась активность глутатион-S-трансферазы и глутатионредуктазы, катализирующих II фазу детоксикации ксенобиотиков и участвующих в антиперекисной защите (см. таблицу).

Ферментиндуцирующие средства в условиях интоксикации тетрахлорметаном сохраняли жизнь всех экспериментальных животных и препятствовали развитию патологии печени. Бензонал, галонал, галодиф и зиксорин способствовали полному восстановлению нарушенной гистоархитектоники органа. У крыс, получавших фенотербитал, сохранялись явления воспаления с пролиферативным компонентом, хотя некроз и дистрофия гепатоцитов отсутствовали.

Все препараты сокращали продолжительность гекобарбиталового сна крыс в 2,7 – 4,6 раза по сравнению с его длительностью при интоксикации тетрахлорметаном и в 1,9 – 3,2 раза — по отношению к показателю интактных животных. Этот эффект был наиболее выражен в экспериментах с фенотербиталом и галоналом. У крыс, отравленных ССI<sub>4</sub>, под влиянием ферментиндуцирующих средств, особенно барбитуратов, содержание микросомального белка возрастало в 1,9 – 3,6 раза, РНК — в 1,4 – 2,1 раза, цитохрома Р-450 — в 3 – 4 раза. Бензонал и галодиф повышали также уровень цитохрома b<sub>5</sub> в 1,5 и 2 раза соответственно (см. таблицу).

Ферментиндуцирующие средства ускоряли метаболизм субстратов I и II типов: N-деметилирование аминопирина — в 2 – 5 раз, n-гидроксилирование анилина — в 2,1 – 3,6 раза по сравнению с показателями у животных с токсическим гепатитом. Эти препараты, особенно барбитураты, активировали дыхание микросом печени в среде, содержащей в качестве доноров электронов восстановленные пиридиннуклеотиды (см. таблицу): НАДФ $\cdot$ Н-зависимое дыхание возрастало в 2,9 – 5,1 и в 1,7 – 3 раза, НАД $\cdot$ Н-зависимое — в

2,4 – 4,4 и 1,5 – 2,8 раза по сравнению с показателями у крыс с ССI<sub>4</sub>-интоксикацией и интактных животных, соответственно (см. таблицу).

Исследуемые препараты активировали транспорт электронов к цитохром С-редуктазе, что может быть связано как с увеличением содержания этого флавопротеида в микросомальных мембранах на фоне индуцирующего эффекта, так и с восстановлением целостности полиферментного комплекса “флавопротеид-цитохром Р-450” [1].

Бензонал, галонал, галодиф и зиксорин на фоне действия тетрахлорметана препятствовали цитолизу гепатоцитов, судя по снижению в крови активности аминотрансфераз и ЩФ в 1,2 – 1,5 раза. Фенотербитал, в отличие от своих бензоилпроизводных, не способствовал нормализации активности этих ферментов.

Ферментиндуцирующие средства препятствовали развитию холестаза. В крови они снижали ретенцию БСФ в 2,1 – 3,2 раза, содержание общего билирубина в 1,6 – 2,4 раза, свободного билирубина — в 3,3 – 4,1 раза (за исключением зиксорина), ускоряли секрецию желчи в 1,6 – 1,8 раза (за исключением галодифа). В цитозоле гепатоцитов препараты увеличивали активность ферментов II фазы биотрансформации: глутатион-S-трансферазы — в 1,4 – 2,7 раза и глутатионредуктазы — в 1,4 – 2 раза (см. таблицу).

Таким образом, бензонал, галонал, галодиф, а также фенотербитал и зиксорин в восстановительном периоде после отравления тетрахлорметаном улучшали функции, метаболизм и структуру печени, интенсифицируя регенерацию паренхимы печени. Наиболее выраженным терапевтическим эффектом обладали барбитураты — бензонал и галонал. Фенотербитал не препятствовал развитию вызываемого тетрахлорметаном цитолиза гепатоцитов. Кроме того, он в меньшей степени, чем другие ферментиндуцирующие средства улучшал гистоархитектонику печени. Очевидно, бензонал, галонал и галодиф могут быть рекомендованы для терапии токсических поражений печени тетрахлорметаном в восстановительном периоде.

## ВЫВОДЫ

1. При остром ССI<sub>4</sub>-гепатите крыс бензонал, галонал и галодиф улучшают антиоксидантную функцию печени, повышая содержание и каталитическую активность цитохрома Р-450; препятствуют цитолизу гепатоцитов и стимулируют конъюгацию с восстановленным глутатионом; усиливают желчеотделение, экскрецию бромсульфалеина и билирубина.

2. В механизме гепатопротективного влияния бензонала, галонала и галодифа существенное значение имеют их ферментиндуцирующие свойства.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Арчаков, *Оксигеназы биологических мембран*, Наука, Москва (1983).

Влияние ферментиндуцирующих средств на метаболические показатели печени и крови, желчеотделение крыс при  $\text{CCl}_4$ -интоксикации ( $M \pm m$ ; средние данные из 6 – 8 определений)

Показатель	Интактные животные	Контроль ( $\text{CCl}_4$ -гепатит)	Бензонал	Галонал	Фенобарбитал	Галодиф	Зиксорин
Гексобарбиталовый сон, мин	$17,0 \pm 2,0$	$24,5 \pm 1,4^*$	$9,1 \pm 2,1^*$	$6,5 \pm 1,5^*$	$5,3 \pm 1,7^*$	$9,1 \pm 1,2^*$	$8,8 \pm 1,9^*$
Желчеотделение, мг/100г за 4 ч	978	612	1038	1092	1086	744	984
<i>Микросомы печени</i>							
Белок, мг/орган	$47,5 \pm 5,0$	$25,1 \pm 2,5^*$	$82,5 \pm 8,4^*$	$88,7 \pm 9,5^*$	$91,1 \pm 10,0^*$	$77,7 \pm 8,0^*$	$48,2 \pm 5,1^*$
РНК, мкг на 1 мг белка	$2,12 \pm 0,06$	$1,44 \pm 0,07^*$	$2,73 \pm 0,32^*$	$3,11 \pm 0,18^*$	$2,84 \pm 0,24^*$	$2,47 \pm 0,22^*$	$2,06 \pm 0,05^*$
Цитохромы, нмоль на 1 мг белка:							
P-450	$0,71 \pm 0,03$	$0,60 \pm 0,05^*$	$1,84 \pm 0,16^*$	$2,22 \pm 0,22^*$	$2,42 \pm 0,33^*$	$2,3 \pm 0,21^*$	$0,82 \pm 0,11$
b5	$0,32 \pm 0,02$	$0,31 \pm 0,01$	$0,47 \pm 0,05^*$	$0,54 \pm 0,04^*$	$0,40 \pm 0,06$	$0,66 \pm 0,06^*$	$0,32 \pm 0,01$
Активность ферментов, нмоль на 1 мг белка в мин:							
Аминопирин-N-деметилазы	$1,36 \pm 0,08$	$1,12 \pm 0,20$	$4,58 \pm 0,38^*$	$5,59 \pm 0,50^*$	$5,54 \pm 0,65^*$	$2,96 \pm 0,10^*$	$2,2 \pm 0,04^*$
Анилингидроксилазы	$0,92 \pm 0,05$	$0,24 \pm 0,03^*$	$0,86 \pm 0,07^*$	$0,83 \pm 0,07^*$	$0,85 \pm 0,08^*$	$0,73 \pm 0,01^*$	$0,51 \pm 0,02^*$
Глутатион-S-трансферазы	$283 \pm 19$	$167 \pm 13^*$	$302 \pm 31^*$	$334 \pm 37^*$	$280 \pm 27^*$	$451 \pm 47^*$	$243 \pm 23^*$
Глутатионредуктазы	$44,3 \pm 2,5$	$28,3 \pm 2,8^*$	$54,5 \pm 5,6^*$	$65,8 \pm 7,2^*$	$40,5 \pm 5,2$	$62,3 \pm 7,1^*$	$58,3 \pm 6,7^*$
Цитохром-C-редуктазы	$143 \pm 5$	$68,8 \pm 8,1^*$	$126 \pm 10^*$	$135 \pm 13^*$	$120 \pm 5^*$	$89,2 \pm 8,1$	$96,5 \pm 3,2^*$
Скорость дыхания, $\text{O}_2$ на 1 мг белка в мин:							
НАДФ · Н	$3,6 \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,2^*$	$8,2 \pm 0,4^*$	$10,8 \pm 0,8^*$	$10,4 \pm 1,1^*$	$6,5 \pm 0,6^*$	$6,1 \pm 0,5^*$
НАД · Н	$2,9 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,1^*$	$8,0 \pm 0,6^*$	$4,8 \pm 0,4^*$	$7,4 \pm 0,7^*$	$4,3 \pm 0,5^*$	$6,5 \pm 0,6^*$
<i>Сыворотка крови</i>							
Ретенция БСФ, %	$2,1 \pm 0,3$	$6,8 \pm 0,4^*$	$2,2 \pm 0,2^*$	$2,1 \pm 0,2^*$	$2,3 \pm 0,2^*$	$2,1 \pm 0,2^*$	$3,2 \pm 0,3^*$
Билирубин, мкмоль/л:							
Общий	$1,5 \pm 0,2$	$3,8 \pm 0,4^*$	$1,8 \pm 0,2^*$	$1,6 \pm 0,1^*$	$2,0 \pm 0,3^*$	$1,6 \pm 0,2^*$	$2,3 \pm 0,3^*$
Свободный	$0,32 \pm 0,10$	$1,40 \pm 0,17^*$	$0,34 \pm 0,05^*$	$0,36 \pm 0,07^*$	$0,42 \pm 0,07^*$	$0,35 \pm 0,09^*$	$0,80 \pm 0,17$
Ферменты, мкмоль/л за 1 ч:							
АлАТ	$1,13 \pm 0,04$	$1,65 \pm 0,09^*$	$1,22 \pm 0,09^*$	$1,23 \pm 0,06^*$	$1,46 \pm 0,10$	$1,34 \pm 0,02^*$	$1,21 \pm 0,07$
АсАТ	$1,21 \pm 0,04$	$1,84 \pm 0,05^*$	$1,40 \pm 0,08^*$	$1,34 \pm 0,06^*$	$1,51 \pm 0,07^*$	$1,36 \pm 0,04^*$	$1,40 \pm 0,03^*$
ЩФ	$1,15 \pm 0,05$	$1,77 \pm 0,17^*$	$1,44 \pm 0,15$	$1,28 \pm 0,13$	$2,13 \pm 0,26$	$1,22 \pm 0,11^*$	$1,53 \pm 0,22$

Примечание. \* —  $p < 0,05$ : для  $\text{CCl}_4$  — по сравнению с интактными животными, для препаратов — по отношению к  $\text{CCl}_4$ . БСФ — бромсульфалеин.

2. А. И. Венгеровский, И. М. Седых, А. С. Саратиков, *Экспер. и клин. фармакол.*, **56**(5), 47 – 49 (1993).
3. Т. В. Власова, А. И. Венгеровский, А. С. Саратиков, *Хим.-фарм. ж.*, № 3, 56 – 58 (1994).
4. С. Н. Голиков, И. В. Саноцкий, Л. А. Тиунов, *Общие механизмы токсического действия*, Медицина, Москва (1986).
5. К. М. Лакин, Ю. Ф. Крылов, *Биотрансформация лекарственных веществ*, Медицина, Москва (1981).
6. Т. П. Новожеева, *Автореф. дис. д-ра биол. наук*, Томск (1997).
7. S. Kim, H. Chung, and J. Cho, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **277**(2), 1058 – 1066 (1996)

Поступила 17.04.02

## THE EFFICACY OF ENZYME-INDUCING DRUGS IN RATS WITH EXPERIMENTAL TETRACHLOROMETHANE HEPATITIS

A. S. Saratikov, T. P. Novozheeva, and A. I. Vengerovskii

Department of Pharmacology, Siberian State Medical University, Moskovskii trakt 2, Tomsk, 634050 Russia

Liver monooxygenase system inductors benzonal, galonal, and galodif exceed phenobarbital and zixorin in therapeutic efficacy with respect to rats poisoned with tetrachloromethane. The former drugs increase the content and catalytic activity of cytochrome P-450, improve conjugation with reduced glutathione, prevent the cytolysis of hepatocytes, and stimulate the bile secretion and the liver excretion function.