

# Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

© Коллектив авторов, 2003

Т. П. Новожеева, А. С. Саратиков

## ВЛИЯНИЕ БЕНЗОНАЛА, ГАЛОНАЛА И ГАЛОДИФА НА РАЗВИТИЕ ПОСТИШЕМИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ ПЕЧЕНИ У КРЫС

Сибирский медицинский университет, Томск

В патогенезе большинства заболеваний печени значительную роль играет гипоксия печеночной ткани [1, 2], вызывающая дезинтеграцию мембран субклеточных частиц с последующим нарушением структуры и функции органа [3, 4]. При ишемии печени снижается функциональная активность ферментов монооксигеназной системы [5–8], которая зависит от длительности ишемии [8].

Перспективными корректорами антитоксической функции печени при этой патологии являются индукторы ферментов метаболизма детоксикации ксенобиотиков (ФМДК) [3], поскольку их влияние на активность монооксигеназной системы печени сохраняется как в ишемический, так и в постишемический периоды [1, 4].

Нами исследован терапевтический эффект активных и малотоксичных индукторов монооксигеназной системы печени бензонала, галонала (*o*-фторбензонал) и галодифа (*m*-хлорбензгидрил-мочевина) [9] в сравнении с эталонными ферментиндуцирующими препаратами фенобарбиталом и зиксорином при ишемии печени крыс. Исследуемые препараты в равной степени с фенобарбиталом повышают содержание в печени крыс цитохрома P-450 и НАДФ цитохром P-450-редуктазы. Они вызывают также выраженное увеличе-

ние активности фермента II фазы биотрансформации ксенобиотиков — глутатион-S-трансферазы. Бензонал и галонал относятся к индукторам цитохрома-450 ФБ-типа — СУР-2В1 крыс, а галодиф, обладая ФБ-типом индукции, проявляет и признаки индуктора МХ-типа [10, 11].

### Материалы и методы

Эксперименты проведены в зимний период на 144 крысах-самцах линии Вистар массой 190–230 г, которых содержали при естественном световом режиме на стандартной диете, свободном доступе к воде и пище. Препараты вводили ежедневно в желудок 1 раз в сутки в течение 4 дней до ишемии печени в ранее установленных эффективных терапевтических дозах (мг/кг): фенобарбитал –50, бензонал и галонал – 70, зиксорин и галодиф –100 в форме суспензии на 1 % крахмальной слизи. Животные контрольных групп получали эквивалентное количество растворителя. У всех крыс в день последнего (4-го) введения препаратов под эфирным наркозом создавали тотальную ишемию печени путем наложения микрозажимов на сосуды двенадцатиперстной связки печени в течение 20 или 30 мин с последующим восстановлением кровотока. Оценива-

### Влияние ферментиндуцирующих средств на метаболические показатели печени крыс в постишемическом периоде ( $M \pm m$ ; средние данные из 6–8 определений)

Показатель	Интактные животные	Ложная операция	Контроль (ишемия)	Бензонал	Галонал	Фенобарбитал	Галодиф	Зиксорин
Гексобарбиталовый сон, мин	20,0 ± 2,5	29,2 ± 3,7*	38,0 ± 1,8*	25,0 ± 2,1*	20,5 ± 1,4*	18,0 ± 1,3*	25,0 ± 2,2*	21,0 ± 1,7*
Содержание БСФ в крови, %	1,95 ± 0,45	2,25 ± 0,33	5,02 ± 0,63*	2,11 ± 0,25*	1,44 ± 0,45*	1,51 ± 0,15*	1,70 ± 0,32*	1,85 ± 0,24*
Микросомы печени								
Белок, мг/орган	56,0 ± 2,2	64,7 ± 1,3*	50,7 ± 2,3*	108 ± 9,8*	59,4 ± 6,2*	57,0 ± 2,1*	53,9 ± 5,1	36,6 ± 2,9*
Цитохромы, нмоль на 1 мг белка:								
P-450	1,11 ± 0,09	1,2 ± 0,11	0,60 ± 0,08*	1,6 ± 0,03*	0,8 ± 0,08*	1,1 ± 0,02*	1,2 ± 0,07*	1,1 ± 0,12*
b <sub>5</sub>	0,50 ± 0,05	0,49 ± 0,07	0,30 ± 0,03*	0,46 ± 0,01*	0,46 ± 0,06*	0,61 ± 0,01*	0,31 ± 0,03	0,30 ± 0,01
Активность ферментов, нмоль/мг белка за 1 мин:								
Аминопи-рин-N-деметилаза	1,29 ± 0,04	1,56 ± 0,04*	1,00 ± 0,03*	1,41 ± 0,02*	1,59 ± 0,16*	1,87 ± 0,22*	1,50 ± 0,02*	2,14 ± 0,07*
Анилингидроксилаза	0,48 ± 0,03	0,32 ± 0,03*	0,38 ± 0,04	0,37 ± 0,05	0,40 ± 0,08	0,40 ± 0,02	0,31 ± 0,05	0,64 ± 0,05*
НАДФН: Цитохром с-редуктаза	32,2 ± 1,70	27,6 ± 4,24	19,4 ± 1,42	26,1 ± 0,82*	34,2 ± 3,22*	27,0 ± 0,9*	23,0 ± 0,3*	37,8 ± 2,9*

\*  $p < 0,05$ : для ложнооперированных — по сравнению с интактными животными, для ишемии — по отношению к ложнооперированным животным, для препаратов — по сравнению с ишемией.

ли выживаемость животных после 30-минутной ишемии печени в течение 24 ч после операции. Этот срок ишемии подобран экспериментально: после 20-минутного пережатия сосудов крысы выживали, а после 60-минутного – гибли в течение 1 ч. В качестве контроля для крыс с 20-минутной тотальной ишемией печени использовали ложнооперированных животных. Крысы, перенесших 20-минутную ишемию, через 3-е суток декапитировали под эфирным наркозом. По ранее описанным методикам [12] оценивали: длительность гексобарбиталового сна (80 мг/кг, внутривенно), в микросомальной фракции печени определяли содержание белка, цитохромов P-450 и b<sub>5</sub>, скорость N-деметилирования аминопирина и n-гидроксилирования анилина, активность НАДФН: цитохром с-редуктазы, в сыворотке крови определяли задержку бромсульфалеина (БСФ) через 45 мин после внутривенной инъекции в дозе 5 мг/кг.

Результаты обработаны методами вариационной статистики с вычислением среднеарифметической M и ее стандартной ошибки m и использованием параметрического критерия t-Стьюдента.

### Результаты и их обсуждение

У лапаротомированных (ложнооперированных) крыс отмечается повышение содержания микросомального белка, ускорение N-деметилирования аминопирина и снижение скорости гидроксилирования анилина (таблица).

Постишемический период (4-е сутки после 20-минутной ишемии печени) характеризуется угнетением ФМДК: по сравнению с ложнооперированными животными увеличивается продолжительность гексобарбиталового сна, снижение содержания микросомального белка, цитохромов P-450 и b<sub>5</sub>, скорости N-деметилирования аминопирина – на 36 %, а также повышается в крови уровень БСФ.

Бензонал, галонал и зиксорин при профилактическом введении в течение 4-х дней до ишемического повреждения печени подобно фенобарбиталу и галодифу улучшают состояние системы микросомального окисления в постишемическом периоде. По сравнению с контролем они сокращают продолжительность гексобарбиталового сна, повышают содержание цитохрома P-450 и активность N-деметилазы. Зиксорин, кроме того, активизирует анилингидроксилазу. Все препараты усиливают транспорт электронов к цитохром с-редуктазе, что может быть обусловлено увеличением содержания этого флавопротеина в микросомальных мембранах на фоне индуцирующего эффекта. Барбитураты, кроме того, увеличивают уровень микросомального белка и цитохрома b<sub>5</sub>. Под влиянием зиксорина в постишемическом периоде отмечается дальнейшее снижение содержания микросомального белка. Исследуемые препараты уменьшают задержку в крови БСФ, что свидетельствует об активации процессов конъюгации. При 30-минутной тотальной ишемии печени все исследуемые препараты улучшают выжи-

ваемость крыс (в 1,3 – 1,7 раза) по сравнению с контролем (выживаемость в контроле — 36 %).

Таким образом, исследованные индукторы ФМДК в условиях 20-минутной тотальной ишемии печени крыс при профилактическом введении препятствуют развитию постишемических нарушений, что, по-видимому, обусловлено, во-первых, их мембраностабилизирующим действием, что доказано в отношении фенобарбитала и бензонала [13], во-вторых, усилением регенеративных процессов в гепатоцитах, как это показано для фенобарбитала [3]. Однако ведущим механизмом в постишемической защите гепатоцитов ферментиндуцирующими препаратами, очевидно, является перераспределение кислорода и восстановительных эквивалентов между электронтранспортными системами цитоплазматической сети и митохондрий для обеспечения наиболее быстрого удаления из клетки ксенобиотика-индуктора [6, 14, 15]. Предварительное введение ферментиндуцирующих средств ограничивает окислительные процессы в митохондриях еще до ишемии печени и таким путем предотвращает их повреждение при острой циркуляторной гипоксии.

Судя по экспериментальным данным, профилактическое использование ферментиндуцирующих средств может оказаться эффективным при оперативных вмешательствах на печени для предупреждения ранних постишемических повреждений гепатоцитов и восстановления детоксицирующей функции органа.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Р. А. Гуревич, А. А. Крылов, М. Д. Местечкина, Я. С. Циммерман, *Клин. мед.*, № 7. 18 – 24 (1989).
2. Н. В. Коростовцева, *Повышение устойчивости к гипоксии*, Ленинград (1975).
3. М. В. Биленко, *Ишемические и реперфузионные повреждения органов*, Москва (1989).
4. О. Р. Грек, В. И. Шарапов, В. С. Литвинов, А. В. Долгов, *Фармакол. и токсикол.*, 47(3), 114 – 118 (1984).
5. Г. Г. Воронов, П. И. Лукиенко, *Фармакол. и токсикол.*, 45(4), 55 – 58 (1982).
6. *Гепатоцит. Функционально-метаболические свойства*, Москва (1985).
7. В. И. Шарапов, *Автореф. дис. д-ра мед. наук*, Новосибирск (1993).
8. M. Ferrero, R. Orsi, A. Bernelli-Zazzera, *Exp. molec. Path.*, 28(2), 256 – 259 (1978).
9. Т. П. Новожеева, *Автореф. дис. д-ра биол. наук*, Томск (1997).
10. Т. П. Новожеева, Р. Р. Ахмеджанов, А. С. Саратиков и др., *Хим.-фарм. журн.*, 27(6), 27 – 29 (1993).
11. Т. П. Новожеева, А. С. Саратиков, Н. И. Гришанов и др., *Бюл. exper. биол. мед.*, 103(2), 163 – 165 (1991).
12. Т. В. Власова, А. И. Венгеровский, А. С. Саратиков, *Хим.-фарм. журн.*, 28(3), 56 – 58 (1994).
13. А. С. Саратиков, Т. П. Новожеева, *Фармакол. и токсикол.*, 45(6), 55 – 59 (1982).
14. А. И. Арчаков, *Оксигеназы биологических мембран*, Москва (1983).
15. Л. Д. Лукьянова, Б. С. Балмуханов, А. Т. Уголев, *Кислородозависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние*, Москва (1982).

Поступила 28.05.02.