

УДК 615.73:616.36-002-085

КОРРЕКЦИЯ ХОЛЕСТАЗА РАСТИТЕЛЬНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ НА МОДЕЛИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Л.В. Прокофьева

Ульяновский государственный университет

В исследовании на экспериментальных животных (крысах) изучалась гепатопротекторная активность нового препарата «Бетафит» по способности препятствовать холестазу при токсическом поражении печени туберкулостатиками (рифампицином, изониазидом, пиперазином). «Бетафит» – это смесь водных извлечений из растений с соком свеклы (патент № 212419 от 27.11.98 г., Катикова О.Ю., Тишкин В.С.).

Антихолестатическая активность «Бетафита» изучалась в сравнении с широко применяемыми препаратами: гептрал, галстена, тыквеол, ЛИВ-52. По убыванию выраженности антихолестатической активности препараты исследования представляются следующим образом: «Бетафит» > «Галстена» > «Гептрал» > «Тыквеол» > «ЛИВ-52».

Ключевые слова: гепатопротекторы, ксенобиотики, туберкулостатики, холестаз.

Введение. В современном обществе усиливается антигенная нагрузка на организм человека, приводя к нарушению в основных регуляторных системах, росту заболеваемости, объединенных понятием «экологическая патология» [1]. Печень, выполняя барьерную функцию в отношении ксенобиотиков, повреждается, при этом не только ослабевает ее антитоксическая функция, она сама становится источником эндогенной интоксикации, и в частности по причине холестаза. Учитывая высокую уязвимость гепатоцитов к продуктам перекисного окисления липидов (ПОЛ), целесообразно изучение возможностей использования антиоксидантов при токсических повреждениях печени [5; 18]. В роли инициатора активации ПОЛ в печени выступают, среди прочих ксенобиотиков, и гепатотропные лекарственные средства (ЛС), особенно при длительном применении, лимитируя при этом эффективность фармакотерапии, например туберкулеза, онкологических и других заболеваний [6; 10]. Частота субклинического повреждения печени при применении изониазида очень велика (более 20 %). Токсическое действие изониазида усиливается при одновременном приеме с индукторами ферментов – рифампицином и другими. Побочное гепатотоксическое действие рифампицина, изониазида, пиперазида (РИП) (наиболее часто применяемой комби-

нации для эрадикации туберкулезной инфекции), приводит к хроническому медикаментозному гепатиту, который в 66,6 % случаев имеет персистирующее течение. Кроме паренхиматозных изменений печени при этом имеется и холестаз.

Показания к назначению средств симптоматической и патогенетической терапии при лекарственных повреждениях печени указываются в литературе не конкретно и даже противоречиво. Механизмы действия имеющихся в арсенале практической медицины гепатопротекторных средств, представленных в основном зарубежными препаратами, изучены не полностью; высокоэффективные препараты этого профиля отсутствуют [2; 4; 11; 18; 22].

Растительные гепатопротекторы по сравнению с синтетическими имеют ряд преимуществ: по своей биогенетической структуре, антигенным детерминантам они имеют большее сродство с организмом, что обеспечивает более физиологичное их усваивание [17]. рядом работ доказано: фитопрепараты малотоксичны, обладают хорошей водорастворимостью, что обуславливает их более легкую элиминацию из организма [14] и другие преимущества, перечисление которых не входит в задачи данной публикации.

Таким образом, поиск растительных гепатопротекторных средств, предотвращаю-

ших лекарственное поражение печени при применении РИП, весьма актуален.

Цель исследования – экспериментально доказать наличие антихолестатического действия нового препарата «Бетафит» при экспериментальном поражении печени РИП в сравнении с широко используемыми ЛС: «Гептралом», «Галстеной», «ЛИВ-52», «Тыквеолом».

Задача. Провести сравнительную оценку антихолестатического действия исследуемых препаратов при токсическом повреждении печени туберкулоstaticами (РИП).

Материалы и методы. Исследование проводилось на белых беспородных крысах-самках массой 200–250 г. Интоксикацию моделировали путем 14-дневного интрагастрального введения РИП по модифицированной методике Н.П. Скакуна и А.Н. Олейника, 1967 г. [20]: рифампицина (50 мг/кг), изониазида (50 мг/кг) и пиразинамида (150 мг/кг). Экспериментальная модель воспроизводит основные патогенетические элементы воспалительного процесса в печени: активацию ПОЛ, цитолиз, холестаза, реакцию мезенхимально-эпителиоидной ткани, гепатоцеллюлярную недостаточность, шунтирование крови (табл. 1).

Таблица 1

Группы и препараты исследования

№	Название группы, число крыс	Способ и среднесуточные дозы введения лекарственных средств на 100 г массы тела животного	Курс (дни). Курсовая доза на 100 г массы тела
1.	Контрольная (РИП); n = 12	Внутрижелудочно (РИП): рифам-пицин 5 мг («Акрихин», Россия в соотр. Ipsa Laboratories Ltd, Индия), изониазид 5 мг («Акрихин», Россия), пиразинамид 15 мг (Ipsa Laboratories Ltd, Индия) с водой	14; РИП: рифампицин 70 мг, изониазид 70 мг, пиразинамид 210 мг. Вода – 16 дней
2.	Интактная; n = 21	Внутрижелудочно вода в эквивалентных количествах	Вода – 16 дней
3.	РИП + «Гептрал»; n = 12	РИП + «Гептрал» (Knoll, Германия) 20 мг внутрижелудочно	16; РИП + «Гептрал» 320 мг
4.	РИП + «Галстена»; n = 12	РИП + «Галстена» («Рихард Биттнер ГмбХ», Австрия) 0,05 мл внутрижелудочно	16; РИП + «Галстена», 0,8 мл
5.	РИП + «Тыквеол»; n = 12	РИП + «Тыквеол» (ЗАО «Европа-Биофарм», Волгоград, Россия) 0,15 мл внутрижелудочно	РИП + «Тыквеол» 2, 4 мл
6.	РИП + «ЛИВ-52»; n = 20	РИП + «ЛИВ-52» (Himalaya Drug Co, Индия) 13,3 мг внутрижелудочно	16; РИП + «ЛИВ-52» 212,8 мг
7.	РИП + «Бетафит»; n = 22	РИП + «Бетафит» 0,5 мл внутрижелудочно	16; РИП + «Бетафит» 8 мл

Состав фитокомпозиции «Бетафит»: свежеприготовленного сока корнеплода свеклы обыкновенной (*Beta vulgaris*) – 90 частей, настоев: кукурузных рыльцев (*Zea mays* L.) – 2,5 части, мяты перечной (*Mentha piperita*) наземной части хвоща полевого (*Equisetum arvense* L.) – 2,5 части, отвара плодов шипов-

ника (*Rosa cinnamomea* L.) – 2,5 части. Водные извлечения исследуемых растений готовились по общим правилам технологии приготовления настоев и отваров. Сок свеклы получали соковыжималкой, соединяли с охлажденными настоями и отваром шиповника, фильтровали для очистки от механических примесей.

«Бетафит» изготавливался ежедневно и хранился в холодильнике при $t^{\circ} +4-5^{\circ}\text{C}$.

Включение в исследование фитокомплекса «Бетафит» (патент №212419 от 27.11.98 г., Катикова О.Ю., Тишкин В.С.) исходит из доказанной целесообразности применения его в комплексной терапии хронических диффузных заболеваний печени вирусного и токсического генеза [7; 8].

Введение препаратов осуществлялось в лечебно-профилактическом режиме с началом за два дня до введения РИП, затем параллельно с введением туберкулостатиков в течение 14 дней. Токсиканты и препараты коррекции вводились в суточной дозе однократно. Суточная доза исследуемых препаратов установлена с помощью изотерапевтического, а не изотоксического подхода, исходя из терапевтической дозы для человека с поправкой для применения у животных и увеличения в 10 раз. Внутрижелудочное введение осуществлялось с помощью закругленной толстой металлической иглы с затупленным плоским концом в виде оливы, насаженной на шприц. Животных, предварительно наркотизированных диэтиловым эфиром, забивали декапитацией через 24 часа после заключительного введения РИП и опытного средства.

Кровь центрифугировалась при 3000 об./мин в течение 15 минут. Объектом исследования избрана сыворотка крови. Полученная сыворотка использовалась для определения биохимических показателей, свидетельствующих о развитии токсического поражения печени, в том числе холестаза.

Способность препаратов препятствовать холестазу изучалась по активности ферментов: щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутаматтранспептидазы (ГГТП) и содержанию билирубина (общего и прямого) в сыворотке крови, являющихся индикаторами синдрома холестаза.

Активность ЩФ – кинетический УФ анализ с применением п-нитрофенилфосфата. Активность ГГТП – колориметрический кинетический метод по Зейц – Персин (Szasz). Содержание билирубина общего колориметрическим методом с 2,4-дихлоранилином (Д.С.А-метод). Активность ферментов

(ЩФ, ГГТП) и билирубина общего определялась на интегральной лабораторной системе НТАСНІ-911 фирмы Voeringar Mannheim, Германия со стандартными наборами реактивов Lachema FS Германия.

Результаты и обсуждение. Антихолестатическое действие исследуемых препаратов оценивали по степени их влияния на активность ферментов (ЩФ, ГГТП) и содержание веществ (билирубина общего и прямого), являющихся индикаторами синдрома холестаза в сыворотке крови [9; 18; 19].

Незначительное повышение активности ЩФ в сыворотке крови животных контрольной группы (на 60,4 %, $P < 0,01$) (табл. 2) свидетельствует в большей степени о печеночно-клеточной патологии, нежели об obstructивных повреждениях внутрипеченочных желчевыводящих путей [13]. Рост активности этого фермента обусловлен повышенным выделением его в синусоиды через плазматические мембраны гепатоцитов [20], структура которых повреждена действием токсического фактора. Кроме того, не исключается увеличение синтеза ЩФ гепатоцитами в связи с повышением образования белка и РНК, обусловленным активацией механизмов физиологической регенерации [16]. Применение растительных гепатопротекторных средств «Галстена» и «Бетафит» выявило сдерживание роста активности ЩФ (27 %, 2 % и 31,4 %) соответственно, применение препарата «Гептрал» препятствовало росту активности ЩФ, но не так выражено (50,9 %) по сравнению с группой контроля. Применение препаратов «Тыквеол» незначительно снизило активность фермента (58,5 %), при применении «ЛИВ-52» отмечается нарастание активности ЩФ (83,3 %) по сравнению с группой контроля, что может отражать не только паренхиматозную патологию, но и развитие внутрипеченочного холестаза [18; 21].

ГГТП является ферментом более чувствительным к повреждению клеток печени (особенно токсической этиологии), чем другие ферменты: ЩФ, АСТ, АЛТ, ЛДГ [13]. Активность ГГТП, являющейся признаком гепатотоксичности, в контрольной группе оказалась повышенной на 551,0 % ($p \# < 0,001$) по сравнению с интактной группой. Исполь-

зование препарата «Галстена» недостоверно снизило активность ГГТП. При заболеваниях печени, сопровождающихся холестазом и печеночной энцефалопатией, с высокой степенью эффективности используется «Гептрал» [3; 15]. В данном эксперименте препарат «Гептрал» действительно продемонстрировал способность препятствовать росту активностей ЩФ и ГГТП. Однако способности пре-

паратов «Бетафит» и «Галстена» по содержанию роста активностей ЩФ и ГГТП превосходили антихолестатический эффект препарата «Гептрал» (табл. 2). Применение с коррегирующей с целью препаратов «Тыквеол» и «ЛИВ-52» в меньшей степени по сравнению с другими опытными группами способствовало сдерживанию роста активности ГГТП.

Таблица 2

Влияние исследуемых препаратов на активность щелочной фосфатазы, гаммаглутаматтранспептидазы и содержание билирубина общего и прямого сыворотки крови крыс при индуцированном туберкулозистиками повреждении печени

Группа	Активность ЩФ, ед/л, % изменений	Активность ГГТП, ед/л, % изменений	Содержание билирубина общего, мкмоль/л, % изменений	Содержание Билирубина прямого, мкмоль/л, % изменений
Интактная n = 21	259±31	0,70±0,48	1,17±0,3	0,64±0,5
Контрольная (РИП) N = 12	415±21# 60,5	4,56±0,53# 551,0	Не было реактива	6,67±0,71# 942,2
«Гептрал» + РИП n = 12	391±69* 50,9	1,4±0,51* 100,0	2,77±0,44* 137,0	2,0±0,53* 213,0
«Галстена» + РИП n = 12	329±43* 27,2	0,67±0,65* -4,3	7,0±0,72* 490,0	1,4±0,52* 119,0
«Бетафит» + РИП n = 12	340±62* 31,4	1,00±0,63* 42,9	1,7±0,24* 41,0	1,27±0,65* 98,4
«Тыквеол» + РИП n = 22	410±46* 58,5	2,57±0,53* 267,0	4,8±1,0* 309,0	1,0±0,7* 56,3
«ЛИВ-52» + РИП N = 20	475±69* 83,3	3,67±1,50* 424,0	Не было реактива	6,67±2,7* 942,0

Примечание. * – достоверность различий по сравнению с группой контроля (<0,05); # – достоверность различий по сравнению с интактными животными (< 0,05).

Интересной оказалась динамика содержания билирубина в сыворотке крови. Уровень билирубина прямого в группе контрольных животных оказался повышенным на 942,2 % ($p\#<0,001$) (табл. 2). Это является отражением развития паренхиматозной желтухи, наступающей вследствие деструкции гепатоцитов, при которой нарушается экскреция конъюгированного билирубина в желчные капилляры и он попадает непосредственно в кровь [20; 21]. При токсической альтерации печеночных клеток снижается их способность синтезировать билирубин-глюкурониды, вследствие чего содержание об-

щего билирубина повышается также за счет его непрямой фракции [13]. В группе использования препарата «Бетафит» и, в меньшей степени, препарата «Гептрал» отмечается незначительное увеличение содержания билирубина общего, преимущественно за счет конъюгированной фракции (табл. 2). Это может свидетельствовать о недостаточности глюкуронизирующей фракции гепатоцитов, но, вероятнее всего, в данном случае приемлемо говорить о варианте поражения печени с билирубин-аминотрансферазной диссоциацией, при котором выраженная гипербилирубинемия сочетается с относительно низкой

активностью аминотрансфераз [13]. Активность аминотрансфераз в аналогичных группах животных определялась нами ранее. При этом влияние исследуемых препаратов на активность индикаторов цитолитического синдрома по убыванию гепатопротекторной активности выразилось следующим образом: «Галстена» > «Бетафит» > «Гептрал» > «Тыквеол» > «ЛИВ-52».

Не исключено, что повышение уровня билирубина, являющегося эндогенным антиоксидантом, является защитной реакцией организма, направленной на подавление ПОЛ и стабилизацию мембран гепатоцитов при остром гепатите [6].

Выводы

1. При экспериментальном поражении печени крыс, вызванном комбинацией туберкулоstaticов (рифампицин, изониазид, пиразинамид), препараты «Бетафит» и «Галстена» оказывали более выраженное гепатопротекторное (антихолестатическое действие), чем «Гептрал», «Тыквеол» и «ЛИВ-52».

2. Экспериментально доказана целесообразность клинического изучения препарата «Бетафит» для профилактики и лечения поражений печени, возникающих при применении туберкулоstaticов.

3. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о необходимости дифференцированного выбора гепатозащитных средств при профилактике и лечении медикаментозных и токсических поражений печени.

1. Азизова, О.А. Роль свободнорадикальных процессов в патогенезе атеросклероза / О.А. Азизова // Материалы национальной науч.-практической конф. «Свободные радикалы, антиоксиданты и болезни человека». Смоленск, 2001. – С. 102–103.

2. Буеверов, А.О. Адemetионин: биологические функции и терапевтические эффекты / А.О. Буеверов // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2001. – №3. – С. 16–20.

3. Буеверов, А.О. Лекарственные поражения печени / А.О. Буеверов // Рус. мед. журн. – Т. 3. – №1. – С. 16–18.

4. Буеверов, А.О. Место гепатопротекторов в лечении заболеваний печени / А.О. Буеверов //

Болезни органов пищеварения. – 2001. – Т. 3. – №1. – С. 16–18.

5. Буеверов, А.О. Общие представления о лекарственных поражениях печени / А.О. Буеверов // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2002. – №4. – С. 7–11.

6. Буеверов, А.О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени / А.О. Буеверов // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2002. – Т. 12. – №4. – С. 25.

7. Катикова, О.Ю. Эффективность и безопасность гепатопротекторов растительного происхождения / О.Ю. Катикова, В.С. Тишкин // Ученые записки Ульяновского гос. ун-та, сер. «Биология и медицина»; под ред. действительного члена РАЕН д.б.н. проф. Сыча В.Ф. – Вып. 1 (4). – Ульяновск, 2000. – С. 31–40.

8. Катикова, О.Ю. Применение фитокомплекса «Бетафит» при поражениях печени токсического и вирусного генеза / О.Ю. Катикова, Р.И. Ягудина // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2000. – Т. 10. – №1. – С. 10.

9. Логинов, А.С. Оценка холестаза по активности антиоксидантных ферментов и составу липопротеидов плазмы крови больных с патологией печени / А.С. Логинов, Б.Н. Матюшин, С.М. Чебанов и др. // Терапевтический архив. – 1998. – №4. – С. 40–42.

10. Макарьянц, М.Л. Оценка влияния парацетамола на морфологическую картину печени и слизистой оболочки желудка у крыс / М.Л. Макарьянц, С.Ю. Виноградов и др. // Тез. докл. VIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство», 2–6 апреля 2001 г., Москва. – С. 588.

11. Масевич, Ц.Г. Особенности тактики терапии хронических гепатитов различной этиологии / Ц.Г. Масевич, Л.Г. Ермолаева // Гастроэнтерология. – 2000. – №1–2. – Прил. №1. Материалы 2-й Объединенной Всероссийской и Всеармейской науч. конф. «Санкт-Петербург – Гастро-2000», 20–22 сентября 2000. – 210. – С. 55.

12. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике: справ. / В.В. Меньшиков. – М.: Медицина, 1987. – С. 354.

13. Назаренко, Г.И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун. – М.: Медицина, 2000.

14. Петухов, А.Б. Антиоксидантная система и энтеросорбция при патологии органов пищеварения / А.Б. Петухов, Г.Ю. Мальцев, А.К. Шеховская // Гастроэнтерология. – 2000. – №2. – С. 73.

15. Подымова, С.Д. Болезни печени / С.Д. Подымова. – М.: Медицина, 1998.

16. Подымова, С.Д. Оценка эффективности препарата «Гептрал» у больных с хроническими диффузными заболеваниями печени с синдромом внутрипеченочного холестаза / С.Д. Подымова, М.Ю. Надинская // Клиническая медицина. – 1998. – №10. – С. 45–48.

17. Рыженкова, М.А. Сравнительная оценка антиоксидантной активности некоторых лекарственных растений *in vitro* и *in vivo* / М.А. Рыженкова, Р.Р. Фархутдинов, Ж.З. Загидуллин и др. // Биоантиоксидант. – 1997. – С. 47.

18. Садовникова, И.В. Теоретическое обоснование патогенетической терапии токсических Гепатитов / И.В. Садовникова, В.В. Садовникова, Н.А. Бобылева и др. // Тез. докл. VIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство», 2–6 апреля 2001 г., Москва. – С. 613.

19. Скакун, Н.П. Коррекция гепатотоксичности противотуберкулезных препаратов токоферола ацетатом и рибоксином / Н.П. Скакун,

Ю.И. Сливка // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1992. – Т. 55. – №3. – С. 52–54.

20. Шерлок, Ш. Заболевания печени и желчных путей / Ш. Шерлок, Дж. Дули. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 1999.

21. Яковенко, Э.П. Внутривеночный холестаза – от патогенеза к лечению / Э.П. Яковенко, П.Я. Григорьев, Н.А. Агафонова, А.В. Яковенко // Практикующий врач. – 1998. – №13(2). – С. 20–23.

22. Pessayre, D. Non-alcoholic steatohepatitis: potential causes pathogenic mechanisms / D. Pessayre, A. Mansouri, B. Fromenty // *Yn: Hepatology* 2000. Falk symposium 117. – Kluwer Academic Publishers. – 2000. – P. 57–76.

CORRECTION OF CHOLESTASIA BY PLANT PREPARATIONS ON THE MODEL OF DRUG DAMAGE OF A LIVER

L.V. Prokofieva

Ulyanovsk State University

In this research hepatoprotective activity of a new preparation «Betafitum» in its ability to prevent cholestasia in toxic affection of a liver by tuberculostatics («Rifampicinum», «Isoniazidum», «Pyrazinamidum») was studied in experimental animals (rats).

«Betafitum» is a mixture of water extracts from plants with beet juice (patent № 212419,27.11.98, Katikova O. U.)

Anticholestatic activity of «Betafitum» was studied in comparison of widely used preparations «Heptralum», «Ademetioninum», «Galstena», «Tycveolum», «Liv-52».

Conclusion Decrease of manifestation of anticholestatic activity in researched preparations is represented as follows «Betafitum» > «Galstena» > «Heptralum» > «Tycveolum» > «Liv 52».

Keywords: hepatoprotective, tuberculostatics, cholestasia.