

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, пиразинамидом). «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, пиразинамида (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 туберкулоstaticами 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.* Адемeтионин: 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. Шяховская // 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. Внутрипеченочный 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.