

ВЛИЯНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА “КСИМЕДОН” НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ

© 2015 г. А. Б. Выштакалюк, Н. Г. Назаров, А. Г. Порфирьев, И. В. Зуева, О. А. Миннеханова,
О. В. Маятина, В. С. Резник, В. В. Зобов, академик РАН Е. Е. Никольский

Поступило 29.01.2015 г.

DOI: 10.7868/S0869565215130241

Отечественный лекарственный препарат Ксимедон (1-(В-оксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидро-2-оксопиримидон, регистрационный номер ЛС-000045) известен как средство с выраженным регенеративным и репаративным действием [1], которое с высокой эффективностью применяется в клинической практике для лечения ожогов и для заживления ран в постоперационный период. Результаты клинических исследований последних лет позволили выявить новые показания к применению Ксимедона: склеродермия [2], псориаз [3], обструктивная болезнь легких [4], язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки [5], остеомиелит [6, 7], гнойно-воспалительные заболевания [8]. Показано, что Ксимедон оказывает влияние на ключевые биохимические процессы на клеточном и субклеточном уровнях, активируя аденилатциклазу, что приводит к быстрому накоплению цАМФ в клетке, к стимуляции обменных процессов и, в первую очередь, биосинтеза белка.

Препарат воздействует также на систему регуляции активного транспорта кальция в клетке, влияет на процессы тканевого дыхания, перекисного окисления липидов и активность антиоксидантной системы [9].

Поскольку неинфекционные и инфекционные заболевания печени в последнее время приобретают все большую социальную значимость, а на современном фармацевтическом рынке гепатопротекторов нет ни отечественных, ни импортных препаратов, которые бы полностью удовлетворяли всем необходимым требованиям для лекарств данной фармакологической группы [10,

11], поиск эффективных гепатопротекторов является актуальной задачей. Среди существующих лекарств для лечения патологии печени более половины составляют средства растительного происхождения, причем наиболее распространенными среди них являются препараты на основе расторопши пятнистой [12]. Учитывая литературные сведения о препарате Ксимедон и полученные нами ранее данные об уменьшении признаков поражения печени четыреххлористым углеродом при профилактическом введении Ксимедона [13], можно предположить, что этот препарат окажется эффективным и при восстановительной терапии печени.

Таким образом, целью настоящего исследования было изучение терапевтической эффективности Ксимедона на модели токсического повреждения печени, индуцированного CCl_4 .

Работа выполнена на 111 беспородных половозрелых крысах обоего пола. Для индукции токсического повреждения печени [14] животным вводили четыреххлористый углерод CCl_4 , разбавленный 1 : 1 растительным маслом, в течение 3–4 дней, подкожно, в дозе 2 мл/кг (схема 1) или однократно, перорально, в дозе 4 мл/кг (схема 2). Для терапевтического воздействия крысам опытных групп, начиная со следующего дня после индукции токсического повреждения печени по схеме 1, в первом опыте вводили Ксимедон в течение 5 дней в дозах 20, 45 и 70 мг/кг. Во втором опыте – в течение 19 дней в дозах 5, 10 и 50 мг/кг, выводя животных из опыта на 10-й и 20-й дни для взятия крови и получения гистологического материала. После введения CCl_4 по схеме 2 в третьем опыте Ксимедон вводили в течение 3 дней в дозах 10 и 50 мг/кг. Животные контрольных групп Ксимедон не получали. По окончании введения препаратов крысы получали эфирный наркоз с соблюдением “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” [15].

*Институт органической и физической химии
им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра
Российской Академии наук, Казань*

E-mail: alex.vysh@mail.ru

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Таблица 1. Биохимические показатели крови у крыс

Группа крыс	АлАТ, ед./л	АсАТ, ед./л	Коэффициент де Ритиса	ЩФ, ед./л	n
Интактные	37.38 ± 2.69	148.06 ± 8.60	4.45 ± 0.29	311.5 ± 25.0	44
Показатели в 1-м опыте (индукция повреждения печени по схеме 1)					
Контроль, 2-й день	131.49 ± 22.43 <i>p</i> < 0.001	238.08 ± 15.27 <i>p</i> < 0.001	2.39 ± 0.51 <i>p</i> < 0.05	433.2 ± 65.2 <i>p</i> < 0.05	14
Контроль, 6-й день	89.13 ± 13.97 <i>p</i> < 0.001	168.52 ± 14.62	2.37 ± 0.32 <i>p</i> < 0.001	349.1 ± 26.4	13
Ксимедон 20 мг/кг, 6-й день	69.25 ± 19.63 <i>p</i> < 0.01	126.11 ± 22.96	2.27 ± 0.89 <i>p</i> < 0.05	430.2 ± 84.1	3
Ксимедон 45 мг/кг, 6-й день	79.01 ± 15.54 <i>p</i> < 0.001	185.06 ± 30.79	2.39 ± 0.11 <i>p</i> < 0.05	476.9 ± 135.5	4
Ксимедон 70 мг/кг, 6-й день	77.00 ± 13.81 <i>p</i> < 0.001	217.06 ± 8.92 <i>p</i> < 0.05	3.00 ± 0.50	347.1 ± 28.9	3
Показатели во 2-м опыте (индукция повреждения печени по схеме 2)					
Контроль, 4-й день	135.69 ± 25.27 <i>p</i> < 0.001	221.20 ± 35.96 <i>p</i> < 0.05	1.73 ± 0.25 <i>p</i> < 0.01	453.1 ± 84.1	4
Ксимедон 10 мг/кг, 4-й день	99.22 ± 17.56 <i>p</i> < 0.001	209.86 ± 14.63	2.16 ± 0.23	401.4 ± 50.2	3
Ксимедон 50 мг/кг, 4-й день	42.77 ± 14.01	149.57 ± 8.48	3.99 ± 1.50	136.3 ± 31.3	3

Примечание. $M \pm m$, n – число животных в группе; достоверность различий – при сравнении с показателями интактных крыс.

Затем у них брали кровь для биохимических исследований и извлекали печень для оценки морфологических изменений. В сыворотке крови определяли аланинаминотрансферазу (АлАТ), аспаргатаминотрансферазу (АсАТ), щелочную фосфатазу (ЩФ) на анализаторе RX Daytona (“Randox”, Великобритания) и рассчитывали коэффициент де Ритиса (КР) как отношение АсАТ/АлАТ. Морфологические изменения печени изучали путем гистологического анализа (фиксация 10%-м формалином, заливка в парафин, окраска гематоксилин-эозином). Микрофотосъемку проводили на установке: микроскоп AxioImager M2, цифровая камера AxioCamHRC (“Zeiss”, Германия) и персональный компьютер. Исследованные параллельно показатели интактных животных были приняты за норматив.

Полученный цифровой материал обрабатывали с помощью программы Origin 6.1, выборки сравнивали по критерию *t* Стьюдента.

Исследование состояния животных на следующий день после окончания введения CCl_4 по схеме 1 выявило статистически достоверное повышение АлАТ, АсАТ, ЩФ и снижение КР по сравнению с интактными животными (табл. 1). Наиболее существенно (в 3.6 раза) повышалась активность АлАТ. Выявленные изменения биохимических показателей крови, а также результаты исследования гистологических срезов печени крыс, подвергнутых воздействию CCl_4 по схеме 1,

подтверждают формирование токсического повреждения печени у животных.

Исследование состояния крыс в контрольной группе в динамике выявило, что на 6-й день отклонение от нормы (показатели интактных крыс) исследуемых параметров уменьшается по сравнению с изменениями, обнаруженными сразу после воздействия CCl_4 : остается повышенным уровень АлАТ и пониженным – КР, в то время как уровни АсАТ и ЩФ приходят в норму. Изменения показателей крови, выявленные в контрольной группе на 6-й день, свидетельствуют о продолжающихся деструктивных нарушениях в печени (табл. 1).

Результаты исследования биохимических показателей крови на 10-й и 20-й дни после воздействия CCl_4 не выявили достоверных различий показателей в контрольной группе по сравнению с таковыми интактных животных, что свидетельствует о купировании патологического процесса деструкции гепатоцитов за счет естественных компенсаторных реакций организма. Поэтому значения биохимических показателей крови на поздних сроках исследования в табл. 1 не приводили.

При введении Ксимедона по схеме 1 на 6-й день мы не наблюдали статистически достоверного снижения содержания АлАТ в плазме крови по сравнению с контрольными значениями при всех исследуемых дозах препарата, что свидетельствует об уменьшении деструктивных изменений и улучшении функционального состояния пече-

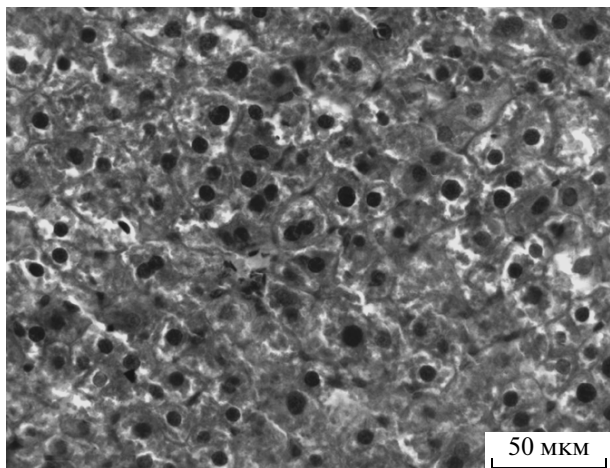


Рис. 1. Дистрофические изменения гепатоцитов и нарушение структурной организации печени у крыс контрольной группы на 6-й день после воздействия CCl_4 по схеме 1. Здесь и на рис. 2 увеличение $\times 600$.

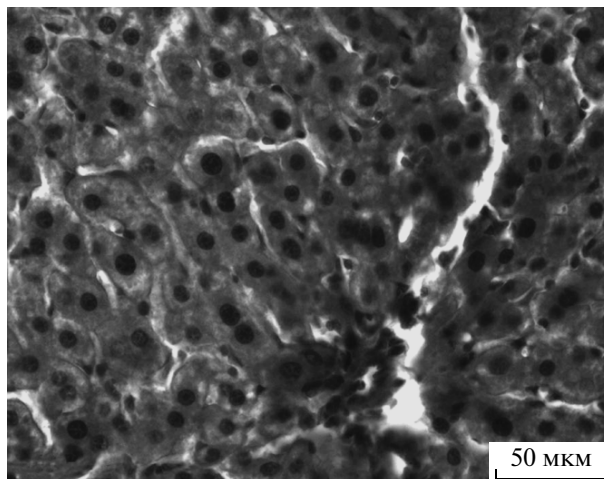


Рис. 2. Уменьшение дистрофических изменений гепатоцитов и нормализация структурной организации печени в группе, получавшей Ксимедон в дозе 20 мг/кг в течение 5 дней после воздействия CCl_4 по схеме 1.

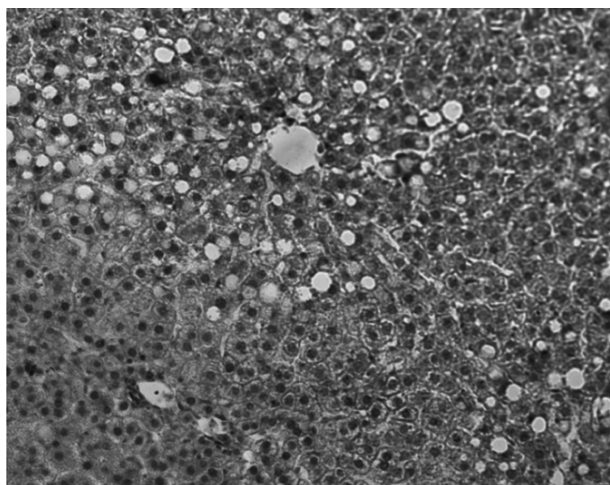


Рис. 3. Область печени, пораженная стеатозом, у крыс контрольной группы на 10-й день после воздействия CCl_4 по схеме 1. Здесь и на рис. 4 увеличение $\times 30$.

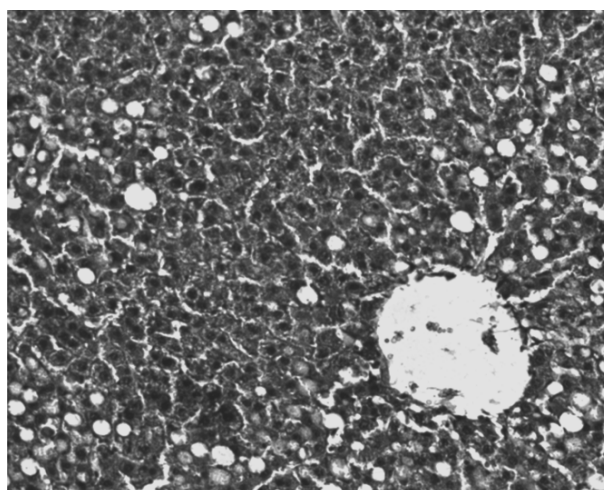


Рис. 4. Уменьшение области стеатоза у крыс при введении Ксимедона в дозе 5 мг/кг в течение 9 дней после воздействия CCl_4 по схеме 1.

ни (табл. 1). На 10-й и 20-й дни после воздействия CCl_4 в опытных группах, получавших Ксимедон, так же как и в контроле, исследуемые биохимические показатели также не отличались от соответствующих значений интактных животных.

Исследование гистологической картины печени подтвердило уменьшение патологических изменений и ускорение регенерации клеток паренхимы органа под влиянием Ксимедона. На гистологических препаратах контрольной группы крыс (рис. 1) в опыте по схеме 1 на 6-й день наблюдали гидропическую и зернистую дистрофию с капельной жировой инфильтрацией цитоплазмы клеток, нарушение дольчатого строения с небольшо-

ми участками жирового перерождения (стеатоза). В соответствующих опытных группах проявления дистрофических изменений и нарушений структурной организации были менее выраженными (рис. 2).

В опыте по схеме 2 на 10-й день в контрольной группе наблюдали стеатоз с локализацией участков повреждения у центра печеночной дольки, вокруг центральных кровеносных сосудов (рис. 3). Определение площади нормальной, патологически не измененной ткани относительно всей площади гистологического среза в поле зрения микроскопа у животных контрольной группы на 10-й день после воздействия CCl_4 показало,

что доля здоровой ткани составляет лишь $65.4 \pm 2.9\%$ (рис. 2). Данный показатель не отличался от соответствующих значений на 2-й день после воздействия CCl_4 , составлявших $63.3 \pm 2.1\%$. То есть в контрольной группе за 10-дневный промежуток времени не происходило естественного восстановления печеночной ткани. На 20-й день доля нормальной, неизменной ткани в контроле составляла $80.0 \pm 4.1\%$.

У животных опытных групп в опыте по схеме 2 на 10-й день (рис. 4) доля здоровой ткани печени на гистологических срезах составляла 87.6 ± 4.0 , 77.6 ± 6.1 и $77.1 \pm 3.0\%$ соответственно при дозах Ксимедона 5, 10 и 50 мг/кг. Эти показатели были статистически достоверно выше при $p < 0.001$, 0.05 и 0.001 соответственно по сравнению с контрольной группой. На 20-й день этот показатель в опытных группах составлял 97.60 ± 0.50 , 86.5 ± 3.2 и $98.2 \pm 0.8\%$ при введении Ксимедона в дозах 5, 10 и 50 мг/кг соответственно (различия с контролем статистически достоверны при $p < 0.001$). Полученные данные свидетельствуют, что Ксимедон стимулирует регенерацию печеночной ткани при токсическом повреждении печени.

При воздействии по схеме 2 в контрольной группе на 4-й день после введения CCl_4 мы отмечали аналогичные изменения биохимических показателей, что и при схеме 1 (табл. 1), что свидетельствует о развитии токсического повреждения печени.

В опытных группах отклонение биохимических показателей от интактных животных уменьшалось уже через 4 дня после введения CCl_4 . Причем при дозе Ксимедона, равной 10 мг/кг, имели место различия показателей (уровни АлАТ и АсАТ) по сравнению с интактными животными, в то время как в группе, получавшей 50 мг/кг Ксимедона, все показатели восстанавливались до нормы (табл. 1). При проведении опытов по схеме 2 также было выявлено уменьшение патологических изменений в гистологическом строении печени.

Проведенное исследование выявило положительный эффект препарата Ксимедон на восстановление печени крыс при ее токсическом повреждении. При индукции гепатотоксичности путем однократного перорального введения CCl_4 Ксимедон в дозе 50 мг/кг нормализует биохимические показатели крови, а при более жестком воздействии CCl_4 (3–4-кратное внутрибрюшинное введение) проявляется лишь тенденция к нормализации.

Наиболее выраженное улучшение процесса регенерации печеночной ткани мы наблюдали при использовании Ксимедона в дозах 5–20 мг/кг.

Полученные результаты позволяют говорить о перспективах использования Ксимедона не только в качестве профилактического [13], но и лечебного средства при токсических поражениях печени.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14–50–00014).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Измайлов С.Г., Паршиков В.В. // Нижегород. мед. журн. 2002. № 3. С. 81–87.
2. Бодрова Р.А., Салихов И.Г., Зиганшина Л.Е. // Казан. мед. журн. 2002. № 5. С. 348–351.
3. Галиуллина Л.А., Хафизьянова Р.Х. // Вестн. дерматологии и венерологии. 1999. № 4. С. 38–39.
4. Гилязов И.Р., Фазлыев М.М. // Казан. мед. журн. 2008. № 6. С. 751–755.
5. Доброквашин С.В., Поздеев О.К., Якупов Р.Р., Морозова Л.Г. Патент РФ № 2250767, 2005.
6. Малышев К.В. // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. 2000. Т. 159. № 4. С. 59–63.
7. Терещенко В.Ю., Малышев К.В. // Фармакология и токсикология биологически активных веществ. 1996. № 2. С. 132.
8. Ягудина Л.А., Зиганшина Л.Е., Цибулькин А.П. // Клин. фармакология и терапия. 2005. № 2. С. 94–96.
9. Измайлов С.Г., Паршиков В.В. // Нижегород. мед. журн. 2002. № 3. С. 81–87.
10. Новикова В.Е., Климкина Е.И. // Обзоры по клин. фармакологии и лекарственной терапии. 2005. Т. 4. № 1. С. 2–20.
11. Тауки А.Н., Федоров В.Н., Куница З.А., и др. // Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. 2010. № 1. С. 66–73.
12. Minakhmetov R.A., Onuchak L.A., Kurkin V.A., et al. // Chem. Natural Compounds. 2001. V. 37. № 4. P. 318–321.
13. Выштакалюк А.Б., Назаров Н.Г., Зуева И.В. и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2013. № 5. С. 595–599.
14. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Минздрав РФ, ЗАО “ИИА “Ремедиум”, 2005. 398 с.
15. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg, 1986. 48 p.