

**БЮЛЛЕТЕНЬ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
БИОЛОГИИ
И МЕДИЦИНЫ**

5

2013

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ “КСИМЕДОНА”

А.Б.Выштакалюк¹, Н.Г.Назаров^{1,2}, И.В.Зуева², А.В.Ланцова¹, О.А.Миннеханова¹, Д.В.Бусыгин², А.Г.Порфирьев², В.Г.Евтюгин², В.С.Резник¹, В.В.Зобов^{1,2}

¹ФГБУН Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова Казанского научного центра РАН; ²ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет

На лабораторных животных с экспериментально вызванным токсическим гепатитом показано, что регенерирующее и ранозаживляющее лекарственное средство “Ксимедон” (1-(β-оксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидро-2-оксопиримидин) проявляет гепатопротективные свойства. При пероральном введении препарата снижается тяжесть токсического поражения печени, вызываемого CCl₄, уменьшается смертность животных. При токсическом поражении “Ксимедон” способствует восстановлению биохимических показателей крови, характеризующих состояние печени.

Ключевые слова: ксимедон, гепатопротекторы, токсический гепатит, болезни печени

Усиление воздействия таких неблагоприятных факторов, как загрязненность окружающей среды, инфекции, некачественное питание и др. способствуют неуклонному росту распространенности заболеваний и различного рода нарушений функции печени [5,8]. В связи с этим поиск высокоэффективных лекарственных средств, обладающих гепатопротективным действием, является актуальной задачей как для медицины, так и для профилактической (ноотропной) фармакологии, экологии труда и спорта.

Несмотря на достаточно большое количество лекарственных препаратов гепатопротективного действия на фармацевтическом рынке гепатопротекторов отсутствуют отечественные средства, которые бы полностью удовлетворяли всем необходимым требованиям для лекарств данной фармакологической группы [2,3,7-12]. Активный поиск гепатопротекторов ведется учеными как в России, так и за рубежом [2,7,9-12].

“Ксимедон” (1-(β-оксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидро-2-оксопиримидин) — оригинальный отечественный лекарственный препарат, обладающий широким спектром фармакологического действия: ранозаживляющее, регенерационное, противовос-

палительное, иммуностимулирующее, радиозащитное и антиоксидантное [1,4]. При этом препарат имеет низкую токсичность (ЛД₅₀ более 7000 мг/кг).

Цель данного исследования — изучение гепатопротективных свойств “Ксимедона” для расширения представлений о спектре биологической активности данного препарата и решения задачи по поиску безопасных отечественных гепатопротекторов, востребованных в экологии труда и спорта.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена на беспородных белых крысах ($n=30$) массой 250-400 г и мышах ($n=45$) массой 12-27 г в соответствии с методикой, описанной в “Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ” [6], с соблюдением требований “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей”.

Токсический гепатит моделировали путем подкожного или перорального введения гепатотоксина (Hetox), представляющего собой раствор CCl₄ в оливковом масле при объемном соотношении 1:1. Исследуемый препарат “Ксимедон” и Hetox вводили по следующим схемам: *схема 1* — введение в течение 4 сут Hetox крысам и мышам подкожно

в дозе 2 мл/кг через 1 ч после перорального введения ксимедона в дозах 5, 10, 50 мг/кг; *схема 2* — введение Hetox крысам перорально в дозе 4 мл/кг однократно, затем со следующих суток — ксимедон перорально в дозах 10 и 50 мг/кг в течение 3 сут; *схема 3* — введение ксимедона мышам перорально в течение 4 сут в дозе 50 мг/кг, в последний день — разовое введение Hetox перорально в дозе 4 и 5 мл/кг через 1 ч после последнего введения ксимедона. Для каждой схемы были поставлены отдельные опыты. В каждом из них были свои контрольные группы, получавшие только гепатотоксин, и опытные группы, которым вводили гепатотоксин и ксимедон в соответствии со схемой.

При проведении исследований на лабораторных крысах были сформированы группы по 3-6 особей в каждой, в опытах на лабораторных мышах — по 5-7 особей. Контрольные группы получали Hetox по аналогичным схемам, но вместо ксимедона — перорально воду. Кроме того, биохимические показатели крови были исследованы у крыс ($n=6$), не подвергнутых воздействию Hetox и

лекарственных препаратов (интактный контроль — норма).

В опытах исследовали массу животных до и после воздействия по указанным схемам. По окончании экспериментов животных декапитировали под эфирным наркозом, брали кровь для биохимического исследования и печень для макро- и микроморфологического исследования. Биохимические показатели определяли на биохимическом анализаторе "DaytonaRadox" с помощью набора тестов "Radox". Оценивали состояние печени по внешнему виду и исследовали микроморфологию на гистологических срезах (фиксация 10% формалином, парафиновые срезы толщиной 7-10 мкм, окрашивание гематоксилином и эозином). Микрофотосъемку проводили с помощью установки, состоявшей из микроскопа "AxioImager M2", цифровой камеры "AxioCamHRc" ("Carl Zeiss") и персонального компьютера.

Цифровой материал обрабатывали в программе "Origin 6.1", различия между выборками сравнивали по t критерию Стьюдента.

Таблица 1. Прирост массы тела и смертность при введении ксимедона мышам, подвергнутым воздействию Hetox ($M \pm m$)

Условие опыта	Прирост массы тела, г/сут	Смертность, %
Схема 1		
Контроль (H ₂ O+Hetox 2 мл/кг)	-0.29±0.04	28.6 (2 из 7)
Ксимедон 50 мг/кг+Hetox 2 мл/кг	1.08±0.10***	28.6 (2 из 7)
Схема 3		
Контроль (H ₂ O+Hetox 4 мл/кг)	-0.35±0.07	0
Ксимедон 50 мг/кг+Hetox 4 мл/кг	-0.25±0.04	0
Контроль (H ₂ O+Hetox 5 мл/кг)	-0.60±0.19	80 (4 из 5)
Ксимедон 50 мг/кг+Hetox 5 мл/кг	-0.70±0.24	40 (2 из 5)

Примечание. *** $p < 0.001$ по сравнению с контролем.

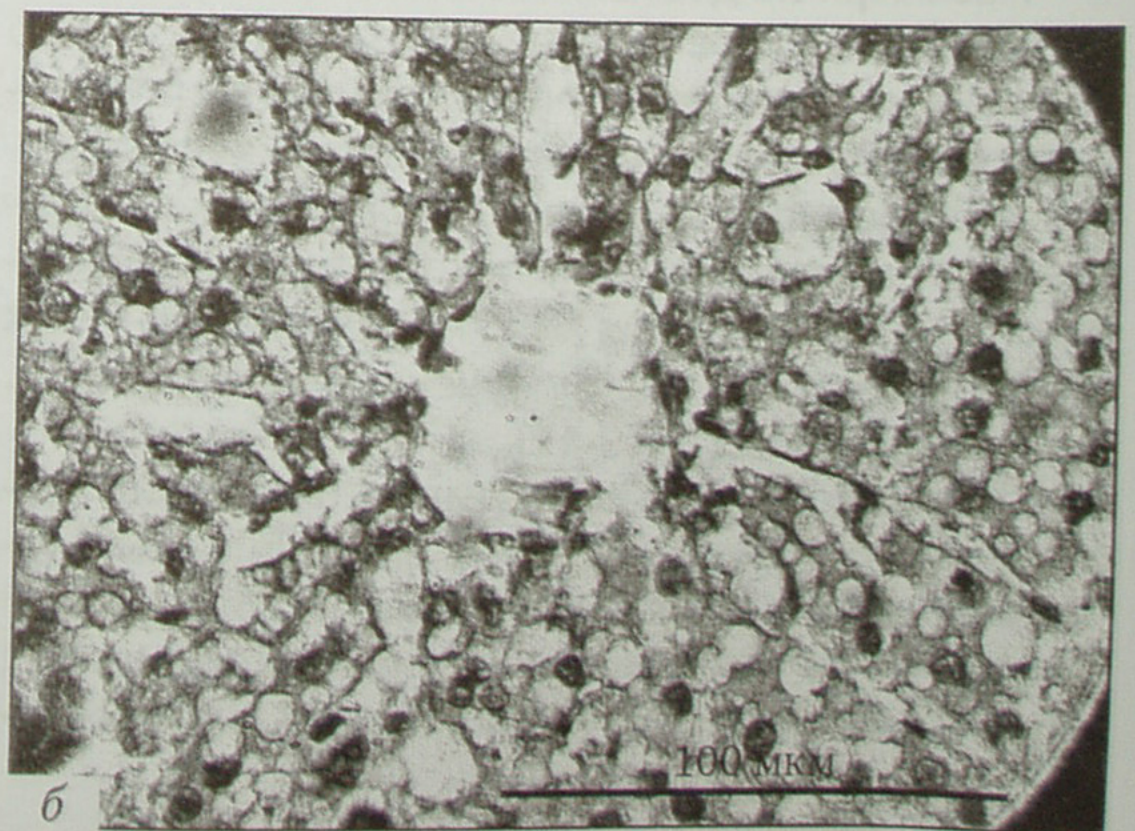
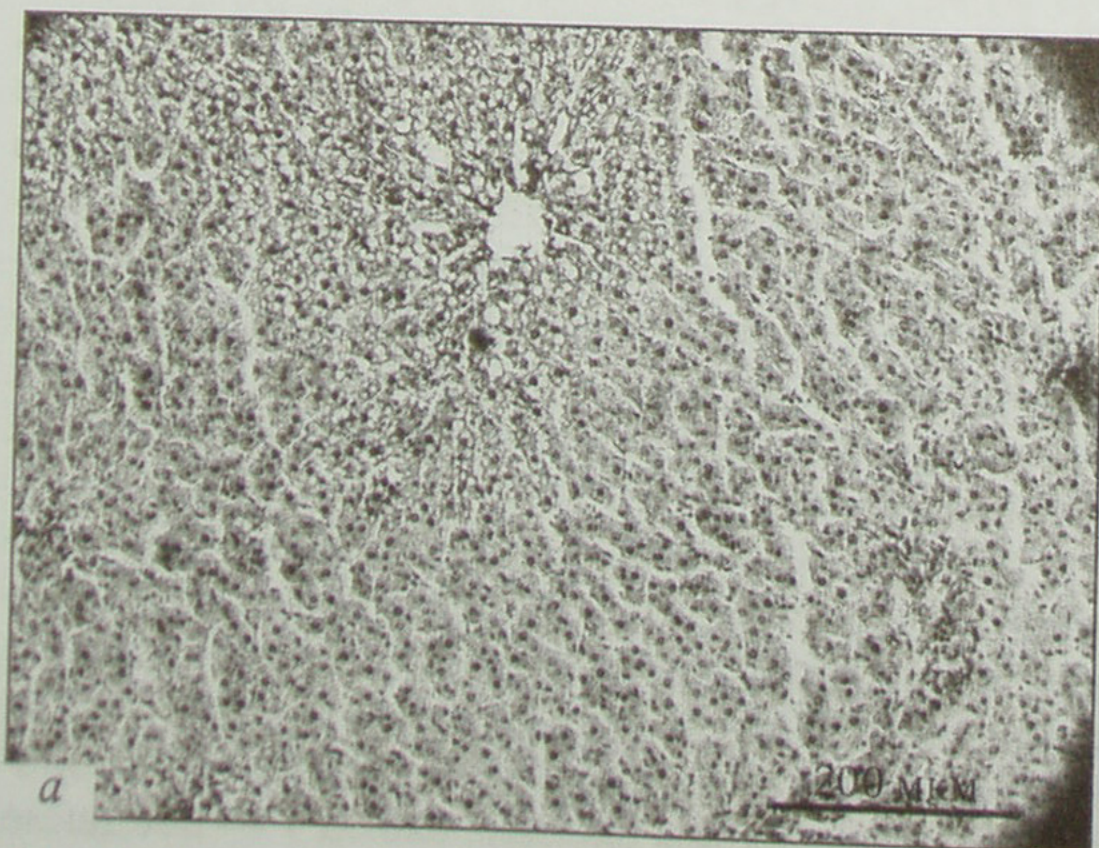


Рис. 1. Долька печени крысы, получавшей воду и Hetox в течение 4 сут по схеме 1; $\times 100$ (а), $\times 1000$ (б).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В контрольной группе мышей наибольший уровень смертности (80%) был при введении *Netox* в дозе 5 мл/кг по схеме 3. В опытной группе, получавшей ксимедон в дозе 50 мг/кг по схеме 3, смертность животных была в 2 раза ниже (табл. 1). При введении *Netox* в контрольной группе по той же схеме, но в дозе 4 мл/кг гибели животных не наблюдалось, однако в группе, получавшей ксимедон, потеря массы была менее выраженной.

Смертность мышей при проведении исследования по схеме 1 между опытной и контрольной группами не различалась. Однако выявлены статистически достоверные различия ($p < 0.001$) между группами в динамике изменения массы тела животных. В контрольной группе под действием *Netox* прирост массы был отрицательным, что свидетельствует об ухудшении общего состояния животных. В опытной группе прирост массы мышей был положительным (табл. 1).

По данным биохимического исследования крови, у крыс контрольной группы снизился уровень глюкозы и при этом увеличился уровень активности трансаминаз — АлАТ и АсАТ (табл. 2). Выявленные изменения биохимических показателей крови в сравнении с интактными животными позволяют выявить поражение печени — нарушение синтетической функции и разрушение печеночных клеток [3,5,8,12].

В опытных группах крыс, получавших ксимедон, различия с нормативными показателями были менее выраженными. При этом наименьшие различия с нормативными показателями были в группах, которым вводили ксимедон по схемам 1 и 2 в дозе 50 мг/кг (табл. 2).

При гистологическом исследовании печени у всех животных контрольных групп, получавших *Netox*, было выявлено нарушение морфологической структуры органа — наблюдались обширные области разрушенных и морфологически измененных гепатоцитов, преимущественно вокруг центральной вены (рис. 1). Желчные протоки были заметно сужены, щелевидные пространства между клетками почти отсутствовали. У животных, получавших ксимедон, степень морфологических нарушений органа была менее выражена, сохранялась структурная организация гепатоцитов, очаги разрушений клеток были значительно меньше (рис. 2).

Данные, полученные в экспериментах по схемам 1 и 3, позволяют судить о том, что ксимедон уменьшает тяжесть нарушений функции печени при токсическом воздействии CCl_4 . Данные, полученные в эксперименте по схеме 2, дают основание

Таблица 2. Биохимические показатели крови у лабораторных крыс ($M \pm m$)

Показатель	Интактные животные (норма)	Схема 1			Схема 2		
		Контроль	Ксимедон		Ксимедон	Ксимедон	
			5 мг/кг	10 мг/кг		50 мг/кг	10 мг/кг
Глюкоза, ммоль/л	7.99±1.19	3.59±1.00*	6.14±0.78	5.96±0.35	7.30±1.37	7.24±1.05	—
АлАТ, Ед/л	42.22±5.57	220.14±97.05**	169.56±23.30***	142.15±33.80**	119.39±42.88	99.22±17.56**	42.77±14.01
АсАТ, Ед/л	141.66±11.71	277.81±14.30***	281.43±12.12***	194.54±26.98	207.01±61.09	209.86±14.63*	149.57±8.48

Примечание. Контрольные значения для схемы 2 не приводятся, т.к. животные погибли. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ по сравнению со значениями интактных животных.

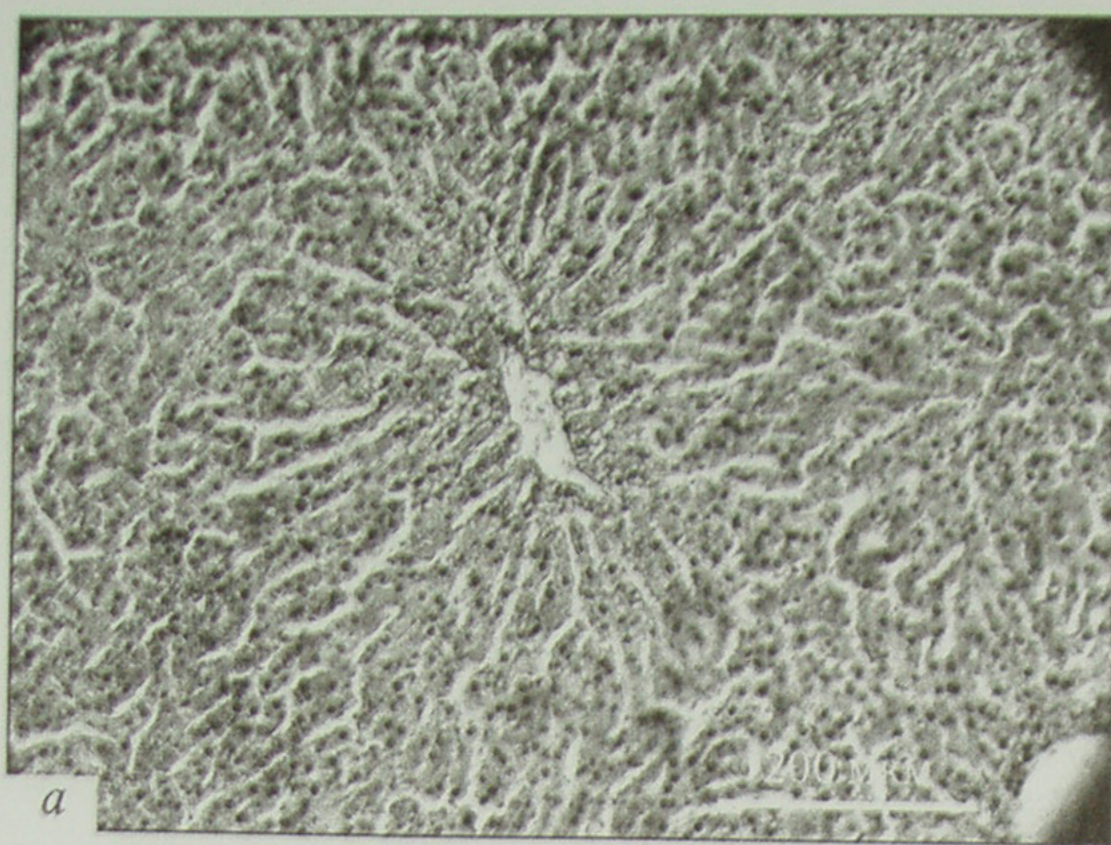


Рис. 2. Долька печени крысы, получавшей ксимедон в дозе 50 мг/кг и Нетох в течение 4 сут по схеме 1; $\times 100$ (а), $\times 1000$ (б).

полагать, что применение ксимедона в течение нескольких суток после токсического поражения печени приводит к восстановлению ее функции.

Проведенное исследование позволило расширить спектр представлений о биологической активности препарата "Ксимедон" и выявить его гепатопротективные свойства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Измайлов С.Г., Измайлов Г.А., Аверьянов М.Ю., Резник В.С. Ксимедон в клинической практике. Н.Новгород, 2001.
2. Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Рахманин Ю.А. // Биомед. химия. 2004. Т. 50, № 6. С. 605-611.
3. Новикова В.Е., Климкина Е.И. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2005. Т. 4, № 1. С. 2-20.
4. Погорельцев В.И., Терещенко В.Ю., Чиркин А.А. и др. // Казанск. мед. журн. 2005. Т. 86, № 4. С. 346-347.
5. Романцов М.Г., Суханов Д.С., Петров А.Ю. и др. // Фундаментальные исследования. 2011. № 3. С. 131-141.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2000.
7. Саратиков А.С., Чучалин В.С., Ратькин А.Е. и др. // Экспер. и клин. фармакол. 2005. Т. 68, № 2. С. 51-54.
8. Тауки А.Н., Федоров В.Н., Куница З.А. и др. // Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. П.И.Павлова. 2010. № 1. С. 66-73.
9. Шилова И.В., Жаворонок Т.В., Суслов Н.И. и др. // Бюл. exper. биол. 2008. Т. 146, № 7. С. 54-57.
10. Demirdag K., Bahcecioglu I.H., Ozercan I.H. et al. // J. Gastroenterol. Hepatol. 2004. Vol. 19, N 3. P. 333-338.
11. Kabankin A.S., Gabrielyan L.I. // Pharm. Chem. J. 2005. Vol. 39, N 3. P. 135-139.
12. Vengerovskii A.I., Baturina N.O., Chuchalin V.S., Saratkov A.S. // Pharm. Chem. J. 1996. Vol. 30, N 2. P. 69-71.

Получено 04.02.12