

В.Д. Лукьянчук, проф., М.А. Внукова

ВЛИЯНИЕ КООРДИНАЦИОННОГО СОЕДИНЕНИЯ ГЕРМАНИЯ С НИКОТИНАМИДОМ НА ТЕЧЕНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

Луганский государственный медицинский университет, г. Луганск

В настоящее время клиническое применение противотуберкулезных средств лимитируется большим спектром побочных эффектов, наиболее существенным из которых является токсическое поражение печени (острый или токсический гепатит) [1-4]. Триггерным механизмом в формировании гепатотоксичности туберкулостатиков является чрезмерная, а подчас и неконтролируемая продукция свободных радикалов с последующим повреждением клеточных и субклеточных мембран [5-8].

Одним из наиболее адекватных, специфичных и высокочувствительных методов оценки влияния лекарственных средств на состояние кинетики свободно-радикальных реакций и антиоксидантной системы защиты организма, является биохемилюминисценция (БХЛ) [9-11].

Цель настоящего исследования: изучение влияния потенциального средства детоксикации — координационного соединения германия с никотиномидом (МИГУ-2) на характер течения свободнорадикальных процессов при поражении печени противотуберкулезными препаратами.

Опыты выполнены на 28 половозрелых белых нелинейных крысах обоего пола в соответствии с методическими рекомендациями [12]. Токсический гепатит моделировали путем интрагастрального введения комбинации рифампицина (50 мг/кг), изониазида (86 мг/кг) и пиперазида (1500 мг/кг) ежедневно в течение 28 дней. Потенциальный гепа-

топротектор МИГУ-2 и референтный препарат силибор применяли перорально в дозах, соответственно, 100 мг/кг и 165 мг/кг ежедневно в течение 28 дней спустя 1 ч после введения туберкулостатиков.

БХЛ в сыворотке крови животных изучали через 24 ч после последнего введения противотуберкулезных средств и исследуемых гепатопротекторов. При этом использовали усовершенствованный метод определения в тканях сверхслабого свечения, индуцированного 3% раствором перекиси водорода [13]. Хемилюминограммы в сыворотке крови животных регистрировали в течение 5 мин с помощью хемилюминометра "Emillite — 1105" (австрийско-немецко-российское производство). Спектральный диапазон прибора — 350-390 нм, диапазон измерений — 10^3 - 10^{10} фотон/с. Исследуемый биосубстрат предварительно инкубировали (20 мин при 37°C). Перед измерением записывали фоновые значения и спонтанный уровень БХЛ в течение 1 минуты.

Кинетику сверхслабого свечения оценивали по следующим показателям: амплитуда быстрой вспышки (I_1), амплитуда медленной вспышки (I_2), время индукции медленной вспышки (τ), амплитуда конечного значения БХЛ (I_k), общая светосумма реакции (S). Расчет этих параметров проводили с помощью разработанной доцентом Д.С. Кравцом компьютерной программы.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия "t" Стью-

дента с помощью программы "Statgraphics" [14].

Полученные результаты биохемилюминиметрии исследуемого координационного соединения, представлены в таблице, из которой видно, что интенсивность генерации свободных радикалов (по величине амплитуды быстрой вспышки свечения) в сыворотке крови крыс с моделируемой формой медикаментозного поражения печени (контроль) выше, чем у интактных животных в 1,7 раза. Это можно объяснить существенным истощением пула эндогенных антиоксидантов и смещением антиоксидантно-прооксидантного равновесия в сторону перекисных процессов.

В группе животных с лекарственным поражением печени, которым с лечебно-профилактической целью вводили МИГУ-2, величина первого пика БХЛ не только значительно (на 26%) уменьшается в сравнении с контролем ($P < 0,01$), но даже приближается к аналогичному показателю в интактной серии, о чем свидетельствует отсутствие достоверных различий между зафиксированными значениями. По антирадикальному действию МИГУ-2 не уступает препарату сравнения — классическому гепатопротектору силибору.

Полученные данные указывают на способность координационного соединения германия предотвращать разветвление цепных свободнорадикальных реакций на одном из начальных этапов перекисных процессов, развивающихся в условиях токсического воздействия противотуберкулезных средств на печень.

Как известно, вслед за быстрой вспышкой сверхслабого свечения наступает латентный период или время индукции медленной вспышки свечения, величина которого зависит от соотношения в системе про- и антиоксидантов. Анализ выявленных в эксперименте изменений свидетельствует о том, что в результате медикаментозного поражения печени происходит резкое истощение запасов эндогенных антиоксидантов, на что указывает снижение показателя τ на 36% в сравнении с животными, не получавшими туберкулостатики.

Применение МИГУ-2 в изучаемых условиях эксперимента позволяет увеличить время индукции

**Влияние МИГУ-2 на показатели БХЛ в сыворотке крови крыс
с токсическим медикаментозным гепатитом (n=7)**

Группа животных	Статистические показатели	I ₁ (имп/с)	I ₂ (имп/с)	I _к (имп/с)	τ (с)	(S) (отн. ед.)
Интактная	M	554,14	414,00	79,86	27,00	46539,50
	±m	34,93	29,50	4,76	1,75	2086,88
Контрольная (гепатит)	M	928,14	742,86	136,43	17,29	79157,93
	±m	29,71	43,84	8,68	1,08	4773,77
	P ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,001
Опытная (гепатит + МИГУ-2)	M	688,71	435,29	84,00	23,29	49554,57
	±m	54,71	26,12	5,19	1,44	3255,60
	P ₁	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	P ₂	<0,01	<0,001	<0,01	<0,05	<0,01
Референтная (гепатит + силибор)	M	600,71	471,71	74,29	24,14	49896,86
	±m	26,73	17,99	4,48	1,58	3271,06
	P ₁	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
	P ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01

Примечания: 1. P₁ — в сравнении с интактной группой; 2. P₂ — в сравнении с контрольной группой; 3. P₃ — в сравнении с референтной группой.

медленной вспышки БХЛ и приблизить его уровень к таковому, регистрируемому не только у крыс, получавших силибор, но и в интактной серии (таблица).

Существование выявленных изменений позволяет расценивать увеличение времени индукции медленной вспышки свечения под влиянием германийорганического комплекса как его выраженную способность поддерживать устойчивость компонентов антиоксидантной системы организма к окислительному стрессу в условиях токсического лекарственного гепатита.

Следующим показателем, анализируемым на кинетической кривой БХЛ, является амплитуда второй, медленной вспышки сверхслабого свечения, которая отражает максимальную интенсивность перекисного окисления липидов, протекающую с участием металлов переменной валентности. Из таблицы видно, что в сыворотке крови крыс с гепатитом, спровоцированным длительным введением средств фармакотерапии туберкулеза, I₂ превышает аналогичный показатель у крыс интактной группы в 1,8 раза, что подтверждает развитие прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса в организме экспериментальных животных.

На фоне применения МИГУ-2 в условиях лекарственного гепатита

происходит достоверное и значительное (на 41%) снижение амплитуды медленной вспышки хемилюминисценции в сравнении с контрольной серией. Установленный характер изменений анализируемого параметра БХЛ на фоне применения координационного соединения германия убедительно свидетельствует о его способности предотвращать чрезмерную инициацию цепных перекисных реакций, протекающих при участии Fe²⁺, особенно в период максимальной продукции свободных радикалов. Судя по величине анализируемого показателя БХЛ, силибор, избранный в качестве препарата сравнения, не превосходит изучаемый субституент по антирадикальному действию.

Не менее значимым в плане информативности показателем кинетики свободнорадикальных реакций является конечное значение интенсивности свечения, которое отражает изменение динамического равновесия между процессами генерации и гашения люминисцентных продуктов перекисного окисления липидов. Установлено, что величина этого показателя у крыс, получавших туберкулостатики (контроль), почти вдвое превышает таковую в группе интактных животных. Это свидетельствует о нарушении динамического равновесия между про-

цессами синтеза и распада продуктов свободнорадикальных реакций, сопровождающихся сверхслабым свечением.

Применение координационного соединения германия с никотинамидом позволяет значительно (на 38%) снизить показатель I_к в сравнении с контролем и вывести его на один уровень с аналогичным параметром как в референтной, так и в интактной группах. Эти данные свидетельствуют о способности изучаемого вещества проявлять защитное действие в условиях неконтролируемых свободнорадикальных реакций в сыворотке крови крыс и, таким образом, стабилизировать процессы генерации свободных радикалов при воздействии на организм животных средств противотуберкулезной терапии.

Особого внимания заслуживает оценка такого интегрального показателя, как общая светосумма БХЛ-реакции, представляющая собой площадь под хемилюминисцентной кривой. Так, у животных, подвергавшихся токсическому воздействию противотуберкулезных препаратов (контроль), этот параметр сверхслабого свечения на 41% превышает аналогичный у интактных животных. Полученные данные можно рассматривать, как увеличение способности фосфолипидов

подвергаться свободнорадикальному окислению и снижение устойчивости антиокислительной системы к окислительному стрессу.

В сыворотке крови животных, которым с профилактической целью вводили МИГУ-2, уровень S в 1,6 раза меньше, чем в контроле и практически сходен с аналогичным в референтной группе. Полученные результаты свидетельствуют, вероятнее всего, о способности изучаемого потенциального гепатопротектора уменьшать скорость радикалообразования и восстановить функциональную активность антиоксидантной системы защиты организма при

токсическом гепатите.

Таким образом, выявленная в эксперименте модификация параметров сверхслабого свечения в сыворотке крови в условиях применения МИГУ-2 при токсическом гепатите в сторону ингибирования свободнорадикальных процессов убедительно свидетельствует о его выраженном антиоксидантном действии с антирадикальными свойствами. Механизм гепатопротекторного действия МИГУ-2 обусловлен, вероятнее всего, наличием в составе молекулы этого соединения атома германия, способного непосредственно нейтрализовать свободные

радикалы, а также никотинамида, являющегося кофактором ряда ферментов-переносчиков водорода, осуществляющих окислительно-восстановительные процессы в организме. При этом нельзя также исключить способность никотинамида ингибировать активность основного прооксидантного фермента, инициирующего перекисные процессы и образование супероксидного аниона — ксантиноксидазы, что также вносит определенный вклад в реализацию детоксицирующего эффекта МИГУ-2 в условиях медикаментозного токсического гепатита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Полунина Т.Е. Лекарственные поражения печени // Лечащий врач. — 2005. — №3. — С. 69-72.
2. Бондарев Л.С., Клыса Н.М. О проблеме лекарственных гепатитов // Журнал практического лікаря. — 2004. — №5-6. — С. 16-19.
3. Сливка Ю.И. Климнюк Е.В., Табачук О.Е. О гепатотоксическом действии сочетаний пиразинамида с изониазидом и рифампицином // Проблемы туберкулеза. — 1989. — №4. — С.39-42.
4. An Official ATS Statement: Hepatotoxicity of Antituberculosis Therapy / J.J. Saukkonen, D.L. Cohn, R.M. Jasmer et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2006. — Vol. 174(8). — P. 935-952.
5. Бондарев Л.С., Клыса Н.М. О проблеме лекарственных гепатитов // Журнал практического лікаря. — 2004. — №5-6. — С. 16-19.
6. Гнедько Н.И. Медикаментозные повреждения печени у больных туберкулезом легких // Военно-медицинский журнал. — 2002. — № 5. — С. 56-58.
7. Kedderis G.L. Biochemical basis of hepatocellular injury // Toxikol Pathol. — 1996. — Vol. 24. — P.77 — 83.
8. Walubo A., Smith P., Folb P.I. The role of oxygen free radicals in isoniazid-induced hepatotoxicity // Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology. — 1998. — Vol. 20, № 8. — P. 649-655.
9. Ashok Agarwal, Shyam S.R. Allamaneni, Tamer M. Said. Chemiluminescence technique for measuring reactive oxygen species // Reproductive BioMedicine — 2004. — Vol. 9, №4. — P. 466-468.
10. Федорова Т.Н. Применение хемилуминисцентного анализа для сравнительной оценки антиоксидантной активности некоторых фармакологических веществ // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2003. — Т. 66, №5. — С. 56-58.
11. Лукьянчук В.Д., Савченкова Л.В., Семенова И.А. Биохемиллюминисцентный анализ фармакотерапевтической активности ацетилсалициловой кислоты в комбинации с кверцетином при гипоксическом синдроме // Эксперим. и клин. фармакология. — 1997. — №1. — С. 62-64.
12. Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации / Под ред. А.В. Стефанова. — К.: Авиценна, 2002. — 567 с.
13. Методические рекомендации по использованию метода биохемиллюминисценции в фармакологии / Под ред. В.Д. Лукьянчука. — Луганск, 1997. — 18 с.
14. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов.-М.: Медицина, 1978.- С. 286.

В.Д. Лук'яничук, М.А. Внукова

ВПЛИВ КООРДИНАЦІЙНОЇ СПОЛУКИ ГЕРМАНІЮ З НІКОТИНАМІДОМ НА ТЕЧІЮ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ РЕАКЦІЙ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ

В експерименті проведено біохемілюмінисцентний аналіз дії потенційного гепатопротектора — координаційної сполуки германію з нікотинамідом. Встановлено, що досліджувана речовина здатна істотно попереджати всі етапи генерації вільних радикалів в організмі щурів з токсичним медикаментозним гепатитом, спровокованим протитуберкульозними засобами.

V.D. Lukjanchuk, M.A. Vnuкова

INFLUENCE OF COORDINATION COMPOUND OF GERMANIUM WITH NICOTINAMIDE ON FLOW OF FREE RADICAL REACTIONS IN EXPERIMENTAL TOXIC HEPATITIS

The experimental bioluminescent analysis of action of potential hepatoprotector — coordination compound of germanium with nicotinamide has been made. It has been established, that investigated compound may essentially warn all the stages of generation of free radicals in the organism of rats with toxic drug hepatitis provoked by anti-tuberculosis drugs.