

Шиккульский Антон Сергеевич, студент четвертого курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: mr.shikulskiy@mail.ru

Михайлова Полина Андреевна, студентка четвертого курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: lenami1971@mail.ru

Нестеренко Тимофей Сергеевич, студент четвертого курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России E-mail: nesterenko1613@bk.ru

Почтовый адрес ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России: 675000 г. Благовещенск, ул. Горького, 95. E-mail: science.prorector@AmurSMA.su

Почтовый адрес ФГБНУ ДВНЦ ФПД РАН: 675000 г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.

УДК 591.494(678.048):616-001.18/.19

Н.В. Симонова,¹ В.А. Доровских,¹ А.В. Кропотов,² Р.А. Анохина,¹ М.А. Штарберг,¹ Л.А. Носаль,¹ А.Г. Майсак,¹ А.А. Чернышева,¹ Б.В. Колесов¹

ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России¹
г. Благовещенск

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России²
г. Владивосток

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ И РЕАМБЕРИНА ПРИ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Результаты исследований последних лет показали наличие гепатотропной активности у янтарной кислоты (ЯК), обусловленной ростом скорости потребления кислорода клетками печени за счет стимуляции энергетического обмена в гепатоцитах [1, 9]. Активация под действием ЯК сукцинатдегидрогеназы в митохондриях клеток печени нормализует нарушения синтеза мочевины, печеночного холестаза, препятствует развитию жировой дистрофии и образованию коллагенозной ткани [2, 10, 12]. При поражении печени ксенобиотиками ЯК стимулирует метаболическую функцию печени с одновременным повышением устойчивости мембран гепатоцитов к радикальному окислению [8, 11, 13]. В связи с этим экспериментальное обоснование эффективности янтарной кислоты и сукцинатсодержащего препарата реамберин (НТФФ «ПОЛИСАН» Санкт-Петербург, Россия) в сравнительном аспекте при токсическом поражении печени четыреххлористым углеродом представляет практический интерес.

Цель работы – изучение эффективности янтарной кислоты и реамберина при токсическом поражении печени крыс четыреххлористым углеродом.

Методы исследования Опыты проводили в течение 7 дней на 40 белых беспородных крысах-самцах массой 180 – 200 г, полученных из питомника ЦНИЛ ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России (г. Благовещенск). Животных содержали в виварии при естественном освещении в условиях контролируемой температуры (22 ± 2) °С и влажности (65 ± 10) % воздуха при свободном доступе к воде и стандартному корму.

Протокол экспериментальной части исследования на этапах содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения их из опыта соответствовал принципам биологической этики, изложенным в Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), приказу Минздрава СССР №755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», приказу Минздрава России №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

При завершении научных исследований выведение животных из опыта проводили путем декапитации с соблюдением требований гуманности согласно при-

ложению № 4 к Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (приложение к приказу Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 «О порядке проведения эвтаназии (умерщвления) животного»). Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.

Для создания токсического гепатита животным вводили подкожно (в дорзальную шейную складку) 2 мл/кг CCl_4 в 50% масляном растворе (оливковое масло) в течение 3 дней. В процессе моделирования экспериментального гепатита смертности животных не наблюдалось. Янтарную кислоту и реамберин крысам вводили внутривентрально в дозе 100 мг/кг по сукцинату за 30 минут до подкожного введения 50% масляного раствора CCl_4 . Животные были разделены на 4 группы, в каждой по 10 животных: 1 группа – интактная, животных содержали в стандартных условиях вивария; 2 группа – контрольная, животным в течение трех дней ежедневно подкожно вводили 50% масляный раствор CCl_4 в дозе 2 мл/кг на фоне ежедневного внутривентрального введения животным за 30 мин. до CCl_4 эквивалентного вводимому препарату реамберин (4 группа) количества 0,9% раствора натрия хлорида (4 мл/200 г); 3, 4 группы – опытные, животным перед подкожным введением 50% масляного раствора четыреххлористого углерода в дозе 2 мл/кг (введение тетрахлорметана осуществляли в течение трех дней) ежедневно в течение 6 дней внутривентрально вводили, соответственно, янтарную кислоту в дозе 100 мг/кг (3 группа) и реамберин в дозе 100 мг/кг по сукцинату (4 группа).

Крыс декапитировали на 7 день эксперимента. После декапитации животных: 1) кровь собирали в охлажденные пробирки с гепарином, центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 15 мин., полученную плазму крови хранили при температуре $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ до момента исследования; 2) вскрывали брюшную полость, печень перфузировали 0,15 М раствором KCl, содержащим 5 мМ трис- HCl, pH=7,4, печень выделяли, измельчали ножницами, взвешивали и гомогенизировали в гомогенизаторе Даунаса в течение 1 минуты, приготовленный гомогенат использовали для определения содержания продуктов ПОЛ.

Интенсивность процессов ПОЛ оценивали, исследуя содержание гидроперекисей липидов, диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и компонентов антиоксидантной системы (АОС) – церулоплазмина, витамина E в плазме крови и ткани печени крыс по методикам, изложенным в ранее опубликованных нами работах [5, 6, 7]. Статистическую обработку результа-

тов проводили с использованием критерия Стьюдента (t) с помощью программы Statistica v.6.0. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение В результате проведенных исследований установлено, что введение четыреххлористого углерода крысам сопровождается активацией процессов ПОЛ и накоплением продуктов перекисидации в плазме крови и ткани печени контрольных животных: увеличением содержания гидроперекисей липидов на 24% и 43% соответственно относительно интактных крыс ($p < 0,05$), диеновых конъюгатов – на 19% и 47% ($p < 0,05$), малонового диальдегида – на 61% и 81% ($p < 0,05$) (табл. 1, 2). Активация ПОЛ при введении четыреххлористого углерода развивается на фоне напряжения и истощения АОС крови, характерные изменения которой включают уменьшение содержания церулоплазмина на 21% и витамина E на 18% ($p < 0,05$) (табл. 3). В ткани печени крыс, получавших CCl_4 , уровень церулоплазмина и витамина E снизился на 43% и 42% соответственно в сравнении с интактными животными ($p < 0,05$), что свидетельствует о формировании окислительного стресса в организме в условиях введения гепатотоксина и связано с образованием свободных радикалов из CCl_4 , определяющих продолжающийся процесс перекисидного окисления липидов.

Применение янтарной кислоты в эксперименте при введении крысам четыреххлористого углерода способствовало уменьшению содержания продуктов ПОЛ, что нашло подтверждение в достоверном снижении уровня гидроперекисей липидов в ткани печени на 22%, диеновых конъюгатов на 18%, малонового диальдегида на 17% (табл. 1, 2). В свою очередь, анализируя влияние янтарной кислоты на степень накопления продуктов перекисидации в крови животных, получавших CCl_4 , необходимо отметить достоверное снижение содержания вторичного продукта ПОЛ малонового диальдегида на 15%, и практически отсутствие влияния на уровень первичных продуктов перекисидации гидроперекисей липидов и диеновых конъюгатов. В отличие от янтарной кислоты, введение препарата реамберин в дозе 100 мг/кг по сукцинату способствовало достоверному снижению в крови животных, получавших CCl_4 , гидроперекисей липидов на 13%, диеновых конъюгатов на 11%, малонового диальдегида на 30%; в ткани печени – на 26%, 28%, 34% соответственно ($p < 0,05$).

Таким образом, сравнивая содержание продуктов перекисидации в крови и печени крыс, получавших четыреххлористый углерод на фоне введения реамбе-

Резюме Проведено исследование антиоксидантных свойств янтарной кислоты и реамберина (НТФФ «Полисан», Санкт-Петербург) на модели токсического гепатита, вызванного четыреххлористым углеродом. Установлено, что введение четыреххлористого углерода в течение 3 дней способствует повышению в крови и печени животных содержания гидроперекисей липидов (на 24 – 43%), диеновых конъюгатов (на 19– 47%), малонового диальдегида (на 61– 81%) на фоне снижения активности основных компонентов антиоксидантной системы ($p < 0,05$). Введение крысам янтарной кислоты в условиях окислительного стресса способствует достоверному снижению в ткани печени гидроперекисей липидов на 22%, диеновых конъюгатов – на 18%, малонового диальдегида – на 17% по сравнению с крысами контрольной группы. Использование препарата реамберин в эксперименте способствует снижению в плазме крови и ткани печени гидроперекисей липидов на 13–26%, диеновых конъюгатов – на 11–28%, малонового диальдегида – на 23–34% по сравнению с крысами контрольной группы ($p < 0,05$). При анализе влияния сукцинатсодержащих препаратов на активность компонентов антиоксидантной системы было установлено, что содержание церулоплазмина в крови и печени животных было достоверно выше аналогичного показателя у крыс контрольной группы на 8–47%, витамина E – на 9–42% ($p < 0,05$). Таким образом, использование синтетических антиоксидантов в условиях введения четыреххлористого углерода в организм экспериментальных животных приводит к стабилизации процессов перекисидации на фоне повышения активности основных компонентов антиоксидантной системы.

Ключевые слова: янтарная кислота, реамберин, четыреххлористый углерод, окислительный стресс, антиоксидантная защита печени, крысы.

Таблица 1. Содержание первичных продуктов ПОЛ в крови и печени крыс при введении четыреххлористого углерода на фоне применения янтарной кислоты и реамберина (M±m)

Группы	Гидроперекиси липидов		Диеновые конъюгаты	
	кровь, нмоль/мл	печень, нмоль/г	кровь, нмоль/мл	печень, нмоль/г
Группа 1 интактная n = 10	27,3±0,74	78,0±5,1	36,4±1,00	133,6±8,1
Группа 2 CCl ₄ (контроль) n = 10	33,8±1,31*	111,2±6,0*	43,2±1,25*	196,0±10,5*
Группа 3 янтарная кислота + CCl ₄ n = 10	32,0±0,95	86,5±5,4**	42,6±1,18	160,8±9,5
Группа 4 реамберин + CCl ₄ n = 10	29,3±0,8**	82,5±5,0**	38,3±1,05*	140,5±8,6**

Примечание: * - достоверность различия показателей по сравнению с животными интактной группы ($p < 0,05$); ** - достоверность различия показателей по сравнению с контрольной группой животных, которым вводили только CCl₄ ($p < 0,05$).

рина и янтарной кислоты, необходимо отметить, что последняя уступает комбинированному препарату в возможности снижения уровня первичных и вторичного продуктов ПОЛ у лабораторных животных, что связано с выраженным дезинтоксикационным действием реамберина в условиях повреждения клеточных мембран гепатоцитов гепатотоксином. Кроме этого, пероксидация усиливает энергетическое голодание клеток и тканевую гипоксию, а сочетание токсемии, гипоксии и патологической активации свободно-радикальных процессов определяет тяжесть течения и исход эндотоксикоза [3]. На этом патологическом фоне входящие в состав реамберина компоненты обеспечивают детоксицирующий, антигипоксический и антиоксидантный эффекты [4].

Полученные данные были подтверждены результатами исследования активности основных компонентов АОС на фоне введения CCl₄ и сукцинатсодержащих препаратов (табл. 3), которые отразили повышение уровня церулоплазмينا в крови и печени крыс на фоне введения янтарной кислоты на 8% и 30% соответственно, витамина Е – на 9% и 26%, однако различия недостоверны. В свою очередь, введение реамберина сопровождалось увеличением уровня церулоплазми-

Таблица 2. Содержание малонового диальдегида в крови и печени крыс при введении четыреххлористого углерода на фоне применения янтарной кислоты и реамберина (M±m)

Группы	Кровь, нмоль/мл	Печень, нмоль/г
Группа 1 интактная, n = 10	3,8 ± 0,15	8,0±0,6
Группа 2 CCl ₄ (контроль), n = 10	6,1 ± 0,21*	14,5±1,2*
Группа 3 янтарная кислота+CCl ₄ , n = 10	5,2 ± 0,20**	12,0±1,1
Группа 4 реамберин+CCl ₄ , n=10	4,3 ± 0,33**	9,6±1,1**

Примечание: * - достоверность различия показателей по сравнению с животными интактной группы ($p < 0,05$); ** - достоверность различия показателей по сравнению с контрольной группой животных, которым вводили только CCl₄ ($p < 0,05$).

на в крови крыс на 10% относительно контроля, витамина Е – на 17% ($p < 0,05$); в ткани печени содержание церулоплазмينا было выше аналогичного в контроле на 47%, витамина Е – на 42% ($p < 0,05$).

Таким образом, анализируя полученные результаты, можно констатировать более выраженное, в сравнении с янтарной кислотой, влияние реамберина на степень снижения содержания продуктов пероксидации и повышение активности компонентов АОС в плазме крови и ткани печени лабораторных животных при интоксикации четыреххлористым углеродом, что подтверждает наличие антиоксидантной и гепатопротекторной активности у комбинированного сукцинатсодержащего препарата.

Выводы

1. Экспериментально подтверждена антиоксидантная активность препарата реамберин в дозе 100 мг/кг по сукцинату в условиях токсического повреждения печени четыреххлористым углеродом, превосходящая по выраженности фармакологического эффекта янтарную кислоту в аналогичной дозе.

2. Внутривентриальное введение лабораторным животным реамберина в дозе 100 мг/кг по сукцинату в

EFFECTIVENESS OF SUCCINIC ACID AND REAMBERIN IN LIVER LESIONS WITH CARBON TETRACHLORIDE IN THE EXPERIMENT

N.V. Simonova,¹ V.A. Dorovskikh,¹ A.V. Kropotov,² R.A. Anokhina,¹ M.A. Shtarberg,¹ L.A. Nosal,¹ A.G. Maysak,¹ A.A. Chernysheva,¹ B.V. Kolesov¹

FSBEI HE the Amur State Medical Academy of Ministry of Public Health of Russia Blagoveshchensk;¹ Pacific Medical University², Vladivostok

Abstract Antioxidant properties of succinic acid and reamberin (Polysan, St. Petersburg) have been studied on the model of toxic hepatitis induced by carbon tetrachloride. It was found that in the blood and in the liver of the experimental animals the introduction of carbon tetrachloride during 3 days contributes to the increase of lipid hydroperoxides level (by 24 – 43%), diene conjugate (by 19 – 47%), and malonic dialdehyde (by 61 – 81%) against the decrease of antioxidant system activity of intact animals ($p < 0,05$). The introduction of the succinic acid to rats in the conditions of oxidative stress contributes to the reliable decrease in the liver of lipid hydroperoxides by 22%, diene conjugates – by 18%, and malonic dialdehyde by 17% in comparison with the rats of the control group. The introduction of the drug reamberin to rats contributes to the reliable decrease of lipid hydroperoxides by 13-26% diene conjugates – by 11-28%, and malonic dialdehyde by 23-34% in the blood and in the liver, in comparison with the rats of the control group ($p < 0,05$). While analyzing the effect of the succinate containing drugs on the activity of the components of antioxidant system it was shown that the level of ceruloplasmin in the blood and in the liver of animals was reliably higher by 8-47%, of vitamin E by 9-42% in comparison with the same parameters of the rats of the control group ($p < 0,05$). So, the application of the synthetic antioxidants in the conditions of introduction of carbon tetrachloride to the organism of animals under experiment leads to the stabilization of the processes of peroxidation against the increase of antioxidant system activity.

Key words: succinic acid, reamberin, carbon tetrachloride, oxidative stress, antioxidant protection of liver, rats.

DOI 10.22448/AMJ.2018.4.50-53

Таблица 3. Содержание компонентов АОС в крови и печени крыс при введении четыреххлористого углерода на фоне применения янтарной кислоты и реамберина ($M \pm m$)

Группы	Церулоплазмин		Витамин Е	
	кровь, мкг/мл	печень, мкг/г	кровь, мкг/мл	печень, мкг/г
Группа 1 интактная n = 10	25,4±0,57	29,4±2,3	45,2±0,80	56,2±4,6
Группа 2 CCl ₄ (контроль) n = 10	20,0±0,58*	16,9±1,8*	37,0±1,22*	32,5±3,2*
Группа 3 янтарная кислота + CCl ₄ n = 10	21,6±0,55	22,0±2,1	40,5±1,30	41,0±3,5
Группа 4 реамберин + CCl ₄ n = 10	22,0±0,40**	24,8±1,9**	43,1±1,32**	46,0±3,5**

Примечание: * - достоверность различия показателей по сравнению с животными интактной группы ($p < 0,05$); ** - достоверность различия показателей по сравнению с контрольной группой животных, которым вводили только CCl₄ ($p < 0,05$).

условиях индуцирования окислительного стресса тетрахлорметаном снижает содержание продуктов перекисидации и увеличивает активность церулоплазмина и витамина Е в плазме крови и ткани печени крыс.

Литература

- Доровских В.А., Симонова Н.В., Коршунова Н.В. Адаптогены в регуляции холодового стресса. Saabrukken, 2013. 266 с.
- Ландышев Ю.С., Доровских В.А., Авдеева Н.В., Маркина О.И. Руководство для практических врачей по современным методам диагностики, лечения и профилактики бронхиальной астмы. Благовещенск, 2001. 89 с.
- Новиков В.Е., Левченкова О.С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2013. Т. 76, №5. С. 37–47.
- Оковитый С.В., Шуленин С.Н., Смирнов А.В. Клиническая фармакология антигипоксантов и антиоксидантов. СПб.: ФАРМиндекс, 2005. 72 с.
- Симонова И.В., Доровских В.А., Симонова Н.В., Штарберг М.А. Неспецифическая профилактика острых респираторных заболеваний у детей ясельного возраста // Дальневосточный медицинский журнал. 2009. №3. С. 56–58.
- Симонова Н.В. Настои лекарственных растений и окислительный стресс в условиях ультрафиолетового облучения // Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова. 2011. № 8. С. 23–26.
- Симонова Н.В. Фитопрепараты в коррекции процессов перекисного окисления липидов биомембран, индуцированных ультрафиолетовым облучением: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Благовещенск, 2012. 46 с.
- Симонова Н.В., Доровских В.А., Анохина Р.А. Лекарственные растения Амурской области. Благовещенск, 2016. 266 с.
- Швец О.М. Теоретическое и экспериментальное обоснование применения янтарной кислоты для потенцирования биологической активности иммуномодуляторов и их клиническая эффективность: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Курск, 2015. 45 с.
- Ярыгина Е.Г., Прокопьева В.Д., Бохан Н.А. Окислительный стресс и его коррекция карнозином // Успехи современного естествознания. 2015. № 4. С.106–113.
- Aldini G., Yeum Kyung-Jim, Niki E., Russel R. Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage. Medical, 2011. 380

p.

- Niizuma K., Endo H., Chan P. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction as determinants of ischemic neuronal death and survival // J. Neurochem. 2009. Vol. 109. P. 133–138.
- Pratt D.A., Tallman K.A., Porter N.A. Free radical oxidation of polyunsaturated lipids: New mechanistic insights and the development of peroxyl radical clocks // Acc. Chem. Res. 2011. Vol. 44. №6. P. 458–467.

Статья поступила в редакцию 12.11.2018

Координаты для связи

Симонова Наталья Владимировна, д. б. н., доцент кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России. E-mail: simonova.agma@yandex.ru

Доровских Владимир Анатольевич, заслуженный деятель науки России, д. м. н., профессор кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.

Кропотов Александр Валентинович, д. м. н., профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Анохина Раиса Афанасьевна, к. м. н., доцент кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.

Штарберг Михаил Анатольевич, к. м. н., старший научный сотрудник ЦНИЛ ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.

Носаль Людмила Андреевна, аспирант (заочная форма обучения) кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.

Майсак Александра Глебовна, студентка 4 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.

Чернышева Анастасия Андреевна, студентка 4 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.

Колесов Богдан Владимирович, студент 5 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России.

Почтовый адрес ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России: 675000 Благовещенск, ул. Горького, 95. E-mail: science.prorector@AmurSMA.su

Почтовый адрес ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России: 690002, г. Владивосток, проспект Острякова, 2.