

В.Д. Лукьянчук¹, проф., А.С. Шаламай², к.х.н., А.Г. Войтенко³

СОСТОЯНИЕ РЕАКЦИЙ I И II ФАЗ БИОТРАНСФОРМАЦИИ У БЕЛЫХ КРЫС С ТОКСИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КВЕРЦЕТИНА

¹ Луганский государственный медицинский университет² ОАО НПЦ "Борщаговский химико-фармацевтический завод", г. Киев³ Представительство "Сафони-Авентис-Груп" в Украине, г. Киев

Известно, что биотрансформация лекарственных препаратов в организме, как правило, осуществляется под контролем ферментов, и, несмотря на то, что метаболизирующие энзимы локализованы в кишечнике, легких, почках, плаценте, крови и некоторых других тканях, центральным органом метаболизма ксенобиотиков является печень [1, 2]. Учитывая ключевую роль печени в метаболизме химических веществ, основным фактором, влияющим на скорость процессов биотрансформации в организме, является функциональное состояние гепатобилиарной системы [3-5]. Многочисленными исследованиями установлено [6, 7], что наиболее значительные нарушения метаболизирующей функции печени наблюдаются при ее медикаментозном поражении, так как в основе его патогенеза лежит непосредственное токсическое действие лекарств на гепатоциты и, в том числе, на их микросомальную фракцию — центральный компонент системы биотрансформации.

Наиболее информативным методом оценки метаболизирующей функции печени является изучение скорости выведения с мочой метаболитов тест-препарата амидопирина — 4-аминоантипирина, образующегося в результате реакции деметилирования (I фаза биотрансформации) и N-ацетил-4-аминоантипирина, как продукта ацетилирования (II фаза биотрансформации) [8, 9].

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы было изу-

чение влияния кверцетина (таблетированная форма), как потенциального гепатопротектора, на состояние обеих фаз биотрансформации при токсическом медикаментозном гепатите на основе определения особенностей динамики экскреции метаболитов амидопирина.

Материалы и методы исследования

Опыты выполнены на белых нелинейных половозрелых крысах обоего пола, массой 190-220 г в лаборатории кафедры фармакологии Луганского государственного медицинского университета в соответствии с методическими рекомендациями [10].

Токсический медикаментозный гепатит моделировали путем интрагастрального введения комбинации субстанций противотуберкулезных средств: рифампицина (50 мг/кг), изониазида (86 мг/кг) и пиразинамида (1500 мг/кг) ежедневно в течение 28 дней [11-13].

Животные были разделены на 4 группы по 6 крыс в каждой: интактную, контрольную, опытную и референтную. Изучаемый потенциальный гепатопротектор кверцетин в таблетках (ОАО НПЦ "Борщаговский химико-фармацевтический завод") и референтный препарат силибор (ООО "Фармацевтическая компания "Здоров'я") применяли также перорально в дозах, соответственно, 200 мг/кг и 165 мг/кг ежедневно в течение 28 дней спустя 1 ч после введения туберкулостатиков [14, 15].

О состоянии детоксицирующей системы печени в изучаемых усло-

виях эксперимента судили по активности НАДФ-зависимой монооксигеназной гидроксилирующей системы печени. Исследовали процессы метаболизма тест-препарата амидопирина, об интенсивности которых судили по выведению его основных метаболитов — 4-аминоантипирина и N-ацетил-4-аминоантипирина почками с мочой по методу [16], основанному на образовании метаболитами амидопирина с фенолом соединений типа гидрофенола красного цвета в щелочной среде в присутствии красной кровяной соли с последующим спектрофотометрированием при длине волны 510 нм. Содержание 4-аминоантипирина в моче рассчитывали с помощью калибровочного графика, построенного по общепринятым принципам. Все показатели изучали в динамике: через 3, 6 и 24 ч от момента амидопириновой нагрузки.

О состоянии монооксигеназной гидроксилирующей системы печени судили также по продолжительности тиопенталового сна. Тиопентал (1% раствор) вводили внутривентально в дозе 35 мг/кг [17].

Полученные данные обрабатывали статистически общепринятыми методами с использованием программы Statgraf, оценивая достоверность на уровне значимости не менее 95% ($P \leq 0,05$) с использованием критерия t Стьюдента [18].

Результаты и их обсуждение

Эксперименты показали, что в условиях медикаментозного гепатита, вызванного длительным поступлением в организм рифампицина-изониазид-пиразинамидной комбинации, отмечается резкое снижение интенсивности экскреции 4-аминоантипирина (таблица).

Так, в контрольной группе через 3, 6 и 24 ч от момента проведения амидопириновой нагрузки уровень анализируемого продукта N-деметилирования снижается на 50%, 42,35% и 16,90%, соответственно, в сравнении с интактными крысами. Этот факт свидетельствует об угнетении реакций I фазы биотрансформации изучаемого тест-препарата у животных с моделируемой формой гепатита.

Аналогичные изменения установлены и в отношении экскреции продукта II фазы биотрансформации амидопирина — N-ацетил-4-аминоантипирина. Как видно из

таблицы, выведение с мочой этого метаболита у животных контрольной серии за 3, 6 и 24 ч составляет всего 41,41%; 66,55% и 48,15%, соответственно, по отношению к интактным животным.

Известно, что метаболизм амидопирина в печени происходит при участии цитохрома Р-450, а по длительности нахождения метаболитов этого ксенобиотика в организме можно судить об активности фермента.

Эти данные свидетельствуют, что при изучаемой форме токсического гепатита происходит ингибирование ферментной монооксигеназной системы печени, главным образом цитохрома Р-450, осуществляющего N-деметилирование амидопирина, а также угнетение конъюгации метаболитов используемого в эксперименте тест-препарата с уксусной кислотой.

Лечебно-профилактическое применение кверцетина при токсическом медикаментозном гепатите позволило достоверно ($P < 0,05-0,001$) увеличить выведение из организма как 4-аминоантипирина (через 24 ч после нагрузки амидопирином), так и N-ацетил-4-аминоантипирина (через 3 и 24 ч после введения тест-препарата). Кроме того, кверцетин существенно увеличивает процессы ацетилирования в печени, достоверно ($P < 0,01$) и весьма значительно (на 25,23%) повышая концентрацию продукта II фазы биотрансформации амидопирина в моче опытных крыс в сравнении с интактными (таблица).

По детоксицирующей активности, в плане влияния на интенсивность процессов биотрансформации в печени, изучаемый биофлавоноид не уступает препарату сравнения силибору, на что указывает отсутствие достоверно значимых различий между концентрацией изучаемых метаболитов амидопирина в опытной и референтной группах во все сроки исследования.

Таким образом, кверцетин (таблетированная форма) обладает способностью значительно усиливать функционирование монооксигеназной системы печени при длительном поступлении туберкулостатиков в организм животных, что, вероятно, объясняется его способностью индуцировать цитохром Р-450 и/или предохранять его от деструкции под воздействием туберкулостатиков.

На рисунке представлены результаты исследования продолжительности "тиопенталового" сна.

Эти данные свидетельствуют, что при поступлении в организм

комбинации рифампицина, изониазида и пиразинамида происходит практически четырехкратное увеличение длительности "тиопенталового" сна в сравнении с интактными

Таблица

Влияние кверцетина на динамику экскреции метаболитов амидопирина — 4-аминоантипирина и N-ацетил-4-аминоантипирина с мочой крыс при токсическом медикаментозном гепатите (n=6)

Группа животных	Стат. показатели	Сроки исследования после нагрузки амидопирином, ч		
		3	6	24
4-Аминоантипирин (мкмоль/мл)				
Интактная	M ±m	0,72 0,01	1,70 0,01	0,71 0,01
Контрольная (гепатит)	M	0,36	0,98	0,59
	±m	0,04	0,03	0,03
	P ₁	<0,001	<0,001	<0,001
	%*	50,00%	57,65%	83,10%
Опытная (гепатит + кверцетин)	M	0,47	0,99	0,72
	±m	0,03	0,04	0,04
	P ₁	<0,001	<0,001	>0,05
	P ₂	>0,05	>0,05	<0,05
	P ₃	>0,05	>0,05	>0,05
	%*	65,28%	58,24%	101,41%
Референтная (гепатит + силибор)	M	0,51	1,04	0,63
	±m	0,03	0,03	0,03
	P ₁	<0,001	<0,001	<0,05
	P ₂	<0,05	>0,05	>0,05
	%*	70,83%	60,82%	88,73%
N-ацетил-4-аминоантипирин (мкмоль/мл)				
Интактная	M ±m	2,56 0,08	11,36 0,49	4,86 0,22
Контрольная (гепатит)	M	1,06	7,56	2,34
	±m	0,06	0,51	0,08
	P ₁	<0,001	<0,01	<0,001
	%*	41,41%	66,55%	48,15%
Опытная (гепатит + кверцетин)	M	1,77	8,27	6,50
	±m	0,10	0,49	0,27
	P ₁	<0,001	<0,01	<0,01
	P ₂	<0,001	>0,05	<0,001
	P ₃	>0,05	>0,05	>0,05
	%*	69,14%	72,80%	133,74%
Референтная (гепатит + силибор)	M	2,03	8,71	5,70
	±m	0,08	0,38	0,34
	P ₁	<0,01	<0,01	>0,05
	P ₂	<0,001	>0,05	<0,001
	%*	79,30%	76,67%	117,28%

Примечания: 1. P₁ — в сравнении с интактной группой; 2. P₂ — в сравнении с контрольной группой; 3. P₃ — в сравнении с референтной группой; 4. * — процент выделенных метаболитов амидопирина по отношению к интактным животным.

животными, указывающее на глубокие нарушения в функционировании системы монооксигеназных ферментов и угнетение процессов метаболизма натрия тиопентала.

Пероральное введение кверцетина в дозе 200 мг/кг крысам существенно (на 67%) сокращает продолжительность "тиопенталового" сна, что подтверждает его способность повышать функциональную активность метаболизирующей системы печени, усиливая, таким образом, биотрансформацию тиопентала.

Проведенные эксперименты дают возможность охарактеризовать кверцетин (таблетированная форма) как потенциальный гепатопротектор, по крайней мере при действии туберкулоstaticов.

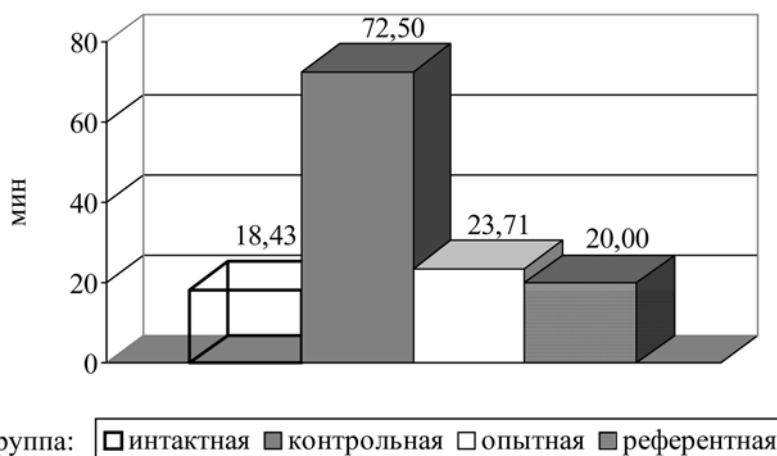


Рис. Влияние кверцетина на продолжительность "тиопенталового" сна у крыс с токсическим медикаментозным гепатитом. Различия между всеми значениями имеют достоверный характер ($P < 0,05-0,001$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Лук'янчук В. Д., Кравець Д. С. Введення до загальної фармакокінетики. — Луганськ: ВАТ "ЛОД", 2004. — 108 с.
2. Холодов Л. Е., Яковлев В. П. Клиническая фармакокинетика. — М.: Медицина, 1985. — 464 с.
3. Liver disease selectively modulates cytochrome P450-mediated metabolism / R. F. Frye, N. K. Zgheib, G. R. Matzke et al. // Clin. Pharmacol. Ther. — 2006. — V. 80(3). — P. 235-245.
4. Selective effect of liver disease on the activities of specific metabolizing enzymes: investigation of cytochromes P450 2C19 and 2D6 / A. Adedoyin, P. A. Arns, W. O. Richards et al. // Clin. Pharmacol. Ther. — 1998. — V. 64(1). — P. 8-17.
5. Comparison of in vitro and in vivo biotransformation in patients with liver disease of differing severity / H. Kraul, J. Truckenbrodt, A. Huster et al. // European J. of Clinical Pharmacology. — 1991. — V. 41(5). — P. 475-480.
6. Drug-induced endocrine and metabolic disorders / R. C. Ma, A. P. Kong, N. Chan, et al. // Drug Saf. — 2007. — V. 30(3). — P. 215-245.
7. Полунина Т. Е. Лекарственные поражения печени // Лечащий врач. — 2005. — №3. — 69-72.
8. Косова А. И., Яковлева О. О. Вивчення впливу антигістамінних та муколітичних препаратів на реакції деметилювання та ацетилювання амідопіріну // Ліки. — 1999. — № 3-4. — С. 107-109.
9. Comparison of various doses of carbon 13-labeled aminopyrine for a carbon 13-labeled aminopyrine demethylation blood test in healthy dogs / E. M. Moeller, J. M. Steiner, D. A. Williams et al. // Am. J. Vet. Res. — 2006 — V. 67(7). — P. 1110-1114.
10. Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации / Под. ред. А. В. Стефанова. — К.: Авиценна, 2002. — 567 с.
11. Скакун Н. П., Сливка Ю. И. Коррекция гепатотоксичности противотуберкулезных препаратов токоферола ацетатом и рибоксином // Эксперимент. и клин. фармакология. — 1992. — Т. 55, № 3. — С. 52-54.
12. Сливка Ю. И., Клименко Е. В., Табачук О. Е. О гепатотоксическом действии сочетаний пиразинамида с изониазидом и рифампицином // Проблемы туберкулеза. — 1989. — № 4. — С. 39-42.
13. Гепатопротекторна ефективність експериментальної полівітамінної композиції в умовах ураження печінки щурів туберкулоstaticами / Л. Г. Бережна, А. К. Вороніна, Г. М. Шаяхметова, В. М. Коваленко / Матер. III Національного з'їзду фармакологів України. — Одеса, 2006. — С. 17.
14. Вікові особливості детоксикаційної дії кверцетину при експериментальному гепатозі / І. С. Безверха, Т. М. Пантелеймонова, М. У. Заїка та ін. // Там же. — С. 14.
15. Експериментальна оцінка гепатопротекторної дії кверцетину / Т. М. Пантелеймонова, І. С. Безверха, М. У. Заїка та ін. // Там же. — С. 132.
16. Леоненко О. В., Попов Т. А. Оценка НАДФ-зависимой монооксигеназной гидроксидирующей ферментативной системы печени у лабораторных животных на уровне целостного организма: Метод. рекомендации МЗ СССР ВНИИ ГИНТОКС. Киев, 1981. — 9 с.
17. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів: Методические рекомендации / Под ред. І. Я. Коцюмбаса. — Львів: Тріада плюс, 2006. — 360 с.
18. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер с англ. — М.: Практика, 1999. — 459 с.

В. Д. Лук'янчук, А. С. Шаламай, А. Г. Войтенко

СТАН РЕАКЦІЙ І ІІ ФАЗ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ У БІЛИХ ЩУРІВ З ТОКСИЧНИМ ГЕПАТИТОМ ПРИ ВИКОРИСТАННІ КВЕРЦЕТИНУ

Експериментально доведена здатність кверцетину істотним чином модифікувати процеси біотрансформації ксенобіотиків, зокрема протитуберкульозних засобів, шляхом активації реакцій як першої, так і другої фаз лікарського метаболізму.

V. D. Lukjanchuk, A. S. Shalamaj, A. G. Vojtenko

STATE OF REACTIONS I AND II PHASES OF BIOTRANSFORMATION OF RATS WITH TOXIC HEPATITIS AGAINST THE APPLICATION OF QUERCETINUM

Experimentally well-proven to ability of quercetinum by appearance way to modify the processes of biotransformation of xenobiotics, in particular, antituberculous drugs by activating of reactions of both phases of medical metabolism.