

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОМПЛЕКСНОГО СОЕДИНЕНИЯ «ОКСИМЕТИЛУРАЦИЛ+НАТРИЯ СУКЦИНАТ» И СИЛИМАРИНА НА МОДЕЛИ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ СОЧЕТАНИЕМ ПХБ-СОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА «СОВТОЛ-1» И ЭТАНОЛА

Мышкин В.А.<sup>1</sup>, Срубиллин Д.В.<sup>3</sup>, Гимадиева А.Р.<sup>2</sup>, Еникеев Д.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека Роспотребнадзора, Уфа, Россия (450006, г. Уфа, ул. С. Кувикина, д. 94) bakirov@anrb.ru

<sup>2</sup>Уфимский институт химии РАН, Уфа, Россия (450054, г. Уфа, Пр. Октября, д. 71) chemdir@anrb.ru

<sup>3</sup>Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия, (450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3) rectorat@bashgmu.ru

Совтол-1 обладает иммунотоксическим, тератогенным действием, нарушает репродуктивную, пищеварительную функции, в том числе поражение печени. Поэтому цель исследования состояла в сравнительной оценке гепатопротекторных свойств оксиметилурацила (в форме комплексного соединения с натрия сукцинатом) и референтного силимарина на модели сочетанного токсического поражения печени «совтолом-1» и этанолом. Токсическое поражение печени, вызванное совтолом-1 и этанолом, сопровождается нарушением белково-синтетической, детоксицирующей, липосинтезирующей функции печени, признаками цитолиза и холестаза, активацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и подавлением антиокислительной системы (АОС). На модели интоксикации сочетанием «Совтола-1» и этанола гепатопротектор силимарин и комплексное соединение «оксиметилурацил+натрия сукцинат» показали положительный терапевтический эффект, что выразилось в ограничении оксидативных и функционально-метаболических проявлений гепатотоксичности. В группах леченых крыс более высокий гепатозащитный эффект выявлен у комплексного соединения по показателям, характеризующим функциональную активность печени (урокиназа, АсАТ, билирубин) и систему ПОЛ-АОС (триеновые конъюгаты, SH-группы). При данном патологическом состоянии наиболее перспективными по механизму действия являются препараты, содержащие интермедиаты цикла трикарбоновых кислот.

Ключевые слова: оксиметилурацил, натрия сукцинат, силимарин, совтол-1, гепатотоксичность, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система

## COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE “OXYMETHYLURACIL+SODIUM SUCCINATE” AND SILYMARIN COMPLEX COMPOUND USING THE LIVER MODEL DAMAGED BY A COMBINATION OF PCHB CONTAINING “SOVTOL-1” AND ETHANOL

Myshkin V.A.<sup>1</sup>, Srubilin D.V.<sup>3</sup>, Gimadieva A.R.<sup>2</sup>, Enikeyev D.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ufa Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia, bakirov@anrb.ru

<sup>2</sup>RAS Ufa Institute of Chemistry, Ufa, Russia, chemdir@anrb.ru

<sup>3</sup>Bashkirian State Medical University, Ufa, Russia, rectorat@bashgmu.ru

Sovtol-1 has immuno toxicity, teratogenic, violates the reproductive, digestive function, including liver damage. Therefore, the aim of the study was a comparative evaluation of hepatoprotective properties oxymethyluracil (in the form of complex compounds with sodium succinate) and reference model of silymarin combined liver toxicity of "sovtol-1" and ethanol. Toxic liver disease caused by Sovtol-1 and ethanol, accompanied by a breach of protein-synthetic, detoxifying liver function, signs of cytolysis and cholestasis, activation of lipid peroxidation (LPO) and the suppression of antioxidant system (AOS). Using “Sovtol-1” and ethanol modulated intoxication, the hepatoprotector silymarin and the complex compound “oxymethyluracil+sodium succinate” have shown to produce therapeutic effects resulting in limited oxidative and functional-metabolic manifestations of hepatotoxicity. In the treated rat groups, the complex compound turned out to have a higher hepatoprotective effect in accordance with indicators characterizing functional activity of the liver (urokinase, AcAT, bilirubin) and POL-AOS system (trien conjugates, SH-groups). With this pathological condition most promising mechanism of action are the preparations containing citric acid cycle intermediates.

Keywords: oxymethyluracil, sodium succinate, silymarin, sovtol-1, hepatotoxicity, lipid peroxidation, antioxidant system.

В настоящее время в эксплуатации и резерве находятся более 200 тыс. трансформаторов и конденсаторов, содержащих около 18 тыс. тонн ПХБ-масел [6, 12]. Существующие ограничения и запрещения по использованию ПХБ до сих пор не привели к существенному снижению их содержания в природных средах [6]. Главная опасность ПХБ для человека и животных заключается в разнообразных токсических эффектах в результате иммунотоксического, тератогенного действия, нарушения репродуктивной и пищеварительной функций, в том числе поражения печени [7, 8]. Наибольшую опасность представляют подострое и хроническое воздействие ПХБ. Ранее нами было показано, что печень крыс обладает чрезвычайно высокой чувствительностью к повреждающему действию технической смеси ПХБ: «совтола-1», имеющего высокое содержание хлора, что послужило основанием для создания двух новых ПХБ-индуцированных моделей патологии: токсической гепатопатии [7] и токсического цирроза печени [7, 10]. Дальнейшие исследования позволили обосновать положение о патогенетической значимости оксидативного стресса и нарушении механизмов антиоксидантной цитопротекции. Была экспериментально обоснована перспектива применения оксиметилурацила и других антиоксидантов пиримидиновой структуры.

**Цель данного исследования** – сравнительная оценка гепатопротекторных свойств оксиметилурацила (в форме комплексного соединения с натрия сукцинатом) и референтного силимарина на модели сочетанного токсического поражения печени ПХБ-содержащим препаратом «совтол-1» и этанолом.

#### **Материалы и методы исследования**

В ходе экспериментального исследования отобрана модель токсического поражения печени [7,10] для изучения сравнительной гепатопротекторной активности гепатопротектора силимарина и комплексного соединения «оксиметилурацил+натрия сукцинат». На модели отравления сочетанием ПХБ-содержащего препарата «совтол-1» и этанола крысы (n=48) были разделены на 4 равные группы. Животным 1-ой группы вводили 50%-ный раствор совтола-1 на оливковом масле из расчета 0,25 мл на 100 г массы тела дважды в неделю в течение 4-х недель. На протяжении опыта для питья животным давали 10%-ный раствор этанола. Животным 2-й и 3-й групп, используя те же дозы, вводили токсиканты (ПХБ+этанол), однако во 2-ой группе животные дополнительно получали комплекс «оксиметилурацил+натрия сукцинат». Препарат вводили перорально в течение 12 суток в дозе 50 мг/кг начиная с 14 дня эксперимента, а в 3-й - гепатопротектор силимарин в аналогичной дозе по вышеприведенной схеме. Все манипуляции выполнены в соответствии с международными нормативными

документами, регламентирующими правила гуманного обращения с животными.

Проведена оценка показателей, характеризующих функциональное состояние печени: активность уруканиназы (УрН) [1], аланиновой аминотрансферазы (АлАТ), аспарагиновой аминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) определяли по кинетическому методу Henry на биохимическом анализаторе согласно прилагаемым инструкциям, а также концентрацию SH-групп, билирубина, холестерина, триглицеридов и содержание в крови общего белка [5, 9]. Состояние процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) исследовали методом прямой спектрофотометрии путем определения содержания в гомогенатах печени количества диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) [2,3]. Одновременно с процессами ПОЛ регистрировали активность супероксиддисмутазы (СОД) [11] и каталазы [4].

Результаты обрабатывали статистически. После проверки нормальности распределения изучаемых параметров в сравниваемых группах определяли средние величины (M), ошибку средних величин (m) при соответствии распределения признака закону нормального с расчетом сравнения групп показателей по критерию Стьюдента (t). Минимальный уровень статистической значимости различий верифицировали при  $p < 0,05$ . Математическую обработку выполняли на компьютере с применением стандартных пакетов программы Statistica 6.0 и программного обеспечения Microsoft Excel. Комплексное соединение «оксиметилурацил+натрия сукцинат» синтезировано в Уфимском институте химии РАН к.х.н. Гимадиевой А.Р.

### **Результаты и их обсуждение**

Полученные результаты свидетельствуют о том, что токсическое поражение печени, вызванное совтолом-1 и этанолом, сопровождается нарушением белково-синтетической, детоксицирующей, липосинтезирующей функции печени, признаками цитолиза и холестаза, активацией процессов ПОЛ и подавлением антиоксидательной системы. Эксперименты проведены в два этапа. На первом этапе исследовали активность ПОЛ, систему антиоксидантной защиты и функционально-метаболическое состояние печени при сочетанном поражении ее совтолом-1 и этанолом, на втором - сравнительную эффективность применения комплексного соединения «оксиметилурацил+натрия сукцинат» и референтного препарата силимарина. Как следует из данных, представленных в таблице 1, при развитии токсического процесса происходит накопление продуктов ПОЛ в ткани печени. Содержание ДК увеличивается в печени в 2 раза, уровень ТК - в 1,47 раза. Накопление продуктов ПОЛ сопровождается снижением активности антиоксидантных ферментов – каталазы и супероксиддисмутазы соответственно в 2 и 3,5 раза. Нарушения в системе ПОЛ-АОЗ протекает при одновременном снижении в печени

общих тиоловых групп, которое достигало к 30 суткам 42,2% от показателей интактных животных, что может быть обусловлено неферментативной реакцией SH-групп со свободными радикалами липидов в результате активации ПОЛ.

**Таблица 1**

Влияние перорального комплекса «оксиметилурацил+натрия сукцинат» и силимарина на активность процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты в печени крыс при ее токсическом поражении (M±m)

Показатели	Группы крыс			
	I	II	III	IV
ДК λ = 232), усл.ед/г	2.95±0.23	1.1±0.1**	1.0±0.02**	1.52±0.09*
ТК λ = 278), усл.ед/г	1.0±0.12	0.88±0.07**	1.1±0.2	0.68±0.05*
СОД, усл.ед/мг белка	1.36±0.07	4.22±0.13**	4.0±0.15**	4.83±0.66*
Кат, моль в мин/г белка	120.3±19.8	138.3±17.8**	133.3±15.6**	244.6±18.3*
SH-группы, мкг/мг	8.2±0.44	12.5±0.68**	8.8±0.9	19.4±0.09*

Примечание: \* P<0.05 между группами контроля

\*\* P<0.05 между группами, получавшими препараты по сравнению с I группой, получавшей только совтол-1 и этанол

Токсическое поражение печени вызывает снижение концентрации белка, увеличение уровня билирубина, холестерина и триглицеридов (таблица 2). В крови животных значительно повышается активность печеночно-специфического фермента - уростаниназы, а также активность АлАТ, АсАТ, ЩФ в 10,6; 2,4 и 1,9 раза соответственно.

**Таблица 2**

Коррекция функционально-метаболических нарушений в печени на модели ее токсического повреждения сочетанием совтола-1 и этанола (M±m)

Показатели	Группы крыс			
	I	II	III	IV (контроль)
Число выживших животных	42.5	100	100	100
УрН, нмоль/г·л Сдвиг показателей (Δ)	54.9±3.5	32.6±7.2 -22.3*	43.6±6.3 -11.3*	0.89±0.03 -54.1*
АлАТ, ммоль/г·л Сдвиг показателей (Δ)	9.45±0.45	4.0±0.16 -5.45*	3.8±0.22 -5.65*	0.89±0.03 -6.15*

АсАТ, ммоль/г·л Сдвиг показателей (Δ)	25.7±0.43	13.2±0.66 -12.5*	23.0±0.5 -2.7*	10.7±0.14 -15.0*
ЩФ, ммоль/г·л Сдвиг показателей (Δ)	28.5±0.94	17.8±0.91 -10.7*	15.3±0.74 -13.2*	15.1±0.4 -13.4*
Билирубин, мкмоль/г·л Сдвиг показателей (Δ)	19.2±8.8	7.3±2.9 -11.9*	18.0±5.6 -1.2	2.9±0.39 -16.3*
Холестерин, ммоль/л Сдвиг показателей (Δ)	4.3±0.33	2.3±0.21 -2.0*	3.2±0.3 -1.1*	2.9±0.29 -1.4*
Триглицериды, ммоль/л Сдвиг показателей (Δ)	1.9±0.12	0.18±0.09 -1.72*	0.88±0.07 -1.02*	0.23±0.97 -1.47*
Общий белок, г/л Сдвиг показателей (Δ)	59.5±3.7	64.3±5.2 +4.8	63.5±2.8 +4.0	65.4±2.9 +5.9

\* Сдвиг показателя (Δ) - разница между группами животных контроля, а также получавших комплексное соединение «оксиметилурацил+натрия сукцинат» и силимарин по сравнению с I-й группой крыс, получавших только совтол-1 и этанол

Лечение отравленных крыс комплексным препаратом, также как и силимарином, благоприятно влияет на функционально-морфологическое состояние их печени. Препараты оказывают гепатопротекторное действие: снижают гиперферментемию, частично нормализуют практически все исследованные показатели, характеризующие метаболическое состояние органа (табл.2). Силимарин менее эффективен, поскольку не изменяет концентрацию билирубина и холестерина, а также уровень АсАТ в крови отравленных крыс. В основе гепатозащитного действия препаратов лежат их антиоксидантные свойства.

### **Заключение**

Гепатопротекторное действие силимарина и комплексного соединения «оксиметилурацил+натрия сукцинат» реализуется на метаболическом уровне. Метаболический эффект препаратов проявляется в снижении цитолиза, холестаза, а также уменьшении интенсивности липопероксидации. Антиоксидантные свойства препаратов подтверждаются благоприятным влиянием на активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы. С точки зрения получения конечного результата, комплексное соединение имеет преимущество перед референтным гепатопротектором силимарином в условиях модельной патологии, вызванной сочетанным применением совтола-1 и этанола. Возможно, при данном патологическом состоянии наиболее перспективными по механизму действия являются препараты, содержащие интермедиаты цикла трикарбоновых кислот, что требует дальнейшего экспериментального изучения.

### **Список литературы**

1. Буробин В.А. Определение активности уруканиназы в сыворотке крови и ткани печени

- (микрометод) / В.А.Буробин, Н.В. Лихачева, Г.Е. Абгафорова // Лабораторное дело. – 1978. - №11. – С. 650-653.
2. Волчегорский И.А. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / И.А.Волчегорский, И.А. Долгушин, О.Л. Колесников, В.А. Цейликман. – Челябинск, 2000. – 165 с.
3. Гаврилов В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилов, А.Ф. Хмара // Лабораторное дело. – 1988. - №2. – С. 60- 64.
4. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, Н.Н. Майорова, В.Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. - №1. – С. 16-19.
5. Колб В.Г. Клиническая биохимия / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Минск, 1976. – 312 с.
6. Майстренко В.Н. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей / В.Н. Майстренко, Н.А. Ключев. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. – 323 с.
7. Мышкин В.А. Полихлорированные бифенилы и новые модели патологии печени / В.А. Мышкин, А.Б. Бакиров // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2009. - №1 (65). – С. 255-259.
8. Мышкин В.А. Перекисное окисление липидов и гепаторенальные повреждения у крыс при воздействии стойких загрязнителей / Мышкин В.А., Еникеев Д.А., Галимов Д.М. и др. // Фундаментальные исследования. – 2011. - №10-1. – С. 137-139.
9. Рубина Х.М. Количественное определение SH-групп в цельной и депротенизированной крови спектрофотометрическим методом / Х.М. Рубина, Д.А. Романчук // Вопросы медицинской химии. – 1961. – Т. 7, №6. – С. 652-655.
10. Мышкин В.А. Способ моделирования цирроза печени / В.А.Мышкин, Р.Б. Ибатуллина, А.И. Савлуков, Н.И. и др. / Патент РФ №2197018 (2003).
11. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лабораторное дело. – 1985. - №11. – С. 678-681.
12. Юсфин Ю.С. Промышленность и окружающая среда / Ю.С. Юсфин, Л.И. Леонтьев, Н.П. Черноусов. – М.: Академкнига, 2002– 469 с.

**Рецензент:**

Миннебаев М.М., д.м.н., профессор кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО Казанского государственного медицинского университета, г. Казань;

Фролов Б.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой патофизиологии ГБОУ ВПО Оренбургской государственной медицинской академии, г. Оренбург.