

УДК 615.28:615.03

Усов Константин Ильич,

к.б.н., доцент, доцент кафедры «Экология и безопасность деятельности человека»,
ФГБОУ ВО «Ангарский государственный технический университет»,
e-mail: konstausov@ya.ru»

АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА АДЕМЕТИОНИНА ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Usov K.I.

ANTIOXIDANT PROTECTION OF ADEMETIONINE IN THE TOXIC EFFECT OF ANTI-TUBERCULOSIS DRUGS

Аннотация. Статья содержит результаты экспериментального токсикологического изучения применения адеметионина в качестве антиоксидантной защиты организма крыс при применении противотуберкулезных препаратов.

Ключевые слова: антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, побочные реакции, гептор (адеметионин), противотуберкулезные препараты, изониазид, рифампицин, пиразинамид, этамбутол, химиотерапия.

Abstract. The article contains the results of an experimental toxicological study of the use of ademetionine as an antioxidant defense of the rat body when using anti-tuberculosis drugs.

Keywords: antioxidant system, lipid peroxidation, antioxidant protection, adverse reactions, heptor (ademetionine), anti-tuberculosis drugs, isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, ethambutol, chemotherapy.

Неспецифические биохимические реакции обмена веществ, протекающие во всех живых клетках, определяют реактивность организма и его адаптационные возможности. Одним из регуляторных метаболических механизмов этих реакций является антиоксидантная система, представленная в виде баланса перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (ПОЛ – АОЗ). Процессы ПОЛ, изменяя структуру и фосфолипидный состав мембран клеток, могут влиять на существование ответа иммунокомпетентных клеток. Активация ПОЛ ведет к искажению информации от внеклеточных регуляторов к внутриклеточным эффекторным системам, а следствием этого может быть нарушение адаптационных способностей клетки [1]. Баланс между ПОЛ и АОЗ не только отражает, но и определяет адаптационные возможности организма, а также позволяет определить риски развития метаболических расстройств [2]. Нарушение равновесия между процессами ПОЛ и антиоксидантной системой могут приводить к преобладанию реакции перекисного окисления, заканчивающейся гибелью клетки [1].

Усиление интенсивности процессов перекисного окисления липидов, в настоящее время, принято рассматривать в качестве универсального неспецифического звена в патогенезе многих заболеваний. Известно,

что воспаление, развивающееся при туберкулезной инфекции, как правило, протекает на фоне избытка продуктов ПОЛ (окислительный стресс), ответственных за повреждение мембран, капилляров и за воспалительную реакцию [3, 4]. Ежедневное введение изониазида в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг в течение 3 месяцев вызывало у подопытных крыс активацию процессов ПОЛ [5]. Активация ПОЛ была отмечена и при совместном введении крысам изониазида в дозе 30,85 мг/кг + рифампицина – 61,7 мг/кг + пиразинамида – 132,65 мг/кг в течение 28 дней [6]. Установлено, что длительное повышение активности ПОЛ является универсальным механизмом повреждения и гибели клеток, подавления репаративных процессов при повреждении органов и тканей, оказывая тем самым отрицательное влияние на эффективность лечения туберкулеза и на прогноз исхода заболевания [5, 7, 8].

При развитии побочных реакций на противотуберкулезные препараты (ПТП), активное участие принимают системы ПОЛ и АОЗ. Токсическое действие ПТП проявляется в увеличении в крови содержания малонового диальдегида и в снижении альфа-токоферола, что может служить прогностическим признаком тяжести лекарственных осложнений и требует назначения не менее двух антиоксидантов [9, 10]. Одним из неже-

лательных свойств ПТП является их гепатотоксичность. Установлено, что применение Адемeтионина (АМ) снижает гепатотоксичность ПТП [11]. Однако АМ обладает также антиоксидантной активностью, в связи с чем, представляло интерес изучение влияния этого препарата на состояние антиоксидантной системы при применении ПТП.

Цель исследования. Выявить возможное влияние АМ на показатели антиоксидантной системы у крыс при введении ПТП в гепатотоксических дозах.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на белых нелинейных крысах-самцах 4 месячного возраста, массой 180-200 г. Все животные содержались в условиях специализированной экспериментально-биологической клиники (вивария), ветеринарное удостоверение 238 № 0019817. Эксперименты были проведены в соответствии с этическими требованиями [13, 14].

В экспериментах использовали следующие ПТП: Изониазид (форма выпуска: таблетки, 0,3 г); препарат Рифампицин (форма выпуска: капсулы, 0,15 г); препарат Пиразинамид (форма выпуска: таблетки, 0,5 г); препарат Гептор, МНН: Адемeтионин (форма выпуска: таблетки, 0,4 г). Препараты вводили *per os* в желудок в виде суспензии в дистиллированной воде с помощью металлического атравматичного зонда. Дозирование препаратов выполняли по количеству активного вещества в лекарственной форме, индивидуально для каждого подопытного животного с мониторингом массы тела ежедневно перед введением препаратов. Содержимое капсул и таблеток растиралось в ступке. Однократный объем вводимой суспензии для крыс не превышал 5 мл, максимальная продолжительность ежедневного введения не более 60 суток, в зависимости от схемы введения.

В условиях эксперимента применяли 3 схемы введения препаратов. Первая схема представляла собой двухэтапное введение исследуемых лекарственных средств. Первый этап заключался во введении ПТП в токсичных дозах до момента выявления лекарственного осложнения в виде признаков тяжелых гепатотоксических реакций, с последующей отменой ПТП. Второй этап – назначение препарата АМ на следующие сутки, сразу после отмены ПТП. Вторая схема представляла собой одноэтапное сочетанное применение ПТП с АМ. Применение АМ во

второй схеме начинали с первого дня введения препаратов. Третья схема: в эксперимент была включена группа крыс, которым на протяжении всего срока наблюдений вводили только АМ. Для сравнения показателей, полученных от подопытных групп, была сформирована группа динамического контроля, куда были включены крысы, которым ежедневно вводили только питьевую воду, предварительно прокипяченную и охлажденную в течение 30 минут.

Гепатопротекторное средство - АМ во всех подопытных группах применяли в дозе 120 мг/кг. Выбор такой дозы был обоснован результатами ранее проведенного исследования эффективности АМ [15] при поражении печени крыс ПТП. Введение АМ осуществляли за 2 часа до введения ПТП, ежедневно, начиная с 8 часов утра. При всех схемах эксперимента препараты вводили животным ежедневно, одномоментно, совместно, начиная с 10 часов утра, в дозах, значительно превышающих максимально суточные (МСД): изониазид - 120 мг/кг (1/10 от DL_{50} , что в 21 раз превышает МСД), пиразинамид - 190 мг/кг (1/20 от DL_{50} , что в 7 раз превышает МСД), рифампицин - 634 мг/кг (1/30 от DL_{50} , что в 60 раз превышает МСД). Токсические дозы ПТП использованы с целью моделирования процесса развития тяжелых гепатотоксических реакций у подопытных крыс. В группе динамического контроля животные ежедневно получали только дистиллированную воду в дозе 12,5 мл/кг.

Изучали процессы антиоксидантной системы: перекисное окисление липидов (ПОЛ), антиоксидантная защита (АОЗ). Определяли показатели ПОЛ: гидроперекиси липидов (ГПЛ), диеновые конъюгаты (ДК), тиобарбитуровой кислоты – активные продукты процессов ПОЛ (ТБК-АП); показатели АОЗ: восстановленный глутатион (GSH), каталазу, пероксидазу [16-19].

Для обработки полученных результатов применялись методы математической статистики. Методики расчета величин соответствуют требованиям, изложенным в руководстве по математической статистике для медико-биологических исследований [13, 20].

При введении ПТП с АМ и без него были получены изменения контролируемых показателей по отношению к группе динамического контроля [21]. К 30 суткам эксперимента введение ПТП оказывало максималь-

ное влияние на процессы пероксидации, что проявлялось существенным повышением показателя ДК в 2,4 раза, ГПЛ в 1,6 раза (введение только ПТП), и в 1,2 раза (введение ПТП + АМ), ТБК-АП в 1,8 раз. Понижение величин показателей ТБК-АП и ДК выявлялось уже на 3 сутки введения ПТП, что свидетельствовало об их высокой диагностической информативности для установления самых первых признаков развития нежелательных побочных реакций на введение ПТП. Отмена ПТП с 31 суток эксперимента и назначение АМ с 31-60 сутки не приводило к полному восстановлению определяемых показателей.

Ежедневное введение ПТП с АМ в течение 60 суток сопровождалось повышением ДК в 1,9 раза только на 60 сутки введения, что свидетельствует о положительной роли АМ, как средства терапии сопровождения на фоне длительного применения ПТП. Независимо от включения АМ, введение ПТП вызывало значительное снижение уровня пероксидаз на 3 сутки эксперимента, к 30 суткам снижение уровня пероксидаз было ха-

рактерно для группы крыс, получавших только ПТП, что может свидетельствовать об усилении эффективности АМ в зависимости от длительности его применения. Уровень GSH был понижен на всех сроках наблюдения для подопытных крыс из первой подопытной группы, а для крыс, получавших АМ с ПТП, снижение показателя наблюдалось только с 30 суток эксперимента. Активность каталазы снижалась в 2 раза, только на 30 сутки эксперимента для крыс, получавших только ПТП с 1 по 30 сутки.

Выводы.

1. Применение АМ в качестве средства сопровождения с первых дней введения ПТП оказывало положительное влияние на показатели антиоксидантной системы по сравнению с данными, полученными от подопытных групп, которым вводились только ПТП без АМ.

2. Полученные результаты дают основание рекомендовать применение Адеметиона в качестве средства терапии сопровождения при первичном включении ПТП в схемы химиотерапии туберкулеза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зборовская И.А., Банникова М.В. Антиоксидантная система организма, её значение в метаболизме. Клинические аспекты. Вестник российской академии медицинских наук; 1995; (6): 53-60.

2. Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S. (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reprod Biol Endocrinol*, (10): 49-80.

3. Волчегорский И.А., Новоселов П.Н., Болотов А.А. Показатели системы перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита как предикторы неблагоприятного течения инфильтративного туберкулеза легких; Проблемы туберкулеза и болезни легких; 2008; 85, (4): 28-32.

4. Amaral E. P., Conceição E. L., Costa D. L., Rocha M. S., Marinho J. M., Cordeiro-Santos M., D'Império-Lima M. R., Barbosa T., Sher A., Andrade B. V. N-acetyl-cysteine exhibits potent anti-mycobacterial activity in addition to its known anti-oxidative functions. *Amaral et al. BMC Microbiology*; 2016 (1): 1-10.

5. Усов К.И., Юшков Г.Г., Шульгина Н.А., Седых Е.О. Сравнительное исследова-

ние биохимических процессов нарушения метаболизма триптофана при воздействии изониазидом и изониазидом в комбинации с витамином В₆ в условиях эксперимента. Вестник ангарской государственной технической академии; 2009; 3, (1): 140-143.

6. Sharma R, Goyal N, Singla M, Sharma V.L. Berberis aristata Ameliorates Testicular Toxicity Induced by Combination of First-Line Tuberculosis Drugs (Rifampicin + Isoniazid + Pyrazinamide) in Normal Wistar Rats. *J. Diet Suppl*; 2018 Jun (28): 1-14.

7. Есимова И. Е. Состояние липидной фазы мембраны мононуклеарных клеток крови при туберкулезе легких: автореф. дис. ... канд. мед. наук. И. Е. Есимова. Томск, 2007. – 42 с.

8. Зиновьев И. П. При стандартной химиотерапии больных туберкулезом лекарственная устойчивость *Mycobacterium tuberculosis* возникает внутри фагоцита. Тезисы докладов XII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». М., 2005. – С. 121.

9. Гурьева И. Г., Андржеюк Н. И., Смирнова Н. А. Биохимическое обоснование применения патогенетической терапии при

туберкулезе легких. Проблемы туберкулеза; 1978; (11): 27-30.

10. Челнокова Н.В., Мишин В.Ю., Васильева И.А. Частота и характер побочных реакций при различных режимах химиотерапии // 3 съезд научно-медицинской ассоциации фтизиатров. Сборник резюме. Екатеринбург; 1997. – С.37

11. Усов К. И., Гуськова Т. А., Юшков Г. Г., Гришина Л. П., Гушин А. С. Экспериментальное обоснование терапии сопровождения с применением адеметионина для снижения гепатотоксических реакций противотуберкулезных препаратов. Токсикологический вестник; 2018; (6): 12-21.

12. Топчий Н.В., Топорков А.С. Гепатотоксичность – наиболее вероятные причины и возможности оптимальной коррекции гептралом. РМЖ; 2013; 21 (5): 249-257

13. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Под ред. А.Н. Миронина; М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

14. Гуськова Т. А. Токсикология лекарственных средств. М.: МДВ., 2008. – 196 с.

15. Суханов Д.С., Виноградова Т.И., Заболотных Н.В., Витовская М.Л., Коваленко А.Л. Гепатотропное действие рунихола и адеметионина при повреждении печени противотуберкулезными препаратами основно-

го ряда в эксперименте. Архив патологии. 2014; 76 (2): 26-31.

16. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. Лабораторное дело; 1983; (3): 33-36.

17. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. Под ред. В.Н. Ореховича; М.: Медицина, 1977. – С. 66-68

18. Портяная Н.И., Осипенко Б.Г., Москадынова П.А. Биохимические исследования в токсикологическом эксперименте. Под ред. М.Ф. Савченкова, В.М. Прусакова. – Иркутск: Изд-во ИГУ, 1990. – 216 с.

19. Sedlak J., Lindsay R.H. Estimation of total proteinbound and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Anal. Biochem; 1968; (25): 192-205

20. Festing MF.W., Altman D.G. Guidelines for the Design and Statistical Analysis of Experiments Using Laboratory Animals. ILAR Journal; 2002; 43 (4): 244-258.

21. Усов К.И., Гуськова Т.А., Юшков Г.Г. Антиоксидантные эффекты адеметионина при введении крысам противотуберкулезных препаратов в токсических дозах. Токсикологический вестник; 2019; (6): 28-32.