

**РЕГУЛЯЦИЯ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ НА ФОНЕ
ФЕНАЦЕТИНОВОЙ МОДЕЛИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ГЕПАТИТА**
Гулиева С.В.¹, Эйвазов Т.А.², Алекперова М.Г.³, Гулиев Н.О.⁴, Юсифова М.Ю.⁵

¹Гулиева Севда Вагиф кызы - кандидат биологических наук, доцент, заведующий отделом;

²Эйвазов Тарел Али оглу - кандидат медицинских наук, доцент;

³Алекперова Мехрибан Гани кызы - младший научный сотрудник;

⁴Гулиев Нижат Октай оглу - младший научный сотрудник,
отдел биохимии;

⁵Юсифова Матанат Юсиф кызы - младший научный сотрудник,
отдел фармакологии;

Научно-исследовательский центр Азербайджанский медицинский университет,
г. Баку, Азербайджанская Республика

Аннотация: в работе приведены результаты показателей антиоксидантной защиты при моделировании лекарственного фенацетинового гепатита на белых лабораторных беспородных крысах. В различных группах животные в качестве лечения получали α -токоферола ацетат, урсodeоксихолевую кислоту, 10% настой фитоконплекса AZHEPOFIT, 10% настой фитоконплекса AZHEPOFIT совместно с урсodeоксихолевой кислотой. На фоне модели фенацетинового гепатита применение фитоконплекса совместно с урсodeоксихолевой кислотой приводило к повышению концентрации поверхностных и внутренних белков-SH-группы и повышению активности системы антиоксидантной системы организма.
Ключевые слова: поверхностные и внутренние белки, фенацетиновый лекарственный гепатит, α -токоферола ацетат, урсodeоксихолевая кислота, фитоконплекс AZHEPOFIT.

**REGULATION OF ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM AGAINST PHENACETIN
MODEL OF DRUG-INDUCED HEPATITIS**
Guliyeva S.V.¹, Eyyvazov T.A.², Alekperova M.G.³, Guliyev N.O.⁴, Yusifova M.Yu.⁵

¹Guliyeva Sevda Vagif kizi - Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department Head;

²Eyyvazov Tarel Ali oglu - Candidate of Medical Sciences, Associate Professor;

³Alekperova Mehriban Gani kizi - Junior Scientific Associate;

⁴Guliyev Nijat Oktay oglu - Junior Scientific Associate,
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

⁵Yusifova Matanat Yusif kizi - senior assistant
DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY;

RESEARCH CENTER AZERBAIJAN MEDICAL UNIVERSITY
BAKU CITY, REPUBLIC OF AZERBAIJAN

Abstract. the results of antioxidant defense parameters in modeling of drug-induced phenacetin hepatitis in white laboratory mongrel rats are presented in this work. In different groups animals received α -tocopherol acetate, ursodeoxycholic acid, 10% infusion of phytocomplex AZHEPOFIT, 10% infusion of phytocomplex AZHEPOFIT together with ursodeoxycholic acid as treatment. Against the background of phenacetin hepatitis model, the use of phytocomplex together with ursodeoxycholic acid led to an increase in the concentration of surface and internal proteins-SH-group and an increase in the activity of the antioxidant system of the body.

Keywords: surface and internal proteins, phenacetin drug-induced hepatitis, α -tocopherol acetate, ursodeoxycholic acid, phytocomplex AZHEPOFIT

УДК 661.092.11

Лекарственный гепатит (ЛГ) — это состояние печени, вызванное различными медикаментами, травмами или другими ксенобиотиками, при котором выявляются нарушения функций печени и изменения результатов печеночных тестов, с развитием в них воспаления и даже некроза. В последнее время врачи чаще стали сталкиваться с проблемой лекарственного поражения печени (ЛПП). ЛГ является одной из самых доминантных форм тяжелого поражения печени в США и составляет около 13 % всех случаев этого заболевания [1, 3].

Многие препараты, используемые в современной медицине, в том числе химиотерапия у онкологических больных, статины, принимаемые против холестерина, различные мочегонные и лекарственные средства оказывают токсическое действие на печень, часто приводящие к гибели клеток печени, что примерно в 15-25% случаях может быть причиной молниеносной формы острого лекарственного гепатита и может привести к летальному исходу [2, 11].

Известно, что гепатопротекторы повышают устойчивость печени к патологическим воздействиям, усиливают ее обезвреживающую функцию путем активации различных ферментных систем и влияния на патогенетические механизмы, лежащие в основе патологии печени, тем самым замедляя прогрессирование

заболевания [15]. Оксидативный стресс и воспалительный процесс в настоящее время считаются ключевыми патогенетическими механизмами ЛПП. Среди механизмов, приводящих к дистрофии, некрозу гепатоцитов является нарушение дисбаланса прооксидантных и антиоксидантных факторов. Поэтому роль оксидативного стресса, холестаза и других факторов при изучение механизмов патологического поражения печени и разработка эффективных схем лечения остаются актуальной задачей медицинской науки.

Цель исследования: на модели фенацетинового гепатита изучить антиоксидантное действие фитоконплекса AZNEPOFIT в комбинации с урсоеоксихолеовой кислотой.

Материалы и методы: эксперименты были поставлены на 60 белых лабораторных беспородных крысах, разделенных на 2 группы. В 1-й группе были интактные животные (10 крыс), во 2-й – животные, у которых моделировали фенацетиновый гепатит. Животные 2-й группы разделены на 5 подгрупп (п/г) по 10 крыс в каждой: 1-я п/г – модель, 2-я п/г – в качестве лечения животные получали α -токоферола ацетат в дозе 50 мг/100 г веса, 3-я п/г – урсоеоксихолеовую кислоту в дозе 25 мг/100 г веса, 4-я п/г – 10% настоей фитоконплекса AZNEPOFIT в дозе 1 мл/100 г веса, 5-я п/г – 10% настоей фитоконплекса AZNEPOFIT в дозе 1 мл/100 г веса совместно с урсоеоксихолеовой кислотой в дозе 25мг/100 г веса. Животные получали лечение в течение 2 недель 2 раза в день. Все эксперименты на животных проводились согласно Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1986). Проведение эксперимента разрешено решением Этического комитета при Азербайджанском медицинском университете за №10 от 16.10.2019.

Моделирование фенацетинового гепатита проводили следующим образом: крысам в течение 7 дней ежедневно вводили внутрь суспензию парацетамола в воде в дозе 2500 мг/кг и 1 мл 40% спирта. С этой целью использовали препарат «Парацетамол софарма 500 мг» производства SOPHARMA, Болгария. Как известно, парацетамол в ходе метаболизма в организме превращается в фенацетин, который в высоких дозах оказывает гепатотоксическое действие.

После создания модели гепатита животным назначали курс лечения: α -токоферол (лечение №1), урсоеоксихолеовая кислота (лечение №2), фитоконплекс AZNEPOFIT (лечение №3), комбинированное применение – фитоконплекс AZNEPOFIT и урсоеоксихолеовая кислота (лечение №4).

В сыворотке крови определяли следующие маркеры системы антиоксидантной защиты:

- плотность поверхностной (ПБ-SH) и внутренней группы белка- (ВБ-SH) по методу Элмана [12];
- активность каталазы по методу Королук М.А. [4];
- активность СОД по методу Сирота Т.В.,2013 [14];
- общую антиоксидантную активность (ОАА) определяли по методу Е.В. Spector [9].

Состав фитоконплекса AZNEPOFIT следующий: семена расторопши пятнистой – 2 ч., трава спорыша – 1 ч., трава зверобоя продырявленного – 1 ч., сельдерей пахучий – 1 ч., семена льна – 2 ч., корневище с корнями куркумы длинной – 1 ч

Статистическая значимость различий, полученных в результате экспериментов, рассчитывали на персональном компьютере с помощью прикладных программ Microsoft Office Excel – ПО, применением t-критерия Стьюдента и непараметрического U-критерия Уилкоксона–Манна–Уитни на основе современных рекомендаций [5,7,8]. Статистическое различие считалось достоверным при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основании определения маркеров системы антиоксидантной защиты в сыворотке крови белых крыс, входящих в 1-ю группу (интактное состояние), установлено, что концентрация ПБ-SH составляет $31,1 \pm 0,51$ нмоль/мг. Концентрация ВБ-SH составляет $21,2 \pm 0,38$ нмоль/мг, активность СОД – $2,53 \pm 0,28$ Ед/мл, активность каталазы – $12,2 \pm 0,4$ мкат/л, ОАА – $40,56 \pm 0,96$ %.

После моделирования лекарственного гепатита (2-я группа) в сыворотке крови наблюдалось ослабление системы антиоксидантной защиты. По сравнению с 1-й группой средняя концентрация ПБ-SH снизилась на 43 % ($P < 0,001$), средняя концентрация ВБ-SH-группы – 36% ($P < 0,01$), активность СОД– 2,4% ($P < 0,01$), активность каталазы снизилась на 8,5% ($P < 0,05$), а ОАА уменьшилась на 26% ($P < 0,05$) (табл.1).

Полученные результаты показывают, что модель лекарственного гепатита, созданная с помощью парацетамола, была стабильной, что было видно по сниженным значениям концентраций маркеров системы антиоксидантной защиты в сыворотке патологического процесса.

Таблица 1. Изменение динамики маркеров системы антиоксидантной защиты в печени экспериментальных животных при лекарственном гепатите.

Группы	Статистические показатели	ПБ-SH нмоль/мг	ВБ-SH нмоль/мг	СОД, Ед/мл	Каталаза мкат/л	ОАА, %
интактные	Min	29,8	20,3	1,0	8,3	37,45
	Max	32,4	22,5	4,10	18,5	43,20
	M	31,1	21,2	2,53	12,2	40,56
	m	0,51	0,38	0,28	0,4	0,96
модель	Min	14	11	2,20	3,2	22

	Max	25,3	20,25	2,70	10,2	40
	M	17,7	13,65	2,47	6,8	25,6
	m	1,96	1,69	0,06	0,1	3,24
	P	<0,001	<0,01	<0,01	<0,05	<0,05
лечение №1	Min	13,8	10,7	2,50	10,6	21
	Max	25,1	20,05	2,70	3,8	38
	M	18,44	13,95	2,60	6,8	28,5
	m	1,97	1,70	0,10	0,1	2,60
лечение №2	P	<0,001	<0,01	<0,01	<0,05	<0,01
	Min	13,8	9,32	1,80	3,8	21
	Max	25,1	24,60	2,70	10,0	38
	M	20,6	15,75	2,68	7,0	37,1
лечение №3	m	1,90	1,69	0,10	0,1	2,83
	P	<0,001	<0,01	<0,01	<0,05	<0,01
	Min	13,8	10,41	1,62	8,7	21
	Max	25,1	25,92	3,95	15,1	38
лечение №4	M	28,5	18,00	2,85	9,3	39,3
	m	1,51	1,75	0,11	0,2	2,88
	P	<0,001	<0,01	<0,01	<0,05	<0,01
	Min	27,6	14,5	2,70	4,2	37,45
лечение №4	Max	35,6	31,4	3,70	14,3	43,20
	M	30,4	21,6	3,19	9,8	42,2
	m	0,51	0,38	0,07	0,2	0,96
	P	<0,001	<0,01	<0,01	<0,05	<0,01

Таким образом, у 100% белых крыс на фоне фенацетиновой модели лекарственного гепатита в сыворотке крови концентрация ПБ-SH, ВБ-SH-группы, а также активности СОД, каталазы и ОАА были ниже нормы.

На фоне лечения №1 содержание ПБ-SH, ВБ-SH-группы в крови повышалось на 4,2% ($p<0.001$) и 2,2% ($p<0.01$), соответственно. Активность СОД повысилась на 5,3% ($p<0.01$), а ОАА – на 11,3% ($p<0.01$). Изменение активности каталазы не наблюдалось.

На фоне лечения №2 концентрации ПБ-SH, ВБ-SH- были повышены на 16,8% ($p<0.001$) и 15,4% ($p<0.01$), соответственно. Активности СОД и каталазы имели тенденцию к увеличению, соответственно на 8,5% ($p<0.01$) и 2,9% ($p<0.05$), а ОАА была повышена на 44,5 %

На фоне лечения №3 концентрации ПБ-SH, ВБ-SH- в крови животных повышалось на 61% ($p<0.001$) и 31,9% ($p<0.01$), активности СОД и каталазы увеличились на 15,4% ($p<0.01$) и 36,8% ($p<0.05$), соответственно. ОАА увеличилась на 53,5% ($p<0.01$).

На фоне лечения №4 концентрации ПБ-SH, ВБ-SH- в сыворотке крови повышались, соответственно, на 71,8% ($p<0.001$) и 58,2% ($p<0.01$). Показатель активности СОД был повышен на 29, 2% ($p<0.01$), а каталазы – на 44,1% ($p<0.05$). ОАА увеличилась на 64,8% ($p<0.01$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ полученных результатов позволяет утверждать, что на фоне фенацетиновой модели лекарственного гепатита α -токоферол, являясь высокоэффективным антиоксидантом, тормозит свободнорадикальные реакции, предупреждая образование перекисей, оказывающих повреждающее воздействие на клеточные мембраны. Альфа-токоферол, находясь внутри фосфолипидного слоя клеточных мембран, способствует восстановлению фосфолипидных мембран клеток. Однако, как видно из результатов наших исследований, система антиоксидантной защиты организма не восстанавливается, хотя наблюдается незначительное повышение ОАС.

Наши исследования показали, что урсоедоксихолевая кислота также не показала выраженного положительного эффекта на течение патологии. Его введение в организм недостаточно регулировало нарушенный баланс системы антиоксидантной защиты

На фоне лечения фитокомплексом наблюдалась положительная динамика изменений всех исследуемых показателей. Повышение активности ферментов СОД и каталазы можно рассматривать как факт, отражающий стимуляцию системы антиоксидантной защиты. Из литературы известно, что биологически активные соединения растений в составе фитокомплекса обуславливают антиоксидантные, ангиопротекторные, гепатопротекторные, желчегонные и другие важнейшие фармакологические свойства, оказывая регенерирующее и репаративное действие на гепатоциты [6,10]. При комбинированном сочетании фитокомплекса AZHEPOFIT с урсоедоксихолевой кислотой наблюдался положительный сдвиг в системе

антиоксидантной защиты. При этом все исследуемые показатели приближались к интактным значениям. В результате, снижение окислительного стресса в печени до нормального уровня улучшает метаболизм ферментов печени.

Известно, что многие фармакологические препараты способствуют развитию гепатита, повреждая гепатоциты. Широкая распространенность среди населения лекарственного гепатита и его основной фактор риска печеночного синдрома [13] побудили исследователей заняться изучением патогенеза данной патологии. Результаты наших экспериментов показывают, что введение в организм фитокомплекса AZNEPOFIT в комбинации с урсодеооксиголевой кислотой приводит к укреплению системы антиоксидантной защиты организма за счет повышения концентрации белков-SH-группы, расположенной на поверхности и внутри структуры, активности СОД и каталазы, а также ОАА.

Результаты проведенного исследования обосновывают целесообразность применения фитокомплекса AZNEPOFIT в качестве гепатопротектора. Данный препарат можно рекомендовать для лечения лекарственного гепатита для дальнейших исследований с целью внедрения в перспективе в медицинскую практику.

Список литературы / References

1. Буеверов А.О., Богомолов П.О. Неалкогольная жировая болезнь печени: обоснование патогенетической терапии // Клинические перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии. 2009, № 1, С. 3–9.
2. Губергриц Н.Б., Беляева Н.В., Клочков А.Е. Лекарственные поражения печени: от патогенеза к лечению. Вестник клубу панкреатологов. 2020, С. 72.
3. Ивашкин В.Т., Барановский А.Ю., Райхельсон К.Л. и др. Лекарственные поражения печени (клинические рекомендации для врачей) //Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии, 201, Т. 29.
4. Королюк М.А. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. Дело, 1988, № 1, С. 16-19.
5. Кузенко М.С. Статистика в медико-биологических исследованиях. Физико-математические науки. 2017, 2 (64), С. 1–10.
6. Лазебник Л.Б., Голованова Е.В., Хылынова О.В. Лекарственные поражения печени (ЛПП) у взрослых. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2020, 174 (2), С.29–54.
7. Мюррей А. Эффективная работа в Microsoft Excel. Москва: ДМК Пресс, 2021.
8. Соколов И.Д., Соколова Е.И., Трошин Л.П., Медведь О.М., Колтаков, С.Ю. Биометрия. Краснодар: КубГАУ, 2018.
9. Спектор Е.В. Метод определения антиокислительной активности сыворотки крови. Лаб. дело. 1984, № 1, С. 26–9.
10. Adikwu E. Hepatoprotective effect of vitamin E //Am. J. Pharmacol. Toxicol. 2012, Vol. 7, № 4, P.154–163.
11. Au J.S., Navarro V.J., Rossi S. Review article: drug-induced liver injury — its pathophysiology and evolving diagnostic tools //Aliment. Pharmacol. Ther. 2011. Vol.34, N 1, P.11–20.
12. Ellman G.L. Tissue sulfhydryle groups. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1959; 82 (1): 70–7. DOI: 10.1016/0003-9861(59)90090-6.
13. Jawad Ahmad, Joseph A. Odin, Paul H., et al. //Drug Alcohol Dependence. – 2021, Vol.218, N1, P.108426.
14. Sirota T.V. Use of nitro blue tetrazolium in the reaction of adrenaline autooxidation for the determination for the determination of superoxide dismutase activity. Biomed Khim. 2013 Jul-Aug; 59(4), P.399-410. DOI:10.18097/pbmc20135904399.
15. Vuppalanchi R., Liangpunsakul S., Chalasani N. Etiology of new-onset jaundice: how often is it caused by idiosyncratic drug-induced liver injury in the United States? //Am. J. Gastroenterol, 2007, Vol. 102, N 3, P. 558–562.].