

ЭНТЕРОСОРБЕНТ «ЗЕРОТОКС» И ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНО- МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЕЧЕНИ

Х.Г. Юнусходжаева^{1*}, М.Г. Исмаилова¹, доктор фармацевтических наук,
Н.Л. Выпова², кандидат биологических наук

¹Узбекский химико-фармацевтический научно-исследовательский институт;

Узбекистан, 100125, Ташкент, ул. Дурмон йули, д. 40

²Институт биоорганической химии;

Узбекистан, 100125, Ташкент, пр. Мирзо Улугбека, д. 83

Введение. Энтеросорбция является составной частью эфферентной терапии, конечная цель которой – прекращение действия токсинов различного происхождения и их элиминация из организма.

Цель исследования – изучение функционально-метаболической активности печени при хроническом введении энтеросорбента.

Материал и методы. Исследовался порошок нового энтеросорбента, полученного из гидролизного лигнина шелухи семян хлопчатника путем щелочного облагораживания. Изучали влияние энтеросорбента на показатели функционально-метаболической активности печени на белых беспородных крысах обоего пола массой 140–160 г. У животных контрольной группы и получавших различные дозы энтеросорбента изучали содержание цитохрома P-450 и цитохрома b₅, активность микросомальных ферментов, щелочной фосфатазы, АСТ и АЛТ, содержание общего и прямого билирубина.

Результаты. Изменение параметров, характеризующих функционально-метаболическую активность системы цитохрома P-450, при введении разных доз энтеросорбента «Зеротокс» имело статистически не достоверное увеличение в опытных группах животных при дозах 50 и 100 мг/кг и снижение при дозе энтеросорбента 500 мг/кг.

Заключение. Энтеросорбент в изученных дозах при внутрижелудочном ежедневном введении крысам не влияет на активность ферментов монооксигеназной системы и показатели крови, характеризующие процессы цитолиза и холестаза.

Ключевые слова: эндогенная интоксикация, энтеросорбция, лигниновый сорбент, хроническая токсичность, цитохром P-450, цитохром b₅, цитолиз, холестаза.

*E-mail: khamida_yu@yahoo.com

ВВЕДЕНИЕ

Развитие многих заболеваний сопровождается эндогенной интоксикацией – эндотоксикозом. Одно из условий выздоровления – своевременное выведение из организма накопившихся вредных соединений, для чего применяются различные эфферентные методы лечения, основанные на выведении из организма избытка эндогенных и чужеродных веществ. Энтеросорбция является составной частью эфферентной терапии, конечная цель которой – прекращение действия токсинов различного происхождения и их элиминация из организма. Для проведения энтеросорбции используются высокоэффективные сорбенты медицинского назначения [1–3].

Нами разработана технология получения энтеросорбента «Зеротокс» из гидролизного лигнина шелухи семян хлопчатника. Проведенные доклинические фармакологические исследования острой токсичности и специфической активности энтеросорбента показали, что препарат по токсичности относится к 5-му классу веществ, т.е. практически

не токсичен, имеет противодиарейную активность на модели диареи, вызванной диетой с содержанием лактозы, устраняет синдром «водянистого стула» [4].

Цель настоящей работы – изучение функционально-метаболической активности печени при хроническом введении энтеросорбента «Зеротокс».

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследованию подвергался порошок нового энтеросорбента «Зеротокс», полученного из гидролизного лигнина шелухи семян хлопчатника путем щелочного облагораживания.

Влияние энтеросорбента на показатели функционально-метаболической активности печени изучали на белых беспородных крысах обоего пола с начальной массой 140–160 г. Животные были разделены на 4 группы по 10 животных в каждой (5 самок и 5 самцов).

Водную суспензию энтеросорбента вводили крысам внутрижелудочно ежедневно с помощью катетера в течение 30 дней в дозах 50,0, 100 и 500 мг/кг. Контрольным животным вводили в биоэквивалент-

ном объеме дистиллированную воду. Все подопытные и контрольные животные содержались в одинаковых условиях и на общем рационе питания со свободным доступом к воде и пище. Содержание и кормление экспериментальных животных соответствовали общепринятым нормативам.

Содержание микросомального цитохрома P-450 и цитохрома b_5 определяли по методу T. Omura, R. Sato и идентифицировали на двухлучевом спектрофотометре типа Specord UV-VIS-40 (Германия). Для расчета цитохрома P-450 использовали коэффициент экстинкции $K=91 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1}\text{-cm}^{-1}$, а для цитохрома b_5 — $K=163 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1}\text{-cm}^{-1}$. Количественное содержание цитохромов P-450 и b_5 выражали в нмоль/мг белка микросом, который определяли по О.Н. Lowry и соавт. [5, 6].

Определение микросомальных ферментов: активность NADPH-цитохром с-редуктазы — на СФ-46 по методу С.Н. Williams. Для расчета использовали коэффициент молярной экстинкции $K=22,2 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1}\text{-cm}^{-1}$, скорость реакции выражали в нмоль/мин/мг белка микросом [7].

Анилингидроксилазную активность (АГ) определяли по методу А.И. Арчакова и соавт., используя при расчете коэффициент молярной экстинкции $K=10 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1}\text{-cm}^{-1}$. Скорость реакции выражали в нмоль образовавшегося р-нитрофенола в минуту на 1 мг белка микросом (нмоль/мин/мг белка) [8].

Аминопириндеметилазную (NA) активность определяли по методу A. Bast, J. Nordhook. Концентрацию образовавшегося продукта определяли при длине волны 412 нм на СФ-46 и выражали в нмоль/мин/мг белка микросом (нмоль/мин/мг белка). Для расчета активности NA использовали коэффициент молярной экстинкции $K=6,9 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1}\text{-cm}^{-1}$ [9].

Активность глюкозо-6-фосфатазы (Г-6-фаза) вычисляли по методу N.S. Chosh, N.C. Kar. Концентрацию неорганического фосфора определяли спектрофотометрически (СФ-46) при длине волны 750 нм с молибдатом аммония в 8н H_2SO_4 . Активность Г-6-фазы выражали в нмоль неорганического фосфора мин/мг белка микросом (нмоль/мин/мг белка). Для расчета активности Г-6-фазы использовали коэффициент молярной экстинкции $K=3,3 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1}\text{-cm}^{-1}$ [10].

В качестве показателей цитолитического синдрома (АСТ и АЛТ), холестаза и гепатотоксического эффекта при хроническом введении энтеросорбента «Зеротокс» на организм экспериментальных животных изучена активность щелочной фосфатазы, АСТ и АЛТ, содержание общего и прямого билирубина в сыворотке крови крыс, которые определяли с помощью тест-наборов CYPRESS DIAGNOSTICS.

Статистические расчеты проводились в программной среде Microsoft Windows с использо-

ванием пакетов программ Microsoft Excel-2003 и Statistica version 6.0, 2003. Достоверность различий между независимыми выборками определялась по методам Манна–Уитни и Стьюдента. Критерий достоверности выверяли по таблице Стьюдента. Достоверность различий между средними принимали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенных исследований установлено, что различия в приросте массы тела крыс в группах животных, получающих препарат, и контрольных животных не наблюдалось. Ежедневное 30-суточное внутрижелудочное введение животным энтеросорбента «Зеротокс» в дозе 50 мг/кг способствовало повышению содержания цитохромов P-450 и b_5 на 4,6 и 1,7%, активности NADPH цитохром с-редуктазы — на 1,3%, АГ — на 2,5%, NA — на 6,7%, Г-6-фазы — на 9,0%, микросомального белка — на 1,8% (табл. 1). Введение энтеросорбента «Зеротокс» в дозе 100 мг/кг приводило к еще большему увеличению функционально-метаболической активности системы цитохрома P-450 печени. Так, по сравнению с данными интактной группы животных содержание цитохромов P-450 и b_5 было выше на 7,0 и 8,3%, возросла активность NADPH цитохром с-редуктазы — на 2,9 %, АГ и NA — на 5,0 и 13,3% соответственно, Г-6-фаза — на 10,7%, микросомальный белок — на 0,3%. При введении энтеросорбента «Зеротокс» в дозе 500 мг/кг активность системы цитохрома P-450 печени несколько снижалась по сравнению с показателями в предыдущих группах. Содержание цитохромов P-450 и b_5 было ниже на 5,8 и 3,3%, активность NADPH цитохром с-редуктазы — на 3,3%, АГ и NA — на 3,7 и 6,7%, активность фермента гликолиза микросом — на 4,7% по сравнению с данными интактных животных.

Изменение параметров, характеризующих функционально-метаболическую активность системы цитохрома P-450, при введении разных доз энтеросорбента «Зеротокс» имело статистически не достоверное увеличение в опытных группах животных при дозах 50 и 100 мг/кг и снижение при дозе энтеросорбента 500 мг/кг.

Таким образом, полученные данные указывают, что при 30-суточном внутрижелудочном введении энтеросорбента независимо от дозы (50, 100 и 500 мг/кг) половозрелым крысам препарат не влияет на функционально-метаболическую активность системы цитохрома P-450. При введении опытным группам животных энтеросорбента «Зеротокс» в дозах 50, 100 и 500 мг/кг активность ферментов цитолиза АСТ и АЛТ возрастала на фоне некоторого увеличения показателей холестаза: активность ЩФ, содержания общего и конъюгированной формы (прямого) билирубина (табл. 2).

Таблица 1

ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ NADPH-ЗАВИСИМОЙ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P-450 ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ 30-ДНЕВНОГО ВВЕДЕНИЯ ЭНТЕРОСОРБЕНТА «ЗЕРОТОКС» ($M \pm m$; $n=10$)

Показатель	Статистический показатель	1-я группа, 50 мг/кг	2-я группа, 100 мг/кг	3-я группа, 500 мг/кг	4-я группа, контроль
Цитохром P-450, нмоль/мг	$M \pm m$ % изменения p	0,90±0,03 +4,6 >0,5	0,92±0,03 +7,0 >0,25	0,81±0,02 -5,8 >0,25	0,81±0,02
Цитохром b ₅ , нмоль/мг	$M \pm m$ % изменения p	0,61±0,02 +1,72 >0,5	0,65±0,02 +8,3 >0,1	0,58±0,02 -3,3 >0,5	0,60±0,01
NADPH цит. с-редуктазы, нмоль/мин/мг	$M \pm m$ % изменения p	84,6±1,95 +1,3 >0,5	85,9±2,30 +2,9 >0,25	80,7±2,83 -3,3 >0,25	83,5±1,98
АГ, нмоль/мин/мг	$M \pm m$ % изменения p	0,82±0,04 +2,5 >0,5	0,84±0,02 +5,0 >0,5	0,77±0,02 -3,7 >0,5	0,80±0,03
НА, нмоль/мин/мг	$M \pm m$ % изменения p	1,60±0,04 +6,7 >0,1	1,70±0,05 +13,3 >0,1	1,40±0,03 -6,7 >0,1	1,50±0,03
Г-6-фаза, нмоль/мин/мг	$M \pm m$ % изменения p	60,3±2,20 +9,0 >0,1	61,2±3,31 +10,7 >0,1	52,7±2,70 -4,7 >0,5	55,3±1,80
Белок м/с, мг/мл	$M \pm m$ % изменения p	34,41±1,55 +1,8 >0,5	33,9±1,22 +1,0 >0,5	34,10±1,34 +0,8 >0,5	33,8±1,72

Согласно полученным данным (см. табл. 2), в опытной группе животных (энтеросорбент в дозе 50 мг/кг) активность АСТ в сыворотке крови повысилась на 3,6%, АЛТ – на 3,8%, ЩФ – на 1,3%, билирубин общий – на 0,9%, прямой билирубин – на 1,7% по сравнению с данными интактной группы животных. При введении энтеросорбента в дозах 100 и 500 мг/кг активность АСТ превышала значения у интактных животных – на 3,6 и 10,7%, АЛТ – на 7,7 и 15,4%,

ЩФ – на 0,3 и 1,3%, билирубин общий – на 1,6 и 1,3%, прямой билирубин – на 0,8 и 5,0%.

Таким образом, изучаемые параметры крови, характеризующие процессы цитолиза и холестаза в группах с внутрижелудочным введением энтеросорбента «Зеротокс», статистически не достоверны. Вместе с тем обращает на себя внимание факт, что в максимально высокой дозе 500 мг/кг энтеросорбент повышает показатели АСТ и АЛТ, хотя и

Таблица 2

ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОЛИЗА И ХОЛЕСТАЗА В КРОВИ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ 30-СУТОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ ЖИВОТНЫМ ЭНТЕРОСОРБЕНТА «ЗЕРОТОКС» ($M \pm m$; $n=10$)

Показатель	Статистический показатель	1-я группа, 50 мг/кг	2-я группа, 100 мг/кг	3-я группа, 500 мг/кг	4-я группа, контроль
АСТ, мкмоль/л	$M \pm m$ % изменения p	0,29±0,02 +3,6 >0,5	0,29±0,02 +3,6 >0,5	0,31±0,02 +10,7 >0,25	0,28±0,03
АЛТ, мкмоль/л	$M \pm m$ % изменения p	0,27±0,02 +3,8 >0,5	0,28±0,01 +7,7 >0,25	0,30±0,02 +15,4 >0,25	0,26±0,02
ЩФ, мкмоль/л	$M \pm m$ % изменения p	3,80±0,15 +1,3 >0,5	3,76±0,17 +0,3 >0,5	3,80±0,20 +1,3 >0,5	3,75±0,20
Билирубин общий, мкмоль/л	$M \pm m$ % изменения p	3,20±0,10 +0,9 >0,5	3,22±0,14 +1,6 >0,5	3,21±0,14 +1,3 >0,5	3,70±0,16
Билирубин прямой, мкмоль/л	$M \pm m$ % изменения p	1,21±0,12 +1,7 >0,5	1,20±0,12 +0,8 >0,5	1,25±0,10 +5,0 >0,5	1,19±0,10

недостаточно по сравнению с интактными данными на границе высоких значений физиологической нормы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что энтеросорбент «Зеротокс» в дозах 50, 100 и 500 мг/кг при 30-суточном внутрижелудочном ежедневном введении половозрелым крысам не влияет на активность ферментов монооксигеназной системы, не оказывает статистически значимого влияния на показатели крови, характеризующие процессы цитолиза (АСТ и АЛТ) и холестаза (ЩФ, билирубин общий и прямой).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Леванова В.П., Королькова С.В., Артемьева И.С., Исаева Л.В., Мартынов А.К. Применение энтеросорбента «Лигносорб» в комплексной терапии различных патологических состояний. Эфферентная терапия, 2006; 12(3): 12–8. (Levanova V.P., Korolkova S.V., Artemieva I.S., Isaeva L.V., Martynov A.K. Appliance of Enterosorbent «Lignosorb» in Complex Therapy of Various Pathological Conditions. Efferent Therapy, 2006; 12(3): 12–8) (in Russian).
2. Леванова В.П., Исаева Л.В., Артемьева И.С. Природные лигнинные сорбенты. Эфферентная терапия, 1995; 1(1): 54–8. (Levanova V.P., Isaeva L.V., Artemieva I.S. Natural Lignin Enterosorbents. Efferent Therapy, 1995; 1(1): 54–8) (in Russian).
3. Calvo-Flores F.G., Dobado J.A. Lignin as renewable raw material. ChemSusChem., 2010; (3):1227–35.
4. Ismailova M.G., Yunuskhodzhaeva K.G., Ismailova P.L., Boyko I.B. Physical-chemical and pharmacological research on new lignin enterosorbent. Pharmacy and pharmacology, 2014; (11): 642–52 (in Russian).
5. Omura T., Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. Solubilization purification and properties. Biol. Chem., 1964; 239: 2378–85.
6. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Biol. Chem., 1951; 193 (1): 265–75.
7. Williams C.H., Kamin H. Microsomal triphosphopyridine nucleotide – cetochrome c-reductases of liver. Biol. Chem., 1961; 237 (2): 587–95.
8. Арчаков А.И., Лисица А.В., Петушкова Н.А., Карузина И.И. Цитохромы P-450, лекарственная болезнь и персонализированная медицина. Клин. мед., 2008; (2): 4–8. (Archakov A.I., Lisica A.V., Petushkova N.A., Karuzina I.I. Cytochromes P-450, Drug Disease and Personalized Medicine. Clinical Med. 2008;(2): 4–8) (in Russian).
9. Bast A., Nordhook J. Product inhibition during the hepatic N-demethylation of aminopyrine in the rat. Biochem. Pharmacol., 1981; 30 (1): 19–24.
10. Chosh N.C., Kar N.C., Chayeriyee I. Special difference in regard to the distribution of glucose-6-phosphatase. Nature., 1983; (4): 596–7.

Поступила 25 ноября 2015 г.

THE ENTEROSORBENT ZEROTOX AND THE INDICATORS OF LIVER FUNCTIONAL AND METABOLIC ACTIVITIES

Kh.G. Yunuskhodzhaeva¹, M.G. Ismailova¹, PhD; N.L. Vypova², PhD

¹Uzbek Chemopharmaceutical Research Institute; 40, Durmon iuli St., Tashkent 100125, Uzbekistan

²Institute of Bioorganic Chemistry; 83, Mirzo Ulugbek Prospect, Tashkent 100125, Uzbekistan

SUMMARY

Background. Enterosorption is part of efferent therapy, the ultimate goal of which is to stop the effect of various toxins and to eliminate them from the body.

Objective: to investigation liver functional and metabolic activities during chronic administration of the enterosorbent Zerotox.

Material and methods. The powder of a novel enterosorbent obtained from hydrolytic lignin of cottonseed hulls via alkaline refining was examined. The effect of the enterosorbent on the indicators of liver functional and metabolic activities was studied in outbred albino rats (140-160 g) of both sexes. The levels of cytochrome P-450 and cytochrome b5, total and conjugated bilirubin and the activity of microsomal enzymes, alkaline phosphatase, AST, and ALT were investigated in the animals of a control group and in those receiving different doses of the enterosorbent.

Results. Changing the indicators of functional and metabolic activities of the cytochrome P-450 system via administration of different doses of the enterosorbent Zerotox caused a statistically insignificant increase in the activities in the experimental groups of animals receiving it at doses of 50 and 100 mg/kg and a reduction in those receiving the enterosorbent at a dose of 500 mg/kg.

Conclusion. The enterosorbent Zerotox at the examined doses during daily intragastric administration to rats does not affect the activity of the monooxygenase system and the blood indicators characterizing cytolysis and cholestasis.

Key words: endogenous intoxication, enterosorption, lignin sorbent, chronic toxicity, cytochrome p-450, cytochrome b5, cytolysis, cholestasis.