

Антиоксидантные эффекты тиофана при экспериментальном поражении печени тетрахлорметаном

Смолякова В.И.¹, Плотников М.Б.¹, Чернышёва Г.А.¹, Иванов И.С.¹,
Просенко А.Е.², Кандалинцева Н.В.²

Antioxidant activity of thiophane in rats with of experimental tetrachlorolmethane-induced hepatitis

Smoliyakova V.I., Plotnikov M.B., Chernyshyova G.A., Ivanov I.S.,
Prosenko A.Ye., Kandalintseva N.V.

¹ НИИ фармакологии СО РАМН, г. Томск

² Новосибирский государственный педагогический университет, г. Новосибирск

© Смолякова В.И., Плотников М.Б., Чернышёва Г.А. и др.

Представлено исследование антиоксидантной активности пространственно затрудненного фенола — тиофана. У крыс с токсическим гепатитом наблюдалось повышение содержания диеновых и триеновых конъюгатов, а также оснований Шиффа в ткани печени. Курсовое внутривидное введение тиофана значительно снижало концентрацию продуктов липидной перекисидации (диеновых и триеновых конъюгатов, оснований Шиффа) и сохраняло уровень α -токоферола в ткани печени.

Ключевые слова: тиофан, перекисное окисление липидов, гепатопротектор, токсический гепатит.

The purpose of this investigation is to study antioxidant activity of sterically hindered phenol — thiophane in rats with toxic hepatitis. Increase of diene and triene conjugates as well as fluorescent products in hepar tissue was revealed. Course intragastric administration of thiophane decreased significantly the content of lipid peroxidation products (diene and triene conjugates, fluorescent products) and held over the α -tocopherol content in hepar tissue.

Key words: thiophane, lipid peroxidation, hepatoprotector, toxic hepatitis.

УДК 616.36-001.37-021.6:[615.3:547.412.133]-085:615.014.425

Введение

Неалкогольный стеатогепатит — гетерогенная группа патологических изменений печени, характеризующихся воспалительной инфильтрацией на фоне жировой дистрофии гепатоцитов [17]. В настоящее время считается, что неалкогольный стеатогепатит формируется под действием двух процессов. Первый — развитие стеатоза, в результате чего печень становится чувствительной к воздействию второго процесса — оксидативного стресса, который возникает при участии активных форм кислорода, образующихся в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме с помощью семейства цитохромов Р-450, что в конечном итоге приводит к гибели гепатоцитов и сопутствующему воспалению и фиброзу [15, 17].

Сходные изменения в печени наблюдаются при воздействии ряда лекарственных средств и токсических соединений [18—20]. Так, введение CCl_4 вызывает острое токсическое поражение печени путем активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и угнетение цитохрома Р450 [9, 12]. В связи с этим в последние годы возрастает интерес к перспективным антиоксидантам, способным предотвращать последствия токсических поражений печени [6, 12, 16].

Тиофан-бис [3(3,5-ди-трет-4-оксифенил) пропил] сульфид — новый препарат из класса пространственно затрудненных фенольных соединений. Тиофан обладает низкой токсичностью и высокой антиоксидантной активностью [1, 3, 13].

Цель исследования — изучение способности тиофана влиять на липидную пероксидацию при экспериментальном токсическом поражении печени, вызванном тетрахлолорметаном CCl_4 .

Материал и методы

Исследования проведены на 30 крысах-самцах линии Вистар массой тела 280—340 г, которые содержались на стандартной диете. Крысы были разделены на три группы, в каждой по 10 животных: интактную, контрольную и опытную. У животных опытной и контрольной групп моделировали острый токсический гепатит подкожным введением 0,4 мл 50%-го масляного раствора CCl_4 на 100 г массы тела в течение 4 сут [11]. Крысам контрольной и интактной групп вводили 1 мл 1%-й крахмальной слизи ежедневно внутривентриально в течение 7 сут начиная через 1 сут после последней инъекции CCl_4 . Крысам опытной группы внутривентриально вводили тиофан (100 мг/кг массы тела) в виде суспензии в 1%-й крахмальной слизи по той же схеме.

На 11-е сут эксперимента животных под эфирным наркозом декапитировали и извлекали печень. После добавления ЭДТА из расчета 1 мг/г ткани навеску из ткани печени гомогенизировали. Содержание продуктов ПОЛ — диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов, оснований Шиффа оценивали в липидных экстрактах, полученных из гомогената тканей печени [8]. Определение диеновых и триеновых конъюгатов осуществляли на спектрофотометре Hitachi 557 (Япония) [21]. Индекс окисления липидов оценивали по соотношению показателей оптической плотности диеновых конъюгатов и неокисленных липидов [2]. Основания Шиффа и α -токоферол определяли флюоресцентным методом [22] на спектрофлюориметре Hitachi модель 850 (Япония). Значения показателей диеновых, триеновых конъюгатов и оснований Шиффа рассчитывали в относительных единицах на 1 мг липидов. Концентрацию α -токоферола рассчитывали в микрограммах в 1 мг липидов по калибровочному графику,

используя метод регрессионного анализа. Количественную оценку содержания липидов в экстрактах проводили гравиметрически.

Все процедуры на крысах проводились в соответствии с положениями Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным.

Результаты обрабатывались с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0. Данные представлены как среднее значение X и стандартная ошибка среднего значения m . Достоверность различий ($p < 0,05$) между сериями определяли с помощью t -критерия Стьюдента.

Результаты

У крыс контрольной группы к 11-м сут эксперимента наблюдалась активация процессов ПОЛ в ткани печени. Значимо возрастало содержание как первичных, так и вторичных продуктов ПОЛ по сравнению с интактными животными: содержание диеновых и триеновых конъюгатов увеличилось в 2,4 и 2,1 раза соответственно, оснований Шиффа — на 20%. Индекс окисленности был повышен в 2,2 раза по сравнению с интактными животными, что свидетельствует об уменьшении доли неокисленных липидов. Кроме того, наблюдалось значимое (в 2,8 раза) снижение концентрации α -токоферола (таблица).

Таким образом, у крыс контрольной группы острый токсический гепатит приводил к активации процессов ПОЛ с одновременным снижением содержания α -токоферола в печени.

У животных, получавших тиофан, происходило снижение концентрации как первичных, так и вторичных продуктов ПОЛ по сравнению с контрольными показателями. Содержание диеновых и триеновых конъюгатов уменьшилось на 18 и 15% соответственно, индекса окисленности — на 44%, оснований Шиффа — на 8% (таблица). Концентрация α -токоферола в печени крыс опытной группы была в 2 раза выше, чем у контрольных животных.

Влияние тиофана (100 мг/кг массы тела) на содержание диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов, индекса окисленности, оснований Шиффа и α -токоферола ($X \pm m$)

Группа	Диеновые конъюгаты, OD ₂₃₂ /мг липидов	Триеновые конъюгаты	Индекс окисленности, отн. ед.	Основания Шиффа, отн. ед./мг липидов	α -Токоферол, мкг/мг липидов
Интактная	1,0612 ± 0,0560	0,8701 ± 0,04855	0,5337 ± 0,02264	1,6102 ± 0,0884	17,31 ± 1,13
Контрольная	2,5834 ± 0,0774*	1,1840 ± 0,0241*	1,1720 ± 0,0321*	1,9263 ± 0,0409*	6,15 ± 1,60*
Опытная	2,1248 ± 0,0652* ⁺	1,0013 ± 0,0324* ⁺	0,9710 ± 0,0285* ⁺	1,7814 ± 0,0474 ⁺	13,03 ± 2,13 ⁺

* $p < 0,05$ при сравнении со значениями у интактных животных.

+ $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Обсуждение

Полученные данные о влиянии CCl_4 на показатели ПОЛ в ткани печени согласуются с результатами других авторов [7, 10, 16]. Токсическое действие CCl_4 на печень связано в первую очередь с прооксидантным действием образующихся в процессе его метаболизма свободных радикалов — трихлорметильного CCl_3 и высорореактивного трихлорметилпероксильного CCl_3OO . Они способны связываться с клеточными компонентами (белками, липидами, нуклеиновыми кислотами), инициировать ПОЛ [9].

У крыс к 11-м сут после подкожного введения CCl_4 развивается острый токсический гепатит [7]. Токсическое поражение печени животных проявляется как в нарушении функций печени, так и в накоплении продуктов ПОЛ в ткани органа. В литературе имеются данные о том, что содержание α -токоферола и продуктов ПОЛ в печени крыс находится в обратной зависимости, а индукция процессов ПОЛ приводит к резкому снижению α -токоферола вплоть до полного его исчезновения [2].

Тиофан является полифункциональным синтетическим антиоксидантом, сочетающим достоинства фенольных и серосодержащих ингибиторов ПОЛ. Особенностью тиофана выступает то, что он ингибирует органические радикалы жирных кислот и эффективно разлагает гидропероксиды. На модели инициированного окисления метилолеата показано, что тиофан проявляет более выраженный антиоксидантный эффект, чем α -токоферол и ионол. Тиофан как серосодержащий пространственно затрудненный фенол ингибирует перекисное окисление липидов за счет взаимодействия с пероксильными радикалами и разрушения пероксидов [4, 14]. Применение тиофана у животных с острым токсическим гепатитом оказывает выраженный гепатопротекторный эффект. Прием тиофана приводил к увеличению активности в микросомах печени цитохромов P450, в частности цитохрома 1A1, участвующего в образовании 7-гидроксипрегненалона, необходимого для иммунной защиты организма [5].

Курсовое внутрижелудочное введение тиофана крысам с острым токсическим гепатитом ограничивало активацию процессов ПОЛ в ткани печени, умень-

шая содержание первичных и вторичных продуктов перекисидации. Кроме того, введение тиофана способствовало сохранению α -токоферола в ткани пораженного тетрахлорметаном органа. Проявляемое гепато-защитное свойство тиофана, вероятно, обусловлено его антиоксидантным свойством и способностью увеличивать активность цитохрома P450 в микросомах печени [5].

Заключение

Отчетливый антиоксидантный эффект тиофана при остром токсическом гепатите у крыс, вызванном тетрахлорметаном, проявляется в снижении концентрации первичных и вторичных продуктов липидной перекисидации. Результаты проведенного исследования обосновывают целесообразность применения тиофана в качестве гепатопротектора при стеатогепатитах.

Литература

1. Бахтина И.А., Антипѣва Е.В., Просенко А.Е. и др. Влияние антиоксиданта тиофана на параметры окислительного стресса при ишемической болезни сердца // Бюл. СО РАМН. 2000. № 3—4. С. 24—29.
2. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. М.: Медицина, 1989. 367 с.
3. Воевода Т.В., Толстикова Т.Г., Сорокина И.В. и др. Изучение токсического действия нового фенольного антиоксиданта СО-3 в субхроническом эксперименте // Эксперим. и клинич. фармакол. 2000. Т. 63, № 4. С. 57—60.
4. Гуреева Н.В., Сторожок Н.М. Кинетические особенности окисления липидов в присутствии серосодержащих фенолов // Биоантиоксидант: тез. докл. VII Междунар. конф. М.: РУДН, 2006. С. 102—103.
5. Душкин М.И., Просенко А.Е., Канадалинцева Н.В. и др. Влияние антиоксиданта тиофана на индукцию цитохрома P-450 печени крыс // Науч. вестн. Тюмен. мед. академии. 2003. Т. 23, № 1. С. 11—13.
6. Карачурина Л.Т., Сапожникова Т.А., Зарудный Ф.С. и др. Исследование некоторых фармакологических свойств бисгемифталата бетулина // Эксперим. и клинич. фармакол. 2003. Т. 66, № 4. С. 56—59.
7. Коллаков М.А., Грек О.Р., Башкирова Ю.В. Гепатопротекторные свойства водного экстракта пятилистника кустарникового при хроническом токсическом гепатите // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2001. Т. 131, № 5. С. 554—556.
8. Косухин А.Б., Ахметова Б.С. Экстракция липидов смесью гептан — изопропанол для определения диеновых конъюгатов // Лаб. дело. 1987. № 5. С.335—337.
9. Кравченко Л.В., Трусов Н.В., Ускова М.А. и др. Характеристика окислительного стресса, индуцированного четыреххлористым углеродом // 3-й съезд токсикологов

- России: тез. докл. М., 2008. С. 154—155.
10. *Оковитый С.В., Безбородкина Н.Н., Зарубина И.В. и др.* Исследование гепатопротекторного эффекта бемитила на модели длительного токсического поражения печени // Эксперим. и клинич. фармакология. 2006. Т. 69, № 2. С. 52—54.
 11. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева, 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. 832 с.*
 12. *Саратиков А.С., Венгеровский А.И.* Влияние гепатопротекторов, содержащих фосфолипиды, на зависимость от циохрома Р-450 антиоксидантную функцию печени при экспериментальном токсическом гепатите // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1999. Т. 127, № 4. С. 392—394.
 13. *Сорокина И.В.* Гигиеническое обоснование применения токсикокинетических критериев для нормирования малотоксичных пространственно-затрудненных бисфенольных соединений: автореф. дис.... канд. биол. наук. Новосибирск, 2000. 21 с.
 14. *Сторожок Н.М., Крысин А.П., Гусева Н.В.* Антиоксидантное действие новых аналогов пробуккола и их композиций с α -токоферолом // Вопр. мед. химии. 2001. Т. 47, № 5. С. 517—525.
 15. *Хазанов А.И.* Возможности прогрессирования алкогольного и неалкогольного стеатогепатита в цирроз печени // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2005. № 2. С. 26—31.
 16. *Шилова И.В., Жаворонкова Т.В., Суслов Н.И. и др.* Гепато-защитные свойства фракций экстракта лабазника вязолистного при экспериментальном токсическом гепатите // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2008. Т. 146, № 47. С. 54—57.
 17. *Широкова Е.Н., Ешану В.С., Ивашкин В.Т.* Хофитол в терапии неалкогольного стеатогепатита // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2004. № 2. С. 74—76.
 18. *Jaeschke H., Gores G.J., Cederbaum A.I. et al.* Mechanisms of hepatotoxicity // Toxicological sciences. 2002. V. 65. P. 166—176.
 19. *Liss G., Lewis J.H.* Drug-induced liver injury: what was new in 2008? // Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2009. V. 5, № 8. P. 843—860.
 20. *Morita M., Akai S., Hosomi H. et al.* Drug-induced hepatotoxicity test using gamma-glutamylcysteine synthetase knockdown rat // Toxicol. Lett. 2009. V. 189, № 2. P. 159—65.
 21. *Plazor Z., Kussela L.* In vivo lipoperoxidation in der lobe nach partieller hepatektomie // Acta biol. et med. germ. 1968. V. 21, № 1. P. 121—124.
 22. *Tappel A.L.* Protection against free radical lipids peroxidation reaction // Pharm. Intervent. Aging Process. 1978. V. 97. P. 111—113.

Поступила в редакцию 14.12.2009 г.

Утверждена к печати 17.03.2010 г.

Сведения об авторах

В.И. Смольякова — канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

М.Б. Плотников — д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией фармакологии кровообращения НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

Г.А. Чернышёва — д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

И.С. Иванов — канд. биол. наук, младший научный сотрудник лаборатории фармакологии кровообращения НИИ фармакологии СО РАМН.

А.Е. Просенко — канд. хим. наук, профессор, директор НИИ химии антиоксидантов НГПУ (г. Новосибирск).

Н.В. Кандалицева — канд. хим. наук, доцент, зав. лабораторией водорастворимых антиоксидантов НИИ химии антиоксидантов НГПУ (г. Новосибирск).

Для корреспонденции

Плотников Марк Борисович, тел. 8 (382-2) 41-83-73; e-mail: mbp2001@mail.ru