



Влияние бемитила, этомерзола и яктона на процессы регенерации печени после частичной гепатэктомии

В.В. Гайворонская¹, С.В. Оковитый², И.Ю. Колышев³, Е.Б. Шустов²,
В.Ц. Болотова²

¹ – Кафедра фармакологии Военно-медицинской академии, Санкт-Петербург

² – Кафедра фармакологии Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии, Санкт-Петербург

³ – Федеральный медицинский центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Контактная информация: Болотова Вера Цезаревна, vera.bolotova@pharminnotech.com

В эксперименте показана способность синтетических адаптогенов 2-этилтиобензимидазола (бемитила) и 5-этоксид-2-этилтиобензимидазола (этомерзола), а также сукцината моно-(2-диметиламино)-этилового эфира янтарной кислоты (яктона) ускорять процессы регенерации печени после частичной гепатэктомии. Под действием изучаемых препаратов выявлено достоверное увеличение прироста массы печени, увеличение содержания в ней суммарных нуклеиновых кислот и гликогена, улучшение функционального состояния, которое проявляется снижением уровня билирубина в крови и уменьшением длительности гексеналового сна, отражающего активность микросомального окисления. Установлено позитивное влияние бемитила, этомерзола и яктона на морфологическую картину печени и процессы внутриклеточной регенерации. Репаративная активность всех изучаемых средств превосходит эффект комбинации известных стимуляторов процессов регенерации – производных пуриновых и пиримидиновых оснований рибоксина и оротата калия.

Ключевые слова: бемитил, этомерзол, яктон, регенерация печени.

Введение

Изучение процессов регенерации печени является важным направлением современной биологии и медицины, что связано не только с большой частотой травматических, токсических и инфекционных поражений органа, но и с тем, что печень является одним из немногих органов, обладающих уникальной способностью к репаративной регенерации. Среди лекарственных средств с гепатотропной активностью наиболее широкое применение нашли как препараты рас-

тительного, так и синтетического происхождения. Эти соединения, как правило, обладают одновременно несколькими видами фармакологической активности (репаративной, антиоксидантной, антигипоксической, мембраностабилизирующей), однако часто их эффективность при тех или иных заболеваниях печени является недостаточной. Цель настоящего исследования состояла в изучении в качестве активаторов репаративной регенерации препаратов нового класса синтетических адаптогенов – бемитила

и этомерзола (производных 2-меркаптобензимидазола), стимулирующих синтез белка и нуклеиновых кислот [2, 5], а также яктона – производного янтарной кислоты, оптимизирующего энергетический обмен [7].

Материалы и методы

Опыты проведены на 960 беспородных белых крысах-самцах массой 130–200 г. Частичную гепатэктомию производили под эфирным наркозом по методу G.M. Haggins и R.M. Anderson [9]. Опытным группам животных внутрибрюшинно вводили один из препаратов: бемитил/этомерзол в дозе 12,5 мг/кг или яктон в дозе 25 мг/кг. Оптимальные дозы препаратов были установлены в предварительной серии экспериментов. Контрольная группа получала инъекции физиологического раствора. Препараты вводили на следующий день после операции, а затем ежедневно в течение 7 дней. В качестве референсного препарата использовали комбинацию двух нестероидных анаболиков – рибоксина и оротата калия (50 мг/кг каждого препарата), для которых доказана способность ускорять процессы регенерации в поврежденной печени. Для количественной оценки процессов регенерации печени вычислялся коэффициент полноты регенерации по следующей формуле:

$$K = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100\%,$$

где P1 – масса печени через 7 дней после частичной гепатэктомии, P2 – масса оставшейся печени после частичной гепатэктомии, P3 – масса удаленной печени.

Исходная масса печени вычислялась по массе тела животного, поскольку эти

показатели линейно связаны [8]. Функциональное состояние печени оценивалось по продолжительности гексеналового сна, отражающего состояние микросомальной окислительной системы. Гексенал вводили внутрибрюшинно в дозе 80 мг/кг [10]. Кроме того, в крови определяли активность аланин- (АлАТ) и аспартатаминотрансфераз (АсАТ), уровень общего билирубина, мочевины, общего белка и глюкозы. Все биохимические исследования выполнены на автоматическом биохимическом анализаторе «SMA-12/16» (Technicon instruments corporation, США).

В ткани печени с помощью гистохимических методик определяли содержание суммарных нуклеиновых кислот и гликогена: срезы окрашивали гемоксилином и эозином по Ван-Гизону, Эйнарссону, Малори [8] и ШИК-реакцией [3]. Ультраструктурные изменения в клетках печени изучали на электронном микроскопе «JEM-100 CX» (JEOL, Япония). Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с применением пакета прикладных программ «Statgraphics» на персональном компьютере IBM PS/AT.

Результаты и их обсуждение

Результаты изучения эффектов препаратов на модели частичной гепатэктомии печени представлены в табл. 1. Полученные данные свидетельствуют о том, что наиболее эффективным средством активации репаративных процессов в печени является бемитил. Он достоверно (на 44%) увеличивал коэффициент полноты регенерации органа, на 21% снижал длительность гексеналового сна, на 25% уменьшал уровень билирубина в крови, значительно повышал содержание суммарных нуклеиновых кислот (на 46%) и гликогена (на 60%) в ткани печени. Вто-

рым по эффективности оказался этомерзол, увеличивший коэффициент полноты регенерации на 28%, снизивший длительность гексеналового сна на 26%, уровень АсАТ – на 23%, а билирубина – на 50%. В ткани печени он на 43,9% повышал содержание гликогена и на 31% – суммарных нуклеиновых кислот. Яктон также ускорял процессы регенерации печени, но в меньшей степени по сравнению с бемитилом и этомерзолом. Он увеличивал коэффициент полноты регенерации на 22%, снижал продолжительность гексе-

налового сна на 37%, активность АсАТ – на 13%, уровень билирубина – на 25% и на 24% повышал содержание гликогена в печени. Все изучаемые препараты превосходили по своему действию комбинацию рибоксина с оротатом калия.

Гистологическое исследование под световым микроскопом показало полноту регенерации печени после частичной гепатэктомии на фоне действия изучаемых препаратов, отсутствие каких-либо нежелательных феноменов. При введении бемитила, этомерзола, як-

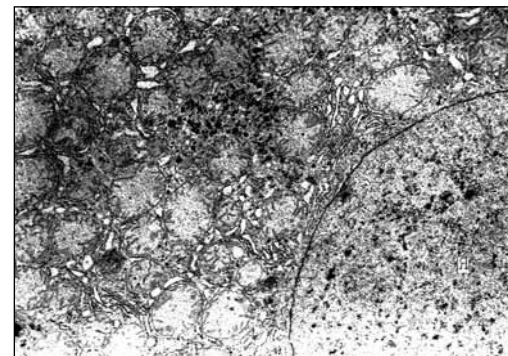


Рис. 1. Ультраструктурные изменения гепатоцитов после частичной гепатэктомии. Увеличение количества митохондрий, признаки гиперплазии гранулярного эндоплазматического ретикулума. Увеличение $\times 15000$.

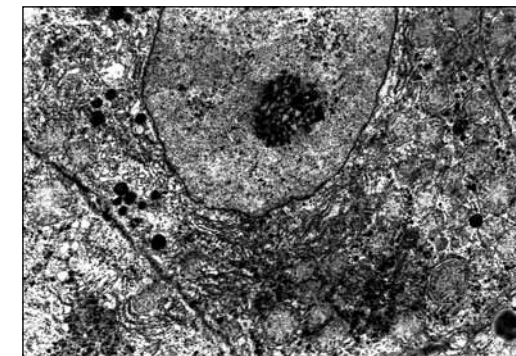


Рис. 2. Ультраструктурные изменения гепатоцитов после частичной гепатэктомии при действии бемитила. Увеличение числа ядрышек, появление точечного гетерохроматина. Увеличение $\times 15000$.

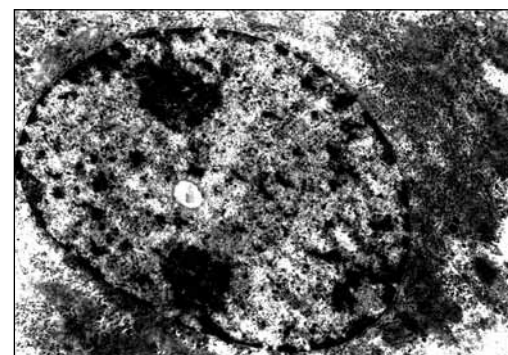


Рис. 3. Ультраструктурные изменения гепатоцитов после частичной гепатэктомии при действии этомерзола. Гипертрофия ядрышек, появление обширных зон гетерохроматина, признаки гиперплазии гранулярного эндоплазматического ретикулума. Увеличение $\times 15000$.

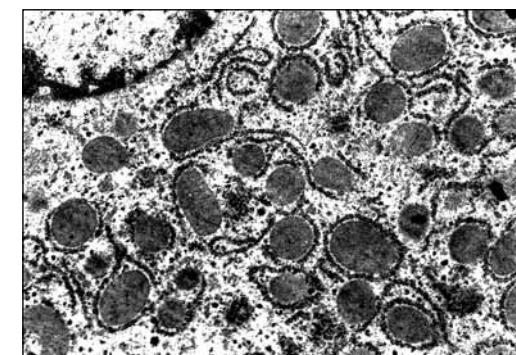


Рис. 4. Ультраструктурные изменения гепатоцитов после частичной гепатэктомии при действии яктон. Большое количество митохондрий с высокой электронной плотностью, признаки гиперплазии гранулярного эндоплазматического ретикулума. Увеличение $\times 15000$.

Таблица 1
Эффекты бемитила, этомерзола, яктон и комбинации рибоксина с оротатом калия на модели частичной гепатэктомии ($X \pm m$)

Показатели	Интактные животные	Контроль, физ.раствор	Бемитил, 12,5 мг/кг	Этомерзол, 12,5 мг/кг	Яктон, 25 мг/кг	Рибоксин/оротат калия, 100 мг/кг
Продолжительность гексеналового сна, мин	22,3 $\pm$ 1,0	55,9 $\pm$ 3,5**	44,5 $\pm$ 4,5*	41,7 $\pm$ 0,6*	35,3 $\pm$ 3,0*	50,2 $\pm$ 6,5
Печень: Коэффициент полноты регенерации, %	–	100,0 $\pm$ 5,26	144,0 $\pm$ 2,92*	128,0 $\pm$ 1,21*	122,0 $\pm$ 4,03*	108,0 $\pm$ 5,09*
Суммарные нуклеиновые кислоты, усл.ед.	0,205 $\pm$ 0,004	0,208 $\pm$ 0,001	0,364 $\pm$ 0,006*	0,273 $\pm$ 0,006*	0,201 $\pm$ 0,001*	0,255 $\pm$ 0,03*
Гликоген, усл.ед.	0,258 $\pm$ 0,004	0,267 $\pm$ 0,006	0,429 $\pm$ 0,01*	0,380 $\pm$ 0,014*	0,332 $\pm$ 0,003*	0,295 $\pm$ 0,04*
Сыворотка крови: АсАТ, У/л	154,0 $\pm$ 3,2	162,0 $\pm$ 11,9	163,0 $\pm$ 5,7	125,7 $\pm$ 5,0*	142,0 $\pm$ 1,0	156,0 $\pm$ 0,9
АлАТ, У/л	45,3 $\pm$ 1,7	42,5 $\pm$ 2,4	40,3 $\pm$ 1,1	38,0 $\pm$ 2,3	43,7 $\pm$ 3,3	55,0 $\pm$ 1,0*
Общий билирубин, мкмоль/л	2,05 $\pm$ 0,02	6,84 $\pm$ 0,03**	5,13 $\pm$ 0,03*	3,42 $\pm$ 0,03*	5,13 $\pm$ 0,01*	5,99 $\pm$ 0,2*
Азот мочевины, нмоль/л	11,64 $\pm$ 0,49	11,78 $\pm$ 0,04	9,28 $\pm$ 0,99*	9,30 $\pm$ 0,14*	9,28 $\pm$ 0,36*	9,64 $\pm$ 0,21*
Глюкоза, ммоль/л	7,30 $\pm$ 0,12	7,33 $\pm$ 0,13	6,88 $\pm$ 0,16	7,66 $\pm$ 0,02	7,64 $\pm$ 0,12	7,58 $\pm$ 0,09
Общий белок, г/л	65,5 $\pm$ 0,7	70,1 $\pm$ 2,0	65,7 $\pm$ 1,0	67,3 $\pm$ 0,9	70,1 $\pm$ 1,0	70,5 $\pm$ 0,6

Примечание: ** – достоверное ($p < 0,05$) отличие от соответствующего показателя интактной группы животных;

* – достоверное ($p < 0,05$) отличие от соответствующего показателя контрольной группы животных.

тона и комбинации рибоксина с оротатом калия изменений в гистологической картине печени по сравнению с контрольной и интактной группой не было обнаружено: гепатоциты обычной формы и размеров, располагающиеся в виде двух тесно прилегающих друг к другу рядов, образуя печеночные балки. Некротические и воспалительные изменения отсутствовали.

В то же время были получены морфологические доказательства различий в механизмах действия бемитила и это-

мерзола, активаторов синтеза нуклеиновых кислот, и яктон, оптимизирующего энергетический обмен в клетке. При анализе данных электронномикроскопического исследования выявлено участие внутриклеточных структур гепатоцитов в адапционных и компенсаторных реакциях. В контрольной группе животных отмечалась гиперплазия цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, увеличение содержания гликогена в гепатоцитах. При введении бемитила

и этомерзола изменения наблюдались, прежде всего, в структуре ядра. На фоне действия бемитила на срезе ядра присутствовало увеличенное число ядрышек – не менее двух. Ядрышки компактные, с хорошо выраженными фибриллярными и гранулярными компонентами. Вдоль ядерной мембраны наблюдалось присутствие «точечного» активного хроматина. В цитоплазме по сравнению с контролем гиперплазирован гранулярный эндоплазматический ретикулум. Этомерзол вызывал появление обширных зон гетерохроматина как вдоль ядерной мембраны, так и в центральных частях ядра. Кроме того, имела место гипертрофия ядра, гипертрофия ядрышек и увеличение их количества. Увеличение количества ядрышек, накопление и перераспределение гетерохроматина, гиперплазия гранулярного эндоплазматического ретикулума указывает на активацию протеинсинтетических процессов бемитилом и этомерзолом [1].

Отличительной особенностью гепатоцитов при введении яктона являлись изменения в цитоплазме клеток, выражавшиеся, прежде всего, в состоянии эндоплазматического ретикулума и митохондрий. При этом строение ядра не отличалось от контроля. В опытной группе в ряде исследованных гепатоцитов отмечалось увеличение количества митохондрий и изменение их электронной плотности. Параллельно с изменениями митохондрий в цитоплазме наблюдалось разрастание единичных цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума. Проявлялся, кроме того, очень интересный феномен – своеобразное «обрастание» гранулярного эндоплазматического ретикулума митохондриями, что позволяет предположить усиление функциональной связи энергопродуцирующего митохондриального окисления с энергопотребля-

ющим синтезом белка на рибосомах эндоплазматического ретикулума.

Таким образом, все исследуемые препараты способствуют ускорению регенерации печени после частичной гепатэктомии, причём по своей активности они превосходят известные стимуляторы регенерации – рибоксин с оротатом калия в оптимальной комбинации. Наиболее выраженный положительный эффект вызывает препарат бемитил. Он обеспечивает в печени самую заметную активацию синтеза белка, наиболее быстрый прирост массы резецированного органа. Такой эффект является логическим следствием известного действия бемитила, заключающегося в синтезе РНК и, вторично, белка [5].

Выводы

1. Новые лекарственные препараты – производные 2-меркаптобензимидазола бемитил и этомерзол, и производное янтарной кислоты яктон – существенно ускоряют процессы регенерации печени после частичной гепатэктомии, превосходя по своей эффективности известные стимуляторы регенеративных процессов – нестероидные анаболики рибоксин с оротатом калия в оптимальной комбинации.

2. Положительный эффект бемитила и этомерзола основывается на известном принципиальном механизме действия производных 2-меркаптобензимидазола – активации генома с результирующим усилением синтеза нуклеиновых кислот и белка.

3. Позитивный эффект яктона как производного янтарной кислоты – важнейшего субстрата цикла Кребса – связан с усилением функционального взаимодействия энергопродуцирующего митохондриального окисления с энергопотребляющим синтезом белка на рибосомах.

Список литературы

1. Блюгер А.Ф., Залутат В.И., Карташова О.Я. Ультроструктурная патология печени. Зинатне. Рига. 1989. 318 с.
2. Оковитый С.В. Протеинсинтетические и иммунные механизмы защитно-репаративных эффектов гепатотропных эффектов гепатотропных средств: Автореферат дис. канд. мед. наук. С.-Пб. 1995. 24 с.
3. Пирс Э. Гистология: пер. с англ. Изд. иностр. литературы. М. 1962. 962 с.
4. Рычнев В.Е., Фролов В.М. Стимуляторы регенерации в терапии вирусного гепатита и других заболеваний печени. Изд-во Воронеж. Госуниверситета. Воронеж. 1984. 126 с.
5. Смирнов А.В. Физиологически активные вещества. Выпуск 25. Киев. 1993. С. 5-9.
6. Солопаев Б.П. Регенерация нормальной и патологически изменённой печени. Волго-вят. кн. изд., Горький. 1980. 240 с.
7. Спивакова Р.П., Бобков Ю.Г., Томчин А.Б. и др. Фармакологическая регуляция физической и психической работоспособности. М. 1980. С. 35-36.
8. Шустов Е.Б., Катков В.Ф., Гайворонская В.В. Сборник изобретений и рациональных ВМедА им. С.М. Кирова. Выпуск 21. 1990. Ленинград. 93 с.
9. Haggins G.M., Anderson R.M., Arch. Pathol., 12 (1), 1931. P. 188-202.
10. Verly W.C. The control of liver growth. New York. Chalmers. 1976. 112 p.

I.Yu. Kolyshev,

Bemithyl, ethomerzol and yakton effects on liver regeneration after partial hepatectomy

V.V. Gayvoronskaya, S.V. Okovitiy, I.Yu. Kolyshev, E.B. Shustov, V.Ts. Bolotova

The experiment shows the ability synthetic adaptogens 2 ethyltiobenzimidazol (bemithyl) and 5-ethoxy-2-ethyltiobenzimidazol (ethomerzol) and succinate mono-(2-dimethylamino)-ethyl succinate (yakton) to speed up the processes of liver regeneration after partial hepatectomy. Under the effect of the studied medicine showed a significant increase in liver weight gain, increasing its content of total nucleic acids and glycogen, improved functional status, which is manifested by reduced levels of bilirubin in the blood and a decrease in duration of hexenal sleep, reflecting the activity of microsomal oxidation. Found positive impact bemithyl, ethomerzol and yakton on liver morphology and intracellular processes of regeneration. Reparative activity of all studied medicine surpasses the effect of combination known stimulators of processes regeneration – derivatives of purine and pyrimidine bases ryboksin orotate and potassium.

Key words: bemithyl, ethomerzol, yakton, liver regeneration.