

ЗАЩИТНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПОЛИПРЕНОЛОВ НА МОДЕЛИ ПОДОСТРОГО ГЕПАТОЗА С ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ У КРЫС

ШАБАНОВ П. Д., СУЛТАНОВ В. С., ЛЕБЕДЕВ А. А., БЫЧКОВ Е. Р., ПРОШИН С. Н.

Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова,
ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН»,
Санкт-Петербург

Шабанов П. Д., Султанов В. С., Лебедев А. А., Бычков Е. Р., Прошин С. Н. Защитные эффекты полипренолов на модели подострого гепатоза с энцефалопатией у крыс // Мед. акад. журн. 2010. Т. 10. № 2. С. 50–57. Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, 194044, ул. Академика Лебедева, 6; ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

Ропрен представляет собой 95% концентрат полипренолов, его получают из хвои сосны и ели, рекомендован в качестве гепатопротекторного средства растительного происхождения. Цель исследования состояла в оценке гепатопротекторного и нейропротекторного действия ропрена на модели подострого гепатоза, вызванного CCl_4 у крыс. Подострый гепатоз (дистрофию печени) у крыс моделировали 2-кратным внутривентральным введением CCl_4 (2 инъекции по 1 г/кг с интервалом в 3 дня). Ропрен (2,15–4,3–11,6 мг/кг) вводили внутривентрально в течение 2 нед. После курса ропрена оценивали поведение животных, биохимические показатели крови, морфологию печени и обмен моноаминов в головном мозге. Препаратом сравнения служил гептрал, или адemetионин (300 мг/кг). Введение гепатотропного яда приводило к гибели 50% крыс. У выживших животных отмечали существенное изменение в поведении по тестам «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «чужак–резидент», Порсолта. В крови крыс, забитых на 16-й день опыта, регистрировали признаки поражения внутренних органов: печени, поджелудочной железы, почек. При гистологическом исследовании печени у крыс был выявлен экспериментальный гепатоз (дистрофия печени), который характеризовался развитием гиалиново-капельной белковой дистрофии, мелкокапельной жировой дистрофии и слабо выраженной лимфоцитарной инфильтрацией портальных трактов. В головном мозге CCl_4 не вызывал значимых отклонений в обмене дофамина, норадреналина и серотонина в прилежащем ядре, стриатуме и фронтальной коре головного мозга. По разным тестам выявлено, что ропрен в исследованных дозах (2,15–4,3–11,6 мг/кг) нормализует поведение крыс, нарушенное введением CCl_4 , улучшает показатели крови и печени у крыс с подострым гепатозом и оказывает психоактивирующее действие на головной мозг, в основе которого лежит изменение активности мезолимбической и нигростриарной дофаминергических систем (активация обмена дофамина в прилежащем ядре и замедление в стриатуме). В поведенческих тестах наибольшую активность ропрен проявил в малой (2,15 мг/кг) и средней (4,3 мг/кг) дозах, тогда как гепатопротекторные свойства ропрена были более выражены в дозе 11,6 мг/кг. Последние были сопоставимы с действием гептрала (300 мг/кг). Гептрал практически не проявил центральных эффектов. Таким образом, ропрен обладает выраженным гепатопротекторным и нейропротекторным эффектом в широком диапазоне доз.

Ключевые слова: ропрен, полипренолы, гептрал, поведение, гепатоз, моноамины, гепатопротекция, нейропротекция.

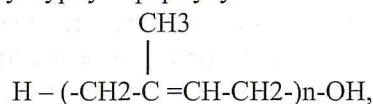
Shabanov P. D., Sultanov V. S., Lebedev A. A., Bychkov E. R., Proshin S. N. Defensive effects of polyprenols in a model of subacute hepatitis with encephalopathy in rats // Med. Acad. Journ. 2010. Vol. 10. № 2. P. 50–57. Military Medical Academy, St. Petersburg, 194044; Institute of Experimental Medicine NWB RAMS, St. Petersburg, 197376.

Ropren is 95% concentrate of polyprenols, it is produced from needles of pine and fir trees, it is recommended as a hepatoprotective drug of plant origin. The aim of the paper was to assess hepatoprotective and neuroprotective effects of ropren in a model of subacute hepatitis induced by in CCl_4 rats. A subacute hepatitis (dystrophy of the liver) was modeled in rats by means of 2-fold i.p. administration of CCl_4 (2 injections of 1 g/kg with the interval of 3 days). Ropren (2.15–4.3–11.6 mg/kg) was injected i.p. within 2 weeks. After course of ropren administration, the behavior of rats, biochemical indexes of the blood, morphology of the liver and turnover of monoamines in the brain were studied. The drug of comparison was heptal, or ademetionine (300 mg/kg). Administration of hepatotropic poison CCl_4 led to 50% lethality of rats. The significant shifts of behavior in open field, elevated plus maze, intruder-resident and Porsolt's tests were registered in survived rats. In the serum blood of rats decapitated on 16th day, the signs of damage of the liver, pancreatic gland and kidney were observed. The histological study revealed the experimental hepatitis (dystrophy of the liver) which was characterized with gialin-dropped protein dystrophy, little-dropped fat dystrophy and slight lymphocyte infiltration of portal ways. There were not changes in turnover of dopamine, noradrenaline and serotonin in the n.accumbens, striatum and frontal cortex of the brain after administration of CCl_4 . In different tests, ropren (2.15–4.3–11.6 mg/kg) normalized behavior disturbed by administration of CCl_4 , improved blood and liver indexes in rats with subacute hepatitis and acted as psychostimulant on the brain, changing the activity of mesolimbic and nigrostriatal dopaminergic system (activation of dopamine turnover in the n.accumbens and decrease of it in the striatum). In behavioral tests, the maximal activity of ropren was registered in low (2.15 mg/kg) and middle (4.3 mg/kg) doses whereas the maximal hepatoprotective effect was observed in dose 11.6 mg/kg. The latter was the same as after administration of heptal (300 mg/kg). Heptal did not reveal practically the central effects. Therefore, ropren possesses significant hepatoprotective and neuroprotective effects in a large scale of doses.

Key words: ropren, polyprenols, heptal, behavior, hepatitis, monoamines, hepatoprotection, neuroprotection.

Для корреспонденции: Шабанов Петр Дмитриевич, д. м. н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, тел. (812)542-4397 (кафедра), 8-921-900-1951 (моб.); e-mail: pdshabanov@mail.ru

Многообразие нарушений функций печени существенно осложняет задачу медикаментозной коррекции таких состояний и требует применения фармакологических средств широкого спектра действия. К тому же следует иметь в виду, что в патогенезе самых различных заболеваний печени важную роль играют иммунологические сдвиги, сопровождающие патологию этого органа. Среди патогенетических средств лечения заболеваний печени традиционно выделяют группу гепатопротекторов растительного происхождения [1–3], в первую очередь препараты росто­ропши пятнистой, лив-52, билигнин, маргали, ропрен [4, 5]. Если препараты росто­ропши (легалон, силимарин, силибор) хорошо изучены, то новые гепатопротекторы растительного происхождения изучены значительно меньше. К ним относится ропрен (ЛСР-001521/07), получаемый из нейтральной части хвой сосны и ели. Ропрен представляет собой 95% концентрат (смесь) полипренолов [10–12], содержащих 8–18 изопреновых единиц, и имеет следующую структурную формулу:



где n – число изопреновых звеньев от 8 до 18.

Показаниями к применению ропрена являются жировая дистрофия печени различной этиологии, гепатит, цирроз печени (в комплексном лечении) и токсические поражения печени (алкогольные, наркотические, лекарственные). Использование ропрена стимулирует репаративно-регенерационные процессы в печени, восстанавливает нарушенный гомеостаз, выводит токсины, способствует повышению активности антиоксидантной системы организма. Наряду с этим отмечено стимулирующее действие ропрена на уровень неспецифической резистентности организма (нейтрофильного и моноцитарного звена). В ходе лечения больных с патологией печени было установлено, что ропрен обладает также иммуномодулирующим действием, оказывая нормализующее влияние на измененный иммунный статус организма, особенно на клеточное звено иммунитета, о чем свидетельствует повышение активных Т-лимфоцитов. В то же время центральные эффекты ропрена исследованы недостаточно.

Целью настоящего исследования явилась оценка гепатопротекторного и нейропротекторного действия ропрена в сравнении с гептралом на модели подострого гепатоза, вызванного CCl_4 у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 89 крысах-самцах Вистар массой 200–220 г, полученных из питомника «Рапполово» РАМН (Ленинградская область). Животных

содержали при свободном доступе к воде и пище. Все опыты проведены в осенне-зимний период.

В соответствии с протоколом исследования все животные были разделены на 7 групп, каждая из которых включала 10–14 крыс: 1) группа 1 получала физиологический 0,9% раствор хлорида натрия; 2) группа 2 получала раствор CCl_4 + физиологический раствор 14 дней; 3) группа 3 получала CCl_4 + ропрен 2,15 мг/кг ежедневно 14 дней; 4) группа 4 получала раствор CCl_4 + ропрен 4,3 мг/кг ежедневно 14 дней; 5) группа 5 получала раствор CCl_4 + ропрен 11,6 мг/кг ежедневно 14 дней; 6) группа 6 получала раствор CCl_4 + гептрал раствор 300 мг/кг на основе лиофилизата ежедневно 14 дней; 7) группа 7 получала раствор CCl_4 + гептрал раствор 300 мг/кг на основе таблеток ежедневно 14 дней. Тестирование поведения начинали на 14-й день через 0,5–1 ч после последнего введения исследуемых веществ. Поведенческие тесты проводили в течение двух последовательных дней. Забой животных осуществляли на 16-й день опыта. После декапитации крыс производили взятие крови, печени и мозга (стриатум, прилежащее ядро и префронтальная кора).

Экспериментальный подострый гепатоз (токсическое поражение печени) моделировали 2-кратным внутрибрюшинным введением крысам 50% раствора CCl_4 из расчета 1000 мг/кг CCl_4 на 1-й и 4-й дни опыта. В связи с нарастающей гибелью экспериментальных животных (более 50%) дальнейшее введение CCl_4 не производили. В целом, каждая крыса получила 2 г/кг CCl_4 за опыт.

В качестве поведенческих тестов использовали «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «чужак–резидент» и тест Порсолта на депрессивность [8, 9].

Для биохимического анализа кровь всех животных забирали в сухие стерильные пробирки. Материал центрифугировали при 3000 об/мин. Сыворотку отбирали для дальнейшего биохимического анализа на общий белок, глюкозу, холестерол, креатинин, мочевины, α -амилазу, лактатдегидрогеназу, триглицериды, общий билирубин, аспартатаминотрансферазу, аланинаминотрансферазу, связанный билирубин, щелочную фосфатазу, мочевую кислоту, креатинфосфокиназу, фосфор, липопротеиды низкой плотности и γ -глутамилтрансферазу. Материал исследовали на биохимическом анализаторе «Sapphire-400» с использованием реактивов системы «Randox» (Великобритания).

Ткань печени крыс фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 ч, после чего материал проходил стандартную обработку в спиртах нарастающей концентрации (70–95%), ксилоле и парафине для изготовления гистологических препаратов с толщиной серийных парафиновых срезов 3–

5 мкм. Для микроскопического исследования срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование гистологических препаратов проводили с помощью светооптического микроскопа «Leica DM LS» в пяти полях зрения при увеличении 200. Микрофотографирование проводили с помощью цифровой фотокамеры «Leica DC320».

После декапитации структуры мозга извлекали на льду и замораживали в жидком азоте. Пробы гомогенизировали в 10 объемах 0,1 М HClO₄ и центрифугировали при 15 000 g в течение 10 мин. Содержание моноаминов и их метаболитов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией. Надосадочную жидкость в количестве 20 мкл наносили на аналитическую колонку Zorbax C18. Норадреналин (НА), дофамин (ДА), серотонин (СЕР), а также 3,4-диоксифенилуксусную (ДОФУК), гомованилиновую (ГВК), 5-гидроксииндолуксусную кислоты (5-ГИУК) разделяли с использованием в качестве подвижной фазы 0,1 молярного цитратно-фосфатного буфера, содержащего 0,3 ммоль октансульфоната натрия, 0,1 ммоль ЭДТА и 10% ацетонитрила (рН 3,2). Определение моноаминов и их метаболитов осуществляли на стеклоуглеродном электроде при потенциале +0,7 против Ag/AgCl электрода сравнения. Скорость потока подвижной фазы составляла 0,8 мл/мин.

Для фармакологического анализа использовали ропрен масляный раствор в дозах 2,15; 4,3 и 11,6 мг/кг, а также синтетический гепатопротектор гептрал (S-аденозил-L-метионин) в дозе 300 мг/кг.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента и однофакторного дисперсионного анализа с последующим Newman-Keuls post-hoc-анализом.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Двукратное внутрибрюшинное введение 50% раствора CCl₄ на 1-й и 4-й дни опыта (это соответствовало 2 г/кг CCl₄) приводило к развитию токсического действия гепатотропного яда. Летальность крыс, не защищенных гепатопротекторами, после первого введения CCl₄ составила около 40%, после второго введения – увеличилась до 50%. В связи с нарастающей гибелью экспериментальных животных дальнейшее введение CCl₄ не производили.

В крови крыс, забитых на 16-й день опыта, регистрировали признаки поражения внутренних органов: печени, миокарда, поджелудочной железы, почек. В частности, у крыс, получавший CCl₄, в 2 раза возрастала активность аспаратаминотрансферазы (с 123,1±14,4 до 248,6±10,4 МЕ/л), в 4 раза – лактатдегидрогеназы (с 22,8±9,3 до 88,7±49,7 МЕ/л), умерен-

но повышалась активность α-амилазы (с 1708,8±40,9 до 1930,8±35,4 МЕ/л), снижалась активность γ-глутамилтрансферазы (с 2,33±0,83 до 0,98±0,97 МЕ/л), общего и непрямого билирубина, мочевой кислоты, липопротеидов низкой плотности.

При гистологическом исследовании печени у крыс был выявлен экспериментальный гепатоз (дистрофия печени), который характеризовался развитием гиалиново-капельной белковой дистрофии, мелкокапельной жировой дистрофии и слабо выраженной лимфоцитарной инфильтрацией портальных трактов (рис. 1).

Двукратное внутрибрюшинное введение CCl₄ в суммарной дозе 2 г/кг вызывало в группе, получавшей физиологический раствор, гибель 50% крыс. Ропрен в дозах 2,15–4,3–11,6 мг/кг достоверно не снижал гибель крыс, подвергнутых воздействию CCl₄. Процент погибших животных в этих группах составлял 42–50%. Гибель крыс приходилась на 2-й день после инъекции CCl₄, т. е. на 2-й и 5-й дни опыта. Гептрал 300 мг/кг, приготовленный на основе лиофилизата для инъекций, также не снижал процент гибели животных. Гептрал 300 мг/кг, приготовленный на основе таблеток и вводимый внутрибрюшинно, приводил к гибели всех крыс (100%). Последняя крыса в этой группе погибла на 7-й день опыта. Поэтому в дальнейшем эта группа в анализ результатов не вошла.

Двукратное введение CCl₄ (2 г/кг) с оценкой поведения через 15 дней после первого введения токсиканта приводило к существенному нарушению поведения крыс в «открытом поле». Так, в группе крыс, получавшей CCl₄, регистрировали снижение горизонтальной (в 3 раза) и исследовательской (в 2,5 раза) активности, практически подавление груминговых реакций (снижение более чем в 5 раз) и повышение эмоциональности (увеличение болюсов дефекации в 2 раза). Вертикальная активность при этом существенно не менялась. Ропрен при курсовом введении (14 дней) в целом нормализовал поведение крыс, при этом максимальные его эффекты отмечены при введении препарата в дозах 2,15 и 4,3 мг/кг, но не 11,6 мг/кг. Именно в этих дозах ропрен восстанавливал горизонтальную двигательную (пересечение квадратов) и исследовательскую (норковый рефлекс) активность, нормализовал эмоциональность животных. На груминговые реакции ропрен не влиял. Гептрал 300 мг/кг практически не менял ни одного из исследованных показателей.

Таким образом, ропрен, в отличие от гептрала, оказывает восстанавливающее (нормализующее) действие на поведение в «открытом поле» крыс, подвергнутых воздействию CCl₄. При этом максимальный эффект оказывали малые (2,15 мг/кг) и средние (4,3 мг/кг) дозы ропрена.

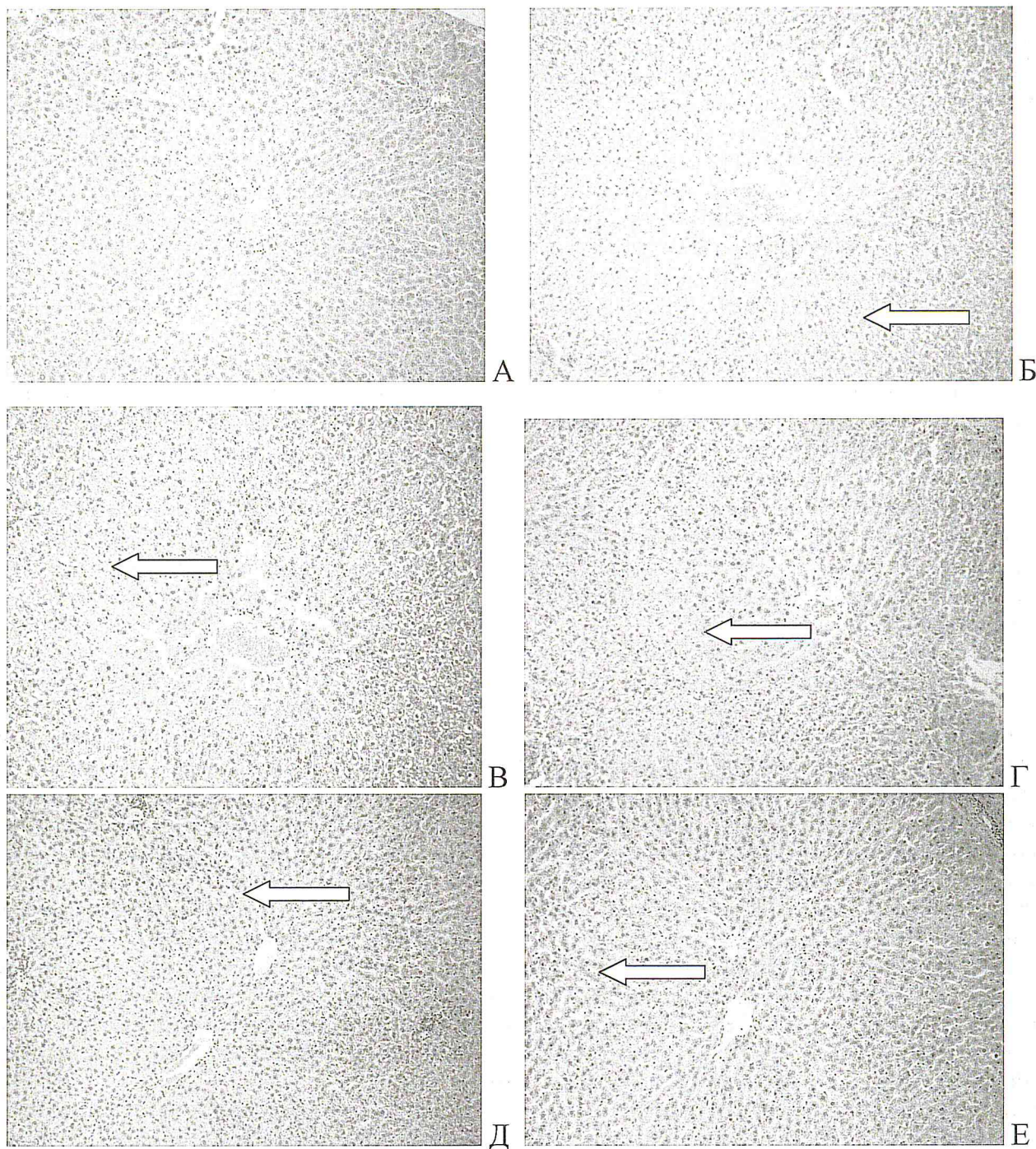


Рис. 1. Печень крысы при гепатозе, вызванном CCl_4 .

А – нормальное гистологическое строение ткани; Б – печень крысы, получавшей CCl_4 + физиологический раствор; В – печень крысы, получавшей CCl_4 + ропрен 2,15 мг/кг; Г – печень крысы, получавшей CCl_4 + ропрен 4,3 мг/кг; Д – печень крысы, получавшей CCl_4 + ропрен 11,6 мг/кг; Е – печень крысы, получавшей CCl_4 + гептрал 300 мг/кг. Стрелками показаны зоны дискомплектации балочного строения, умеренно выраженные проявления дистрофии гепатоцитов.

Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200

Вторым поведенческим тестом был приподнятый крестообразный лабиринт, позволяющий оценить анксиолитические (противотревожные) или анксиогенные (тревожные) свойства фармакологических препаратов. Двукратное введение CCl_4 (2 г/кг) с оценкой поведения через 15 дней после первого введения токсиканта существенно нарушало поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте. У крыс,

получавших CCl_4 , время пребывания в освещенных (открытых) рукавах лабиринта снижалось в 2,5 раза, число выглядываний из закрытых рукавов – в 4 раза, а число свешиваний с открытых рукавов платформы – в 10 раз. Это указывает на мощное анксиогенное действие токсиканта. В данном тесте ни ропрен (2,15, 4,3 и 11,6 мг/кг), ни гептрал в исследуемых дозах не проявляли значимого анксиолитического (проти-

вотревожного) действия. Следовательно, ропрен и гептрал при курсовом применении в течение 14 дней не оказывают противотревожного действия в тесте приподнятого крестообразного лабиринта.

Следующим поведенческим тестом было изучение агрессии в тесте «чужак–резидент» у крыс. Двукратное введение CCl_4 (2 г/кг) с оценкой поведения через 15 дней после первого введения токсиканта вдвое снижало общительность крыс с умеренным растормаживанием системы «агрессия–защита» в тесте «чужак–резидент». Индивидуальное поведение животных при этом не менялось. Ропрен (2,15, 4,3 и 11,6 мг/кг) при курсовом введении в течение 14 дней нормализовал показатели коммуникативности и индивидуального поведения, а также снижал повышенную агрессивность с компенсацией системы защиты. Гептрал также восстанавливал общительность, умеренно снижал агрессивность и полностью подавлял систему защиты. Таким образом, ропрен и гептрал в тесте «чужак–резидент» проявляют умеренное антиагрессивное действие, при этом ропрен по эффективности превышает гептрал.

Последним поведенческим тестом был плавательный тест Порсолта, используемый для оценки уровня депрессивности у крыс. Двукратное введение CCl_4 (2 г/кг) с оценкой поведения через 15 дней после первого введения токсиканта в 4 раза подавляло активное поведение, умеренно снижало пассивное поведение и вдвое повышало иммобилизацию крыс. Последний показатель (обездвиженность, или иммобилизация) является основным показателем теста и в данном случае указывает на появление у отравленных крыс выраженного депрессантного поведения. Ропрен во всех исследованных дозах (2,15, 4,3 и 11,6 мг/кг) практически не менял активного и пассивного плавания крыс, но восстанавливал иммобилизационное поведение вплоть до контрольного уровня, проявляя антидепрессантный эффект. Гептрал 300 мг/кг усиливал обездвиживающее (депрессивное) действие CCl_4 , не влияя на другие показатели теста Порсолта. Следовательно, ропрен в дозах 2,15–4,3–11,6 мг/кг проявляет определенный антагонизм по отношению к CCl_4 в плавательном тесте Порсолта. Гептрал подобным действием не обладает.

Результаты биохимических тестов показали, что по таким показателям, как холестерин, креатинин и мочевины, исследованные группы крыс не отличались, что указывает на отсутствие влияния CCl_4 и исследованных соединений (ропрена и гептрала) на метаболизм данных биологических субстратов. При этом выявлено определенное снижение среднего показателя по общему белку в группе животных, которые подвергались воздействию CCl_4 и получа-

ли ропрен в дозе 2,15 мг/кг ($p < 0,05$). По-видимому, ропрен в этой дозе на фоне действия CCl_4 усиливал метаболизм белка в данной группе животных.

Достоверное повышение уровня глюкозы в группе животных, которые получали физиологический раствор и CCl_4 , свидетельствует о неспецифическом влиянии CCl_4 на метаболизм полисахаридов либо за счет нарушения функции печеночной паренхимы, либо вследствие функциональных нарушений со стороны поджелудочной железы, о чем свидетельствует достоверное повышение уровня α -амилазы в данной группе крыс ($p < 0,05$).

Значительное повышение уровня лактатдегидрогеназы у крыс, которые получали ропрен и гептрал, свидетельствует об индукции данного фермента в печеночной паренхиме указанными препаратами. Снижение уровня билирубина в группах животных, подвергшихся воздействию CCl_4 , может указывать на изменение уровня хилезности сыворотки или степени эмульгации предшественников билирубина под влиянием CCl_4 . Значительное повышение уровня аспаратаминотрансферазы (АСТ) в эксперименте свидетельствует о повреждающем влиянии CCl_4 на печеночную паренхиму, однако уровень аспаратаминотрансферазы в группе животных с максимальной полученной дозой ропрена (11,6 мг/кг), который не отличался от контрольных величин, свидетельствует о выраженных гепатопротекторных свойствах данного вещества. Повышенный уровень мочевой кислоты, которая является конечным продуктом пуринового обмена, в экспериментальных группах может свидетельствовать либо о повышении дезаминирования аминопуринов и/или окисления оксипуринов, либо о задержке мочевой кислоты в организме. Достоверное снижение уровня фосфора в сыворотке экспериментальных животных может указывать на изменение водно-электролитного обмена в результате действия CCl_4 .

Таким образом, полученные результаты биохимического анализа указывают, что ропрен (особенно в дозе 11,6 мг/кг) и гептрал 300 мг/кг обладают выраженными гепатопротекторными свойствами.

Введение ропрена зависит от дозы (2,15–4,3–11,6 мг/кг) защищало печень от токсического действия гепатотропного яда CCl_4 . Так, в группе крыс, получавших CCl_4 + ропрен 2,15 мг/кг (группа 3), в печени на фоне нарушения балочного строения имелась паренхиматозная дистрофия в виде белковой гиалиново-капельной формы, которая поражала гепатоциты всех печеночных долек на 2/3 их протяженности балок, местами захватывала дольки очагово в виде мелкокапельной жировой дистрофии, локализовалась перипортально, некроз гепатоцитов не наблюдался. В трактах определялась слабовыражен-

ная моноклеарная инфильтрация. В соответствии с балльной оценкой степени патогистологических изменений можно было констатировать 3-балльное поражение печени крыс данной группы – гистологические изменения соответствовали картине выраженной токсической паренхиматозной дистрофии печени (рис. 1В). В группе крыс, получавших CCl_4 + ропрен 4,3 мг/кг (группа 4), в печени еще не наблюдалось долек, имевших нормальное гистологическое строение. Дисконкомплексация балочного строения, сопровождавшаяся дистрофическими изменениями в виде белковой гиалиново-капельной и мелкокапельной жировой дистрофии, захватывала 1/2–3/4 протяженности гепатоцитов в дольках. Некроз гепатоцитов отсутствовал, лимфоидная инфильтрация портальных трактов носила слабовыраженный характер. Эти изменения соответствовали 2–3-балльному поражению печени и картине умеренной и выраженной паренхиматозной токсической дистрофии печени (рис. 1Г). В группе крыс, получавших CCl_4 + ропрен 11,6 мг/кг (группа 5), в печени также не наблюдалось долек, имевших нормальное гистологическое строение. Дисконкомплексация балочного строения, сопровождавшаяся белковой гиалиново-капельной и мелкокапельной жировой дистрофией, захватывала 1/3–1/2 протяженности гепатоцитов в дольках. Некроз гепатоцитов отсутствовал, лимфоидная инфильтрация портальных трактов носила слабовыраженный характер. Эти изменения соответствовали 2-балльному поражению печени и картине умеренно выраженной паренхиматозной токсической дистрофии печени (рис. 1Д). И, наконец, в группе крыс, получавших CCl_4 + гептрал 300 мг/кг (группа 6), в печени регистрировали слабо выраженное поражение долек. В дольках наблюдалась дисконкомплексация балочного строения, сопровождавшаяся белковой гиалиново-капельной дистрофией на 1/3 протяженности гепатоцитов балок, в одном случае – на 2/3 протяженности. Некроз гепатоцитов отсутствовал, лимфоидная инфильтрация портальных трактов носила слабовыраженный характер. Эти изменения соответствовали слабовыраженной паренхиматозной токсической дистрофии печени и преимущественно 1-балльному поражению печени (рис. 1Е).

Таким образом, после двукратного введения CCl_4 (2 г/кг) в печени крыс наблюдалась морфологическая картина умеренной и выраженной белковой и жировой паренхиматозной дистрофии печени (гепатоза). В группе крыс, подвергшихся введению гепатопротекторов (ропрена и гептрала), морфологическая картина умеренной и выраженной белковой и жировой паренхиматозной дистрофии печени уменьшалась (улучшалась). При этом наименьшие проявления паренхиматозной дистрофии выявлены в группе крыс, подвергшихся введению гептрала и ропрена в дозе

11,6 мг/кг, что указывает на их гепатопротекторный эффект.

Посылкой исследования влияния ропрена и гептрала на обмен моноаминов в структурах мозга крыс, подвергнутых воздействию CCl_4 , явилось допущение, что при экспериментальном подостром гепатозе, вызванном CCl_4 , может развиваться токсическая энцефалопатия, приводящая к изменению обмена биогенных аминов в головном мозге. С этой целью анализировали обмен моноаминов в 3 структурах мозга, имеющих самое непосредственное отношение к двигательной (стриатум), эмоциональной (прилежащее ядро) и когнитивной (кора головного мозга) активности.

Введение CCl_4 и исследуемых препаратов (ропрена и гептрала) существенно не влияло на уровень норадреналина, серотонина и 5-ГИУК в прилежащем ядре, стриатуме и фронтальной коре. В то же время однофакторный дисперсионный анализ показал различия в уровне ГВК и отношения ГВК/ДА в прилежащем ядре между экспериментальными группами ($p=0,0009$ и $p=0,0457$ соответственно). Ропрен в дозах 2,15 мг/кг и 4,3 мг/кг увеличивал содержание ГВК в прилежащем ядре по сравнению с обеими контрольными группами (группой 1, $p<0,01$ и группой 2, $p<0,05$ соответственно). Анализ показал также различия в уровне ДОФУК и отношении ГВК/ДА в стриатуме между экспериментальными группами ($p=0,0412$ и $p=0,0390$ соответственно). Ропрен в дозах 2,15 и 4,3 мг/кг достоверно ($p<0,05$) снижал содержание ДОФУК в стриатуме по сравнению с контрольной группой (рис. 2, 3).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о разнонаправленном влиянии ропрена на уровень ГВК и ДОФУК в прилежащем ядре и стриатуме соответственно, что в свою очередь может указывать на активацию мезолимбической дофаминергической системы (ответственна за подкрепление) и снижение активности нигростриатной дофаминергической системы (ответственна за двигательную активность). Учитывая общую тенденцию к снижению отношения ДОФУК/ДА и увеличению отношения ГВК/ДА в обеих исследованных структурах, можно думать об ускоренном обмене дофамина в мозге под влиянием ропрена, поскольку ДОФУК является промежуточным метаболитом дофамина по отношению к ГВК, и/или смещении метаболизма дофамина в сторону КОМТ-зависимого пути [6, 7].

В то же время следует отметить, что гептрал не влиял на обмен дофамина и норадреналина в головном мозге, но несколько ускорял обмен серотонина во фронтальной коре, умеренно повышая в ней уровень 5-ГИУК. С помощью однофакторного дисперсионного анализа были найдены различия в индексе

DA ACB

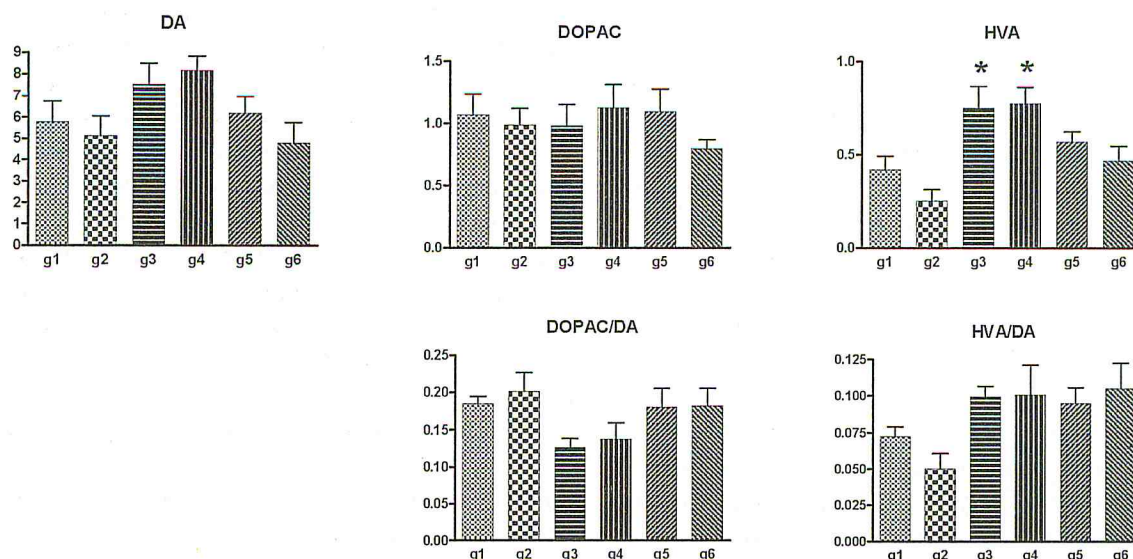


Рис. 2. Показатели обмена дофамина в прилежащем ядре крыс. Латинскими буквами обозначены экспериментальные группы

DA STR

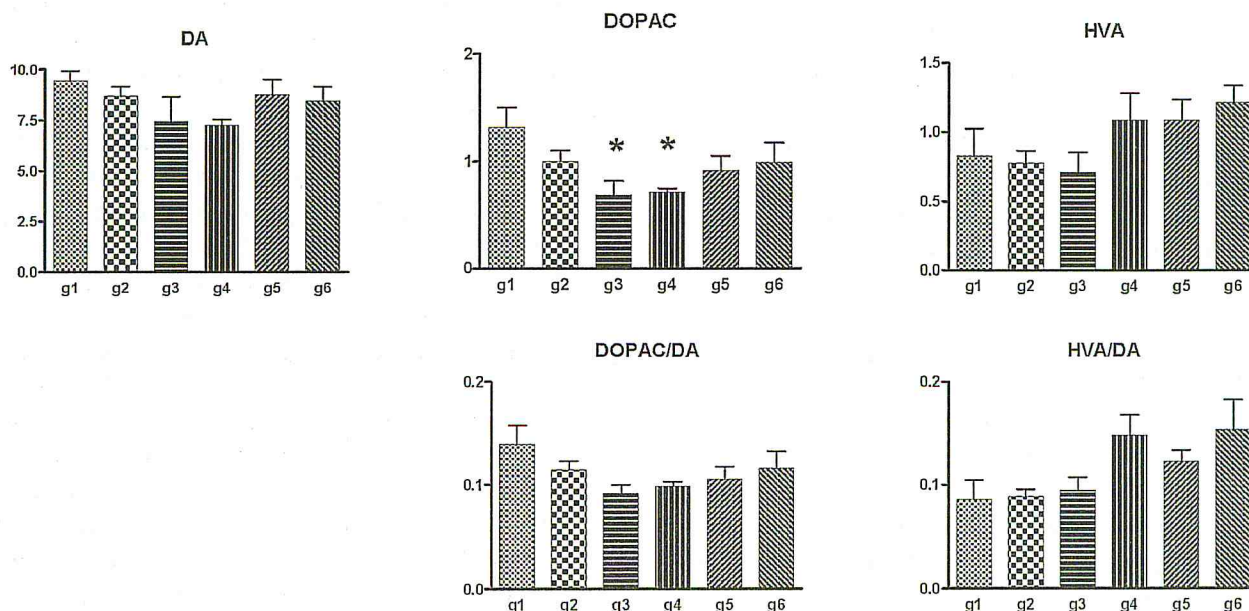


Рис. 3. Показатели обмена дофамина в стриатуме крыс. Латинскими буквами обозначены экспериментальные группы

активности серотонинергической системы 5-ГИУК/СЕР во фронтальной коре между экспериментальными группами ($p=0,0157$). При этом лишь гептрал достоверно увеличивал соотношение 5-ГИУК/СЕР по сравнению с группами, получавшими CCl_4 и ропрен в дозе 2,15 мг/кг и 4,3 мг/кг ($p<0,05$), что может свидетельствовать о нормализующем влиянии гептра-

ла на активность серотонинергической системы во фронтальной коре.

Следовательно, можно заключить, что ропрен помимо гепатопротекторных свойств обладает выраженным центральным действием, которое заключается в умеренной психоактивации, главным образом за счет изменения активности дофаминергических систем мозга.

ВЫВОДЫ

1. Четыреххлористый углерод (CCl₄) вызывает подострый гепатоз печени и поражение центральной нервной системы по типу токсической энцефалопатии.
2. Ропрен в исследованных дозах (2,15–4,3–11,6 мг/кг) нормализует поведение крыс, нарушенное введением CCl₄, улучшает показатели крови и печени у крыс с подострым гепатозом и оказывает психоактивирующее действие на головной мозг, в основе которого лежит изменение активности мезолимбической и нигростриатной дофаминергических систем (активация обмена дофамина в прилежащем ядре и замедление в стриатуме).
3. В поведенческих тестах наибольшую активность ропрен проявляет в малой (2,15 мг/кг) и средней (4,3 мг/кг) дозах, тогда как гепатопротекторные свойства ропрена более выражены в дозе 11,6 мг/кг. Последние были сопоставимы с действием гептрала (300 мг/кг).
4. Ропрен обладает выраженным гепатопротекторным и нейропротекторным эффектом в широком диапазоне доз.

Литература

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства: Пособие для врачей. 14-е изд. М.: Новая волна, 2000. С. 526–529.
2. Оковитый С.В. Экспериментально-клиническая оценка применения препарата метаболического действия бемитила при хронической патологии печени // Мед. академ. журн. 2002. Т. 2. № 2. С. 44–52.

3. Оковитый С.В., Иванова О.В., Шабанов П.Д. Гепатопротекторный эффект бемитила у больных с хроническими алкогольными поражениями печени // Наркология. 2002. № 3. С. 19–23.
4. Пастушенков Л.В., Лесиовская Е.Е. Фармакотерапия с основами фитотерапии. Ч. II. СПб.: СПбХФИ, 1995.
5. Шабанов П.Д. Маргали в комплексном лечении заболеваний печени: Метод. реком. для врачей. СПб.: ВМедА, 2002.
6. Шабанов П.Д. Основы наркологии. СПб.: Лань, 2002.
7. Шабанов П.Д. Психофармакология. СПб.: Элби-СПб, 2008.
8. Шабанов П.Д., Зарубина И.В., Новиков В.Е., Цыган В.Н. Метаболические корректоры гипоксии. СПб.: Н-Л, 2010.
9. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Дробленков А.В., Любимов А.В. Отсроченные поведенческие и морфологические последствия активации системы стресса-антистресса в раннем онтогенезе у крыс // Эксп. и клин. фармакол. 2009. Т. 72. № 6. С. 7–14.
10. Elmberger P.G., Kalen A., Appelkvist E.-L., Dallner G. In vivo and in vitro synthesis of dolichol and other main mevalonate products in various organs of the rat // Eur. J. Biochem. 1987. Vol. 168. P. 1–11.
11. Scherer M.G., Waechter C.J. Brain dolichyl pyrophosphate: Solubilization, characterization, and differentiation from dolichyl monophosphate phosphatase activity // J. Biol. Chem. 1984. Vol. 259. № 23. P. 14580–14585.
12. Sakakihira Y., Volpe J.J. Dolichol in human brain: Regional and developmental aspects // J. Neurochemistry. 1985. Vol. 44. P. 1535–1540.

Представлена членом-корреспондентом РАМН Н. С. Сапроновым