

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЗАЩИТЫ ГЕПАТОЦИТОВ 9,11-ЭТАНОАНАЛОГАМИ ПРОСТАГЛАНДИНОВ ГРУППЫ Н ОТ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ХЛОРОФОРМА

О.И. Губич, С. М. Петрова, М.В. Шолух

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Введение

Хлороформ – широко используемый промышленный и бытовой растворитель, а также терапевтическое средство наружного применения, использующееся для лечения невралгий и миозитов. Вместе с тем, данное соединение обладает высокой токсичностью и способно инициировать развитие цирроза и атрофии печени, дистрофических изменений в миокарде, подавлять высшую нервную деятельность [1]. Установлено, что реализация эффектов данного токсиканта обеспечивается его биотрансформацией в свободнорадикальные продукты, вовлекающиеся в развитие окислительного стресса клетки [2], однако фармакотерапия до сих пор не располагает лекарственными средствами, способными нейтрализовать токсическое действие хлороформа на печень и нервную систему. Поэтому особое внимание уделяется поиску препаратов, препятствующих развитию индуцированного хлороформом токсикоза. Ранее среди 9,11-этананоаналогов простагландинов группы Н нами были выявлены соединения, значительно повышающие выживаемость клеток печени после их обработки CCl_4 [3].

Данная работа посвящена исследованию цитопротекторных свойств 9,11-этананоаналогов ПГ группы Н на клеточной модели повреждения печени хлороформом.

Методы исследования

Оценка эффективности защитного действия простаноидов (10^{-10} – 10^{-6} моль/л) выполнялась на первичной суспензии гепатоцитов, выделенных по [4] и обработанных хлороформом в конечной концентрации 0,14%. Использованные аналоги ПГН синтезированы и предоставлены для исследований Лабораторией химии простагландинов Института биоорганической химии НАН Беларуси [5]. Цитопротекторные свойства простаноидов оценивали по их способности предотвращать утечку лактатдегидрогеназы (ЛДГ) из цитозоля, кислой фосфатазы (КФ) – из лизосом и глутаматдегидрогеназы (ГДГ) – из митохондрий гепатоцитов. Активность ЛДГ измеряли по методу D. Weisshaar [6], КФ – как описано в [7], ГДГ – по методу [8]. Статистическая обработка результатов выполнялась с помощью пакета программ Stadia 6.0.

Результаты и обсуждение

В контрольной серии экспериментов показано, что действие 0,14% хлороформа на первичную суспензию гепатоцитов характеризуется нарушением проницаемости их плазматических и внутриклеточных мембран. Индекс цитотоксичности для маркерных ферментов, оцененный после 2 часов воздействия токсиканта, составил $76,0 \pm 2,6$ для ЛДГ; $40,5 \pm 0,68$ для ГДГ; $68,5 \pm 1,2$ для КФ, что хорошо согласуется с данными литературы [9].

Для начальной оценки цитопротекторных свойств простаноидов группы Н была изучена их способность предотвращать повреждение плазматических мембран гепатоцитов. Установлено, что обработка клеток 6 аналогами ПГН спустя 30 минут после начала инкубации гепатоцитов с 0,14% хлороформом вызывает развитие достоверного защитного эффекта (рис.1). По силе протекторного действия исследованные соединения образуют следующий ряд эффективности: **LP-67 > LP-167 > LP-171 > LP-165 > силимарин \geq куркумин > LP-172 > LP-84 >> LP-175 = LP-22 = LP-25 = LP-41 = LP-120 = LP-147 = 0**. Максимально эффективными оказались концентрации, равные $1 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-10}$ моль/л.

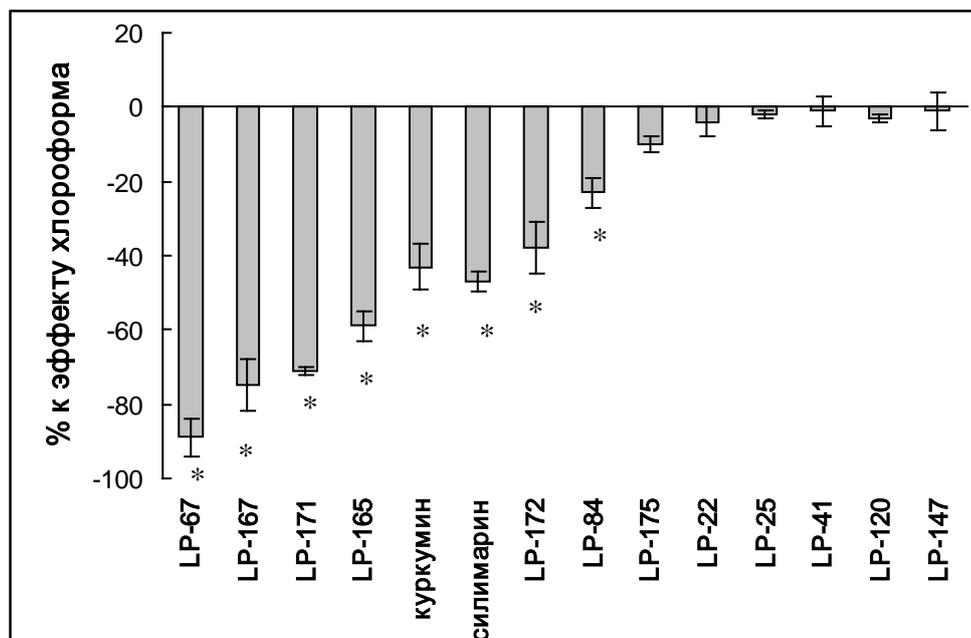


Рисунок 1 Эффект простаноидов на высвобождение ЛДГ из гепатоцитов, индуцированное 0,14% хлороформом

Представленные результаты соответствуют эффектам соединений в максимально эффективных концентрациях (LP-167 – 10^{-10} моль/л; LP-25, LP-120 LP-165, LP-171, LP-172 – 10^{-9} моль/л; LP-22, LP-84, LP-147, LP-175– 10^{-8} моль/л; куркумин, силимарин, LP-41, LP-67, ПГ₂ – 10^{-7} моль/л). * - различия достоверны при $p \leq 0,05$ (n=3).

МАКСИМАЛЬНЫЙ ЗАЩИТНЫЙ ЭФФЕКТ НАБЛЮДАЛСЯ В ПРИСУТСТВИИ ПРОСТАНОИДОВ, ОБЛАДАЮЩИХ C₁₅-ПИРИДИЛОВЫМ ИЛИ ПИРРОЛИДОНИЛОВЫМ ФРАГМЕНТОМ ВΩ-ЦЕПИ. ПРИМЕЧАТЕЛЬНО, ЧТО ДЕЙСТВИЕ ЭТИХ СОЕДИНЕНИЙ ЗНАЧИТЕЛЬНО ПРЕВОСХОДИЛО АНАЛОГИЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ ШИРОКО ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ ФЛАВОНОИДНОЙ (СИЛИМАРИН) И КУРКУМИНОИДНОЙ (КУРКУМИН) ПРИРОДЫ, СНИЖАВШИХ ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ХЛОРОФОРМА НА 47,3 И 42,7 %, СООТВЕТСТВЕННО.

ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЦИТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ПГ НА СУБКЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ ОЦЕНЕН ВЫХОД В ИХ ПРИСУТСТВИИ ГДГ И КФ ИЗ ГЕПАТОЦИТОВ, ОБРАБОТАННЫХ ХЛОРОФОРМОМ. КАК ПОКАЗАНО НА РИС. 2, ВНЕКЛЕТОЧНАЯ АКТИВНОСТЬ ГДГ ДОСТОВЕРНО СНИЖАЛАСЬ В ПРИСУТСТВИИ ПРОСТАНОИДОВ LP-172 (-57,1%), LP-84 (-27,4%), LP-171 (-51,0%), LP-165 (-38,7%), А КФ – В ПРИСУТСТВИИ АНАЛОГОВ LP-67 (-71,4%), LP-84 (-46,0%), LP-165 (-97,2%), LP-171 (-97,9 %). ПОДОБНОЕ РАЗЛИЧИЕ В ДЕЙСТВИИ ПГ НА ПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ И ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАНЫ МОЖЕТ БЫТЬ СВЯЗАНО С ОСОБЕННОСТЯМИ ИХ СОСТАВА И СТРОЕНИЯ ПОСЛЕДНИХ.

Выводы

В ходе проведенной работы было оценено защитное действие 12 аналогов группы Н на клеточной модели повреждения гепатоцитов хлороформом. Выявлен выраженный цитопротекторный эффект 6 простаноидов, характеризующихся наличием пиридинового или пирролидонового фрагмента в ω-цепи.

Список литературы

1. Kim, H. A case of acute toxic hepatitis after suicidal chloroform and dichloromethane ingestion / H. Kim // *Am. J. Emerg. Med.* – 2008. – Vol. 26, № 9. – P. 1073. e3-6.
2. Mechanism of chloroform-induced renal toxicity: non-involvement of hepatic cytochrome P450-dependent metabolism / C. Fang [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 227, № 1. – P. 48-55.
3. Губич, О.И. Исследование роли цАМФ в реализации гепатопротекторного действия 9,11-этан-аналогов простагландинов группы H *in vitro* // Тезисы докладов XVI Междунар. научн. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых “Ломоносов-2009”, Москва, МГУ, 13-18 апр. 2009. – с. 45.
4. Berry, M. N., Friend, D.S. High-yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells / M. N. Berry, D.S. Friend // *J. Cell Biol.* – 1969. – Vol. 43, №3. – P.506-520.
5. Бондарь, Н.Ф, Омельченко, Т.Н., Лахвич, Ф.А. Новые карбоциклические аналоги эндоперекиси ПГН₁ // *ЖОрХ.* – 1989. - Т. 25, № 1. – С. 206-207.
6. Weisshaar, D., Grossnouw, E., Faderl, B. Normbereiche von α -HBDH, LDH, AP und LAP bei Messung mit substrat-optimierten Testansätzen / D. Weisshaar, E. Grossnouw, B. Faderl // *Med.Welt.* – 1975. – Vol. 26, №9. – P. 387-390.
7. Schmidt, E. Glutamate dehydrogenase / E. Schmidt // *Methods of enzymatic analysis* / H.U. Bergmeyer. – New York, 1974. – P. 496-499.
8. Bergmeyer, H.U., Gawehn, K., Grassl, M. Phosphatase acid / H.U. Bergmeyer, K. Gawehn, M. Grassl // *Methods of enzymatic analysis* / H.U. Bergmeyer. – New York, 1974. – P. 495-496.
9. Mechanisms of chloroform-induced hepatotoxicity: oxidative stress and mitochondrial permeability transition in freshly isolated mouse hepatocytes / A.S. Burke [et al.] // *J. Toxicol. Environ. Health.* – 2007. – Vol.70, № 22. – P. 1936-1945.