

*На правах рукописи*

**Габдрахманова Инга Данировна**

**Гепатопротекция тетрахлорметан-  
индуцированных повреждений у взрослых и  
старых крыс комплексным соединением  
янтарной кислоты с 1,3,6-триметил-5-  
гидроксиурацилом**

14.03.03. – патологическая физиология

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

Уфа – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Еникеев Дамир Ахметович**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор

**Цыган Василий Николаевич**

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, кафедра патологической физиологии, заведующий кафедрой

доктор биологических наук, профессор **Архипенко Юрий Владимирович**  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, главный научный сотрудник

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 г. в \_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.072.05 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1. и на сайте университета <http://rsmu.ru>

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
кандидат медицинских наук,  
доцент



**Кузнецова Татьяна Евгеньевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

В современной стареющей популяции людей патология гепатобилиарной системы распространена достаточно широко.

По данным С.Д. Подымовой (1998) она достигает 60 случаев на 10000 населения. В Российской Федерации доля лиц с такой патологией в возрасте 60 лет и старше увеличилась с 12 до 18,5%, а доля лиц 75 лет и старше с 2,5 до 4,1% населения страны (Донцов В.М., 1999). Всемирная организация здравоохранения ежегодно отмечает увеличение доли заболеваний печени, вызываемых ксенобиотиками. Известно около 80000 ксенобиотиков и более 200 лекарственных средств, способных вызывать гепатотоксические эффекты (Арчаков А.И., Корузина И.И., 1988; Шифф Юджин, 2012). Номенклатура гепатотоксических средств и объемы их производства растут из года в год, и неизбежно будут расти еще неопределенное время.

Ежегодно на земном шаре погибает около 2 млн. человек с разными формами HBV-инфекции, из них около 100 тысяч – от фульминантных форм вирусного гепатита, еще полмиллиона – от острой инфекции, около 700 тысяч – от цирроза и около 300 тысяч – от карцином печени.

В России экономические потери, связанные с лечением больных гепатитами В и С, составляют более 700 млн. рублей в год (Онищенко Г.Г., 2003). Не менее серьезной проблемой в гепатологии являются лекарственные поражения печени, которые регистрируются у больных туберкулезом, бронхиальной астмой, психическими и эндокринными заболеваниями, у онкологических больных (Антонова Т.В., Радченко В.Г. и соавт., 2009). Любая экзоагрессия, проявляющаяся инфекционным, химическим или другим воздействием на организм, сопровождается острым нарушением антитоксической функции печени (Радченко В.Г. и соавторы, 2005; Шифф Юджин, 2011). Острая печеночная недостаточность токсического генеза быстро приводит к гибели больного если несвоевременно выявляются её ранние признаки или если проводится неэффективная терапия (Лужников Е.А. и соавт., 2012).

В связи с этим медикаментозная терапия у лиц пожилого возраста, имеющих сниженные функциональные резервы печени, связана со значительными ограничениями и трудностями. К этой категории относятся, прежде всего, больные, перенесшие инфекционные гепатиты, злоупотребляющие алкоголем, а также работники вредных производств (Карамова Л.М., 2002; Фёклина Т.Ю. и соавт., 2003).

В соответствии с современными принципами лечения заболеваний печени, программа комплексной терапии включает – патогенетическое звено, направленное на адекватную коррекцию универсальных, мультифакторных и разновременных звеньев патогенеза (Ивашкин В.Г., 2005; Венгеровский А.И. и соавт., 2005; Оковитый С.В. и соавт., 2010).

Универсализм звеньев патогенеза различных поражений печени позволяет при полиэтиологичности этой патологии использовать близкую патогенетическую терапию, основу которой составляют лекарственные средства с направленным действием на печеночные клетки. Ассортимент лекарственных средств, применяемых в комплексной терапии заболеваний печени, насчитывает более 1000 наименований, но среди них имеется лишь небольшая группа препаратов (гепатопротекторов), оказывающих избирательное действие на печень, направленное на восстановление гомеостаза в печени, повышению устойчивости органа к действию патогенов, нормализацию функциональной активности и стимуляцию его репаративно-регенераторных процессов (Радченков В.Г. и соавт. 2012; Есауленко Е.В., 2014; Оковитый С.В., 2002; 2010).

Однако известные гепатопротекторы не являются достаточно эффективными. Онтогенетический аспект этой проблемы практически не разработан (Зимницкий А.Н., 2005).

Получившая в геронтологии признание концепция свободнорадикальных механизмов старения и повреждения клетки предполагает, что свободные радикалы, несомненно, могут играть важную роль в патогенезе химического поражения печени в стареющем организме, а антиоксиданты являются средствами патогенетической терапии. В этой связи обращает внимание тот факт, что гепатопротекторное действие многих лекарственных средств, применявшихся ранее эмпирически, впоследствии было объяснено обнаруженными у них антиоксидантными свойствами (Саратиков А.С. и соавт., 1995). Поэтому обнаружение у нового производного пиримидина-1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила выраженных свойств антиоксиданта (Мышкин В.А., 2010) позволило предположить его эффективность в качестве гепатопротекторного средства, что в дальнейшем и было установлено на моделях поражения взрослых крыс дихлорэтаном, ПХБ-содержащим препаратом «Совтол-1» и алкоголем (Савлуков А.И., 2002; Мышкин В.А., 2010).

У старых крыс значение данного механизма было показано В.Н. Черновым (2007) на модели поражения печени тетрахлорметаном. В то же время известно, что важным патогенетическим механизмом усиления процессов свободнорадикального окисления в мембранах гепатоцитов взрослых крыс при химических поражениях печени являются гипоксия/ишемия (Голиков С.Н. и соавт., 1986; Ивницкий Ю.Ю. и соавт., 1989; Западнюк В.И., 1997).

Это определило перспективу исследований препаратов, сочетающих антиоксидантную активность метилпроизводных урацила и противогипоксическое действие известных лекарственных средств. К числу подобных препаратов, положительно зарекомендовавших себя в клинике и эксперименте, относятся соединения, содержащие янтарную кислоту, либо ее производные (Кожока Т.Г., 2007).

Т.Г. Кожока выделяет антигипоксанты/антиоксиданты в отдельную группу препаратов – «энергосберегающие средства – антигипоксанты», куда он включил и сукцинатсодержащие препараты, разработанные на основе янтарной кислоты и/или её солей в подгруппу «регуляторы энергетического обмена/субстраты энергетического обмена». Их активным компонентом является янтарная кислота (ЯК) – универсальный энергообеспечивающий интермедиат – продукт пятой и субстрат шестой реакций цикла трикарбоновых кислот Кребса. К таким препаратам может быть отнесено и новое комплексное соединение «янтарная кислота+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил», синтезированное в Уфимском институте химии РАН. Вместе с тем возможности данного препарата по коррекции структурно-функциональных нарушений печени тетрахлорметаном у животных разного возраста остаются неизученными, что и определило целесообразность данного исследования.

В связи с вышеизложенным, **целью данной работы** явилось патогенетическое обоснование применения сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила для коррекции структурно-функциональных нарушений печени при поражении взрослых и старых крыс тетрахлорметаном.

#### **Задачи исследования:**

• Изучить функционально-метаболическое состояние печени у взрослых и старых крыс при воздействии тетрахлорметана;

- Оценить гепатозащитную активность сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и отдельных его составляющих на экспериментальной модели острого токсического поражения печени;
  - Исследовать структурные изменения в печени при действии тетрахлорметана на фоне применения сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила;
  - Сравнить выраженность дисбаланса системы ПОЛ-АОЗ в печени, полушариях головного мозга и эритроцитах путем определения коэффициента для взрослых и старых крыс при отравлении тетрахлорметаном и на фоне применения сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила;
  - Изучить антитоксические эффекты сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и отдельных его составляющих при острой интоксикации взрослых и старых крыс тетрахлорметаном;
  - Исследовать антигипоксическую активность сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и отдельных его составляющих на моделях острой гипоксии;
  - Изучить антиоксидантные/антирадикальные свойства сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и отдельных его составляющих в модельных системах;
  - Сопоставить антиоксидантную и противогипоксическую активность сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила с его гепатопротективным действием у взрослых и старых крыс.

#### **Степень разработанности темы.**

В настоящее время достаточно хорошо изучены функционально-морфологические нарушения в печени при действии тетрахлорметана (ТХМ) и коррекция их известным препаратом сукцината с мексидолом, сукцината с оксиметилурацилом и др. В нашей работе исследовался совершенно новый комплексный препарат сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил, полученный методом клатрирования (комплексообразования) в Уфимском институте химии РАН, который уже в предварительных экспериментах показал большую гепатозащитную эффективность при отравлении ТХМ взрослых и старых крыс.

#### **Научная новизна**

Определенной новизной характеризуется вся совокупность полученных результатов. На экспериментальной модели тетрахлорметан-индуцированного поражения печени взрослых и старых крыс впервые:

- Изучено влияние комплексного соединения сукцината с 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом на структурно-функциональное состояние печени крыс в позднем онтогенезе в комплексе с оценкой функционирования систем «Перекисное окисление липидов-антиоксидантная защита» и влияние на процессы свободно-радикального окисления в модельных системах.
- Установлено благоприятное действие комплексного соединения на структурную целостность печени старых крыс и корригирующее влияние на деструктивно-некротические эффекты тетрахлорметана.
- Выявлено определенное преимущество сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила по сравнению с отдельными его составляющими, выражающееся в большей полноте гепатозащитного действия и эффективности коррекции метаболических нарушений у старых крыс.
- Обнаружено, что в механизмах гепатозащитного действия сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила у взрослых и старых крыс имеет значение его влияние на процессы перекисного окисления липидов, а также на ферментные и неферментные системы антиоксидантной защиты.

- Определены интегральные показатели дисбаланса в системах перекисного окисления липидов и антиокислительной защиты в печени, полушариях головного мозга и эритроцитах взрослых и старых крыс, что позволило сравнить их активность у взрослых и старых особей на начальном этапе токсогенеза.

### **Практическая и теоретическая значимость работы**

Полученные результаты могут быть использованы при оценке патогенетической значимости свободнорадикальных механизмов токсического действия химических факторов производственной среды на печень у лиц старших возрастных групп. Определение интенсивности процессов перекисного окисления липидов, активности фермента урострофилы одновременно с ферментами: гамма-глутамилтранспептидазой, щелочной фосфатазой, аспаргатаминотрансферазой с целью выявления состояний, увеличивающих риск производственных поражений печени может быть использовано при реализации программ обследования лиц старших возрастных групп, контактирующих с потенциальными гепатотоксикантами. Обоснование возможности гепатопротекции с использованием комплексных соединений сукцината с метилпроизводными 5-гидроксиурацила (на примере сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила) свидетельствует о перспективности дальнейшей экспериментальной и клинической разработки данного класса соединений с целью коррекции гепатотоксичности на поздних этапах онтогенеза.

Полученные данные дополняют представления о важной роли системы перекисного окисления липидов и активности систем антиоксидантной защиты в патогенезе гепатотоксических нарушений у крыс в позднем онтогенезе. Обнаруженное потенцирование сукцинатом антиоксидантных эффектов и противогипоксической активности метилпроизводных-5-гидроксиурацила позволяет на этой основе вести поиск новых эффективных препаратов.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- 1) Дисбаланс в системах «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» является наиболее общим звеном токсогенеза у взрослых и старых крыс. Выявленные различия дисбаланса в органах и тканях образуют у взрослых крыс убывающий ряд в последовательности: печень > эритроциты > полушария головного мозга, а у старых крыс: эритроциты > печень > полушария головного мозга.
- 2) Антиоксидантное действие сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила при токсическом поражении печени у взрослых и старых крыс включает в себя два компонента: торможение активации перекисного окисления липидов и предотвращение угнетения антиоксидантных систем.
- 3) Применение сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила для коррекции токсического поражения печени у взрослых и старых крыс способствует предупреждению цитолиза, холестаза, гиперферментемии, ослаблению некроза гепатоцитов и сохранению целостной структуры печени. Препарат является эффективным средством коррекции дисбаланса в системах перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у крыс на позднем этапе онтогенеза.
- 4) В механизме гепатозащитного действия сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила имеют значение антиоксидантные свойства, антиоксидантное действие и противогипоксическая активность препарата.

### **Внедрение результатов исследования.**

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедрах: фармакологии с курсом клинической фармакологии, патологической физиологии,

мобилизационной подготовки здравоохранения и медицины катастроф, биологической химии, фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии, ЦНИЛ Башкирского государственного медицинского университета, УФИХ УФИЦ РАН.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности 14.03.03 – патологическая физиология.**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.03.03 – патологической физиологии, конкретно п.8 («Анализ взаимоотношений общего и частного, части и целого, единства и борьбы противоположностей в динамике развития патологического процесса») и п.10 («Разработка новых путей этиологической, патогенетической и саногенетической терапии с учетом взаимодействия терапевтических факторов с защитно-приспособительными механизмами организма») паспорта специальности «патологическая физиология».

### **Апробация работы**

Основные результаты работы доложены в следующих международных конференциях: Юбилейная научно-практическая конференция «90 Лет НИИ ЭПИТ АНО» – 21-22 сентября 2017 г., г. Сухум, Абхазия, 85-я Всероссийская научная конференция студентов и молодых ученых с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины», 6-7 апреля 2020 г., г. Уфа., Всероссийская научно-практическая конференция «Типовые патологические процессы: современные тренды в науке», посвященная 130-летию кафедры патофизиологии Императорского Томского университета – Томского медицинского института – Сибирского государственного медицинского университета, 20-21 мая 2020, г. Томск., 23-я конференция молодых исследователей в СПбГУ – г. Санкт-Петербург, 26 сентября 2020 г.

### **Структура и объем диссертации**

Работа изложена на 163 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 54 таблицами и 19 рисунками. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 7 глав собственных исследований, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающий 197 отечественных и 68 иностранных источников.

### **Публикации**

Материалы диссертации опубликованы в 5 журнальных статьях, входящих в список SCOPUS и ВАК РФ, в одной монографии, в главах 5 учебных руководств и пособий, в 1 патенте РФ и в 5 тезисах Российских и Международных научных конференций.

### **Личный вклад автора.**

Автором внесен определенный вклад во все этапы выполнения диссертационной работы, в том числе разработка основной научной идеи, анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, планирование, дизайн исследования в рамках научного направления кафедры «Патофизиология экстремальных и терминальных состояний». При выполнении работы автор лично участвовал в постановке и проведении ключевых патофизиологических экспериментов, лабораторных и патоморфологических исследований, в анализе и сравнении полученных результатов с биохимическими и патоморфологическими данными, научной интерпретации, обсуждении результатов и формулировке выводов. Автор также участвовал в оформлении научных статей и заявки на патент РФ, делал устные и стендовые сообщения на конференциях.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Методические вопросы исследования

Исследование проведено на взрослых крысах-самцах, массой 250-280 грамм (возраст 9-12 месяцев) и старых крысах - самцах, со средней массой 395 грамм (возраст 26 месяцев). В соответствии с поставленной целью у животных указанных возрастных групп вызывали токсический гепатит путем подкожного введения 50% масляного раствора тетрахлорметана в дозе 2 г/кг на протяжении 4 дней (Ю.И. Губский, 1986). Исследуемые препараты: комплексное соединение сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила в дозе 50 мг/кг, сукцинат и производное урацила 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил в дозах по 50 мг/кг вводили внутривенно 3 раза в сутки на протяжении первых 4 дней, а в последующем – 1 раз в сутки на протяжении всего опыта, т.е. 5-7 суток.

В каждой серии эксперимента использовали по 6 групп: 1-интактные; 2- контроль (ТХМ); 3- комплекс «сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил»+ТХМ; 4-сукцинат + ТХМ; 5-1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил+ТХМ; 6-референтный препарат (силимарин либо мексидол)+ТХМ. Исследуемые препараты вводили за 1 час до ТХМ.

#### У взрослых и старых крыс изучали:

- Морфофункциональные показатели (массу тела, массу печени, плоидность гепатоцитов, количество купферовских клеток, гистологические препараты печени).
- Биохимические показатели крови (активность уробилиназы, АЛТ, АсАТ,  $\gamma$ -глутамилтранспептидазу, ЩФ, холестерин, билирубин, триглицериды, белок).
- Интенсивность процессов свободно-радикального окисления и антиокислительной защиты в печени, эритроцитах, полушариях головного мозга путем определения продуктов ПОЛ и активности ферментов АОЗ с определением в отдельных сериях коэффициента дисбаланса в системах ПОЛ-АОЗ.
- Морфологические особенности действия ТХМ, сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и референтных гепатозащитных средств у взрослых и старых крыс изучали гистологическим методом.
- Антирадикальную активность сукцината 1,3,6-триметил-урацила и исследовали в модельных системах различной сложности.
- Антитоксическую активность исследуемых препаратов оценивали на моделях острого отравления взрослых и старых крыс тетрахлорметаном.
- Противогипоксическую активность исследуемых препаратов проводили в экспериментах на белых мышах в условиях воздействия острой гемической гипоксии и острой гипоксической гипоксии.

Массу печени определяли, руководствуясь «Методическими рекомендациями по доклиническому изучению гепатозащитных средств ФК РФ (2005)». Для гистологического изучения печень извлекали и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, проводили через спирты и заливали в парафин по стандартной методике приготовления гистологических препаратов (Г.А. Меркулов, 1969). Проводили серийные срезы печени. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Приготовленные препараты изучали в светоптическом микроскопе Leica DMD 108 (Германия). Окуляр  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$  при 200 и 400 кратном увеличении. Сравнительный анализ полученных результатов проводили по комплексу морфологических признаков (Г.И. Непомнящих, 2008).

В комплекс биохимических исследований входило определение общего белка (г/л), холестерина (моль/л), триглицеридов (моль/л), билирубина (мкмоль/л),

маркеров цитолиза – по активности ферментов уруканиназы (УрН, ммоль/ч\*л), аланинаминотрансферазы (АлАТ, ммоль/ч\*л), аспаргатаминотрансферазы (АсАТ, ммоль/ч\*л) и маркеров холестаза – по активности щелочной фосфатазы (ЩФ, ммоль/ч\*л) и  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы ( $\gamma$ -ГТП).

Биохимические исследования выполняли на анализаторах «Епсого» (Австрия). Оценку гепатозащитного действия сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила, составляющих его субстанций и референтного гепатопротектора-силлимарина проводили путём определения индекса эффективности гепатозащитного действия исследуемых препаратов – ИЭ (в%) - долевой разницы показателей тяжести поражения печени в контрольной группе и группах животных, получивших препараты. ИЭ гепатозащитного действия определяли по формуле:

$$\text{ИЭ} = \frac{(\text{Ик}-\text{Ио})}{\text{Ик}} * 100, \text{ где}$$

Ик и Ио – среднее значение показателей соответственно в контрольной и опытной группах. ИЭ вычисляли отдельно по данным функциональных показателей (общий билирубин, общий белок, холестерин, триглицериды) и показателям ферментативных маркеров повреждения печени (УрН, АлАТ, АсАТ, ЩФ).

Активность процессов свободно-радикального окисления в гомогенатах печени, полушариях головного мозга и гемолизате эритроцитов выявляли путем определения содержания продуктов перекисного окисления липидов и активности ферментных и неферментных систем антиоксидантной защиты.

Навески ткани печени промывали ледяным фосфатным буфером pH 7.45, гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе при охлаждении с 5 мл буфера. Буферным раствором гомогенат разводили до содержания белка 1 мг/мл.

Концентрацию первичных и вторичных продуктов ПОЛ определяли в гептан-изопропаноловых экстрактах по методу И.А. Волчегорского и соавт. (2000). Липиды тканей извлекали гептан-изопропаноловой смесью, которую затем разделяли. В обеих фазах измеряли поглощение при 233нм (ацилгидроперекиси), при 278нм (кетодиены и сопряженные триены). Содержание продуктов ПОЛ рассчитывали в каждой фазе в условных единицах.

ТБК-реагирующие продукты (ТБК-РП) изучали с использованием набора реактивов «ТБК-АГАТ» фирмы «АГАТ-МЕД». Продукты ПОЛ с тиобарбитуровой кислотой при кипячении образуют окрашенный комплекс, который экстрагируется бутанолом. В экстракте определяют оптическую плотность комплекса по разности поглощения при  $\lambda=535$  нм и 570 нм.

О состоянии систем антиоксидантной защиты печени, полушарий головного мозга и эритроцитов судили по активности в гомогенатах (гемолизате) супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГПО), содержанию восстановленного глутатиона и SH-групп. Определение активности СОД осуществляли с использованием реагентов «RANSOD» фирмы «Randox Labor. LTD». Активность фермента выражали в ед/мг белка в пробе. Для определения активности глутатионпероксидазы (ГПО) [КФ 1.11.1.9] использовали наборы реагентов «Glutation Peroxidasa» фирмы «Randox Labor. LTD». Расчет активности фермента производили в ЕД/мг белка, содержащегося в гомогенате печени с учетом коэффициента молярной экстинкции образования НАДФ и объема пробы. Определение активности каталазы [КФ 1.11.1.6] производили по методу, описанному М.А. Королук и соавт. (1988). Активность фермента рассчитывали в мкмоль субстрата на мг белка в пробе за 1 мин. Кроме того, два взаимосвязанных процесса – ПОЛ и АОЗ выражали одним цифровым значением К-коэффициентом дисбаланса по формуле (Мышкин В.А. и соавт. 2016):

Таблица 1 - Дизайн исследований

Этапы исследования	Группы животных модели	Исследуемые показатели
<b>1 этап</b> Активность процессов ПОЛ и АОЗ в организме взрослых и старых крыс и структурно-функциональные изменения печени при воздействии ТХМ n=90	1. контрольные интактные А-взрослые крысы Б-старые крысы 2. введение ТХМ в течение 4х дней А-взрослые крысы Б-старые крысы	А. весовые коэффициенты внутренних органов взрослых и старых крыс Б. маркеры функционального состояния печени (билирубин, холестерин, ЛПНП, активность АЛТ, АСТ, УрН, ЩФ, ГТП в сыворотке крови) и её гистологическая структура. В. продукты ПОЛ (ацилгидроперекиси, ТБК-РП) активность каталазы, СОД, ГПО в эритроцитах, печени, полушариях головного мозга, коэффициент дисбаланса в системах ПОЛ-АОЗ
<b>2 этап</b> Эффективность влияния комплексного соединения «Сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил», сукцината, 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и силимарина на структурно-функциональное состояние печени взрослых крыс. n=60	1. контрольная 2. ТХМ в течение 4 дней в дозе 2 г/кг 3. Введение комплекса «сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и ТХМ 4. Введение сукцината и ТХМ 5. Введение 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и ТХМ 6. Введение силимарина и ТХМ	А. маркеры функционального состояния печени: (общий белок, билирубин, холестерин, ЛПНП, УрН, ЩФ, АЛТ, АСТ), определение ИЭ гепатозащитного действия исследуемых препаратов. Б. гистологическая структура печени. В. продукты ПОЛ (ДК, ТБК-РП), каталаза, СОД, ГПО, глутатион восстановленный в печени.
<b>3 этап (n=60)</b> Влияние комплексного соединения «сукцинат + 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил», сукцината, 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и референтного препарата силимарина на структурно-функциональное состояние печени старых крыс.	1. Контрольная 2. ТХМ-введение в течение 4 дней (2г/кг) 3. Комплекс + ТХМ 4. Сукцинат + ТХМ 5. 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил + ТХМ, 6. Силимарин + ТХМ	А. маркеры функционального состояния печени (общий белок, билирубин, холестерин, ЛПНП, УрН, ЩФ, АЛТ, АСТ), индекс эффективности (ИЭ) гепатозащитного действия. Б. Гистологическая структура. В. Продукты ПОЛ (ДК, ТБК-РП), каталаза, СОД, ГПО, глутатион восстановленный в печени.
<b>4 этап</b> 4.1 Влияние 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и сочетания «сукцината+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила на выживаемость крыс при острой интоксикации ТХМ и ДХЭ. n=106		А. модель острого отравления крыс тетрахлоорметаном (однократно внутривенно 7,8г/кг) Б. модель острого отравления крыс дихлорэтаном (однократно внутривенно 717 мг/кг)

Этапы исследования	Группы животных модели	Исследуемые показатели
4.2 Влияние исследуемых препаратов на продолжительность жизни мышей при острой гипоксии n=100	А. модель острой гипоксической гипоксии (ОГГ)- подъем в барокамере на высоту 11.500 метров со скоростью 30 м/сек	
	Б. модель острой гемической гипоксии (ОГЕГ) – натрия нитрит п/кожно 130 мг/кг	
4.3 Влияние исследуемых препаратов на свободно-радикальное окисление в модельных системах	А. модельная система «этилбензол-ледяная уксусная кислота». Определение константы K <sub>7</sub> -скорости взаимодействия радикалов этилбензола с молекулами изучаемого соединения.	
	Б. Fe <sub>2</sub> <sup>+</sup> - аскорбат индуцированная система ПОЛ (гомогенат печени взрослых и старых крыс, количество ТБК - реагирующих продуктов).	

$K_{\text{дисбаланса ПОЛ-АОЗ}} = \left( \frac{\text{ПП}_0}{\text{ПП}_K} + \frac{\text{ВП}^0}{\text{ВП}_K} \right) : \left( \frac{\text{ФАО}_0}{\text{ФАО}_K} + \frac{\text{НФАО}_0}{\text{НФАО}_K} \right)$ , где ПП – первичные продукты ПОЛ; ВП – вторичные продукты ПОЛ; ФАО – ферментные антиоксиданты; НФАО – неферментные антиоксиданты; К – контроль; О – опыт

Антиоксические эффекты сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и препаратов сравнения изучали на моделях острого отравления крыс тетрахлорметаном 7,7 г/кг (внутрижелудочно) и дихлорэтаном (713 мг/кг (внутрижелудочно).

Исследуемые препараты вводили внутривентриально 1 раз в сутки в течение 3х дней. Последнее введение осуществляли за 3 часа до отравления. Оценивали выживаемость крыс. Острую гипоксическую гипоксию моделировали в опытах на мышах в барокамере (подъем до «площадки», на высоте 11.500м со скоростью 30 м/с). Оценивали количество выживших животных и продолжительность жизни.

Острую гемическую гипоксию у мышей вызывали путем подкожного введения нитрита натрия в дозе 180 мг/кг.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли при помощи персонального компьютера с использованием пакета программ Statistica 5,0. Рассчитывали средние значения исследуемых показателей в виде  $M \pm m$  и критерия Стьюдента [С. Гланц, 1999]. При оценке выживаемости/смертности в группах «опыт-контроль» использовали критерий  $\chi^2$  (хи-квадрат) [М.Л.Беленький, 1963].

### Результаты исследования

#### Структурно-функциональные изменения в организме взрослых и старых крыс при действии тетрахлорметана

Процессы свободно-радикального окисления, лежащие в основе метаболизма клеток и определяющие адаптивную состоятельность организма к действию повреждающих агентов, представляют собой с одной стороны важное и необходимое звено нормальной жизнедеятельности клеток, а с другой выступают как универсальное неспецифическое звено в развитии многих патологических процессов (Зенков Н.К., 2008; Bantista Y., 2000). На основании полученных нами результатов можно сделать вывод о том, что введение ТХМ взрослым и старым крысам сопровождается изменениями интенсивности свободно-радикальных процессов, которые выражаются, как правило, в усилении ПОЛ у животных разного возраста, но при этом имеют место тканевые особенности, которые заключаются в величине дисбаланса в системах ПОЛ-АОЗ в органах и тканях, что подтверждается значительным увеличением значения коэффициента дисбаланса  $K_{\text{ПОЛ-АОЗ}}$  в эритроцитах, печени и полушариях головного мозга (рис. 1).

Данный коэффициент позволяет объединить два взаимосвязанных процесса ПОЛ и АОЗ с одним цифровым значением показать направленность и глубину изменений (Давыдов Б.В. и соавт, 1991). Сообщения об анализе дисбаланса показателей

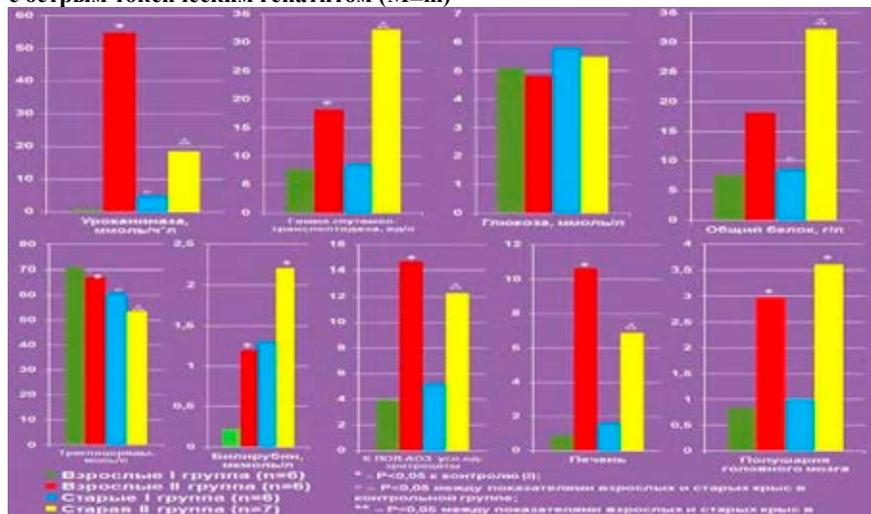
ПОЛ и АОЗ через обобщенный коэффициент содержатся также в других работах (Абакумов М.М. и соавт., 2004; Бенеманский Б.В. и соавт., 2012; Мышкин В.А. и соавт., 2016). У взрослых крыс максимальное значение  $K_{\text{ПОЛ-АОЗ}}$  (коэффициент дисбаланса в системах «перекисное окисление липидов-антиоксидантная защита») выявлено в печени –  $10,6 \pm 0,8$ . Различие с контролем достоверно ( $P < 0,05$ ), а у старых животных – в эритроцитах –  $9,15 \pm 0,6$  ( $P < 0,05$ ) – рис. 5.

Результаты, полученные при изучении содержания первичных продуктов ПОЛ-диеновых конъюгатов и ТБК реагирующих продуктов, у взрослых и старых крыс подтвердили интенсификацию свободнорадикальных процессов при введении в организм животных ТХМ. Характерно, что параллельно с усилением процессов в исследованных органах и тканях токсикант оказывал ингибирующий эффект на состоянии антиокислительной защиты, её ферментативного звена. Таким образом, в условиях моделирования острого гепатита тетрахлорметаном у взрослых и старых крыс возможны два механизма действия яда на окислительный статус: стимуляция свободно-радикальных процессов с повышением интенсивности радикалообразования и снижение эффективности ферментативного звена антиоксидантной защиты.

Другим патогенетическим звеном действия ТХМ является прямое токсическое повреждение ткани печени (т.е. гепатотоксичность). Определение биохимических маркеров функционального состояния печени показало статистически значимое повышение активности органоспецифического фермента уростаниназы и гамма-глутамилтранспептидазы – маркера холестаза (рисунок 1). В обеих возрастных группах установлено значимое повышение уровней билирубина, триглицеридов, активностей аспартаттрансаминаза (АСТ), аланинтрансаминаза (АЛТ) и щелочная фосфатаза (ЩФ), отражающих нарушения гепатобилиарной системы, микроструктуры, проницаемости клеточных мембран, целостности гепатоцитов.

При исследовании гистологической структуры печени интактных крыс и отравленных тетрахлорметаном выявлены изменения, которые можно охарактеризовать как токсический гепатит.

**Рис. 1 - Функционально-метаболические показатели взрослых и старых крыс с острым токсическим гепатитом ( $M \pm m$ )**



При анализе срезов печени старых крыс, которым вводили ТХМ показано, что патологические изменения определялись большей частью вокруг центральных вен. Выявлялись признаки как зернистой (отражающей набухание митохондрий) и гидропической вакуольной (с просветлением цитоплазмы клеток вследствие расширения цистерн эндоплазматической сети), так и балонной дистрофии. Дистрофические изменения в ряде случаев усиливались до парциального некроза цитоплазмы и полного распада органелл с потерей радиальной балочной структуры паренхимы печени. Более тяжелый тип поражений характеризовался выраженными явлениями некробиоза и некроза отдельных групп гепатоцитов, иногда больших областей паренхимы печени в районе центральных вен. Выявлялись ступенчатые и массивные мостовидные некрозы паренхимы печени.

Сравнительная эффективность гепатозащитного действия комплексного соединения сукцината с 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом, сукцината, 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и эталонного гепатопротектора силимарина на модели острого гепатита, моделируемого тетрахлорметаном.

Введение ТХМ взрослым и старым крысам приводит к повреждению различных метаболических систем гепатоцитов и нарушает структуру печени животных примерно в одинаковой степени, что согласуется с данными других исследований (Четыреххлористый углерод МРПТХВ, 1983: Реутов А.А., 2004; Чернов В.Н., 2008). В то же время наблюдается и более значительная активация ПОЛ по показателю количества диеновых конъюгатов в печени интактных опытных и старых крыс по сравнению со взрослыми (рисунок 3). По-видимому, это различие отражает более общую закономерность в изменении активности ПОЛ в ранние сроки после экстремального воздействия (Ястребов А.П., Мещанинов В.Н., 2005; Нестеров Ю.В., 2014).

Комплексное соединение сукцината с 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом статистически достоверно нормализует уровень диеновых конъюгатов гидроперексидей (ДК) ( $P < 0,05$ ) и продукты, активно реагирующие с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-ПИ) ( $P < 0,05$ ) у взрослых и старых крыс и оказывает благоприятное воздействие на АОС печени взрослых и старых животных, но в различной степени: у взрослых крыс применение антиоксиданта восстанавливает активность ферментативного звена АОЗ-каталазы, СОД и ГПО, но не изменяет содержание восстановленного глутатиона. Напротив, у старых крыс препарат способствует сохранению уровня восстановленного глутатиона и активности СОД, но не оказывает положительного влияния на активность каталазы и глутатионпероксидазы (рис. 4).

В целом антиоксидантная коррекция в системах ПОЛ-АОЗ снижает К дисбаланса в указанных системах у взрослых крыс с 10,57 до 2,77 условных единиц и у старых – 6,93 до 2,6 условных единиц соответственно. Это свидетельствует о выраженном антиоксидантном эффекте исследованного комплекса «сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил» в печени крыс обеих возрастных групп.

В следующей серии экспериментов была проведена оценка сравнительной эффективности гепатозащитного действия комплексного соединения «сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил», (составляющих его субстанций-сукцината и 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила) и эталонного препарата силимарина на 60 половозрелых крысах-самцах. Результаты представлены в рис. 5. Они свидетельствуют о высокой, практически равной эффективности комплексного соединения и силимарина по ферментативным показателям активности УрН, АЛТ, АСТ и ЩФ. Индексы эффективности препаратов равны 50,125% и 48,25% соответственно (рис. 5).

В целом антиоксидантная коррекция в системах ПОЛ-АОЗ снижает К дисбаланса в указанных системах у взрослых крыс с 10,57 до 2,77 условных единиц и у

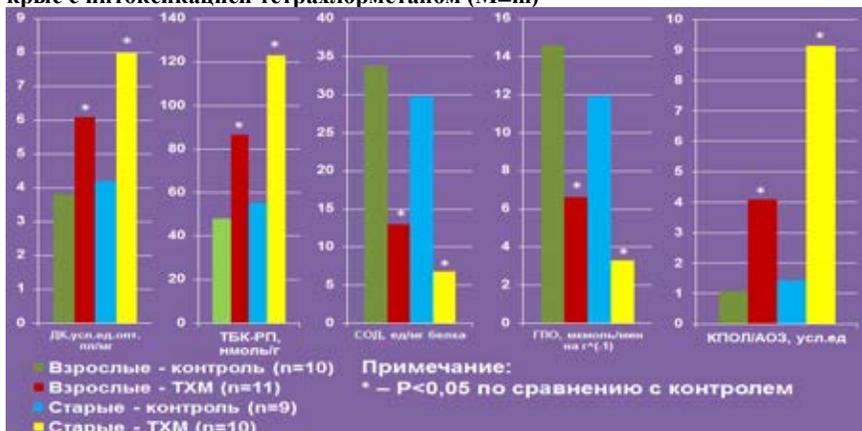
старых – 6,93 до 2,6 условных единиц соответственно. Это свидетельствует о выраженном антиоксидантном эффекте исследованного комплекса «сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил» в печени крыс обеих возрастных групп.

В целом антиоксидантная коррекция в системах ПОЛ-АОЗ снижает К дисбаланса в указанных системах у взрослых крыс с 10,57 до 2,77 условных единиц и у старых – 6,93 до 2,6 условных единиц соответственно. Это свидетельствует о выраженном антиоксидантном эффекте исследованного комплекса «сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил» в печени крыс обеих возрастных групп.

В следующей серии экспериментов была проведена оценка сравнительной эффективности гепатозащитного действия комплексного соединения «сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил», (составляющих его субстанций-сукцината и 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила) и эталонного препарата силимарина на 60 половозрелых крысах-самцах. Результаты представлены в рис. 5. Они свидетельствуют о высокой, практически равной эффективности комплексного соединения и силимарина по ферментативным показателям активности УрН, АЛТ, АСТ и ЩФ. Индексы эффективности препаратов равны 50,125% и 48,25% соответственно (рис. 5).

В целом антиоксидантная коррекция в системах ПОЛ-АОЗ снижает К дисбаланса в указанных системах у взрослых крыс с 10,57 до 2,77 условных единиц и у старых – 6,93 до 2,6 условных единиц соответственно. Это свидетельствует о выраженном антиоксидантном эффекте исследованного комплекса «сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил» в печени крыс обеих возрастных групп.

**Рис. 2 – Содержание продуктов перекисного окисления липидов и активность ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах взрослых и старых крыс с интоксикацией тетрахлорметаном (M±m)**



В следующей серии экспериментов была проведена оценка сравнительной эффективности гепатозащитного действия комплексного соединения «сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил», (составляющих его субстанций-сукцината и 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила) и эталонного препарата силимарина на 60 половозрелых крысах-самцах. Результаты представлены в рис. 5. Они свидетельствуют о высокой, практически равной эффективности комплексного соединения и силимарина по ферментативным показателям активности УрН, АЛТ, АСТ и ЩФ. Индексы эффективности препаратов равны 50,125% и 48,25% соответственно (рис. 5).

В то же время по функциональным показателям – уровню билирубина, холестерина, триглицеридов и общего белка индексы эффективности сравниваемых препаратов составляют соответственно 38,5% к 44,8%, что указывает на чуть большую эффективность силимарина. Сукцинат и производное урацила-1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил менее эффективны по обоим критериям – ферментативным и функциональным, что подтверждается значениями соответствующих индексов эффективности: для сукцината 28,05% и 19,25%, а для производных урацила – 33,9% и 21,3%.

Аналогичные исследования, проведенные на старых крысах-самцах также указывают на более высокую гепатопротективную активность комплексного соединения по сравнению с сукцинатом и метилпроизводными урацила по ферментативным и функциональным критериям, а также на его преимущества перед силимарином по ферментативным показателям: ИЭ комплексного соединения равен 43,4%, а силимарина-36,3%. По функциональным показателям гепатозащитные эффекты двух препаратов близки и равны соответственно 34,2% и 35,9% (рис. 6).

Таким образом, у старых крыс комплексное соединение «сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил» имеет преимущество перед эталонным гепатопротектором силимарином.

Гистологические исследования структуры печени взрослых и старых крыс с токсическим поражением печени на фоне применения комплексного соединения сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом выявил существенные отличия от контрольных животных.

При введении комплексного соединения, а также 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила степень морфологических нарушений по сравнению с контролем была менее выражена: структурная организация гепатоцитов сохранялась, активность деструктивных процессов уменьшилась. Положительное влияние препаратов на развитие острого токсического поражения у старых крыс, так же, как и у взрослых выражалось в сохранении морфологической структуры печени, значительным снижением интенсивности и распространенности дистрофических и некротических процессов. Проведенные исследования позволяют рассматривать комплекс метилпроизводного урацила с янтарной кислотой, как более эффективное по сравнению с его составляющими средство коррекции при повреждении печени некротогенными ядами.

#### **Влияние сукцината и 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и их сочетания на выживаемость крыс при остром отравлении тетрахлорметаном, дихлорэтаном и на продолжительность жизни мышей при острой гипоксии**

Результаты исследований влияния препаратов на выживаемость крыс и мышей при остром отравлении ТХМ и ДХЭ представлены в рис. 8. Они свидетельствуют о том, что при внутрижелудочном введении ТХМ в дозе 7,7 г/кг летальность крыс существенно не изменилась у тех животных, которым сукцинат и 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила вводили раздельно. В то же время, защитный эффект, полученный от совместного введения производного урацила и сукцината, был достоверно выше, что нашло отражение в снижении летальности крыс (41,6%) относительно показателя в контрольной группе (75%). Установлено повышение выживаемости крыс при сочетанном введении сукцината и 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила в условиях острого отравления крыс дихлорэтаном (718 мг/кг), с 20% в контроле до 80% в опытной группе (рис. 13), причем защитный эффект комбинации препаратов достигал действия препарата сравнения – ацетилцистеина, равный 88,8%. На данной модели отравления производное урацила в условиях раздельного применения также достоверно значимо повышало выживаемость крыс – 75% ( $P < 0,05$ ).

В проведенном эксперименте установлено, что совместное применение 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и сукцината существенно повышает резистентность организма крыс и мышей к острой гипоксической и острой гемической гипоксии (рис. 7).

Так, продолжительность жизни мышей при введении этих препаратов достоверно повысилась в 2,3 раза ( $P < 0,05$ ) в условиях острой гипоксической гипоксии и 1,9 раза ( $P < 0,05$ ) при острой гемической гипоксии, причем на модели ОГЕГ комбинация двух препаратов имела преимущество не только перед группой контроля, но и перед группами мышей и крыс, которым производное урацила и сукцинат вводили раздельно: различие в показателях в обоих случаях статистически достоверно (рис. 7).

Таким образом, сочетание 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила с сукцинатом приводило к взаимному усилению их гепатопротективных свойств, а также их анти-токсической и антигипоксической активности. Способность того или иного лекарственного препарата ингибировать свободно-радикальные процессы является значимым показателем при изучении влияния этого соединения на патологические по величине константы  $K_7$ - скорости реакции между молекулами изучаемого соединения (ингибиторами) и перекисными радикалами этилбензола. Препаратом сравнения служил ионол (дибунол) – широко применяемый антиоксидант с антирадикальным механизмом действия.

Они свидетельствуют о высокой антирадикальной активности метилпроизводных урацила  $K_7 > 10^4$  л/моль\*сек равно или превосходившую активность ионола (дибунола) сукцинат(янтарная кислота) и ее производное мексидол на порядок менее активны  $K_7 \approx 10^3$  л/моль\*сек. Введение в систему двух соединений: 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и сукцината оказывает наибольший антирадикальный эффект – отношение  $K_7$  комбинации к  $K_7$  ионола (дибунола) равно 2,9, т.е. комбинация 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил+сукцинат имеют наибольшую константу  $K_7 = 6,78 * 10^4$  л/моль/сек.

В более сложной гетерогенной системе природного происхождения (гомогенат печени) сочетание двух препаратов «1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил + сукцинат» проявляет наиболее сильные антиоксидантные свойства. Они связаны с условиями окисления, химической структурой и некоторыми физико-химическими характеристиками препаратов (таблица 2).

**Таблица 2 – Влияние сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила и дибунола на содержание ТБК-реагирующих продуктов (мкМоль/г ткани) в гомогенатах печени при различных условиях окисления (n=3-4)**

Препараты, концентрация	Условия окисления	Время инкубации, часы		
		2	3	4
Контроль	А	3,397	3,598	3,029
	АК	3,557	4,617	6,000
Дибунол ( $10^{-4}$ )	А	1,397	1,794	1,596
	АК	1,000	1,538	1,314
Сукцинат 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил (0,01 мл)	А	1,835	2,336	2,783
	АК	2,019	3,000	3,363
Сукцинат 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил (0,1 мл)	А	1,512	2,000	2,353
	АК	1,324	2,218	3,112

Примечание: А-автоокисление; АК-индукция аскорбатом.

Рис. 3 – Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты в полушариях головного мозга у взрослых и старых крыс с интоксикацией тетрахлорметаном (M±m)

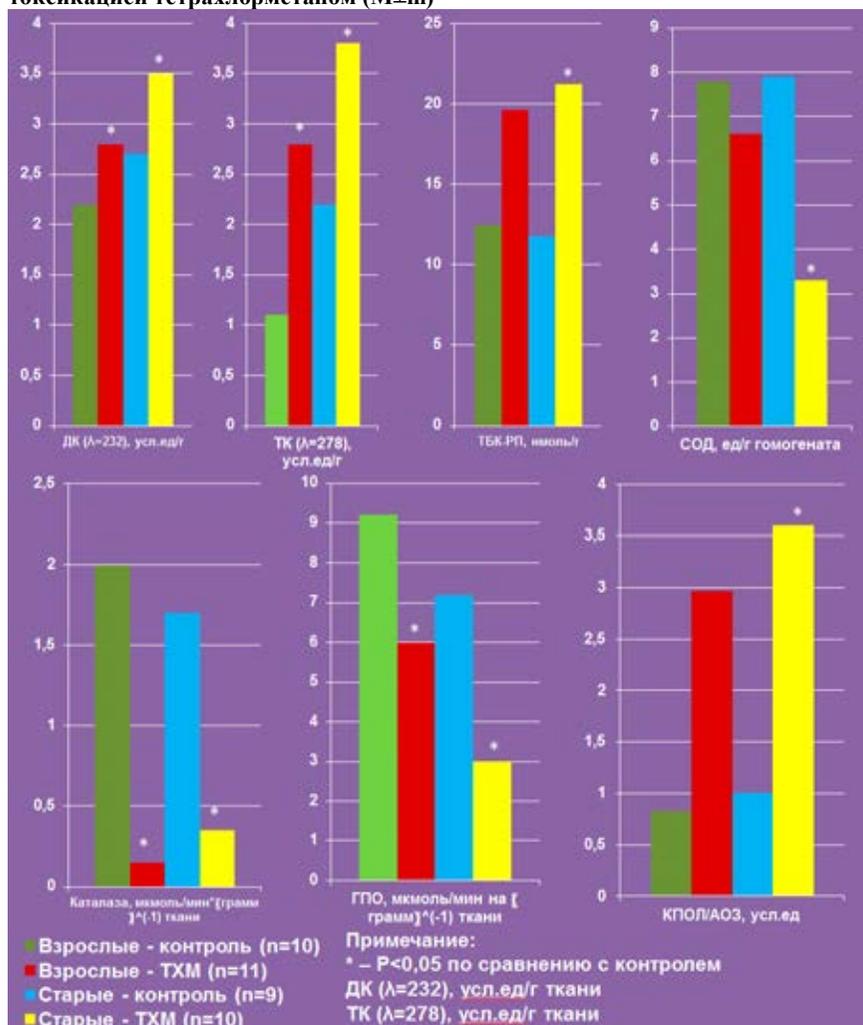


Рис. 4 - Показатели систем «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» в печени взрослых и старых крыс с поражением печени тетрахлорметаном на фоне лечебно-профилактического применения сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила ( $M \pm m$ )

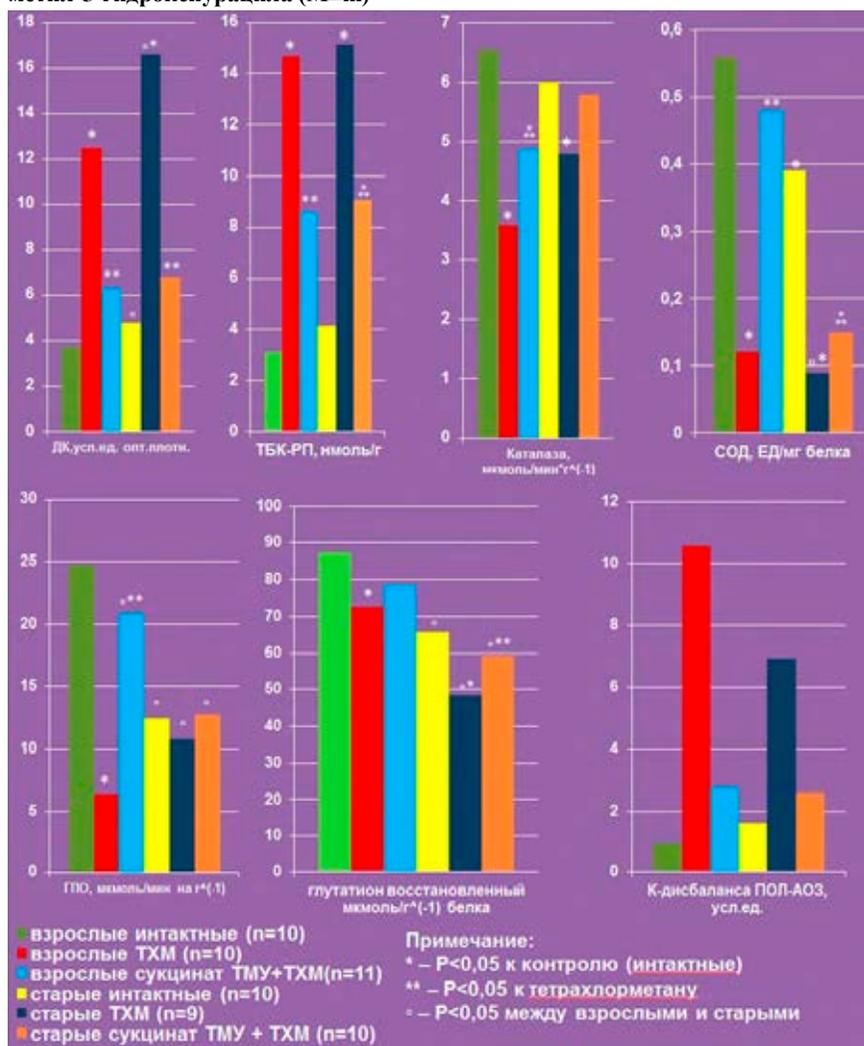


Рис. 5 – Влияние комплексного соединения «сукцинат 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом», составляющих его субстанций и силимарина на биохимические показатели крови взрослых крыс с токсическим повреждением печени (n=10)





Рис. 7 – Влияние 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила сукцината и их совместного применения на продолжительность жизни мышей в острой гипоксии

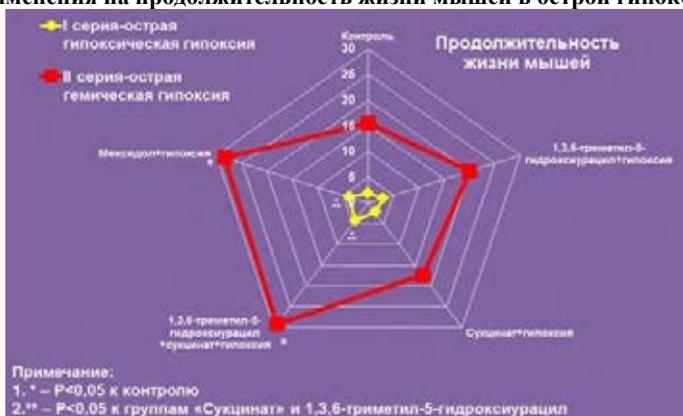
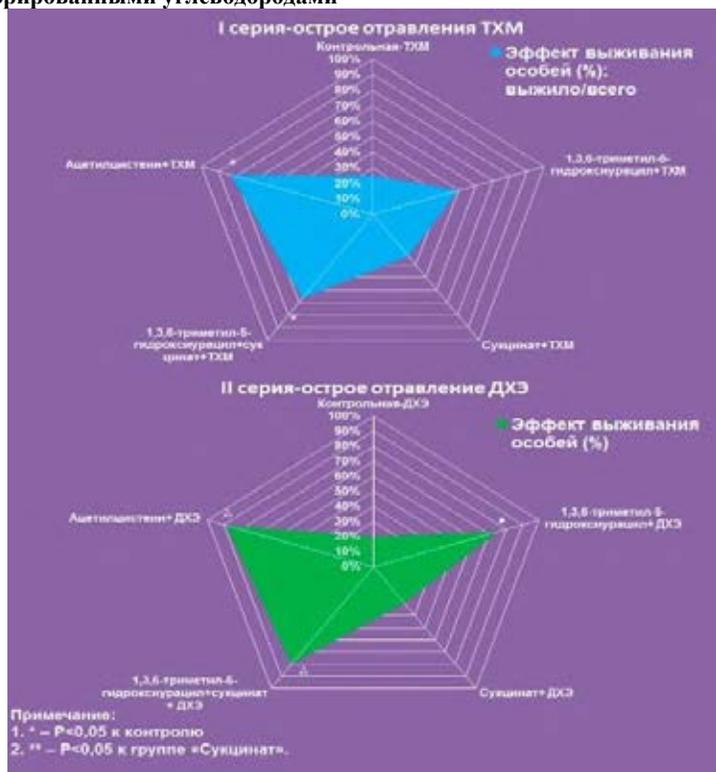


Рис. 8 – Влияние 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила, сукцината и их сочетанного введения крысам на выживаемость взрослых особей при остром отравлении хлорированными углеводородами



**Таблица 3 – Антирадикальная активность производных урацила и янтарной кислоты в модельной системе этилбензол: ледяная уксусная кислота**

Соединение (препарат)	K <sub>7</sub> , л/моль*с	K <sub>7</sub> препарата
		K <sub>7</sub> ионола
1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил	(2,6±0,3)*10 <sup>4</sup>	1,13
3,6-диметил-5-гидроксиурацил	1,07*10 <sup>4</sup>	0,73
1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил+сукцинат	6,78*10 <sup>4</sup>	2,9
Янтарная кислота	(6,4±0,3)*10 <sup>3</sup>	2,7*10 <sup>-1</sup>
Мексидол	2,9*10 <sup>3</sup>	1,26*10 <sup>-1</sup>
Ионол (дибунол)	(2,3±0,6)*10 <sup>4</sup>	1

K<sub>7</sub> рассчитывали по следующей формуле:

$$K_7 = \left( \sqrt{\frac{I_0}{I}} - 1 \right) * \frac{\omega_1 * K_6}{[InH]}, \text{ где}$$

*I*<sub>0</sub> – интенсивность хемилюминесценции (ХЛ) до введения ингибитора;

*I* – интенсивность ХЛ после введения ингибитора;

*ω*<sub>1</sub> – скорость иницирования реакции;

*K*<sub>6</sub> – константа скорости реакции рекомбинации перекисных радикалов этилбензола при данной температуре;

[*InH*] – концентрация ингибитора.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований можно заключить, что потенциально перспективным для дальнейшего изучения в качестве гепатозащитного средства является комплексный препарат, полученный методом клатрирования (комплексобразования) сукцината с 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом, который позволяет в значительной степени предупреждать структурно-метаболические нарушения печени при её химическом поражении. В то же время они свидетельствуют о том, что использование препарата, содержащего янтарную кислоту и метилпроизводное 5-гидроксиурацила, оказывает гепатопротективное действие у животных разного возраста – взрослых и старых, причем в последнем случае наиболее существенно. Важное значение имеет то обстоятельство, что гепатотоксическое действие тетрахлорметана на организм животных реализуется как прооксидантное и вызывает нарушения в системах ПОЛ-АОЗ не только печени, но также в полушариях головного мозга и эритроцитах, причем у старых крыс дисбаланс ПОЛ-АОЗ в эритроцитах более выражен. Нарушения процессов свободнорадикального окисления в эритроцитарной системе у крыс в позднем онтогенезе при экстремальных воздействиях показаны ранее и другими авторами (А.П. Ястребов, 2005; Ю.В. Нестеров, 2014).

Характеризуя молекулярные механизмы положительного эффекта сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила на метаболические процессы в печени с острым токсическим гепатитом, особо следует подчеркнуть его антиоксидантные свойства. По-видимому, они связаны с антирадикальной активностью препарата. Это определило целесообразность проведения эксперимента по определению действия комплекса и составляющих его соединений на процессы свободнорадикального окисления в модельных системах различной сложности. В ходе исследований установлена высокая антирадикальная активность 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила ( $K_7 > 10^4$  моль/л \* с<sup>-1</sup>) сопоставимая с активностью эталонного препарата ионола (дибунола). Введение в систему сукцината в эквимолярной концентрации увеличивает антирадикальную активность метилпроизводного урацила в 2,5 раза.

Таким образом применение комплекса «сукцинат+1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил» в режиме предупредительной коррекции существенно снижает токсические эффекты ТХМ на структуру и метаболизм печени взрослых и старых крыс. При этом препарат оказывает многостороннее действие: гепатозащитное, антиоксидантное, антитоксическое и противогипоксическое, что было подтверждено экспериментами в условиях острой интоксикации ТХМ, дихлорэтан (ДХЭ) и острой гипоксии.

Анализируя установленные гепатозащитные эффекты применявшихся на фоне интоксикации ТХМ сукцината и 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила в сравнительном аспекте, следует отметить их близкую и зачастую равную эффективность для взрослых и старых крыс в отношении изученных показателей, характеризующих отдельные процессы обмена в печени животных. Вместе с тем, нельзя не отметить их более высокую эффективность и выраженность нормализующего влияния в комбинации. По всей вероятности, это объясняется расширением спектра метаболических эффектов на узловое биохимические процессы, мобилизация которых позволяет на данной модели патологии сохранять на достаточном уровне адаптационные сдвиги. Наиболее ценным преимуществом совместного применения сукцината с 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом на фоне ТХМ-индуцированного поражения печени взрослых и старых крыс является сохранение структурной целостности печени как органа и её узловых метаболических процессов, о чём свидетельствуют данные морфологического исследования и высокие индексы эффективности гепатозащитного действия сопоставимые с эталонным гепатопротектором силимаринном.

Резюмируя изложенное, подчеркнем, что выявленная в эксперименте эффективность препаратов с антиоксидантным механизмом действия, с одной стороны, подтверждает предположение о том, что патохимической основой гепатотоксических эффектов ТХМ является развитие тяжелого окислительного стресса в печени, головном мозге и эритроцитах взрослых и старых крыс, а с другой - определяет возможные пути патогенетически обоснованной гепатопротекции. Возможно также, что сукцинат и её производные способны выступать как индивидуальные вещества с непосредственным антирадикальным механизмом действия, а не только как стимуляторы ферментных систем, ответственные за антиоксидантную защиту.

### **Выводы**

- Обоснована актуальность коррекции нарушений баланса в системах «перекисное окисление-антиоксидантная защита» на раннем этапе патогенеза тетрахлорметан-индуцированного поражения печени на основе комплексного исследования процессов свободнорадикального окисления, структурно-функциональных изменений в печени взрослых и старых крыс и гепатозащитной эффективности сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила, обладающего антиоксидантным действием.

- Деструктивно-некротический эффект тетрахлорметана хорошо выражен уже на начальном этапе токсикогенеза у взрослых и старых крыс. Применение сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила для коррекции выявленных повреждений способствует сохранению структурной целостности печени, в значительной степени предупреждает деструктивные нарушения и ослабляет некроз гепатоцитов, что подтверждается сдерживающим влиянием препарата на развитие гиперферментемии и экстремальное повышение активности урочаниназы.

- Сукцинат 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацил устраняет во всех изученных органах взрослых и старых крыс негативные сдвиги, вызванные тетрахлорметаном в системах «перекисное окисление липидов-антиоксидантная защита». Введение пре-

парата в режиме сопроводительной коррекции не приводит к существенному накоплению ТБК-реагирующих продуктов, кетодиенов и сопряженных триенов, а также к падению уровня восстановленного глутатиона и активности супероксиддисмутазы.

- Установлены различия в тетрахлорметан-индуцированном усилении активности перекисного окисления липидов и угнетении системы антиоксидантной защиты в органах и тканях взрослых и старых крыс, образуя у взрослых убывающий ряд в следующей последовательности: печень > эритроциты > полушария головного мозга, а у старых крыс: эритроциты > печень > полушария головного мозга.

- Сукцинат 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила не уступает по эффективности гепатозащитного действия эталонному препарату силимарину у взрослых и превосходит его по ферментативным и функциональным показателям у старых крыс.

- Сукцинат повышает защитное действие 1,3,6-триметилаурацила на модели острого отравления взрослых и старых крыс тетрахлорметаном и ДХЭ. Установлено усиление противогипоксической активности 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила на моделях острой гипоксии и острой гемической гипоксии у взрослых мышей.

- Сукцинат и составляющие его компоненты проявляют антирадикальную/антиоксидантную активность сопоставимую с аналогичной активностью референтных препаративных (дибунола) и токоферилхинона в модельных системах различной сложности.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы.**

В настоящей диссертации представлены экспериментальные данные об эффективности гепатозащитного действия при остром отравлении ТХМ нового препарата - комплекса сукцината+1.3.6.-триметил-5-гидроксиурацила у взрослых и старых крыс, как на метаболические, так и на патоморфологические процессы. Препарат оказался по многим показателям более эффективным, чем его аналоги (предшественники). Перспективными будут дальнейшие исследования гепатозащитного действия этого комплекса при хроническом отравлении ТХМ молодых, взрослых и старых крыс.

### **Список основных публикаций по теме диссертации**

#### **Статьи в журналах, входящих в SCOPUS и рекомендованных ВАК РФ:**

1. Влияние комплексных соединений метилпроизводных 5-гидроксиурацила с янтарной кислотой на антиоксидантную систему и морфофункциональное состояние печени старых крыс при воздействии тетрахлорметана / В. А. Мышкин, Д. А. Еникеев, **И. Д. Габдрахманова** [и др.] // Патогенез. – 2017. – Т. 15. – №2. – С. 52-56.

2. Влияние сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила на антиоксидантную систему и свободнорадикальные процессы в печени взрослых и старых крыс при воздействии тетрахлорметана / **И. Д. Габдрахманова**, В. А. Мышкин, Д. А. Еникеев, А. Р. Гимадиева // Патология и экспериментальная терапия. – 2018. – Т. 62. – №3. – С. 56-60.

3. **Габдрахманова, И. Д.** Применение сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила для гепатопротекции у крыс в позднем онтогенезе / **И. Д. Габдрахманова**, В. А. Мышкин, Д. А. Еникеев // Аллергология и иммунология. – 2017. Т. 18. №3. С. 189.

4. Защита печени оксиметилаурацилом и производными янтарной кислоты при воздействии в эксперименте тетрахлорметана / В. А. Мышкин, Д. А. Еникеев, Д. В. Срубилин [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2017. – Т. 61. – №3. – С. 97-102.

5. Церебро-гепатопротекторная активность комплексного соединения янтарной кислоты с 1.3.6-триметил-5-гидроксиурацилом при экспериментальной интоксикации натрия нитритом / В. А. Мышкин, Д. А. Еникеев, **И. Д. Габдрахманова** [и др.] // Патология физиология и экспериментальная терапия. – 2018. Т. 62. №4. – С. 163-167.

### Монография:

1. Химически индуцированные повреждения печени и их коррекция производными янтарной кислоты и урацила / В.А. Мышкин, Д.А. Еникеев, О.А. Еникеев, **И.Д. Габдрахманова**. - Уфа: Изд. ООО «Полиграфдизайн», 2018. - 220 с.

### Патент:

1. Патент №2584553 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28. Устройство для моделирования отравления угарным газом мелких лабораторных животных: №2015104229/14 / А. А. Кубатиев, В. В. Александрин, Д. А. Еникеев [и др.]; заявл. 09.02.2015; опубл. 20.05.2016.

### Учебное руководство и учебные пособия:

1. Поражения ядовитыми техническими жидкостями / В.А. Мышкин, Д.А. Еникеев, **И.Д. Габдрахманова** // В кн.: Химические поражения организма. - 4-е издание испр. и доп. - Уфа: Изд. ООО «Полиграфдизайн», 2017. - С. 168-191.
2. Alcoholic hepatitis. Алкогольный гепатит / Д.А. Еникеев, В.А. Мышкин, **И.Д. Габдрахманова** [и др.] // В кн.: Pathology of liver. Gall bladder and pancreas. Патология печени, желчного пузыря и поджелудочной железы. - Уфа: Изд. ООО «Полиграфдизайн», 2019. - С. 35-40.
3. Epilepsy. Эпилепсия / Д.А. Еникеев, **И.Д. Габдрахманова** // В кн.: Pathology Nervous system. Патология нервной системы. - Уфа, 2017. - С. 138-139.
4. Gall Bladder and bile duct – anatomy. Желчный пузырь и желчный проток – анатомия / Д.А. Еникеев, С.А. Еникеева, **И.Д. Габдрахманова** [и др.] // В кн.: Pathology of liver, gall bladder and pancreas. Патология печени, желчного пузыря и поджелудочной железы. - Уфа: Изд. ООО «Полиграфдизайн», 2019. - С. 84-86
5. Infections and infestations. Инфекции и инвазии / Д.А. Еникеев, С.А. Еникеева, **И.Д. Габдрахманова** [и др.] // Pathology of liver, gall bladder and pancreas. Патология печени, желчного пузыря и поджелудочной железы. - Уфа: Изд. ООО «Полиграфдизайн», 2019. - С. 68-75.

### Статьи и тезисы докладов на конференциях:

1. **Габдрахманова, И.Д.** «Гепатопротекция тетрахлорметан-индуцированных повреждений у взрослых и старых крыс комплексным соединением янтарной кислоты с 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом» / **И.Д. Габдрахманова** // В кн.: Типовые патологические процессы: Современные тренды в науке: Сб. трудов, посвящ. 130-летию кафедры патофизиологии Императорского (государственного) Томского университета - Томского медицинского института – Сибирского государственного медицинского университета/ под ред. Член- корр. РАН, О.И. Уразовой – Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2020. - С. 33 – 34.
2. **Габдрахманова, И. Д.** Защита печени комплексным соединением сукцинат-1,3,6-триметил- 5-гидроксиурацила при тетрахлорметан-индуцированном повреждении у взрослых и старых крыс / **И. Д. Габдрахманова**, В. А. Мышкин, Д. А. Еникеев – Томск: Печатная мануфактура, 2020. – С. 35-36.
3. Мышкин, В. А. Морфофункциональные нарушения при токсическом поражении печени взрослых и старых крыс тетрахлорметаном и коррекция их комплексным соединением янтарной кислоты с 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом / В. А. Мышкин, Д. А. Еникеев, **И. Д. Габдрахманова** – Томск, 2020. – С. 86.
4. Применение сукцината 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацила для коррекции токсического поражения у старых крыс / В.А. Мышкин, Д.А. Еникеев, **И.Д. Габдрахманова** [и др.] // 90 лет НИИ ЭПИТ АНА: Материалы юбилейной научно-практ. конф., 21-22 сентября 2017 г. - Сухум, Абхазия. - С. 512-521.
5. **Gabdrakhmanova, I.D.** «Structural and functional disorders in toxic liver damage of adult and old rats and complex action of succinic acid compound with 1,3,6-trimethyl-5-hydroxyuracil» / **I.D. Gabdrakhmanova**, V.A. Myshkin, D.A. Enikeyev // Abstract 22<sup>nd</sup> conference of young researchers: Материалы международной 22-ой конференции молодых исследователей, 2020 г. - Санкт-Петербург.